



**HAL**  
open science

# Améliorer l'accès à la transplantation rénale des sujets hyperimmunisés : quelle place pour le Tocilizumab dans les protocoles de désimmunisation ?

Jules Weinhard

## ► To cite this version:

Jules Weinhard. Améliorer l'accès à la transplantation rénale des sujets hyperimmunisés : quelle place pour le Tocilizumab dans les protocoles de désimmunisation ?. Médecine humaine et pathologie. 1994. dumas-03468544

**HAL Id: dumas-03468544**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03468544>**

Submitted on 7 Dec 2021

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

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

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter la page de DUMAS présentant le document. Si l'auteur l'a autorisé, son adresse mail apparaîtra lorsque vous cliquerez sur le bouton « Détails » (à droite du nom).

Dans le cas contraire, vous pouvez consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

Année : 2021

**Améliorer l'accès à la transplantation rénale des sujets  
hyperimmunisés : quelle place pour le Tocilizumab dans  
les protocoles de désimmunisation ?**

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

SPÉCIALITÉ : Néphrologie

Par M. Jules WEINHARD

*[Données à caractère personnel]*

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE  
GRENOBLE le 06/09/2021

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président du jury :

Monsieur le Professeur Lionel ROSTAING (directeur de thèse)

Membres :

Monsieur le Professeur Christophe MARIAT

Madame le Docteur Céline DARD

Monsieur le Docteur Paolo MALVEZZI

Monsieur le Docteur Thomas JOUVE

Monsieur le Docteur Johan NOBLE

*L'UFR de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans  
les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs*

Doyen de la Faculté : Pr. Patrice MORAND

Année 2020-2021

**ENSEIGNANTS DE L'UFR DE MEDECINE**

CORPS	NOM-PRENO	Discipline universitaire
PU-PH	ALBALADEJO Pierre	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
PU-PH	APTEL Florent	Ophthalmologie
PU-PH	ARVIEUX-BARTHELEMY Catherine	Chirurgie viscérale et digestive
PU-PH	BAILLET Athan	Rhumatologie
PU-PH	BARONE-ROCHETTE Gilles	Cardiologie
PU-PH	BAYAT Sam	Physiologie
MCF Ass.MG	BENDAMÈNE Farouk	Médecine Générale
PU-PH	BENHAMOU Pierre-Yves	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BERGER François	Biologie cellulaire
MCU-PH	BIDART-COUTTON Marie	Biologie cellulaire
PU-PH	BLAISE Sophie	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire
PR Ass. Méd.	BOILLOT Bernard	
MCU-PH	BOISSET Sandrine	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	BONAZ Bruno	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PU-PH	BONNETERRE Vincent	Médecine et santé au travail
PU-PH	BOREL Anne-Laure	Nutrition
PU-PH	BOSSON Jean-Luc	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	BOTTARI Serge	Biologie cellulaire
PR Ass.MG	BOUCHAUD Jacques	Médecine Générale
PU-PH	BOUGEROL Thierry	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	BOUILLET Laurence	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
MCU-PH	BOUSSAT Bastien	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	BOUZAT Pierre	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
PU-PH émérite	BRAMBILLA Christian	Pneumologie
PU-PH émérite	BRAMBILLA Elisabeth	Anatomie et cytologie pathologiques
MCU-PH	BRENIER-PINCHART Marie Pierre	Parasitologie et mycologie
PU-PH	BRICAULT Ivan	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	BRICHON Pierre-Yves	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
MCU-PH	BRIOT Raphaël	Thérapeutique-médecine de la douleur ; Addictologie
PU-PH émérite	CAHN Jean-Yves	Hématologie
PU-PH émérite	CARPENTIER Patrick	Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire
PR Ass.MG	CARRILLO Yannick	Médecine Générale
PU-PH	CESBRON Jean-Yves	Immunologie
PU-PH	CHABARDES Stephan	Neurochirurgie
PU-PH	CHABRE Olivier	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	CHAFFANJON Philippe	Anatomie
MCF Ass.MG	CHAMBOREDON Benoît	Médecine Générale
PU-PH	CHARLES Julie	Dermato-vénérologie
MCF Ass.MG	CHAUVET Marion	Médecine Générale
PU-PH	CHAVANON Olivier	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	CHIQUET Christophe	Ophthalmologie
PU-PH	CHIRICA Mircea	Chirurgie viscérale et digestive
PU-PH	CINQUIN Philippe	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	CLAVARINO Giovanna	Immunologie
PU-PH	COHEN Olivier	Histologie, embryologie et cytogénétique
PU-PH	COURVOISIER Aurélien	Chirurgie infantile
PU-PH	COUTTON Charles	Génétique
PU-PH	COUTURIER Pascal	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
PU-PH	CRACOWSKI Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
PU-PH	DEBATY Guillaume	Médecine d'Urgence
PU-PH	DEBILLON Thierry	Pédiatrie
PU-PH	DECAENS Thomas	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PR Ass. Méd.	DEFAYE Pascal	Cardiologie
PU-PH	DEGANO Bruno	Pneumologie ; addictologie
PU-PH	DEMATTEIS Maurice	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
PU-PH émérite	DEMONGEOT Jacques	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	DERANSART Colin	Physiologie
PU-PH	DESCOTES Jean-Luc	Urologie
PU-PH	DETANTE Olivier	Neurologie
MCU-PH	DIETERICH Klaus	Génétique
MCU-PH	DOUTRELEAU Stéphane	Physiologie
MCU-PH	DUMESTRE-PERARD Chantal	Immunologie
PU-PH	EPAULARD Olivier	Maladies infectieuses ; Maladies tropicales
PU-PH	ESTEVE François	Biophysique et médecine nucléaire
MCU-PH	EYSSERIC Hélène	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	FAUCHERON Jean-Luc	Chirurgie viscérale et digestive
MCU-PH	FAURE Julien	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	FERRETTI Gilbert	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	FEUERSTEIN Claude	Physiologie
PU-PH	FONTAINE Éric	Nutrition
PU-PH	FRANCOIS Patrice	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-MG	GABOREAU Yoann	Médecine Générale
PU-PH	GARBAN Frédéric	Hématologie ; Transfusion
PU-PH	GAUDIN Philippe	Rhumatologie
PU-PH	GAVAZZI Gaétan	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
PU-PH	GAY Emmanuel	Neurochirurgie
MCU-PH	GILLOIS Pierre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	GIOT Jean-Philippe	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; Brûlologie
MCU-PH	GRAND Sylvie	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH émérite	GRIFFET Jacques	Chirurgie infantile
MCU-PH	GUZUN Rita	Nutrition
PU-PH	HAINAUT Pierre	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH émérite	HALIMI Serge	Nutrition
PU-PH	HENNEBICQ Sylviane	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PU-PH	HOFFMANN Pascale	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
PU-PH émérite	HOMMEL Marc	Neurologie
PU-MG	IMBERT Patrick	Médecine Générale

CORPS	NOM-PRENO	Discipline universitaire
PU-PH émérite	JOUK Pierre-Simon	Génétique
PU-PH	KAHANE Philippe	Physiologie
MCU-PH	KASTLER Adrian	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	KRAINIK Alexandre	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	LABARERE José	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-PH	LABLANCHE Sandrine	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
MCU-PH	LANDELLE Caroline	Bactériologie – virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	LANTUEJOU Sylvie	Anatomie et cytologie pathologiques
PR Ass. Méd.	LARAMAS Mathieu	Cancérologie ; radiothérapie
MCU-PH	LARDY Bernard	Biochimie et biologie moléculaire
MCU - PH	LE GOUELLEC LE PISSART Audrey	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	LECCIA Marie-Thérèse	Dermato-vénérologie
MCF Ass.MG	LEDOUX Jean-Nicolas	Médecine Générale
PU-PH émérite	LETOUBLON Christian	Chirurgie viscérale et digestive
PU-PH	LEVY Patrick	Physiologie
PU-PH	LONG Jean-Alexandre	Urologie
MCU-PH	LUPO Julien	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	MAIGNAN Maxime	Médecine d'urgence
PU-PH	MAITRE Anne	Médecine et santé au travail
MCU-PH	MALLARET Marie-Reine	Bactériologie – virologie ; Hygiène hospitalière
MCU-PH	MARLU Raphaël	Hématologie ; Transfusion
PR Ass. Méd.	MATHIEU Nicolas	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
MCU-PH	MAUBON Danièle	Parasitologie et mycologie
PU-PH	MAURIN Max	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
MCU-PH	MC LEER Anne	Histologie, embryologie et cytogénétique
MCU-PH	MONDET Julie	Histologie, embryologie et cytogénétique
PU-PH	MORAND Patrice	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	MOREAU-GAUDRY Alexandre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	MORO Elena	Neurologie
PU-PH	MORO-SIBILOT Denis	Pneumologie ; addictologie
MCU-PH	MORTAMET Guillaume	Pédiatrie
PU-PH	MOUSSEAU Mireille	Cancérologie ; radiothérapie
PU-PH émérite	MOUTET François	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie
MCF Ass.MG	ODDOU Christel	Médecine Générale
PR Ass. Méd.	ORMEZANO Olivier	Cardiologie
MCU-PH	PACLET Marie-Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	PAILHE Régis	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	PALOMBI Olivier	Anatomie
PU-PH	PARK Sophie	Hématologie ; Transfusion
PU-PH	PASSAGGIA Jean-Guy	Anatomie
PR Ass.MG	PAUMIER-DESBRIERES Françoise	Médecine Générale
PU-PH	PAYEN DE LA GARANDERIE Jean-François	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
MCU-PH	PAYSANT François	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	PELLETIER Laurent	Biologie cellulaire
PU-PH	PELLOUX Hervé	Parasitologie et mycologie
PU-PH	PEPIN Jean-Louis	Physiologie
PU-PH	PERENNOU Dominique	Médecine physique et de réadaptation

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	PERNOD Gilles	Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
PU-PH	PIOLAT Christian	Chirurgie infantile
PU-PH	PISON Christophe	Pneumologie ; Addictologie
PU-PH	PLANTAZ Dominique	Pédiatrie
PU-PH	POIGNARD Pascal	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	POLACK Benoît	Hématologie ; Transfusion
PU-PH	POLOSAN Mircea	Psychiatrie d'adultes ; Addictologie
PU-PH	RAMBEAUD Jean-Jacques	Urologie
PU-PH	RAY Pierre	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PR Ass. Méd.	RECHE Fabian	Chirurgie viscérale et digestive
MCU-PH	RENDU John	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH émérite	RIALLE Vincent	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	RIETHMULLER Didier	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
PU-PH	RIGHINI Christian	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH émérite	ROMANET Jean Paul	Ophthalmologie
PU-PH	ROSTAING Lionel	Néphrologie
PU-PH	ROUSTIT Matthieu	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
MCU-PH	ROUX-BUISSON Nathalie	Biochimie et biologie moléculaire
PR Ass.MG	ROYER DE VERICOURT Guillaume	Médecine Générale
PU-PH émérite	SARAGAGLIA Dominique	Chirurgie orthopédique et traumatologie
MCU-PH	SATRE Véronique	Génétique
PU-PH	SAUDOU Frédéric	Biologie cellulaire
PU-PH	SCHMERBER Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	SCHWEBEL Carole	Médecine intensive-réanimation
PU-PH	SCOLAN Virginie	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	SEIGNEURIN Arnaud	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH émérite	STAHL Jean-Paul	Maladies infectieuses ; Maladies tropicales
PU-PH	STANKE Françoise	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
MCU-PH	STASIA Marie-José	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	STURM Nathalie	Anatomie et cytologie pathologiques
PU-PH	TAMISIER Renaud	Physiologie
PU-PH	TERZI Nicolas	Médecine intensive-réanimation
PU-PH	THEVENON Julien	Génétique
MCU-PH	TOFFART Anne-Claire	Pneumologie ; Addictologie
PU-PH	TONETTI Jérôme	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	TOUSSAINT Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	VALMARY-DEGANO Séverine	Anatomie et cytologie pathologiques
PU-PH	VANZETTO Gérald	Cardiologie
PU-PH	VUILLEZ Jean-Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	WEIL Georges	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	ZAoui Philippe	Néphrologie
PU-PH émérite	ZARSKI Jean-Pierre	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie

PU-PH : Professeur des Universités - Praticiens Hospitaliers  
 MCU-PH : Maître de Conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers  
 PU-MG : Professeur des Universités de Médecine Générale  
 MCU-MG : Maître de Conférences des Universités de Médecine Générale  
 PR Ass. Méd. : Professeur des Universités Associé de Médecine  
 PR Ass.MG : Professeur des Universités Associé de Médecine Générale  
 MCF Ass.MG : Maître de Conférences Associé de Médecine Générale

## **REMERCIEMENTS**

### A mon Jury de thèse :

**A Monsieur le Professeur Rostaing**, pour votre bienveillance et votre écoute depuis le début de mon internat, pour votre disponibilité et votre réactivité dans l'encadrement de ce travail, et plus généralement pour votre « aura » scientifique qui dynamise le service.

**A Monsieur le Professeur Mariat**, pour avoir accepté de juger mon travail et de venir depuis Saint-Etienne.

**Au Docteur Céline Dard**, pour m'avoir accueilli avec simplicité au laboratoire et m'avoir patiemment expliqué les bases techniques du HLA qui m'ont grandement aidé dans la rédaction de ce travail.

**Au Docteur Paolo Malvezzi**, pour ton accueil bienveillant lors de mon premier semestre au CHU (même à 2h du matin sur les astreintes), et pour avoir accepté de juger cette thèse.

**Au Docteur Thomas Jouve**, pour ta disponibilité, pour la curiosité scientifique que tu parviens à susciter auprès des internes, pour tes facultés de réassurance, et pour la fascination que ton esprit scientifique m'inspire à chacune de nos discussions « professionnelles ». Parce que, bien heureusement, il n'y a pas que des discussions sérieuses et c'est bien agréable de travailler dans ces conditions !

**Au Docteur Johan Noble**, pour ta gentillesse, ta bienveillance, ta patience dans l'apprentissage de la pose de cathéter lors de mon semestre grenoblois, et pour ta belle crinière blonde.

### A ma famille :

**A ma petite Manon d'amour**, mon exceptionnelle petite Manon. Merci d'être restée sur ma route quand je me suis (enfin) réveillé, merci d'accepter certaines de mes « rigidités » d'esprit tout en les adoucissant, merci de faire la voiture balais quand je présume de mes forces... Longue vie à notre meute de deux loups !

**A ma maman**, ma brillante petite mimoune, soutien moral (et matériel !) de chaque instant quand il a fallu surmonter les épreuves universitaires telles que la P1, ces fichues ECN, et tout le reste. Tu sais toute la reconnaissance que j'ai pour l'amour que tu nous as donné (jusqu'à la lune...et retour) et les valeurs que tu nous as transmises et qui font de tes enfants

des « bons gamins ». Je mesure la chance d'avoir une mère aussi exceptionnelle, dont je pourrais faire un éloge aussi long que cette thèse (sans la biblio peut-être).

**A mon papa**, aux « problèmes » mathématiques posés au petit déjeuner quand on était petits et qui ont sûrement forgé notre esprit scientifique, au goût de l'effort que tu m'as transmis en prenant soin de privilégier le plaisir et le partage avec les copains plutôt que la performance. Du col de Villers (hors catégorie), au ski tous les hivers, à l'escalade en passant par la planche à voile... J'ai de la chance d'avoir fait tout ça, grâce à toi ! Et cela participe grandement à mon équilibre actuel.

**A ma sœur Sara**, qui a ouvert la voie familiale sur le chemin des études médicales, sans jamais me mentir sur la difficulté des obstacles... ! Des obstacles, il n'y en a pas eu que sur ton chemin universitaire, mais tu les as surmontés, en restant toujours une grande sœur affectueuse et attentionnée. J'admire la personne que tu es, la médecin onco-pédiatre, la maman, la féministe (digne fille de ta mère !) et je suis fier d'être ton petit frère !

**A ma sœur Léa**, modèle de volonté et de détermination (et pas que dans ton cursus universitaire), menant ta barque comme ton cheval, tu es surtout un concentré de générosité et d'attention aux autres. Je ne néglige pas non plus ton apport médical lorsque, à court d'idée, tu nous proposes un traitement de cheval (littéralement) pour soigner les humains. Plus sérieusement, je t'admire et j'ai de la chance de t'avoir aussi près de moi.

**A mes deux super beaux-frères**, Nicoco et notre chervaz national, pour leur inestimable « valeur ajoutée » dans notre famille.

**A Camille et Timothé**, pour votre joie de vivre, vos sourires, vos « dada » « tata » et tout ce que vous nous réservez pour la suite.

**A ma p'tite mère-grand**, aux parties de foot sur la placette (et les quelques jupes craquées à cette occasion), aux écureuils du parc du Gec, aux petits bateaux de la coulée verte, à toutes les fleurs dont tu es la seule à retenir le nom, aux randonnées à Aussois... Il y en a tant des bons moments partagés ! Tu sais comme ton amour inconditionnel et ton soutien ont compté pour arriver jusque-là.

**A mon papé**, à l'escalade avec le CAF les vendredi soir, aux étés passés à Savines, à l'apprentissage (parfois un peu laborieux) de la planche à voile, aux sorties de vélo partagées à 3 générations et à mon premier Izoard grimpé - bien accroché - dans ta roue... Tu as encore des

choses à m'apprendre (ex : la vitesse à laquelle il faut monter en vélo pour semer ces fichues mouches), mais j'ai déjà bien de la chance d'avoir pu partager tout ça avec toi !

**A ma tata Flo** : « corde tendue Jules, corde tendue », ça raisonne encore ! Merci d'avoir adouci certaines phases d'apprentissage du concept weinhardien « d'autonomie » ;)

**A ma tata cathy**, pour veiller sur nous et nous faire rire tous les ans à Pâques...

**A mimi** : l'image de la « belle-mère » est trop connotée négativement pour te convenir. Merci d'être arrivée dans la vie de notre père au moment opportun, d'y être restée malgré ses jeux de mots scabreux, et surtout d'être toujours parvenue à avoir, avec nous, les mots et la juste distance que cette position de « belle-mère » rend parfois difficile à trouver.

**A Alice et Blanche**, mes deux p'tites poulettes, vous avez le temps de devenir grande... Mais je n'ai aucun doute sur votre avenir tant vous êtes, depuis toutes petites, intelligentes, curieuses, créatives et attentives aux autres.

**A Agnès, Patrick, Mameth, Nani et Paul**, pour m'avoir accueilli dans votre famille avec autant de gentillesse et de simplicité. Mention spéciale à Agnès, pour avoir fait pencher la balance du bon côté en discutant avec ta fille (tard dans la nuit un soir d'été 2018).

A mes amis :

**A Florent**, à mon fidèle ami, de la première heure. Combien de marches sautées en trottinette, de kilomètres de roue arrière à la fac des sciences, de virages de poudre en ski ? Un bon paquet de moments de vie, certains moins heureux que d'autres, mais tous ont participé à forger une amitié des plus solides. Tu sais ô combien j'admire ta force mentale et ta capacité à rebondir, et je souhaite à Inouï et Symples une vie longue et prospère à la mesure de l'énergie et de l'enthousiasme que tu y mets.

**A Edouard**, mon cher Edouard... que te dire que tu ne sais déjà ? Heureusement que tu étais là pour : m'apprendre à conduire, me faire découvrir Star Wars et le Seigneur des Anneaux, me guider sur le GR20 et panser mes plaies, écraser mes lunettes en t'asseyant dessus, faire découvrir à la Team Simone le kiri-jambon, m'apprendre à jouer de la main gauche au hand... La liste est longue, et on n'est pas au bout de nos surprises ! Merci d'être là mon gros.

**A Baptiste**, heureuse rencontrer de la tut' rentrée, sur le parking en attendant chacun notre maman... Le temps a passé, mais l'amitié est bien là. Mon rêve (réalisable ?) serait que nous exercions dans le même hôpital et que je puisse t'appeler pour « JiJiter » un patient...

**A Lulu**, pour les bons moments partagés (des apéros de P2 aux slack-line du MHP), et pour avoir dormi profondément dans la tente au festival mentionné ci-avant ;)

**A poney**, pour m'avoir enseigné que le froid n'existe pas : il suffit de s'habituer !

**A Carla**, ma co-interne de la première heure, merci de m'avoir pardonné d'avoir causé ton exil à Thonon, merci d'avoir rendu ce 2<sup>ème</sup> semestre aussi chouette malgré la charge de travail. Si un jour j'ai mal aux reins, c'est toi que j'irai voir !

**A Omar**, dont nous retiendrons que « c'est très simple la néphrologie » à condition d'avoir pris le temps de bien « pitit déjeuner ». N'oublie pas de nous garder un poste dans ta clinique à Agadir !!

**A mes co-internes** qui ont égayé certaines longues journées de travail : Pauline G. à Annecy, les compères de Chambéry et ce bon Pr Larsson, Mathieu S et sa bonne humeur quotidienne (☺), Pauline Z pour ce semestre Chambérien dont on se souviendra, Réda et sa tchatte légendaire, et le reste de l'équipe infectiologique.

**Aux formidables équipes paramédicales** côtoyées en néphrologie à Grenoble et à Chambéry.

**A Mélanie Daligault** pour l'aide ô combien précieuse pour les statistiques de cette thèse et l'apprentissage de R.

**Aux assistants de recherche clinique** du service de néphrologie pour travail de fournis réalisés au quotidien.

A tous les médecins (non encore cités) qui m'ont marqué, et qui constituent (chacun à leur manière et pour certains aspects de leur personnalité), des modèles autour desquels je me construis :

**Au Docteur Cyril Jeckel**, bouée de sauvetage dans une période tourmentée.

**Au Docteur Terrec** (comme la terre, avec un c) : le meilleur des « faisant fonction d'assistant » ! Merci pour le soutien moral sur les premières astreintes difficiles, pour ton humour décapant et tes « mh » dont on ne se lasse pas !

**Au Docteur Rachel Tetaz** : notre 2<sup>ème</sup> maman le temps d'un semestre.

**A tous les néphrologues chambériens** : vous savez tout le bien que je pense de votre manière de pratiquer la néphrologie, et le plaisir que cela a été de passer 6 mois avec vous... c'était trop court !

**Sans oublier** : Benoit Franko, Isabelle Rey, Raoul Bacquelin, Carole Schwebel, Yves Grosse.

# Le serment d'Hippocrate

Texte revu par l'Ordre des médecins en 2012

“ **Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.**

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

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

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque. ”

## TABLE DES MATIÈRES

<i>Résumé</i>	14
<i>Abstract</i>	16
<i>Introduction</i>	18
<b><i>I- Place du Tocilizumab dans le contexte actuel de la transplantation rénale</i></b>	<b>21</b>
1. Les enjeux actuels de la transplantation rénale	21
2. Hyperimmunisation et accès à la greffe	22
3. Améliorer l'accès à la greffe des sujets hyperimmunisés	24
i. Outils	24
ii. Les principes de la désensibilisation (ou « désimmunisation »)	24
iii. Résultats des protocoles de désensibilisation	26
iv. Limites du « standard of care » de la désensibilisation	27
4. De la physiopathologie de l'IL-6 à l'intérêt pratique du tocilizumab	28
i. L'IL-6, une cytokine pléiotropique ayant de multiples applications thérapeutiques	28
ii. L'IL-6 en néphrologie	29
iii. L'IL-6 en transplantation rénale	30
<b><i>II- Matériel et Méthodes</i></b>	<b>35</b>
1. Population et design de l'étude	35
2. Procédure thérapeutique et suivi des patients	35
3. Méthode de recherche des anticorps anti-HLA	36
i. Principes de la méthode Luminex	36
ii. Luminex Single Antigen (LSA) : réalisation en pratique	38
iii. Luminex Single Antigen : critères d'interprétabilité	39
iv. Luminex Single Antigen : interprétation	40
v. Luminex Single Antigen : effet prozone	41
4. Critères de jugements	41
i. Critère de jugement principal	41
ii. Critères de jugement secondaires	43
iii. Sécurité	43
5. Analyse statistique	44

<b>III- Résultats</b>	<b>45</b>
1. Caractéristiques de la population	45
2. Critère de jugement principal	48
3. Critères de jugements secondaires	50
4. Sécurité	54
5. Analyses supplémentaires	56
<b>IV- Discussion</b>	<b>61</b>
1. Interprétation des résultats	61
i. En termes d'efficacité	61
ii. En termes de sécurité	64
2. Validité interne	65
i. Limites	65
ii. Points forts	66
<b>Conclusion</b>	<b>68</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>71</b>
<b>Annexes</b>	<b>82</b>

## **Résumé**

La transplantation rénale est reconnue comme le meilleur traitement de suppléance de l'insuffisance rénale terminale. Cependant, son accès, déjà limité par la pénurie de greffon, est d'autant plus restreint pour les patients dits « immunisés », c'est-à-dire ayant développé au décours d'un évènement immunologique passé (transplantation, grossesse, transfusion) des anticorps anti-HLA. La désimmunisation (DES) a pour but d'éliminer ces anticorps et d'en bloquer la production afin d'augmenter le nombre de greffons compatibles.

Le « standard-of-care » (SOC) de la DES (aphérèse, rituximab, +/- immunoglobulines polyvalentes) repose sur quelques études non randomisées, de faible effectif. Les résultats de la DES, étayés principalement dans le domaine de la greffe donneur vivant, sont encourageants mais la quête de nouvelles thérapeutiques reste un enjeu important. Le tocilizumab (TCZ) (anticorps monoclonal anti-IL-6R) est un candidat de choix du fait de la place centrale qu'occupe l'IL-6 dans la réponse immunitaire (différenciation des plasmocytes ; orientation des lymphocytes T helper vers un profil Th17 plutôt que T régulateur etc). Jusqu'à maintenant, une seule étude clinique a testé l'efficacité du TCZ comme traitement de DES (en 2<sup>ème</sup> ligne après échec du SOC).

Nous avons donc mené une étude prospective, non randomisée, exploratoire visant à évaluer l'efficacité et la sécurité d'un protocole de DES par TCZ seul pour améliorer l'accès à la greffe rénale de sujets hyperimmunisés. Quatorze patients ont ainsi été traités par tocilizumab (8mg/kg tous les mois, pendant au moins 6 mois). Le critère de jugement principal était l'évolution de MFI (mean fluorescent intensity) de l'anticorps anti-HLA immunodominant entre le début et la fin du traitement.

Nous avons observé une baisse de la MFI de l'anticorps immunodominant en classe I (7780 vs 10548 ;  $p = 0.00085$ ) et en classe II (6267 vs 7191 ;  $p = 0.019$ ). De plus, il existait une

diminution de la moyenne de MFI de tous les anticorps anti-HLA (ayant une MFI initiale > 2000) en classe I (7102 vs 7999 ; p = 0.012), ainsi que du nombre d'anticorps anti-HLA avec une MFI  $\geq$  10 000 en classe I (14 vs 18 ; p = 0.0059) et en classe II (13 vs 19 ; p = 0.021). Enfin, le profil de sécurité était favorable avec un seul évènement indésirable grave (spondylodiscite).

Toutefois, s'il était statistiquement significatif, l'effet du TCZ seul n'était pas cliniquement pertinent car plus de la moitié des patients gardaient au moins un anticorps anti-HLA avec une MFI  $\geq$  10 000, et plus de 80% d'entre eux voyaient la MFI de leur anticorps immunodominant rester supérieure à 3000. Ainsi, seulement un patient (7%) a pu être greffé sans autre thérapie de DES. En revanche, onze patients (79%) ont ensuite bénéficié d'un protocole standard de DES et huit d'entre eux ont pu être greffés.

Notre étude suggère donc que le TCZ en monothérapie n'est pas suffisant pour améliorer l'accès à la greffe des sujets hyperimmunisés. Sa place pourrait se trouver en association avec le protocole standard, afin d'en améliorer l'efficacité à court terme (diminution de l'immunisation et obtention d'un greffon compatible) mais aussi – et surtout – l'efficacité à long terme (diminution du rebond des anticorps anti-HLA, du risque de rejet humoral). Cette dernière hypothèse, qu'il serait pertinent de tester dans une étude complémentaire, est soutenue par l'étude des phénotypes lymphocytaires sous TCZ montrant un blocage de la maturation de la lignée B.

## **Abstract**

Kidney transplantation is recognized as the best replacement therapy for end-stage renal disease. However, its access, already limited by the shortage of grafts, will be even more restricted for so-called "immunized" kidney transplant candidates (KTC), i.e. those who have developed anti-HLA antibodies after a past immunological event (transplantation, pregnancy, transfusion). Desensitization (DES) aims to remove these anti-HLA antibodies and block their production in order to increase the number of compatible grafts.

The standard-of-care (SOC) of DES (apheresis, rituximab, +/- intravenous immunoglobulin) is based on a few small, non-randomized studies. The results of DES, mainly supported in the field of living donor transplantation, are encouraging but the search for new therapies remains an important issue. Tocilizumab (TCZ) (anti-IL-6R monoclonal antibody) is a candidate of choice because of the central role of IL-6 in the immune response (differentiation of plasmacells ; orientation of T helper lymphocytes towards a Th17 rather than a regulatory T profile, etc). To date, only one clinical study tested the efficacy of TCZ as a treatment for DES. It was used as a 2nd line treatment in subjects who were resistant to SOC.

Therefore, we conducted a prospective, non-randomized, exploratory study to evaluate the efficacy and safety of a TCZ-only DES protocol to improve kidney transplantation access for highly sensitized subjects. Fourteen patients were included between 2016 and 2020 and treated with tocilizumab alone (8mg/kg monthly, for at least 6 months). The primary endpoint was the evolution of MFI (mean fluorescent intensity) of the immunodominant anti-HLA antibody between the beginning and the end of the TCZ treatment.

We observed a decrease in the MFI of the immunodominant antibody in class I (7780 vs. 10548;  $p = 0.00085$ ) and in class II (6267 vs. 7191;  $p = 0.019$ ). In addition, there was a significant decrease in the mean MFI of all anti-HLA antibodies (with an initial MFI > 2000)

in class I (7102 vs. 7999;  $p = 0.012$ ), as well as in the number of anti-HLA antibodies with MFI  $\geq 10,000$  in class I (14 vs. 18;  $p = 0.0059$ ) and class II (13 vs. 19;  $p = 0.021$ ). Finally, the safety profile was favorable with only one serious adverse event (spondylodiscitis).

However, if statistically significant, the effect of TCZ alone was not clinically relevant because more than half of the patients retained at least one anti-HLA antibody with an MFI  $\geq 10,000$ , and more than 80% of them had the MFI of their immunodominant antibody remaining above 3,000. Thus, only one patient (7%) could be transplanted without further DES therapy. In contrast, eleven patients (79%) subsequently received a standard DES protocol, and eight of these were able to be transplanted.

Our study therefore suggests that TCZ alone is not sufficient to improve access to transplantation for highly sensitized KTC. Its place could be in association with the standard DES protocol, in order to improve its short-term efficacy (reduction of immunization and obtaining a compatible graft) but also - and above all - its long-term efficacy (reduction of the rebound of anti-HLA antibodies, of the risk of humoral rejection). This last hypothesis is supported by the study of lymphocyte phenotypes under TCZ which shows a blockage of the maturation of the B lineage. It would be relevant to test this last hypothesis with further studies.

## **Introduction**

La transplantation rénale est reconnue comme le meilleur traitement de suppléance de l'insuffisance rénale terminale en termes de survie et de qualité de vie mais également d'un point de vue médico-économique. Malheureusement, la pénurie de greffons est telle qu'on estime en France à 4.9 le nombre de sujets inscrits sur liste d'attente pour 1 greffon disponible. Le temps d'attente sur liste peut donc être long, et le sera d'autant plus que le sujet est immunisé, c'est-à-dire qu'il a développé au décours d'un évènement immunologique passé (transplantation antérieure, grossesse, transfusion sanguine) des anticorps dirigés contre les antigènes HLA des potentiels greffons qui pourraient lui être proposés. L'accès à la greffe de ces sujets est donc limité, a fortiori lorsqu'ils sont dits « hyperimmunisés » (i.e. taux de greffons incompatibles > 85%).

La désimmunisation (ou « désensibilisation ») est une méthode pour améliorer l'accès à la greffe - extrêmement restreint voire parfois impossible - de ces sujets hyperimmunisés. Le principe est d'éliminer ces anticorps anti-HLA tout en parvenant à en bloquer la production. Développée initialement dans le cadre du don vivant apparenté HLA ou ABO incompatibles, en particulier au Japon où la transplantation à partir de donneur décédé est limitée pour des raisons culturelles, la désimmunisation est désormais envisageable pour augmenter les chances d'obtenir un greffon compatible issu d'un donneur décédé. Le « standard of care » (SOC) actuel de la désimmunisation a été développé empiriquement et validé par quelques études qui préconisent d'associer : des séances d'aphérèses (échange plasmatique, plasmaphérèse par double-filtration, ou immunoadsorption), du rituximab (anticorps monoclonal anti CD-20), une triple immunosuppression classique (anti-calcineurine -tacrolimus-, acide mycophénolique, et stéroïdes) et éventuellement des immunoglobulines polyvalentes par voie intraveineuse (IgIV). Cependant, les études réalisées dans ce domaine ces vingt dernières années restent peu

nombreuses et menées généralement sur des effectifs restreints, ne permettant pas de fournir des preuves incontestables de la supériorité d'un protocole de désimmunisation. Continuer de chercher des alternatives au SOC actuel est donc nécessaire.

Le tocilizumab (TCZ) est un anticorps monoclonal dirigé contre le récepteur à l'IL-6. Il a obtenu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) initialement dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et de l'arthrite juvénile idiopathique systémique. Depuis, compte-tenu de la multitude des sites d'action de l'IL-6, les indications potentielles du TCZ se sont multipliées (rhumatologie, hématologie, neurologie etc.). Dans le domaine de la transplantation rénale, l'utilisation du TCZ repose sur un rationnel physiopathologique plaçant l'IL-6 au centre de la régulation du système immunitaire adaptatif (et donc, par extension, au centre de la réponse allo-immune). L'IL-6 va en effet participer : à la différenciation des cellules B matures en plasmocytes capables de sécréter des anticorps, à la différenciation et la survie des cellules B mémoires et des plasmocytes de longue durée de vie, à la polarisation des lymphocytes T (LT) CD4<sup>+</sup> vers un profil Th17 (pro-inflammatoire et pro-immunogène) plutôt que vers un profil régulateur (Treg ; immunotolérant) ou encore à la différenciation des LT CD8<sup>+</sup> en LT cytotoxique. Pour toutes ces raisons, le blocage de l'IL-6 constitue donc une cible thérapeutique de choix pour éviter la production d'anticorps anti-HLA chez les patients hyperimmunisés.

Jusqu'à maintenant, une seule étude clinique a testé l'effet du TCZ comme traitement de désimmunisation. Il était utilisé en 2<sup>ème</sup> ligne chez des sujets ayant résisté à un protocole de désimmunisation standard (SOC). Les résultats sont encourageants bien qu'ils ne permettent pas de formuler de recommandations précises sur la place du TCZ dans ces procédures. A notre connaissance, aucune étude ne s'est intéressée à l'utilisation du TCZ comme traitement de désimmunisation de première ligne.

Nous avons donc mené une étude prospective, non randomisée, exploratoire, de 2016 à 2020, visant à évaluer l'efficacité d'un protocole de désimmunisation par TCZ seul pour

améliorer l'accès à la greffe rénale de sujets hyperimmunisés inscrits sur liste nationale d'attente de greffe. L'objectif principal de l'étude était d'évaluer la diminution de l'intensité de fluorescence moyenne -MFI- de l'anticorps anti-HLA immunodominant entre le début et la fin du traitement par tocilizumab. Les objectifs secondaires étaient d'évaluer la baisse de la médiane de MFI de tous les anticorps cliniquement significatifs (i.e. ayant une MFI > 2000) et la baisse du nombre d'anticorps anti-HLA ayant une MFI  $\geq$  10 000. Une analyse de sécurité a également été réalisée pour évaluer le profil de tolérance du produit.

Ainsi, nous détaillerons dans une première partie le contexte actuel de la transplantation rénale HLA-incompatible et le rationnel physiopathologique du tocilizumab comme traitement de désimmunisation. Ensuite, dans une seconde partie nous présenterons la méthodologie de notre étude ainsi que les résultats dans la troisième partie. Enfin, la quatrième partie sera consacrée à l'interprétation et la discussion des résultats.

## **I- Place du Tocilizumab dans le contexte actuel de la transplantation rénale**

### **1. Les enjeux actuels de la transplantation rénale**

Comparée aux techniques d'épuration extra-rénale (hémodialyse, dialyse péritonéale), la transplantation rénale est reconnue comme le meilleur traitement de suppléance de l'insuffisance rénale terminale aussi bien en matière de survie (1) qu'en matière de qualité de vie (2). D'un point de vue médico-économique, il s'agit également du traitement le moins coûteux (3,4). L'accès à la greffe rénale est cependant limité. D'après les données du registre REIN, en 2018, 11 343 patients débutaient un traitement de suppléance (patients incidents) et seulement 3567 greffes rénales étaient pratiquées. La même année, 89 692 patients bénéficiaient d'un traitement de suppléance (patients prévalents) dont 55% en dialyse (toutes modalités confondues) et 45% porteurs d'un greffon fonctionnel. Ainsi, le nombre de candidats (inscrits sur liste active) pour un greffon rénal était de 5.5 en 2018. Ce ratio a hélas augmenté en 2021 du fait de la pandémie Covid-19.

Pour améliorer l'accès à la greffe en luttant contre la pénurie de greffons, différentes méthodes ont été mises en œuvre : campagne de développement du don vivant et élargissement de la définition de donneur vivant (apparenté vs. non apparenté), développement du prélèvement sur donneur en état de mort encéphalique à critères étendus, prélèvement de donneurs décédés suite à un arrêt circulatoire (Maastricht 2 et 3). Si ces avancées – pour le moment insuffisantes – visent à augmenter de façon globale le nombre de greffons disponibles, elles ne permettent cependant pas d'améliorer significativement l'accès à la greffe dans la situation particulière du patient hyperimmunisé.

## **2. Hyperimmunisation et accès à la greffe**

La transplantation rénale expose le système immunitaire du receveur à une stimulation allogénique dans la mesure où le système antigénique HLA (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) du donneur est différent de celui du receveur. Lorsqu'il existe une incompatibilité (i.e. un « mismatch ») pour un ou plusieurs antigènes HLA, il existe un risque que le système immunitaire du receveur développe une réponse allogénique spécifiquement dirigée contre ces antigènes, aboutissant notamment à la production d'anticorps anti-HLA spécifiques du donneur (DSA pour « Donor Specific Alloantibody »). L'existence d'un mismatch HLA ne va heureusement pas conduire systématiquement à la production de DSA, notamment grâce au traitement immunosuppresseur auquel tout sujet transplanté est soumis, mais il en augmente le risque. En outre, la transplantation d'organe solide n'est pas le seul évènement à risque d'immunisation : la grossesse (en exposant la mère au système HLA du père) et les transfusions sanguines peuvent également conduire au développement d'anticorps anti-HLA.

Un patient est dit immunisé lorsqu'il présente au moins un anticorps anti-HLA dirigé contre une spécificité HLA dite « interdite » (HLA-A, B, C, DR, DQ). Autrement dit, lui proposer un greffon exprimant l'un des antigènes HLA vis-à-vis duquel il est immunisé entraînerait un risque trop élevé de rejet aigu et de perte de greffon. Ces anticorps anti-HLA sont donc renseignés dans son dossier CRISTAL (logiciel de l'Agence de Biomédecine) et tous les greffons exprimant l'un des antigènes HLA spécifiques de ces anticorps ne lui seront automatiquement pas proposés. Plus un sujet développe d'anticorps anti-HLA, a fortiori s'ils sont dirigés contre des spécificités HLA fréquentes en population générale, plus l'accès à la greffe sera restreint.

Pour identifier les patients dont l'accès à la greffe est limité du fait de ces anticorps anti-HLA, un indicateur a été développé : le taux de greffons incompatibles (TGI). Celui-ci

correspond au pourcentage de greffons rénaux que le sujet n'aurait pas pu recevoir (car exprimant les spécificités HLA interdites contre lesquelles il s'est immunisé) sur l'ensemble des donneurs décédés (iso-groupe ABO) prélevés en France sur les 5 dernières années. Ce TGI est calculé toutes les nuits (par le logiciel CRISTAL) pour chaque patient inscrit sur liste et ayant au moins un anticorps anti-HLA (détecté par la technique de référence Luminex®). Ainsi, un sujet sera dit « hyperimmunisé » lorsque son TGI historique est supérieur à 85% et/ou que son TGI du jour est supérieur à 70%.

D'après les données de l'Agence de Biomédecine (ABM) concernant les patients inscrits sur liste active en 2019 (patients prévalents), la proportion de malades non immunisés (TGI = 0%) était de 37% contre 26% pour les sujets hyperimmunisés. En revanche, parmi l'ensemble des greffes réalisées en 2019, les sujets hyperimmunisés ne représentent que 14% des patients effectivement greffés (contre 49% pour les malades non immunisés). Un autre indicateur témoignant de la difficulté d'accès à la greffe de ces sujets est le taux d'incidence cumulée de greffe à partir de la date d'inscription active (en prenant en compte le risque concurrent de décès en attente ou de sorties de liste pour aggravation) : il est de 42% à 2 ans pour les sujets hyperimmunisés, contre 57% pour les non immunisés.

Développer des méthodes pour améliorer l'accès à la greffe de ces sujets hyperimmunisés est donc un enjeu crucial.

### **3. Améliorer l'accès à la greffe des sujets hyperimmunisés**

#### **i. Outils**

Une des solutions a été de définir une priorité nationale lorsqu'un greffon est complètement compatible (« full-match ») ou partiellement compatible (programme HAP : hyperimmunisé avec antigènes permis) avec un receveur hyperimmunisé.

Un autre moyen consiste, schématiquement, à supprimer les anticorps anti-HLA et ainsi « désimmuniser » le patient pour diminuer son TGI.

#### **ii. Les principes de la désensibilisation (ou « désimmunisation »)**

La base de la désensibilisation est de combiner des méthodes d'aphérèses (visant à éliminer les anticorps anti-HLA) à des traitements immunosuppresseurs et immunomodulateurs (visant à empêcher la production de ces anticorps).

Le principe de la plasmaphérèse est de séparer le plasma des éléments figurés du sang, puis : soit de soustraire ce plasma et de le remplacer par une solution d'albumine ou de plasma frais congelé (on parle « d'échange plasmatique »), soit de soumettre le plasma à un second traitement pour éliminer spécifiquement l'agent pathogène (en l'occurrence les immunoglobulines anti-HLA) et ensuite restituer le plasma dépourvu de cet agent au patient. Ce second traitement peut correspondre soit à une deuxième filtration (il s'agit de la DFPP pour « double-filtration plasmapheresis ») soit à une adsorption semi-spécifique (il s'agit de l'immunoabsorption). En DFPP, le choix du second filtre dépendra du poids moléculaire de la molécule à épurer. En immunoabsorption, la nature de la molécule à épurer déterminera le type de colonnes adsorbantes.

En ce qui concerne les thérapies immunosuppresseives et immunomodulatrices à adjoindre aux techniques d'aphérèses, plusieurs études ont conduit au développement des méthodes utilisées actuellement. Dans les premières études, les immunoglobulines polyvalentes

par voie intraveineuse (IgIV) seules semblaient accélérer l'accès à la greffe chez des patients hyperimmunisés en comparaison à un placebo (5), mais sur un faible effectif et à une époque où la définition de l'immunisation reposait sur le PRA (panel reactive antibody) et non sur la technique de référence actuelle (Luminex). Plus tard, Vo *et al.* ont mené un essai contrôlé, randomisé en double aveugle chez des patients hyperimmunisés (en attente de greffe rénale donneur décédé) comparant IgIV + placebo versus IgIV + rituximab (6). La fonction du greffon à 6 mois et 12 mois de la greffe était significativement meilleure dans le groupe rituximab, et les patients du groupe placebo ont présenté davantage d'évènements indésirables immunologiques (rejet humoral, rebond des anticorps) et de perte de greffon. De leur côté, Loupy *et al.* ont comparé deux protocoles de désensibilisation post-transplantation HLA-incompatible (à partir de donneurs décédés) chez des receveurs ayant un DSA au moment de la greffe mais un cross-match par microlymphocytotoxicité sur le sérum du jour de greffe négatif (7). En complément de l'immunosuppression de base, le premier groupe recevait uniquement des IgIV, et l'autre groupe des IgIV, du rituximab, et 9 séances de plasmaphérèse. A un an, la survie globale, la survie du greffon et l'incidence de rejet humoral aigu était comparable entre les deux groupes. En revanche, on observait dans le groupe IgIV seules un moindre débit de filtration glomérulaire (DFG), une protéinurie plus importante, une moindre baisse du taux de DSA et davantage de rejet humoral chronique.

C'est donc sur ces quelques études que repose le « standard of care » actuel de la désimmunisation associant d'une part l'immunosuppression habituelle (tacrolimus, acide mycophénolique et stéroïdes), des IgIV et du rituximab pour inhiber la synthèse des anticorps anti-HLA, et d'autre part des séances d'aphérèses (échange plasmatique, DFFP ou immunoadsorption) pour éliminer ces anticorps. L'annexe 1 représente le schéma de désimmunisation tel qu'il est pratiqué au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes (CHUGA).

### **iii. Résultats des protocoles de désensibilisation**

Historiquement, ces protocoles de désimmunisation ont été développés pour préparer des transplantations rénales avec un donneur vivant apparenté ABO-incompatible ou HLA-incompatible. Dans le cadre de la greffe avec donneur vivant apparenté, Montgomery *et al.* ont montré que les receveurs HLA incompatibles ayant bénéficié d'un protocole de désensibilisation et ayant reçu un greffon d'un donneur vivant ont une meilleure survie par rapport à ceux qui restent en dialyse ou finissent par obtenir un greffon compatible d'un donneur décédé (8). Les résultats de cette étude monocentrique ont été étayés par une étude multicentrique de plus grande envergure confirmant un bénéfice en matière de survie à 8 ans (9). Ces deux études concernaient la population américaine. Elles sont à nuancer avec les résultats d'une étude anglaise n'ayant pas montré d'avantage, en matière de survie, chez des patients hyperimmunisés ayant bénéficié d'une greffe (donneur vivant) HLA incompatible comparés à un groupe de patients restant en dialyse en attente d'un greffon compatible issu d'un donneur décédé (10). Cette différence entre études américaines et anglaises peut s'expliquer par la survie intrinsèquement moins bonne des sujets dialysés aux Etats-Unis par rapport aux sujets dialysés en Angleterre. En outre, les résultats de l'étude anglaise peuvent être interprétés sous deux angles différents : l'absence d'amélioration de la survie par la pratique des greffes HLA incompatibles, ou l'absence de surmortalité avec des protocoles de désimmunisation permettant d'améliorer l'accès à la greffe des sujets hyperimmunisés et donc, a priori, leur qualité de vie.

Les greffes HLA-incompatibles à partir de donneurs décédés sont moins pratiquées car plus difficiles à organiser : la date de la greffe n'étant pas programmable, le protocole de désensibilisation est plus difficile à organiser. Le devenir de ces greffes est donc, pour le moment, moins bien documenté.

#### iv. Limites du « standard of care » de la désensibilisation

Chez certains patients, ces protocoles de désensibilisation sont mis en échec et ne parviennent pas à diminuer suffisamment le taux d'anticorps anti-HLA pour autoriser la transplantation de greffons portant les spécificités HLA correspondantes.

Une des hypothèses pour expliquer cela est l'absence, avec les protocoles actuels, d'action sur les plasmocytes et notamment les plasmocytes mémoires. Avec le rituximab, cela peut paraître évident puisqu'il s'agit d'un anticorps monoclonal anti-CD20 et que ce marqueur CD20 n'est précisément plus exprimé par les plasmocytes. Ainsi, Perry *et al.* ont montré *in vitro* que le rituximab mais également les IgIV et les ATG (anti-thymocyte globulines) utilisés comme traitement d'induction à la greffe ne parvenaient ni à induire l'apoptose des plasmocytes ni à bloquer la production d'anticorps (11). En parallèle, Vo *et al.* ont montré que, dans leur cohorte de 600 patients hyperimmunisés ayant bénéficié d'un protocole de désensibilisation par IgIV + rituximab, l'échec de désimmunisation était plus fréquent chez les patients ayant un taux important de plasmocytes mémoires avec spécificités anti-HLA (12).

L'idée a alors germé d'utiliser des traitements permettant de mieux cibler les plasmocytes. En premier lieu et par analogie au traitement du myélome qui est précisément lié à une prolifération monoclonale de plasmocytes, le bortezomib a été étudié. *In vivo*, chez des primates hyperimmunisés, il permet une diminution du taux de cellules productrices d'anticorps et du taux de plasmocytes CD38<sup>+</sup> CD19<sup>+</sup> CD20<sup>-</sup> de la moelle osseuse, mais n'entraîne pas de diminution du taux de DSA (13). *In vivo*, chez des patients hyperimmunisés, le bortezomib permet dans certaines études de diminuer le taux de DSA mais sans parvenir à négativer le cross-match par microlymphocytotoxicité et donc sans améliorer l'accès à la greffe (14,15). Le bortezomib expose, par ailleurs, à des effets indésirables fréquents et ne s'est donc pas affirmé dans le domaine de la désimmunisation.

Trouver une molécule permettant de mieux cibler l'ensemble des facettes de la réponse immunitaire responsable de la production d'anticorps anti-HLA constitue donc un enjeu majeur pour pallier les carences d'efficacité des protocoles actuels de désensibilisation et améliorer ainsi l'accès à la greffe des sujets hyperimmunisés. Le tocilizumab (anticorps monoclonal anti-IL-6R) représente un candidat de choix par la place centrale qu'occupe l'IL-6 dans la régulation de la réponse immunitaire humorale et cellulaire.

#### **4. De la physiopathologie de l'IL-6 à l'intérêt pratique du tocilizumab**

##### **i. L'IL-6, une cytokine pléiotropique ayant de multiples applications thérapeutiques**

Nous verrons par la suite que l'IL-6 joue un rôle décisif dans la régulation de la réponse immunitaire humorale et cellulaire. D'ailleurs, si cette cytokine est désormais reconnue pour son caractère pléiotrope et la multitude de ses sites d'action, c'est bien sa capacité à induire la production d'anticorps par les lymphocytes B qui a amené à sa découverte en 1985 (16). Elle était d'ailleurs prénommée alors, BSF-2 (pour B-cell Stimulating Factor 2) ou BCDF (pour B-cell differentiation factor).

Connue comme protéine de l'inflammation, l'IL-6 va être libérée précocement par les monocytes et macrophages (mais également par les lymphocytes, les cellules endothéliales, les cellules dendritiques) suite à la reconnaissance, via leur TLR (Toll-like Receptor), de « signaux dangers » d'origine infectieuse (PAMP : pathogen-associated molecular patterns) ou non (DAMP : danger-associated molecular patterns). L'IL-6 va ensuite stimuler la production hépatocytaire des protéines de l'inflammation telles que CRP, SAA, haptoglobine, fibrinogène etc. Mais le rôle de l'IL-6 ne se résume pas à sa place dans la réaction inflammatoire. Il s'agit en effet d'une cytokine pléiotropique dont les sites d'action sont aussi nombreux que les champs

thérapeutiques possibles du tocilizumab (cf annexe 2) : impact sur l'hématopoïèse (anémie du syndrome inflammatoire), sur la différenciation des ostéoclastes (ostéoporose), sur la prolifération kératocytaire (psoriasis et atteintes cutanées de la sclérodermie) ou encore sur la régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire (17,18).

Le tocilizumab (TCZ) est un anticorps monoclonal dirigé spécifiquement contre le récepteur de l'IL-6, qu'il s'agisse de la forme membranaire ou soluble de ce récepteur. Initialement, il a obtenu l'AMM pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et de l'arthrite juvénile idiopathique systémique. Du fait de la multitude de sites d'action de l'IL-6 et d'un profil de tolérance favorable dans les premières cohortes rhumatologiques, le tocilizumab a été étudié dans de nombreuses autres indications au cours des 15 dernières années : maladie de Takayashu réfractaire (19,20), lupus érythémateux disséminé (21), artérite à cellules géantes (22,23), sclérodermie systémique (24,25), encéphalite auto-immune résistante au rituximab (26), neuromyélie optique récidivante (27), maladie du greffon contre l'hôte (acute Graft versus Host Disease) post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (28–30) et même plus récemment dans la pneumopathie à SARS-CoV2 (31).

## **ii. L'IL-6 en néphrologie**

Dans le domaine de la néphrologie, l'IL-6 a également été grandement étudiée (32). Ainsi, dans des modèles animaux, l'IL-6 est associée au développement et à la sévérité de néphropathies glomérulaires telles que la glomérulonéphrite mésangio-proliférative (en agissant comme facteur de croissance des cellules mésangiales) (33) ou la glomérulonéphrite lupique (34,35). Par ailleurs, l'IL-6 joue un rôle dans la progression de la maladie rénale chronique en augmentant la sensibilité des cellules tubulaires rénales à l'action pro-fibrosante du TGF- $\beta_2$  (36). Enfin, dans un contexte d'insuffisance rénale aiguë, une concentration sanguine élevée d'IL-6 serait un facteur de mauvais pronostic (37).

Par ailleurs, le rôle de l'IL-6 dans l'érythropoïèse est exploité dans la prise en charge de l'anémie chez l'insuffisant rénal chronique. En effet, l'IL-6 stimule la synthèse hépatique d'hepcidine qui va inhiber l'expression de ferroportine et ainsi entraîner une « séquestration » du fer à l'intérieur des macrophages et des entérocytes. Ce fer n'est donc plus disponible pour l'érythropoïèse (carence fonctionnelle) et cela favorise l'anémie. Ainsi, une étude récente, contrôlée (versus placebo), souligne l'intérêt d'un blocage de l'IL-6 par ziltivekimab pour diminuer les besoins en EPO chez les patients hémodialysés présentant une anémie réfractaire (38).

### **iii. L'IL-6 en transplantation rénale**

Nous allons voir que le rôle de l'IL-6 dans la genèse d'une réponse allo-immune explique l'intérêt potentiel des thérapies anti-IL-6 dans le domaine de la transplantation rénale, qu'il s'agisse de la prise en charge des rejets humoraux ou des protocoles de désimmunisation des sujets porteurs d'anticorps anti-HLA.

#### **IL-6 et réponse immunitaire adaptative **humorale** (réponse « B »)**

Tout d'abord, l'IL-6 joue un rôle dans la différenciation de la cellule B mature en cellule capable de sécréter des anticorps. En effet, l'IL-6 favorise la différenciation du LT CD4<sup>+</sup> en LT « follicular helper » qui va libérer l'IL-21 nécessaire à la différenciation de la cellule B mature en plasmocytes (18,39). Il a d'ailleurs été démontré que les plasmablastes ont une capacité importante à produire de l'IL-6 et ainsi à engendrer de nombreux LT follicular helper, et que les taux circulants de ces deux populations cellulaires étaient non seulement plus élevés chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde qu'en population générale, mais également plus bas après mise sous Tocilizumab (40). Donc, l'acquisition par la cellule B mature de la capacité à produire des anticorps (i.e. la différenciation en plasmocytes) est sous la dépendance de l'IL-6. Ce concept est par ailleurs soutenu par des études menées chez des souris mutées n'exprimant

pas le gène de l'IL-6 et chez qui on constate une nette diminution de la réponse immunitaire B avec notamment une baisse des IgG1, IgG2a et IgG3 (41).

De plus, l'IL-6 joue un rôle dans la génération et la régulation des cellules B mémoires. En effet, le blocage de l'IL-6 par le tocilizumab chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde est associé à une diminution significative des cellules B mémoires pré-switch (IgM<sup>+</sup>) et post-switch (IgG<sup>+</sup>) (42,43).

Enfin, il a été montré *in vivo* chez la souris que l'IL-6 participait à la survie des plasmocytes de longue durée de vie nichés dans la moelle osseuse (44).

Il apparaît donc clair que cette cytokine occupe une place déterminante dans la réponse immunitaire humorale. Son rôle dans la régulation du versant cellulaire de la réponse immunitaire adaptative est également fondamental.

#### IL-6 et réponse immunitaire adaptative **cellulaire** (réponse « T »)

Nous savons qu'il existe plusieurs phénotypes de lymphocytes T (LT) CD4<sup>+</sup> (aussi appelés LT « helper ») : Th1, Th2, Th17, Treg. La différenciation d'un LT CD4<sup>+</sup> naïf en l'un ou l'autre de ces effecteurs, qui auront chacun un rôle différent, dépend notamment de l'environnement cytokinique : l'IL-12 oriente vers un profil Th1 ; l'IL-4 oriente vers un profil Th2 ; le TGF- $\beta$  oriente vers un profil Treg (cellules T régulatrices) ; l'association TGF- $\beta$  et IL-6 oriente vers un profil Th-17 (45). Il a par ailleurs été montré que l'orientation vers Th17 ou Treg était « mutuellement exclusive » : la génération de Treg nécessite la présence exclusive de TGF- $\beta$ , alors que la présence d'IL-6 (en association avec le TGF- $\beta$ ) orientera vers un profil Th17 tout en empêchant la différenciation en Treg (46). Or, si les Treg induisent une immunotolérance et diminuent les réponses auto-immunes et allo-immunes, les Th17 sont quant à eux associés au développement des maladies auto-immunes et inflammatoires chroniques, et semblent

également impliqués dans la physiopathologie des rejets en transplantation d'organe, notamment les rejets aigus cellulaires en transplantation rénale et du rejet chronique en transplantation cardiaque (45,47,48).

En outre, la différenciation du LT CD8<sup>+</sup> en LT cytotoxique est également favorisée par l'IL-6 (49,50). Enfin, il a également été démontré l'importance de l'IL-6 dans la différenciation et la survie des cellules T mémoires de longue durée de vie (long-term memory T-cells) (51).

Le rôle déterminant de l'IL-6 dans la réponse immunitaire adaptative à la fois sur le versant humoral et sur le versant cellulaire ouvre donc la voie à de potentielles applications thérapeutiques du tocilizumab dans le domaine de l'allo-immunité en transplantation rénale.

#### Application pratiques de l'IL-6 et de son blocage en transplantation rénale

Tout d'abord, en matière diagnostique et pronostique, Casiraghi *et al.* ont constaté un taux sanguin et urinaire d'IL-6 plus élevé chez des sujets présentant des rejets aigus cellulaires par rapport à des sujets sains (52). En outre, on constate chez ces mêmes sujets une expression augmentée de transcrits d'ARN messager d'IL-6 dans la biopsie du greffon (53).

Ensuite, en matière d'application thérapeutique, le tocilizumab a d'abord été étudié dans les rejets humoraux. Le rejet humoral chronique actif (chronic active antibody-mediated rejection cAMR) est un enjeu thérapeutique majeur en transplantation rénale car il constitue l'une des principales causes de perte de greffon. Aucun traitement n'est validé, mais il peut être proposé des protocoles à base d'IgIV et de rituximab (+/- plasmaphérèse) pour agir sur la réponse immunitaire humorale. S'il s'agit actuellement du « standard of care » (SOC), les résultats sont souvent décevants. Choi *et al.* ont utilisé le tocilizumab chez 36 patients atteints de cAMR ayant échappé au SOC et ont obtenu des résultats encourageants : 80% de survie de greffon et 91% de survie globale à 6 ans, associé à une diminution des DSA et à une fonction rénale stable à 2 ans (54). Ces données sont à nuancer avec les résultats d'une série de 9 patients avec un cAMR

résistant au SOC et traités par tocilizumab : en comparaison à une cohorte historique sous SOC seul, le tocilizumab n'apporte pas d'amélioration significative sur la fonction du greffon et sur les lésions histologiques (55). Pour savoir si l'effet potentiellement bénéfique du tocilizumab décrit par Choi *et al.* nécessite l'exposition préalable aux autres thérapies immunosuppressives, Lavacca *et al.* ont utilisé le tocilizumab en 1<sup>ère</sup> intention chez 15 patients transplantés rénaux présentant un cAMR déjà sérieux (60% avec glomérulopathie du transplant classée cg3 selon BANFF) avec des résultats satisfaisants : stabilité de la fonction rénale et de la protéinurie (sur une durée de suivi de 20.7 mois), diminution significative du taux de DSA, amélioration des lésions d'inflammation microvasculaire (sur la biopsie à 6 mois) et stabilité des autres lésions histologiques (56). A noter que les données concernant l'utilisation du tocilizumab dans le traitement du rejet humoral aigu (acute active AMR) sont plus limitées (57).

En parallèle, Chandran *et al.* ont réalisé une étude contrôlée, randomisée, incluant 30 patients transplantés rénaux avec une fonction du greffon stable, présentant une inflammation infraclinique définie histologiquement (sur une biopsie systématique) par une inflammation interstitielle modérée (BANFF i ou ti 1-2 et t0) (58). Les sujets ont été randomisés entre un groupe traitement (tocilizumab tous les mois, 6 injections) et un groupe placebo. Les auteurs ont ainsi montré une diminution significative de l'inflammation interstitielle chez 62.5% des sujets sous tocilizumab, versus 21.4% dans le groupe témoin ( $p=0.03$ ), associée à une augmentation du taux de cellules T régulatrices Treg. D'après cette étude, le tocilizumab pourrait donc avoir un intérêt dès les stades précoces d'inflammation du greffon et avant même le stade de rejet.

Enfin, il existe peu d'études concernant l'utilisation du TCZ dans les protocoles de désimmunisation chez des patients hyperimmunisés en attente de transplantation rénale. Une étude *in vivo* menée chez des souris sensibilisées par une greffe de peau HLA-incompatible (HLA-A2) suggère que le TCZ permet non seulement une diminution du taux d'anticorps anti-

HLA-A2 mais également du nombre de plasmocytes (produisant ces anticorps) dans la moelle osseuse et dans la rate (59,60). Chez l'homme, Vo *et al.* ont testé le TCZ comme traitement de désensibilisation de 2<sup>ème</sup> ligne chez 10 patients hyperimmunisés chez qui le protocole classique de désensibilisation (IgIV + rituximab +/- échanges plasmatiques) avait échoué ( au moins à 2 reprises) (12). Le profil de sécurité (critère de jugement principal) du traitement s'est avéré favorable, et 5 patients sur 10 ont pu être greffés après un délai moyen de 8.1 mois (alors qu'il s'était écoulé 25 mois depuis la première tentative de désensibilisation). Il n'y avait pas de rejet humoral à la biopsie systématique à 6 mois ni de développement de DSA, mais il existait un rejet humoral à 12 mois chez un seul patient ayant bien répondu au traitement. En somme, cette étude menée sur un petit effectif suggère l'intérêt d'adjoindre le tocilizumab au protocole de désimmunisation standard chez les patients hyperimmunisés les plus difficiles à désensibiliser. A notre connaissance, aucune étude ne s'est intéressée à l'utilisation du tocilizumab seul et en l'absence d'autre traitement comme méthode de désensibilisation.

Ainsi, l'objectif de l'étude que nous allons présenter en deuxième partie est d'évaluer l'efficacité du tocilizumab comme traitement de 1<sup>ère</sup> ligne pour diminuer le taux d'anticorps anti-HLA de patients hyperimmunisés afin d'améliorer l'accès à la greffe.

## **II- Matériel et Méthodes**

### **1. Population et design de l'étude**

Cette étude prospective, monocentrique, non contrôlée a été menée au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes (CHUGA) entre 2016 et 2020. Les critères d'inclusion étaient : âge > 18 ans ; inscription en file active sur la liste nationale d'attente pour un greffon rénal ; hyperimmunisé (TGI historique  $\geq 85\%$ ) ; au moins un anticorps anti-HLA avec une MFI > 10 000 (détecté par technique Luminex). Il s'agissait, pour l'ensemble des patients de la première tentative de désensibilisation, toutes méthodes confondues et aucun n'avait de traitement immunosuppresseur au moment de l'inclusion. Tous les patients ont reçu une information sur le protocole de l'étude et ont signé un consentement écrit.

### **2. Procédure thérapeutique et suivi des patients**

Le TCZ était administré selon son AMM rhumatologique : toutes les 4 semaines, à la dose de 8 mg/kg, par perfusion intraveineuse sur 30 minutes. Tous les sujets étant traités par hémodialyse, la perfusion était réalisée en fin de séance dans le service d'hémodialyse du CHUGA (les autres séances d'hémodialyse étant réalisées dans le centre habituel du patient). Le nombre minimum d'injections a été préalablement et arbitrairement fixé à 6. Au terme de ces 6 injections, si un ou plusieurs anticorps anti-HLA gardaient une MFI > 3000, il était proposé (à la discrétion du clinicien) soit de poursuivre le TCZ soit de débiter un protocole standard de désimmunisation.

Une prophylaxie anti-infectieuse était systématiquement associée au traitement (sulfaméthoxazole-triméthoprime 400/80mg 3 fois par semaine ; oracilline 1 000 000 unités 2 fois par jour).

Le suivi clinique et biologique des patients était donc réalisé mensuellement à l'occasion de chaque injection, avec dosage systématique des marqueurs inflammatoires (CRP, ferritine,

vitamine B12), de la numération formule sanguine, du bilan hépatique et des IgG, IgA et IgM. Pour évaluer le risque infectieux, une PCR CMV était également réalisée. Entre chaque injection, les patients étaient suivis dans leur centre de dialyse habituel (la plupart en centre lourd) et le recueil d'évènements indésirables était donc possible via leur néphrologue référent.

Le suivi des patients a été étendu au-delà de la période de traitement par TCZ et jusqu'à fin août 2020.

### **3. Méthode de recherche des anticorps anti-HLA**

#### **i. Principes de la méthode Luminex**

Actuellement, la technique de détection des anticorps anti-HLA par lymphocytotoxicité complément-dépendante (LCT) est remplacée par la technique Luminex qui est désormais la méthode de référence. Cette dernière repose sur l'utilisation de billes en polystyrène exprimant une ou plusieurs molécules HLA et émettant une fluorescence spécifique permettant de les identifier. Chaque bille peut porter plusieurs spécificités HLA différentes (pour la première phase du test correspondant au dépistage) ou bien une seule et même spécificité HLA (pour la deuxième phase du test correspondant à l'identification). En outre, chaque bille est identifiable par un ratio unique de fluorescence.

Les billes sont incubées avec le sérum du sujet puis lavées (afin d'éliminer les anticorps qui ne se sont pas fixés sur les billes). Elles sont ensuite incubées avec un anticorps anti-IgG humaines qui va se lier aux anticorps anti-HLA qui se sont fixés sur les billes. Cet anticorps anti-IgG humaines est couplé à la phycoérythrine. Enfin, chaque bille passe l'une après l'autre dans un tunnel de fluorescence où elles vont être successivement exposées à un laser rouge puis un laser vert interagissant avec la phycoérythrine. L'excitation par le laser rouge permet d'identifier le spectre d'émission de la bille et ainsi d'identifier les spécificités HLA contre lesquelles le sujet a développé des anticorps. L'excitation par le laser vert produit une « quantité

de fluorescence » (MFI : mean fluorescence intensity) qui est proportionnelle à la quantité d'anticorps liés à la bille.

La méthode Luminex s'effectue généralement en deux temps. Un premier temps de dépistage où chaque bille porte plusieurs antigènes HLA. L'ensemble des billes est censé représenter l'ensemble des antigènes HLA d'intérêt. Si le dépistage est positif, cela signifie que le sujet a des anticorps anti-HLA mais sans pouvoir en déterminer la nature. Il faut donc réaliser le deuxième temps qui correspond à l'identification par la technique du Single Antigen (Luminex Single Antigen - LSA) : chaque bille porte un unique antigène HLA. Au terme de ces deux phases, il est donc possible de connaître pour un sujet donné : le nombre d'anticorps anti-HLA, la spécificité antigénique reconnue par chacun des anticorps et la « quantité » d'anticorps représentée par leur MFI. L'ensemble reflète le niveau d'immunisation du sujet.

A noter que, d'après les dernières recommandations (*à paraître*) élaborées conjointement par la Société Française de Transplantation (SFT) et la Société Francophone d'Histocompatibilité et d'Immunogénétique (SFHI), la recherche d'anticorps anti-HLA chez les sujets inscrits sur liste nationale d'attente pour un greffon rénal doit être réalisée de la façon suivante.

- lors de l'inscription sur liste : dépistage Luminex et identification par Luminex Single Antigen quel que soit le résultat du dépistage ;
- patient non immunisé : dépistage Luminex tous les 6 mois (Luminex Single Antigen tous les ans facultatifs) ;
- patient immunisé : dépistage Luminex deux fois par an en alternance avec Luminex Single Antigen deux fois par an ;
- patient hyperimmunisé : Luminex Single Antigen tous les 3 mois.

Il est également recommandé de réaliser un Luminex Single Antigen après tout évènement à risque d'immunisation : 1 mois après une transfusion sanguine, 3 mois après un accouchement ou une fausse couche.

Ainsi, dans la mesure où les patients inclus dans notre étude étaient tous des patients dont le caractère hyperimmunisé était connu antérieurement à leur inclusion, seule la technique d'indentification Luminex Single Antigen était réalisée (à l'inclusion, lors de la dernière injection de TCZ et 4 semaines après la dernière injection). La réalisation pratique de la phase de dépistage ne sera donc pas détaillée.

## **ii. Luminex Single Antigen (LSA) : réalisation en pratique**

Après prélèvement de sang total dans un tube sec, celui-ci est laissé à température ambiante pendant au moins 30 minutes pour permettre une coagulation complète. Après centrifugation, le coagulum se sépare en une phase solide (agrégat de fibrine et de cellules sanguines) et une phase liquide : le sérum. Ce sérum est ensuite confié au laboratoire HLA de l'Etablissement Français du Sang (site de Grenoble – La Tronche) utilisant le kit Immucor®. Au laboratoire HLA, le sérum est une nouvelle fois décanté, vortexé pendant 30 secondes puis centrifugé à grande vitesse pendant 5 minutes afin d'éliminer les éventuels agrégats.

La réalisation de la technique se fait ensuite dans cet ordre :

- préparation de la plaque à puits : lavage avec 100 à 300 µL d'eau distillée puis aspiration à l'aide du laveur de plaque ;
- préparation des billes : centrifugation brève puis passage au vortex pendant 1 minute pour bien uniformiser la suspension ;
- distribution dans chaque puits de 30 µL de billes vortexées avec 8 µL de sérum ;
- incubation pendant 30 minutes sous agitation (entre 300 et 600 tours/minute) à température ambiante et à l'abri de la lumière ;

- ajout dans chaque puits de 36  $\mu$ L de tampon de lavage et de 4  $\mu$ L de conjugué (contenant les anticorps anti-IgG humaines couplés à la phycoérythrine) ;
- lavage de la plaque : ajout de 100  $\mu$ L de tampon de lavage par puits et aspiration ; puis ajout de 250  $\mu$ L de tampon de lavage par puits et aspiration (répété deux fois) ;
- ajout de 40  $\mu$ L de conjugué dans chaque puits puis incubation pendant 30 minutes sous agitation (entre 300 et 600 tours/minute) à température ambiante et à l'abri de la lumière ;
- ajout de 150  $\mu$ L de tampon de lavage dans chaque puits ;
- lecture de la plaque par Luminex.

Les résultats du Luminex Single Antigen (Immucor ®) sont ensuite interprétés à l'aide du logiciel Match It®.

### **iii. Luminex Single Antigen : critères d'interprétabilité**

Avant d'exploiter les résultats d'un LSA, il faut s'assurer que le test est interprétable. Un test LSA sera interprétable si :

- le nombre de billes comptées par population de billes (bead count) est supérieur à 50. Une population de billes correspond à l'ensemble des billes portant le même antigène HLA. Autrement dit, un antigène HLA est bien exprimé par une seule et même population de billes (identifiable par son ratio unique de fluorescence), et cette population comprend plusieurs dizaines de billes pour augmenter la sensibilité de la technique ;
- la MFI de la bille contrôle négatif (« negative control » ; NC) est inférieure à 500 ;
- la MFI de la bille contrôle positif (« positive control » ; PC) est supérieure à 5000 ;
- le ratio de MFI PC / NC est supérieur à 2.

Par ailleurs, pour chaque plaque est réalisé un Contrôle Interne Qualité (CIQ). Ce CIQ est un témoin positif présentant un profil d'immunisation spécifique et connu au préalable. Ainsi, la MFI de chaque bille de ce CIQ doit être contenue dans des limites acceptables (moyenne calculée à partir des 10 premiers tests +/- 2 écarts types) fixées au préalable lors de la validation de chaque lot.

En somme, le test LSA sera interprétable si toutes les conditions suivantes sont remplies :

- bead count > 50 ;
- MFI du contrôle négatif < 500 ;
- MFI du contrôle positif > 5000 ;
- rapport MFI PC / NC > 2 ;
- MFI du CIQ dans les limites acceptables fixées au préalable lors de la validation initiale de chaque lot.

#### **iv. Luminex Single Antigen : interprétation**

En cas de positivité du LSA – i.e. en présence d'un anticorps anti-HLA fixé sur l'une des billes, le logiciel Match It ® va fournir les informations suivantes :

- antigen ID : identification de la spécificité HLA reconnue par l'anticorps ;
- raw value : valeur brute de MFI de l'anticorps anti-HLA correspondant ;
- MFI/LRA : valeur de MFI ajustée au bruit de fond ;
- cut off : seuil au-delà duquel le rapport MFI/LRA est considéré comme positif.

Ainsi, le logiciel rendra un résultat positif si la raw value est supérieure à 500 et que le rapport MFI/LRA est supérieur au cut-off fixé préalablement par le fournisseur.

Toutefois, les seuils cliniques de positivité sont un peu différents. On admet qu'un anticorps anti-HLA avec une MFI < 500 est considéré comme négatif. Ainsi, la spécificité HLA

correspondante sera renseignée sur CRISTAL (logiciel de l'ABM) dans la rubrique « antigène permis » et ne sera pas bloquante pour l'attribution d'un greffon. Entre 500 et 1000 de MFI, il s'agit d'une zone grise. Au-delà de 2000 de MFI, la spécificité HLA correspondante est renseignée dans CRISTAL comme un antigène interdit, et empêchera donc l'allocation d'un greffon rénal exprimant cet antigène HLA.

#### **v. Luminex Single Antigen : effet prozone**

L'effet prozone est une interférence négative liée au complément. Lorsque le titre d'anticorps anti-HLA est élevé et qu'une quantité importante d'anticorps se fixe sur les billes correspondantes, il existe à la surface des billes une accumulation de produit d'activation du complément. Cela gêne la fixation de l'anticorps secondaire (anti-IgG humaines) porteur du composé fluorescent et celui-ci sera donc présent en quantité moindre. La conséquence est donc une sous-estimation de la MFI alors qu'il s'agit précisément d'une situation où le titre d'anticorps est élevé.

Plusieurs méthodes permettent de s'affranchir de cet effet prozone. Dans notre étude, nous avons utilisé la méthode de dilution. Chaque sérum était dilué (dans un premier temps au 1/5<sup>ème</sup>) : si la MFI de l'anticorps est divisée par 5, alors il n'y a pas d'effet prozone ; si la MFI obtenue est supérieure à la valeur attendue après une division par le facteur 5 voire supérieure à la MFI avant dilution, alors il existe un effet prozone.

### **4. Critères de jugements**

#### **i. Critère de jugement principal**

Le critère de jugement principal est la baisse de la MFI de l'anticorps anti-HLA immunodominant entre le début (pré-TCZ = première injection de TCZ) et la fin du traitement (post-TCZ = dernière injection de TCZ). Nous avons effectué une analyse supplémentaire au moins 3 semaines après la fin du TCZ pour les 5 patients pour lesquels aucune procédure

immunosuppressive n'avait été entreprise entre la fin du TCZ et ce délai de 3 semaines (+3Weeks post-TCZ). En effet, dans les autres cas, des évènements immunologiques marquants (séances d'immunoabsorption, transplantation) sont survenus dans cet intervalle et auraient donc interféré avec le TCZ dans l'analyse de la MFI des anticorps anti-HLA.

Chez les patients antérieurement greffés, l'anticorps immunodominant est celui ayant la MFI la plus élevée *parmi* les anticorps dirigés contre un antigène HLA exprimé par le donneur de la greffe précédente. Autrement dit, si un anticorps anti-HLA a une MFI plus élevée mais qu'il n'est pas exprimé par le donneur précédent, i.e. qu'il n'a pas été développé *directement* lors de la transplantation précédente, il n'est pas considéré comme l'anticorps immunodominant.

Chez les patientes n'ayant jamais été greffées et s'étant immunisées lors d'une grossesse, l'anticorps immunodominant correspond à l'anticorps anti-HLA ayant la MFI la plus élevée *parmi* les anticorps dirigés contre un antigène HLA du père. Dans la mesure où la seule patiente dans cette situation était initialement candidate à recevoir le rein du père de ses enfants, le typage HLA de ce dernier était en effet disponible.

Chez les patients n'ayant jamais été greffés et s'étant immunisés au décours d'une transfusion, l'anticorps immunodominant correspond, par défaut, à l'anticorps anti-HLA ayant la MFI la plus élevée.

Pour chaque sujet, ont ainsi été définis un anticorps immunodominant parmi les anti-HLA de classe I et un anticorps immunodominant parmi les anti-HLA de classe II. La MFI retenue pour chaque anticorps immunodominant est la MFI obtenue à partir du sérum non dilué en l'absence d'effet prozone, et à partir du sérum dilué dans le cas contraire. Au sein du groupe effet prozone, le facteur dilution a pu être différent d'un sujet à l'autre. Mais chez un même sujet, le même facteur de dilution a été conservé entre les trois prélèvements (pré-TCZ, post-TCZ, +3Weeks post-TCZ), chaque sujet pouvant ainsi être pris comme son propre témoin.

## **ii. Critères de jugement secondaires**

Le premier critère de jugement secondaire est l'évolution de la moyenne de MFI de tous les anticorps anti-HLA ayant une MFI > 2000 (en classe I d'une part et en classe II d'autre part) entre le début (pré-TCZ = première injection de TCZ) et la fin du traitement par TCZ (post-TCZ = dernière injection de TCZ).

Le deuxième critère de jugement secondaire est l'évolution du nombre d'anticorps anti-HLA avec une MFI  $\geq$  10 000 entre le début et la fin du traitement par TCZ.

Comme pour le critère de jugement principal, nous avons effectué une analyse supplémentaire 3 semaines après la fin du TCZ pour les 5 patients pour lesquels aucune procédure immunosuppressive n'avait été entreprise entre la fin du TCZ et ce délai de 3 semaines.

En revanche, à la différence du critère de jugement principal, ces deux critères de jugement secondaires (moyenne de MFI de tous les anticorps anti-HLA ayant une MFI > 2000 et nombre d'anticorps anti-HLA ayant une MFI  $\geq$  10 000) ont été définis sur sérum *non* dilué.

## **iii. Sécurité**

Les évènements indésirables survenus au cours du traitement par TCZ ont été recueillis de façon prospective pendant la durée du traitement par tocilizumab et jusqu'à 1 mois après la fin du traitement. Pour augmenter la sensibilité de ce recueil, nous avons réalisé en complément et de façon rétrospective une revue systématique et exhaustive des comptes rendus de consultation et d'hospitalisation pour la période donnée, ainsi que de chacune des fiches des séances d'hémodialyse à la fin desquelles était administré le TCZ. Les évènements indésirables ont été classés par catégories (infectieux, hématologique, hémorragique, hépatique), et par gravité. Un effet indésirable est considéré comme grave selon la définition du code de la santé publique s'il conduit au décès, met en jeu le pronostic vital ou entraîne un déficit fonctionnel permanent.

## 5. Analyse statistique

Pour l'analyse du critère de jugement principal, les sérums pour lesquels il existait un effet prozone ont été analysés séparément. En effet, ces sérums ayant été dilués pour démasquer cet effet prozone, la MFI des anticorps anti-HLA ne peut pas être comparée avec la MFI des sérums non dilués. Au sein du groupe effet prozone, le facteur de dilution a pu être différent d'un sujet à l'autre. Mais chez un même sujet, le même facteur de dilution a été conservé entre les trois prélèvements (pre-TCZ ; post-TCZ ; +3Weeks post-TCZ) autorisant donc la comparaison, chaque sujet étant son propre témoin.

Un test de shapiro wilk et un test d'égalité des variances ont été réalisés confirmant que la distribution des MFI des anticorps immunodominants ne suivait pas une loi normale. Ainsi, la comparaison de la moyenne des MFI des anticorps immunodominants (en classe I d'une part et en classe II d'autre part) entre pre-TCZ et post-TCZ (puis entre pre-TCZ et +3Weeks post-TCZ) a été réalisée à l'aide d'un test de Wilcoxon pairé. La différence était considérée comme statistiquement significative lorsque  $p < 0.05$ .

Pour les critères de jugement secondaires (évolution de la moyenne de MFI de tous les anticorps anti-HLA avec une MFI > 2000 ; évolution du nombre d'anticorps anti-HLA avec une MFI  $\geq 10\ 000$ ), les mêmes étapes ont été réalisées : test de normalité (Shapiro-Wilk et égalité des variances) confirmant la distribution non normale des valeurs puis comparaison des valeurs (entre pre-TCZ et post-TCZ puis entre pre-TCZ et +3Weeks post-TCZ) à l'aide d'un test de Wilcoxon pairé.

Ces analyses statistiques ont été pratiquées à l'aide de RStudio V1.2 et R V3.6.2.

### **III- Résultats**

#### **1. Caractéristiques de la population**

Quatorze patients ont été inclus dans l'étude (cf. Tableau 1) dont 5 femmes (36%) et seulement 2 patients diabétiques (14%). Au premier TCZ, l'âge moyen était de 50.1 ans. La durée moyenne en dialyse était de 168.8 mois et le temps moyen d'attente sur liste depuis la dernière inscription était de 88.4 mois. Le TGI historique moyen était de 90%. Trois patients avaient un TGI inférieur à 85%. Tous avaient reçu au moins une transplantation rénale antérieure à l'origine de leur immunisation, sauf 2 patients : une patiente immunisée au décours d'une grossesse ; un patient immunisé au décours de transfusions sanguines itératives. Parmi les 12 patients immunisés au décours d'une greffe antérieure, 7 patients avaient bénéficié d'au moins une transplantectomie dont 5 n'avaient plus aucun greffon en place. Dans le sous-groupe de patients chez qui la MFI des anticorps anti-HLA au moins 3 semaines après le dernier TCZ était interprétable, cette mesure a été réalisée en moyenne 38 jours (+/- 24) après le dernier TCZ, soit un délai médian de 28 jours.

Concernant la néphropathie initiale :

- 8 néphropathies glomérulaires (2 Hialynoses Segmentaires et focales ; 2 maladies de Berger ; une glomérulonéphrite extra-membraneuse ; 1 syndrome d'Alport ; 1 néphropathie glomérulaire chronique indéterminée ; 1 glomérulonéphrite membrano-proliférative post-infectieuse) ;
- 1 néphroangiosclérose ;
- 1 syndrome hémolytique et urémique atypique ;
- 2 néphropathies héréditaires (1 syndrome CAKUT ; 1 syndrome d'Hallerman-Steiff) ;
- 1 néphropathie de reflux ;
- 1 néphropathies indéterminées.

Lors de l'initiation du TCZ, les patients n'étaient globalement pas inflammatoires (CRP moyenne 7.5 mg/L (+/- 9) ; ferritine moyenne 374 µg/L ; vitamine B12 moyenne 669 pg/mL). Leur statut nutritionnel était correct : IMC moyen 24 kg/m<sup>2</sup> (17.44 – 32), albuminémie 41.3 g/L (35 – 47).

En moyenne, les patients ont reçu 7.6 (4-12) injections de tocilizumab.

**Tableau 1** : Caractéristiques démographiques et immunologiques des patients à l'inclusion.

<b>Total</b>	<b>16 patients</b>
Femmes	6 (37.5%)
Age (années)	50.1 (+/- 14.2)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24 (+/- 4.1)
Poids (kg)	67.8 (+/- 15)
Diabète	2 (14%)
Néphropathie initiale	
- Glomérulaire	8 (57 %)
- Vasculaire	2 (14.5 %)
- Hériditaire	2 (14.5 %)
- Reflux	1 (7 %)
- Indéterminée	1 (7 %)

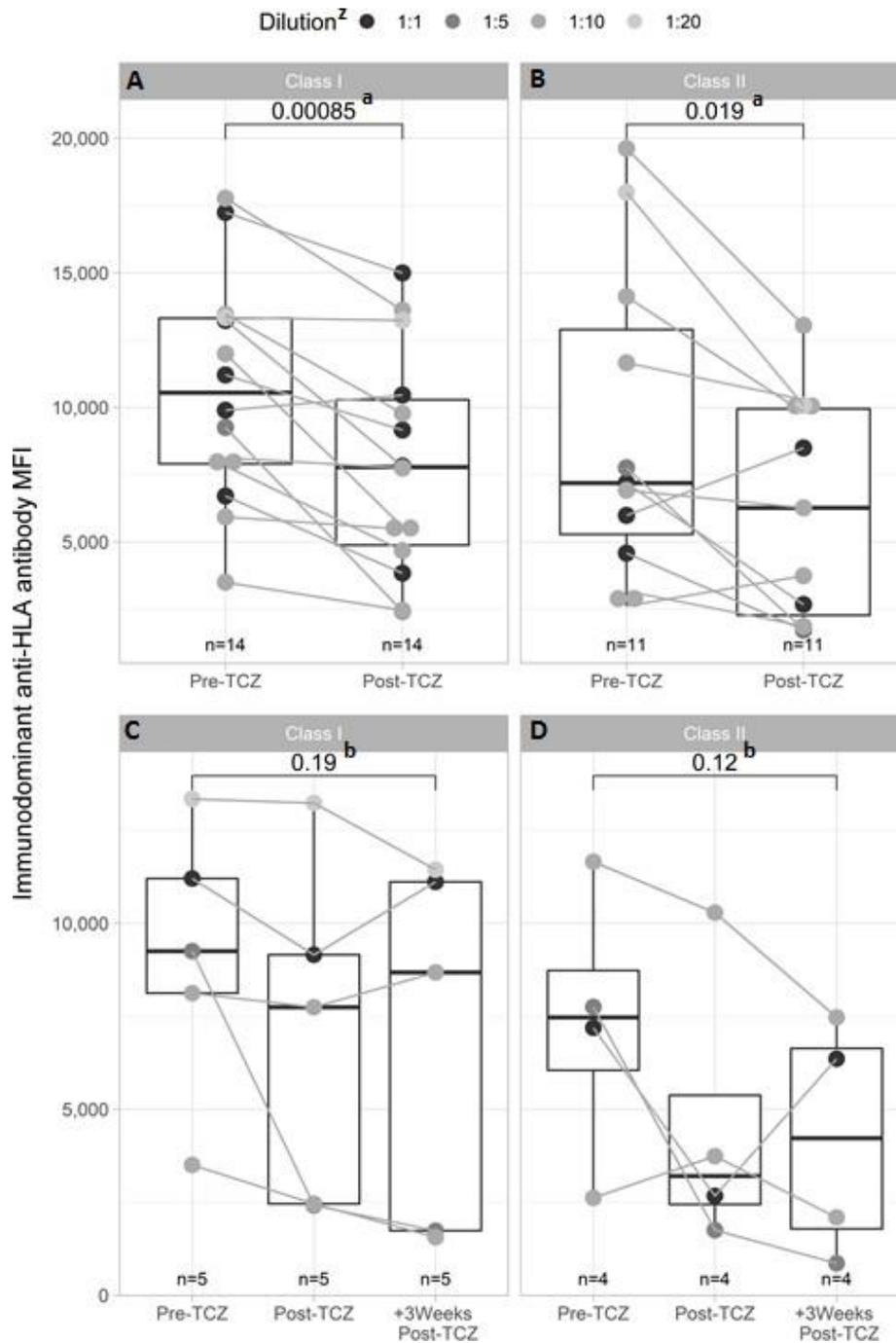
Groupe sanguin	
- A	4 (28.6 %)
- AB	2 (14.2 %)
- B	4 (28.6 %)
- O	4 (28.6 %)
Temps total passé en dialyse (mois)	168.8 (+/- 97.1)
Temps d'attente sur liste depuis la dernière inscription (mois)	88.4 (+/- 52.1)
TGI	90 % (+/- 16.2)
Source de l'immunisation anti-HLA	
- Transplantation rénale	12 (86 %)
- Grossesse	1 (7 %)
- Transfusion	1 (7 %)
Anticorps anti-HLA classe I	
- Nombre d'anticorps avec MFI > 2000	40 (+/- 21)
- Nombre d'anticorps avec MFI > 10000	22.4 (+/- 20.6)
- MFI médiane	8898 (+/- 4785)
- MFI moyenne	8889 (+/- 3698)

Anticorps anti-HLA classe II	
- Nombre d'anticorps avec MFI > 2000	31.9 (+/- 12.5)
- Nombre d'anticorps avec MFI > 10000	17.1 (+/- 10.1)
- MFI médiane	6932 (+/- 3274)
- MFI moyenne	7333 (+/- 2487)

## 2. **Critère de jugement principal**

Entre le début (pré-TCZ = première injection de TCZ) et la fin du traitement (post-TCZ = dernière injection de TCZ), il existe une baisse statistiquement significative de la MFI de l'anticorps anti-HLA immunodominant en classe I (7780 vs 10548 ;  $p = 0.00085$ ) et en classe II (6267 vs 7191  $p = 0.019$ ). Toutefois, la MFI de l'anticorps anti-HLA immunodominant reste supérieure à 3000 pour 12 patients sur 14 en classe I (86%), et pour 7 patients sur 11 en classe II (64%) (cf. Figure 1).

Dans le sous-groupe des patients ( $n=5$ ) pour lesquels aucune procédure immunosuppressive n'avait été entreprise entre la fin du TCZ et un délai de 3 semaines, la baisse de la MFI de l'anticorps immunodominant entre le début du TCZ et ce délai de 3 semaines post-dernière injection n'atteint pas le seuil de significativité statistique ni en classe I (8693 vs 9253 ;  $p = 0.19$ ) ni en classe II (4662 vs 7472 ;  $p = 0.12$ ).



**Figure 1** : Evolution de la MFI de l'anticorps anti-HLA immunodominant (i.e. l'anticorps anti-HLA ayant la MFI la plus élevée parmi les anticorps ciblant spécifiquement la source de l'immunisation (transplantation antérieure, grossesse) en classe I (A) et classe II (B) pour tous les sujets ; et en classe I (C) et classe II (D) dans le sous-groupe des sujets chez qui la MFI à 3 semaines de la dernière injection de TCZ (+3Weeks post-TCZ) était interprétable.

<sup>a</sup> p-value du test de wilcoxon païré utilisé pour comparer les moyennes de MFI entre le début (pre-TCZ) et la fin du traitement (post-TCZ) ;

<sup>b</sup> p-value du test de wilcoxon pairé utilisé pour comparer les moyennes de MFI entre le début (pre-TCZ) et 3 semaines après la dernière injection (+3Weeks post-TCZ) ;

<sup>z</sup> Facteur de dilution utilisé lorsqu'il existait un effet prozone.

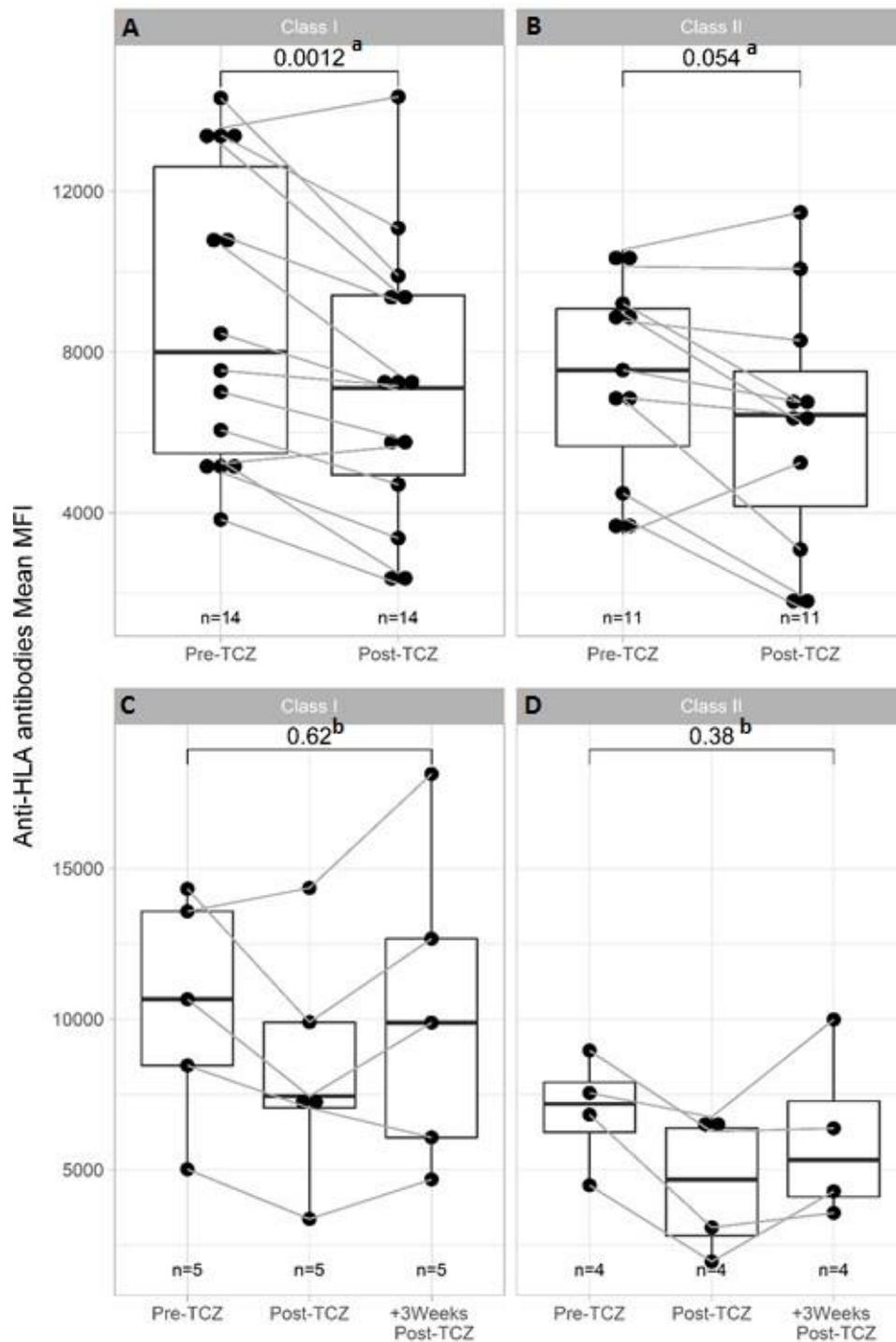
### **3. Critères de jugements secondaires**

Concernant la moyenne de MFI de l'ensemble des anticorps anti-HLA ayant une MFI > 2000, il existe une diminution statistiquement significative entre le début et la fin du traitement par TCZ en classe I (7102 vs 7999 ; p = 0.012) et à la limite de la significativité en classe II (6433 vs 7548 ; p = 0.054) (cf. Figure 2).

De la même manière que pour le critère de jugement principal, la diminution de la moyenne de MFI entre le début du traitement et 3 semaines après la dernière injection (dans le sous-groupe de patients pour qui cette mesure est interprétable) n'atteint pas le seuil de significativité ni en classe I (10656 vs 9880 ; p = 0.62) ni en classe II (5330 vs 7187 ; p = 0.38) (cf. Figure 2).

Concernant le nombre d'anticorps anti-HLA avec une MFI  $\geq$  10 000, il existe une diminution statistiquement significative entre le début et la fin du traitement par TCZ à la fois en classe I (14 vs 18 ; p = 0.0059) et en classe II (13 vs 19 ; p = 0.021). Toutefois, 9 patients sur 14 (64%) gardent au moins un anticorps anti-HLA de classe I avec une MFI  $\geq$  10 000, et 7 patients sur 14 (50%) gardent au moins un anticorps anti-HLA de classe II avec une MFI  $\geq$  10 000 (cf. Figure 3).

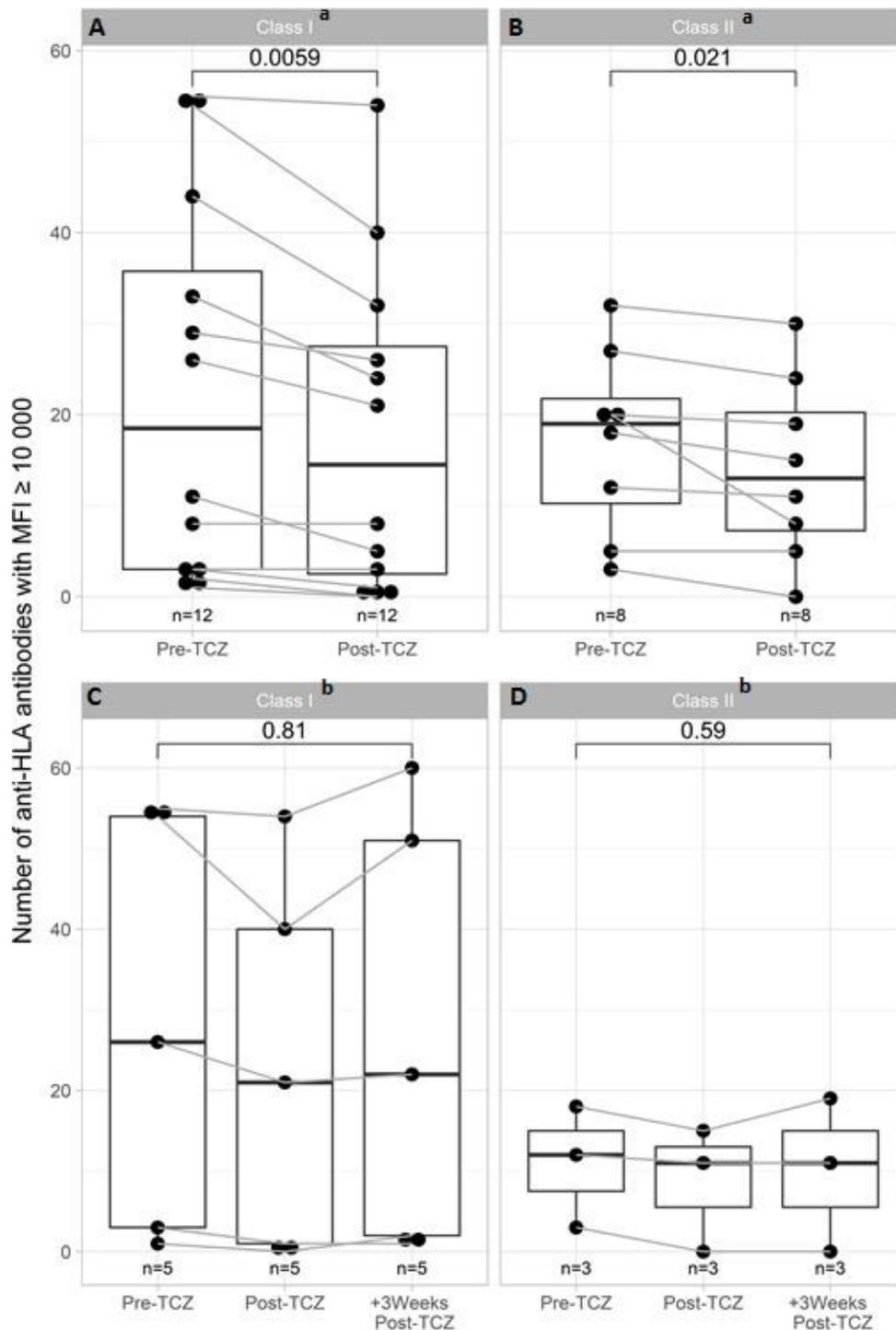
De la même manière que pour le critère de jugement principal, la diminution du nombre d'anticorps anti-HLA avec une MFI  $\geq$  10 000 entre le début du traitement et 3 semaines après la dernière injection (dans le sous-groupe de patients pour qui cette mesure est interprétable) n'atteint pas le seuil de significativité ni en classe I (22 vs 26 ; p = 0.81) ni en classe II (11 vs 12 ; p = 0.59) (cf. Figure 3).



**Figure 2 : Evolution de la moyenne de MFI (sur sérum non dilué) de tous les anticorps anti-HLA (à l'exception de ceux ayant une MFI < 2000) en classe I (A) et en classe II (B) pour tous les patients de l'étude ; et en classe I (C) et classe II (D) dans le sous-groupe des sujets chez qui la MFI à 3 semaines de la dernière injection de TCZ (+3Weeks post-TCZ) était interprétable.**

<sup>a</sup> p-value du test de wilcoxon païré utilisé pour comparer les moyennes de MFI entre le début (pre-TCZ) et la fin du traitement (post-TCZ) ;

<sup>b</sup> p-value du test de wilcoxon pairé utilisé pour comparer les moyennes de MFI entre le début (pre-TCZ) et 3 semaines après la dernière injection (+3Weeks post-TCZ) ;



**Figure 3 :** évolution du nombre d'anticorps anti-HLA avec une MFI  $\geq 10\ 000$  (sur sérum non dilué) en classe I (A) et en classe II (B) pour tous les patients de l'étude ; et en classe I (C) et classe II (D) dans le sous-groupe des sujets chez qui la MFI à 3 semaines de la dernière injection de TCZ (+3Weeks post-TCZ) était interprétable.

<sup>a</sup> p-value du test de wilcoxon pairé utilisé pour comparer le nombre d'anticorps anti-HLA avec une MFI  $\geq 10\ 000$  entre le début (pre-TCZ) et la fin du traitement (post-TCZ) ;

<sup>b</sup> p-value du test de wilcoxon pairé utilisé pour comparer le nombre d'anticorps anti-HLA avec une MFI  $\geq$  10 000 entre le début (pre-TCZ) et 3 semaines après la dernière injection (+3Weeks post-TCZ).

#### 4. **Sécurité**

25 évènements indésirables (EI) ont été observés durant la période de traitement par TCZ et jusqu'à 1 mois après la dernière injection. Seulement 5 EI ont nécessité un traitement spécifique (i.e. les autres étant spontanément réversibles) et un seul d'entre eux correspondait à un EI grave (cf. Tableau 2). A noter par ailleurs une thrombose de fistule artério-veineuse (FAV) qui ne rentre pas *stricto sensu* dans la définition du code de la santé publique d'un EI grave, mais considéré tout de même comme un EI sérieux.

L'EI grave était de nature infectieuse (spondylodiscite) et est survenu chez un patient qui dialysait sur une FAV (et non un cathéter veineux central), douze jours après la 6<sup>ème</sup> et dernière injection de TCZ. Il n'avait bénéficié d'aucune autre procédure immunosuppressive entre la fin du TCZ et la survenue de l'infection.

**Tableau 2** : Effets indésirables observés durant la période de traitement par TCZ et dans le mois suivant la dernière injection.

<b>Effets indésirables (EI)</b>	<b>Nombre</b>	<b>EI nécessitant un traitement</b>	<b>EI grave<sup>e</sup></b>
<b>Evènements infectieux</b>			
· Réactivation EBV	3	-	-
· Spondylodiscite	1	1	1
<b>Evènements hématologiques</b>			
· Leucopénie <sup>a</sup>	6	-	-
· Agranulocytose <sup>a</sup>	-	-	-
· Thrombopénie <sup>b</sup>	4	-	-
· Thrombopénie sévère <sup>b</sup>	-	-	-
· Cytolyse hépatique mineure <sup>c</sup>	4	-	-
<b>Autres</b>			
· Hémorragie	1	-	-
· Céphalées	2	2	-

· Thrombose de FAV <sup>d</sup>	1	1	-
· Hypotension	1	1	-
· Vomissements	2	-	-
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>5</b>	<b>1</b>

<sup>a</sup> Leucopénie : leucocytes < 4 G/L ; agranulocytose : polynucléaires neutrophiles < 0.5 G/L

<sup>b</sup> Thrombopénie : plaquettes < 150 G/L ; thrombopénie sévère: plaquettes < 50 G/L ou thrombopénie compliquée d'un saignement

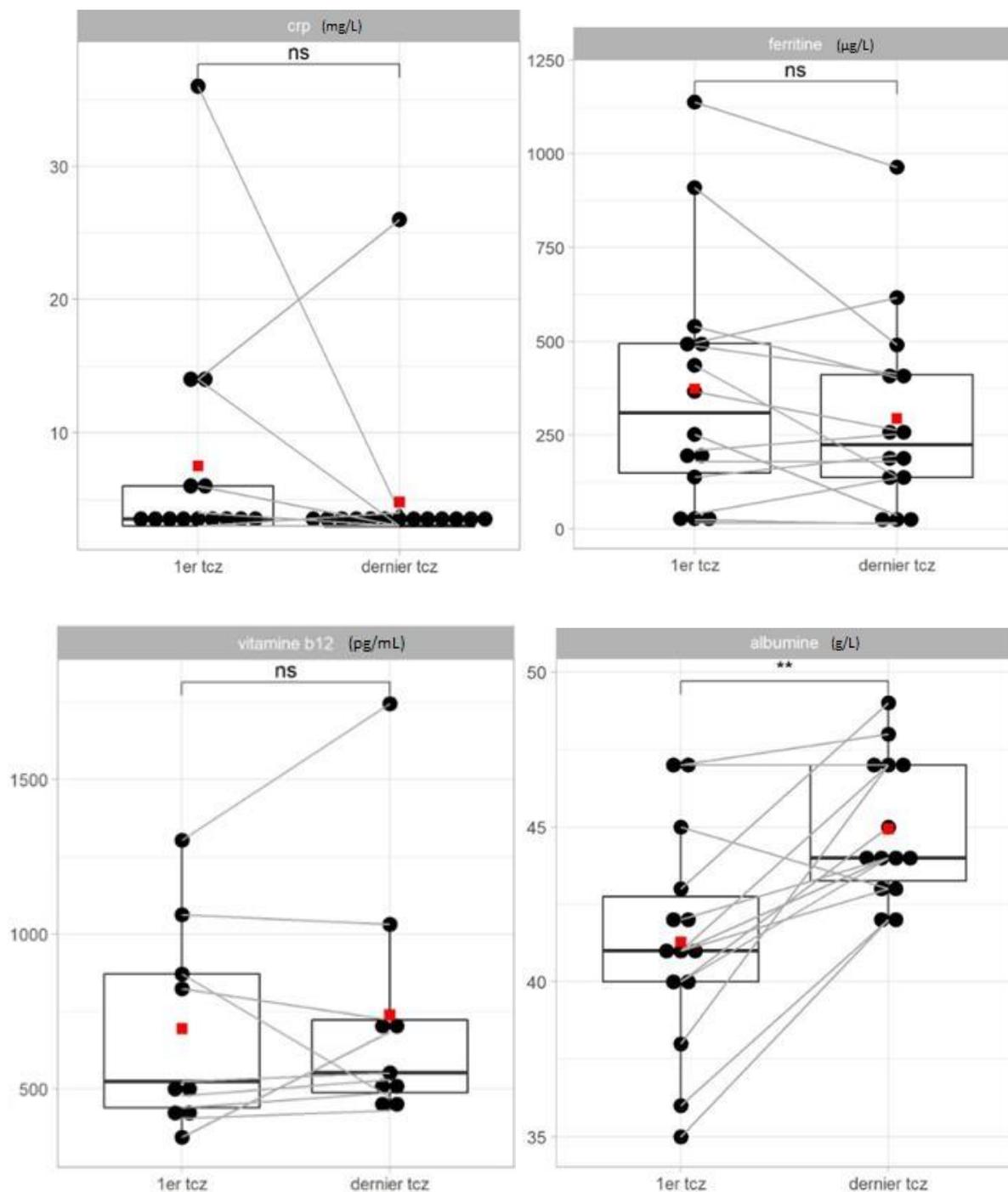
<sup>c</sup> Au maximum 2 fois la limite supérieure des ASAT et ALAT

<sup>d</sup> Fistule artério-veineuse

<sup>e</sup> EI grave : EI conduisant au décès, ou mettant en jeu le pronostic vital ou entraînant un déficit fonctionnel permanent.

## 5. Analyses supplémentaires

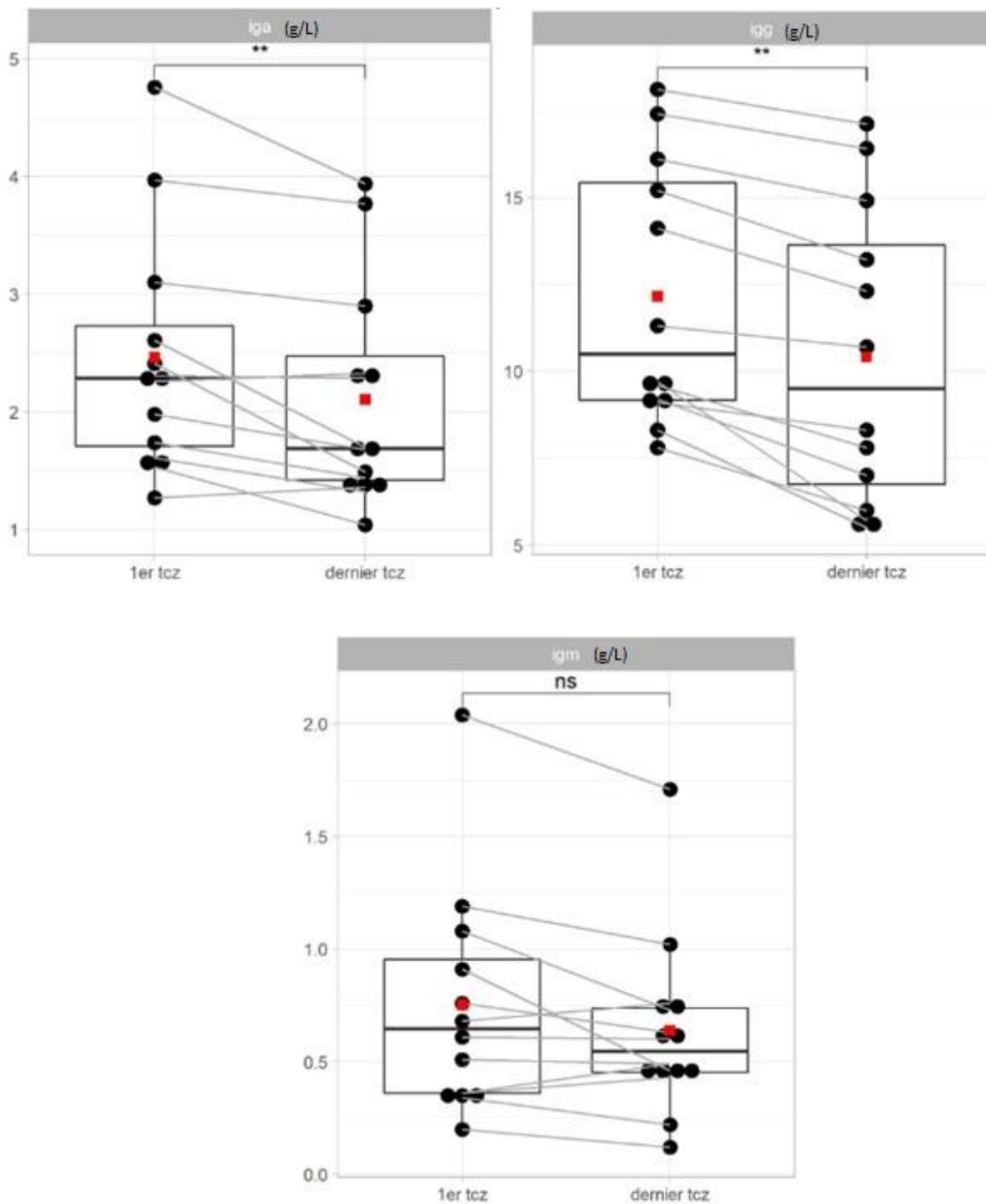
Il existe une tendance à la baisse des marqueurs de l'inflammation (CRP moyenne avant 7.5 mg/L et après 4.8 mg/L, ferritine moyenne avant 374 µg/L et après 294 µg/L) traduisant le blocage par le TCZ de l'effet de l'IL-6 sur leur synthèse hépatique. Ces modifications n'atteignent cependant pas le seuil de significativité statistique (cf. figure 4), principalement parce que les patients n'étaient précisément pas inflammatoires à l'inclusion et qu'il aurait donc fallu un effectif beaucoup plus grand pour atteindre la puissance nécessaire à la mise en évidence d'une différence aussi ténue. A noter une augmentation significative de l'albuminémie moyenne (avant : 41.3 g/L ; après 44.9 g/L).



**Figure 4** : Evolution des marqueurs biologiques de l'inflammation entre le début (1<sup>er</sup> TCZ) et la fin (dernier TCZ) du traitement par tocilizumab ; ns : non significatif ; \*\* :  $p \leq 0.01$ .

D'un point de vue immunologique, il existe une baisse du taux d'IgG, A et M, qui s'avère statistiquement significative uniquement pour le taux d'IgG (qui reste toutefois en fin

de traitement > 5 g/L pour tous les patients) et pour le taux d'IgA (qui reste dans la norme pour tous les patients) (cf. figure 5).



**Figure 5** : Evolution du taux d'immunoglobulines G, A, M entre le début (1<sup>er</sup> TCZ) et la fin (dernier TCZ) du traitement par tocilizumab. ns : non significatif ; \*\* :  $p \leq 0.01$ .

Nous n'avons pas observé d'augmentation significative du taux d'hémoglobine sous TCZ.

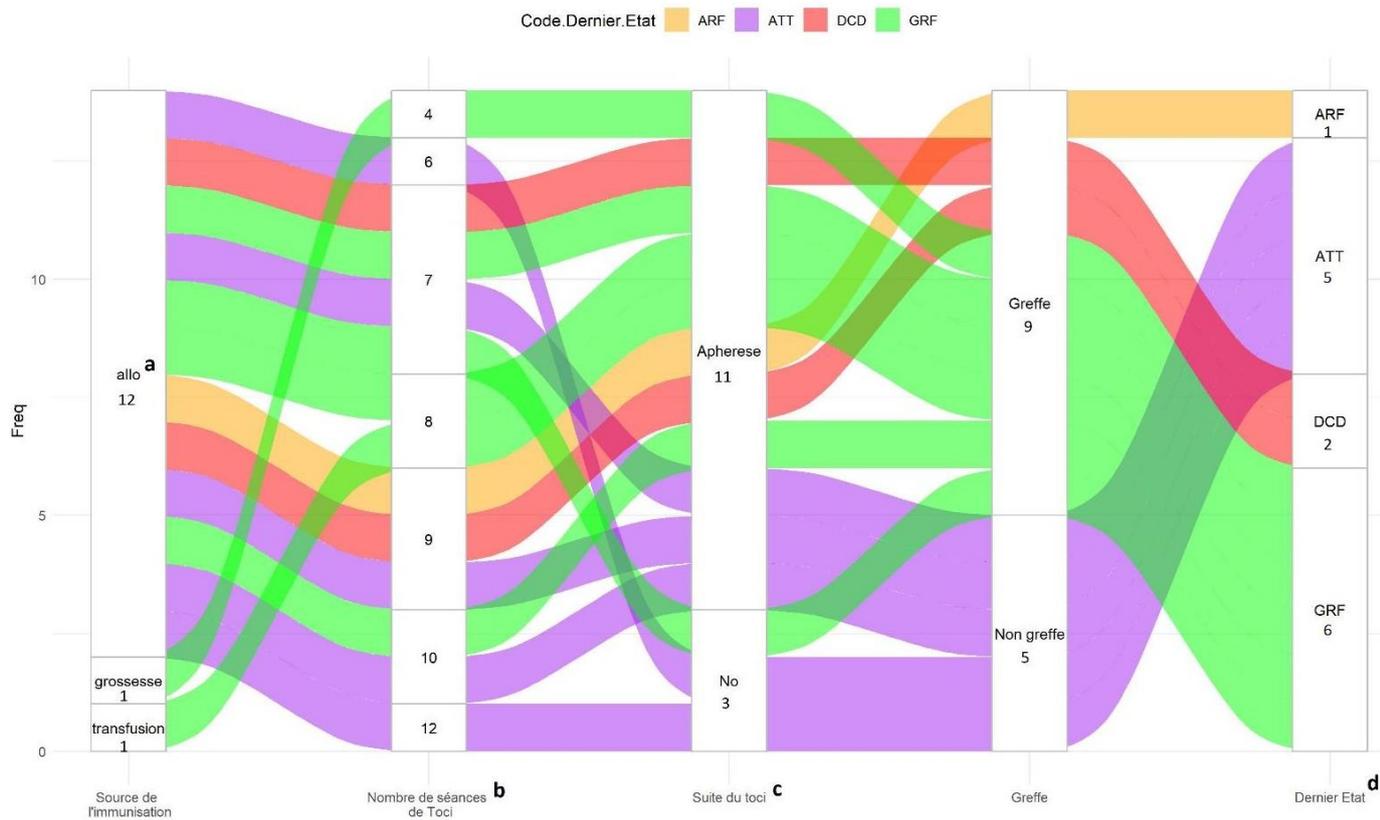
## **6. Trajectoire et devenir des patients**

Outre les résultats immunologiques de l'effet du TCZ sur la baisse des anticorps anti-HLA, nous nous sommes intéressés au devenir clinique des patients ayant bénéficié de ce traitement avec un suivi jusqu'en août 2020 (cf. figure 6).

A la fin du TCZ, 11/14 patients ont bénéficié d'un protocole de désimmunisation standard et 8 d'entre eux ont pu être greffés. Parmi les 3/14 patients qui n'ont reçu que le TCZ sans autre thérapie immunosuppressive au décours, 1 seul a pu recevoir un greffon rénal (toujours fonctionnel à la date de 26/08/2020) et les 2 autres sont toujours en attente. Ainsi, sur les 9/14 patients qui ont pu être greffés et sur les 6/14 patients ayant encore un greffon fonctionnel à la date du 26/08/2020, tous sauf 1 ont reçu après le TCZ un protocole classique de désimmunisation (aphérèse, rituximab, triple immunosuppression). Les deux patients décédés avaient reçu, après la fin du TCZ, un protocole de DES standard et avaient été greffés.

Chez les 9 patients greffés, le nombre moyen d'injection de TCZ est de 7.7 (4-10). Le délai moyen entre la greffe et le premier TCZ est de 275 jours (142 –458) ; le délai moyen entre la greffe et le dernier TCZ est de 82 jours (6 –232). Pour le seul patient greffé n'ayant reçu que du TCZ sans autre protocole de DES, le délai entre la greffe et le premier TCZ est de 176 jours et le délai entre la greffe et le dernier TCZ est de 6 jours.

Le suivi de ces patients dans le temps (extraction des données de l'ABM fin août 2020) montre que parmi les patients greffés : 6 sont porteurs d'un greffon fonctionnel, 2 sont décédés, 1 est retourné en dialyse (retour en dialyse 499 jours soit 16 mois après la greffe).



**Figure 6** : Diagramme alluvial représentant le devenir et la trajectoire des patients au cours du temps (extraites le 26/08/2020).

<sup>a</sup> Immunisation liée à une transplantation rénale antérieure

<sup>b</sup> Nombre d'injection de tocilizumab avec l'effectif de patients correspondant

<sup>c</sup> Suite du tocilizumab ; « no » : pas d'autre traitement ; « apherèse » : initiation d'un protocole standard de désimmunisation (aphérèse, rituximab, immunosuppression classique)

<sup>d</sup> Dernier état à la date d'extraction du fichier de l'ABM (avec confirmation par revue du dossier patient) ; « GRF » : greffon fonctionnel ; « DCD » : patient décédé ; « ATT » : en attente d'un greffon rénal ; « ARF » : arrêt de fonctionnement du greffon.

## **IV- Discussion**

### **1. Interprétation des résultats**

#### **i. En termes d'efficacité**

Notre étude suggère que, tout en ayant un profil de sécurité favorable, le tocilizumab permet d'atténuer le niveau d'immunisation des sujets hyperimmunisés en attente d'un greffon rénal. En effet, le TCZ a permis dans notre population de diminuer significativement la MFI de l'anticorps anti-HLA immunodominant, la médiane de MFI de tous les anticorps anti-HLA limitant l'accès à la greffe (i.e. avec une MFI > 2000), et le nombre d'anticorps anti-HLA ayant une MFI  $\geq 10\ 000$ . Toutefois, les taux d'anticorps anti-HLA post-tocilizumab, bien qu'ayant diminué significativement, restent dans la quasi-totalité des cas trop élevés pour permettre une greffe, nécessitant ainsi l'initiation d'un protocole de désimmunisation standard encomplément.

La place du tocilizumab dans le cadre de la désimmunisation pourrait donc se trouver en amont du protocole standard, afin de « préparer » le sujet et optimiser les chances de réussite du protocole. En effet, chez les 11 patients traités par tocilizumab suivi du protocole standard (aphérèse, rituximab, triple immunosuppression par tacrolimus, mycophénolate mofetil, prednisone), 8 sujets (72%) ont pu être greffés. La greffe a été réalisée en moyenne 9.6 mois après le début du TCZ alors que leur temps d'attente sur liste entre la date de la dernière inscription et le début de TCZ était de 90.2 mois soit 7 ans et demi.

En comparaison, Noble *et al.* ont récemment publié les résultats du protocole de désimmunisation standard utilisé à Grenoble (aphérèse, rituximab, immunosuppression par tacrolimus, mycophénolate mofetil, prednisone) entre 2016 et 2020 : 45 sujets ont été traités (18 avec un projet de donneur vivant, 27 pour un projet de donneur décédé) dont les 13 patients de notre étude ayant bénéficié préalablement du tocilizumab (61). En retirant ces derniers, 32

patients ont ainsi été traités dont 29 ont pu être greffés (91%). Bien qu'il soit difficile de tirer des conclusions sans s'assurer de la comparabilité de ces deux groupes, cette comparaison suggère que l'adjonction du tocilizumab au protocole classique de désimmunisation n'améliore pas l'accès à la greffe (efficacité à court terme) par rapport au protocole classique seul. En revanche, il est pour le moment difficile de savoir si l'association du tocilizumab au protocole standard permet d'obtenir de meilleurs résultats, à long terme, que le protocole standard seul. Un élément de réponse se trouve dans l'analyse des phénotypes lymphocytaires des patients de notre étude entre le début et la fin du traitement par tocilizumab. Cette analyse, publiée par Jouve et al., montre que le tocilizumab entraîne une baisse significative du taux des cellules B post-centre germinatif, des plasmablastes et des plasmocytes (62). Ainsi, en entravant la maturation des cellules B, il est possible que le tocilizumab – en association au protocole standard de désimmunisation – limite le rebond des anticorps anti-HLA et améliore ainsi, à *long terme*, le résultat des protocoles de désimmunisation en prévenant la survenue du rejet humoral.

A noter dans notre étude que dans le sous-groupe des 5 patients chez qui la mesure des anticorps anti-HLA au moins 3 semaines après la dernière injection de TCZ (+3Weeks post-TCZ) était pertinente (i.e. lorsqu'aucun évènement immunologique [greffe, aphérèse] n'était survenu entre-temps), nous n'avons pas mis en évidence de différence significative sur les critères de jugements principaux et secondaires entre le début du TCZ et ce délai de +3Weeks post-TCZ. Ceci pourrait en partie s'expliquer par l'effet rebond observé à l'arrêt du tocilizumab. Il existe en effet, à l'arrêt du traitement, une augmentation des taux sanguins d'IL-6 liée à son accumulation pendant la durée du blocage de son récepteur par le tocilizumab (63). Dans le cas précis de notre étude, il est cependant plus probable que cette absence de différence ne s'explique pas par une perte d'efficacité du TCZ après 3 semaines, mais plutôt par un manque de puissance statistique et parce que dans le sous-groupe opposé (ceux chez qui la mesure n'était

justement pas interprétable), certains ont pu être greffés et « tiraient » donc les moyennes de MFI vers le bas.

Cette notion de « rebond » à l'arrêt du traitement est toutefois intéressante puisqu'elle étaye l'intérêt d'un autre traitement bloquant la voie de l'IL-6 : le clazakizumab. Ce dernier est un anticorps monoclonal dirigé directement contre l'IL-6, par opposition au tocilizumab qui bloque l'action de l'IL-6 en se liant à son récepteur. Ainsi, l'effet rebond n'est pas observé à l'arrêt du clazakizumab. Ce traitement, étudié dans la polyarthrite rhumatoïde mais non encore commercialisé, a été utilisé par Vo et al. comme traitement de désimmunisation chez dix patients hyperimmunisés recevant, en parallèle, des IgIV et des échanges plasmatiques (64). Tout en ayant un profil de sécurité favorable, une baisse significative des anticorps anti-HLA a été observée entre le début et la fin du traitement chez 9/10 patients qui ont tous pu être transplantés. Le suivi a été étendu et aucun ne présentait de DSA à 6 mois post-transplantation. En outre, il a été constaté que, chez ces patients pour qui le clazakizumab était poursuivi après la greffe, il existait à 6 mois post-transplantation une augmentation significative du taux de LT reg exprimant Fox P3, suggérant que le clazakizumab permettrait d'orienter la réponse T vers un profil tolérogène (65).

Ces données confirment l'intérêt de bloquer la voie de l'IL-6 dans le cadre de la désimmunisation. En outre, elles ouvrent la voie à d'autres recherches puisqu'il s'agit non seulement d'une nouvelle molécule ciblant directement l'IL-6 (et non son récepteur) mais aussi d'un schéma d'utilisation différent de celui développé dans notre étude. En effet, nous avons vu que le tocilizumab en monothérapie était insuffisant, et il semble par ailleurs que son adjonction au protocole standard n'améliore pas significativement l'accès à la greffe (efficacité à court terme de la désimmunisation) par rapport au protocole standard seul. En revanche, il est possible que l'intérêt d'un blocage de l'IL-6 se trouve dans son efficacité à long terme. Ainsi, l'association d'un blocage de l'IL-6 au protocole classique de désimmunisation, puis l'éventuel

maintien de ce blocage après la greffe viserait à diminuer le risque de rebond des anticorps anti-HLA (et donc de rejet humoral) en maintenant l'inhibition de la maturation des cellules B. L'intérêt d'une telle stratégie reste à démontrer.

## **ii. En termes de sécurité**

Nous avons dénombré au total 25 évènements indésirables pendant la durée du traitement par TCZ et dans le mois suivant la dernière injection, dont seulement 1 évènement indésirable grave. La plupart des évènements indésirables étaient, en effet, non seulement transitoires et spontanément réversibles sans traitement spécifique, mais également asymptomatiques et sans retentissement sur la qualité de vie du patient puisqu'il s'agissait de simples perturbations biologiques : leucopénies modérées sans agranulocytose ; thrombopénie modérée et sans saignement associé ; cytolysse hépatique ( $\leq 2$  fois la limite supérieure). La survenue de ces EI dans notre étude est cohérente avec les études de sécurité réalisées en rhumatologie (19,20,24,27,66) en dehors de l'absence, dans notre population, d'infections respiratoires hautes (rhinite, pharyngite) fréquemment décrites dans les autres études.

En outre, concernant certains effets indésirables non graves et cliniquement symptomatiques (hypotension, céphalée, vomissement) observés dans notre population, il est difficile d'imputer la responsabilité du TCZ dans la mesure où il était administré en fin de séance de dialyse et que ces symptômes ne sont pas rares chez le patient hémodialysé chronique (a fortiori lorsque la déplétion hydrosodée per-dialytique a été importante). Nous n'avons observé qu'un seul effet indésirable grave, de nature infectieuse (spondylodiscite) dont l'évolution a été favorable au terme d'un traitement lourd (antibiothérapie et chirurgie).

Globalement, dans notre étude, et malgré une population à risque (insuffisants rénaux terminaux en hémodialyse, soumis pour certains à plusieurs années d'immunosuppression lors des greffes antérieures) le profil de sécurité du tocilizumab est donc favorable.

## 2. Validité interne

### i. Limites

Cette étude comporte un certain nombre de limites. Tout d'abord, l'effectif réduit et l'absence de groupe contrôle ne permettent pas de recommander l'usage généralisé du TCZ comme traitement de désimmunisation de première ligne. Toutefois, la mise en évidence d'une différence statistiquement significative sur le critère de jugement principal témoigne d'une puissance statistique correcte malgré le faible effectif. En outre, s'ils ne fournissent pas un niveau de preuve élevé, ces résultats sont ceux d'une étude exploratoire ouvrant la voie à de futures études de plus grande envergure.

Ensuite, un des critères d'inclusions n'a pas été scrupuleusement respecté puisque trois patients ont été inclus alors que leur TGI historique était inférieur à 85%. Pour l'un d'entre eux (TGI 48%), la réalisation d'un protocole de désimmunisation se justifiait par l'existence initiale d'un projet de donneur vivant apparenté. Pour les deux autres, le choix de débiter une désimmunisation reposait à la fois sur une immunisation large et surtout un temps d'attente sur liste depuis la dernière inscription particulièrement long (158 et 115 mois).

Enfin, la troisième limite est l'absence de standardisation du nombre d'injections de tocilizumab avant de décider du switch vers un protocole de désensibilisation classique. Il avait été prévu d'administrer au minimum 6 injections de tocilizumab. Or, un patient n'a bénéficié que de 4 injections au terme desquelles le tocilizumab a été switché pour un protocole classique de désimmunisation sans que les raisons de ce switch ne soit très claires. En outre, pour les sujets ayant reçu au moins 6 injections, le timing du switch vers un protocole classique de DES a été laissé à l'appréciation du clinicien si bien que le nombre d'injections a varié de 6 à 12. Cette limite ne permet, de fait, pas de conclure à une relation « effet-dose » du tocilizumab pour diminuer le taux d'anticorps anti-HLA. Nous ne pouvons que constater que parmi les patients ayant effectivement été greffés, la moyenne d'injections de TCZ était de 7.6 et aucun n'a reçu

plus de 10 doses. Nous pouvons supposer que l'absence de greffe chez les patients ayant reçu davantage d'injections est liée au fait que ces sujets étaient les plus « difficiles » à désimmuniser et que c'est pour cette raison que le clinicien a poursuivi le TCZ.

## ii. **Points forts**

Tout d'abord, l'utilisation du tocilizumab comme thérapie de désimmunisation n'est retrouvée que dans une seule étude (12) où il était utilisé en seconde ligne après échec du protocole classique de désimmunisation. Dans notre étude, le tocilizumab a été administré comme traitement de première ligne, avant tout pour explorer sa capacité à induire, à lui seul, une baisse des anticorps anti-HLA, mais également pour évaluer son intérêt en « préparation » à un protocole de désimmunisation standard. Le caractère novateur de cette étude est donc son premier point fort. En effet, la situation actuelle est la suivante : si la désimmunisation peut faire encore débat (67), il s'agit incontestablement d'une solution pour améliorer l'accès à la greffe de sujets hyperimmunisés (68). La question n'est donc plus « faut-il désimmuniser ? », mais plutôt *comment* s'y prendre pour que les résultats soient bons à l'échelle du patient (survie, survie du greffon, fonction du greffon, effets indésirables etc.) mais également à l'échelle populationnelle. En effet, la pénurie actuelle de greffons accroît le poids des principes d'utilité et d'efficacité : allouer un greffon à un sujet désimmunisé ne serait pas raisonnable s'il risque de le perdre par rejet au bout d'un an, alors que ce greffon aurait pu offrir à un autre receveur une fonction prolongée. L'efficacité d'un protocole de désimmunisation est donc un enjeu majeur. Or, le « standard of care » actuel a été validé empiriquement sur la base de quelques études ne fournissant pas un niveau de preuve élevé (précisément parce qu'il est difficile de faire mieux dans ce domaine). Ainsi, explorer de nouvelles pistes thérapeutiques comme nous l'avons fait avec le tocilizumab est une nécessité.

Ensuite, le deuxième point fort réside dans la définition rigoureuse des critères de jugement. Dans la plupart des études où il est question d'anticorps anti-HLA (rejets humoraux,

désimmunisation), l'anticorps immunodominant est défini comme l'anticorps anti-HLA ayant la MFI la plus élevée. Dans notre étude, ce critère a été affiné puisque nous avons défini l'immunodominant comme celui ayant la MFI la plus élevée parmi les anticorps anti-HLA dirigé contre un antigène HLA du précédent greffon (si la source de l'immunisation était une transplantation antérieure) ou contre un antigène HLA du père (si la source de l'immunisation était une grossesse). Ceci permet d'accorder plus de poids aux anticorps dirigés contre des antigènes vis-à-vis desquels le sujet a été exposé sur de longues périodes. Autrement dit, en prenant l'exemple d'un sujet ayant développé des anticorps anti-HLA au décours d'une première greffe et ayant également été transfusé, il est probable que la réponse immunitaire allogénique développée contre les antigènes du greffon soit plus « forte » que celle développée contre un antigène HLA auquel le sujet a été exposé très ponctuellement lors de la transfusion.

Enfin, concernant le premier critère de jugement secondaire (évolution de la médiane de MFI de tous les anticorps anti-HLA ayant une MFI > 2000), le choix de ne pas tenir compte des anticorps avec une MFI < 2000 est justifié par la volonté de ne pas sous-estimer la médiane avec ces anticorps dont la significativité clinique n'est pas certaine et qui n'interdisent pas formellement l'accès à la greffe. Associé au deuxième critère de jugement secondaire (nombre d'anticorps avec une MFI  $\geq$  10 000), cela permet d'évaluer rapidement si, au terme du traitement par tocilizumab, le sujet est encore porteur d'anticorps anti-HLA à un titre incompatible avec la greffe.

## **Conclusion**

Améliorer l'accès à la greffe d'une manière globale pour l'ensemble des sujets insuffisants rénaux terminaux éligibles est un enjeu de santé publique. Améliorer l'accès à la greffe dans le cas plus spécifique des sujets hyperimmunisés l'est également, et constitue par ailleurs un « défi » immunologique. La désimmunisation est une des clés du problème et permet à des sujets parfois qualifiés trivialement de patients « ingreffables » de recevoir finalement un greffon rénal. Cependant, la meilleure manière de conduire un protocole de désimmunisation n'est pas encore clairement établie, justifiant de poursuivre la recherche de nouvelles molécules et de nouvelles techniques. Nonobstant, ceci n'est pas aisé car nous sommes face à un double problème.

D'une part, une thérapie de désimmunisation, fortement immunosuppressive par essence, doit fournir un profil de sécurité suffisamment raisonnable pour autoriser son utilisation chez des sujets dont la survie (au sens strict du terme) ne dépend pas de la réussite ou non de la technique. En effet, un sujet hyperimmunisé qu'on ne tenterait pas de désimmuniser ne serait, certes, probablement pas greffé, mais ne serait pas non plus condamné à court terme puisque la dialyse continuerait à faire son œuvre. La désimmunisation n'étant pas un traitement de « sauvetage », les risques auxquels nous exposons les patients dans la quête de nouveaux traitements doivent donc être bien mesurés.

D'autre part, la désimmunisation doit répondre à des exigences d'efficacité à double niveau. Le premier niveau est individuel et s'inscrit dans une logique à court et moyen terme : proposer à un sujet hyperimmunisé une thérapie lui permettant d'avoir accès rapidement à la greffe et si possible de conserver un greffon fonctionnel le plus longtemps possible. Le deuxième niveau est populationnel et s'inscrit dans le contexte actuel de pénurie de greffons : désimmuniser suffisamment efficacement pour que proposer un greffon à un sujet hyperimmunisé ne réduise pas la durée de vie du greffon qu'on aurait espéré obtenir chez un sujet non immunisé. En

d'autres termes, il ne serait pas acceptable de tester un protocole de désimmunisation qui risquerait de « gâcher » des greffons.

La recherche thérapeutique dans le domaine de la désimmunisation n'est donc pas aisée, et seul un rationnel physiopathologique solide associé à des données pré-cliniques favorables peut amener à tester raisonnablement une nouvelle molécule ou procédure dans ce domaine. Le Tocilizumab fait partie des candidats, et nous avons montré qu'en traitement de première ligne, il permettait de diminuer significativement le niveau de MFI des anticorps anti-HLA, le tout avec un profil de sécurité favorable. Toutefois, nous avons également constaté que si cette baisse était statistiquement significative, elle n'était pas suffisante pour amener le niveau d'immunisation en dessous du seuil autorisant une greffe. Cependant, si à lui seul le tocilizumab n'est pas suffisant, sa place serait peut-être celle d'un complément au protocole standard de désimmunisation afin d'en augmenter les chances de succès, notamment à long terme.

Pour le démontrer, il pourrait être intéressant de réaliser une étude complémentaire reprenant les 11 sujets de notre cohorte ayant bénéficié du tocilizumab suivi d'un protocole de désimmunisation standard, et de constituer un groupe témoin à partir des patients grenoblois ayant bénéficié du protocole standard seul (aphérèse, rituximab, triple immunosuppression). L'appariement du groupe témoin au groupe tocilizumab permettrait d'assurer la comparabilité des deux groupes. Il serait ensuite intéressant de procéder en deux temps : 1) comparer le pourcentage de patients ayant été greffés afin d'évaluer le bénéfice – à court terme – du tocilizumab en association au protocole standard en matière d'accès à la greffe ; 2) comparer, chez les patients greffés, les résultats à un an post-transplantation en matière de survie, de fonction de greffon, de réapparition de DSA et de survenue de rejet humoral.

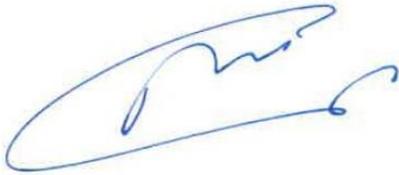
L'utilisation du tocilizumab pour la désimmunisation des sujets hyperimmunisés en attente d'une greffe rénale est donc prometteuse, mais sa place au sein des protocoles reste à définir dans la mesure où ce traitement n'est pas suffisant à lui tout seul.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le :

12/8/2021

LE DOYEN



Pr. Patrice MORAND

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Pr Lionel ROSTAING

NEPHROLOGIE HEMODIALYSE APHERESSES  
TRANSPLANTATION RENALE  
CHU Grenoble Alpes - CS 10217 - GRENOBLE Cedex  
Finess 38 0000067

Pr Lionel ROSTAING  
RPPS : 1000 2868 668



## **Bibliographie**

1. Port FK, Wolfe RA, Mauger EA, Berling DP, Jiang K. Comparison of survival probabilities for dialysis patients vs cadaveric renal transplant recipients. *JAMA*. 15 sept 1993;270(11):1339-43.
2. Evans RW, Manninen DL, Garrison LP, Hart LG, Blagg CR, Gutman RA, et al. The quality of life of patients with end-stage renal disease. *N Engl J Med*. 28 févr 1985;312(9):553-9.
3. Laupacis A, Keown P, Pus N, Krueger H, Ferguson B, Wong C, et al. A study of the quality of life and cost-utility of renal transplantation. *Kidney Int*. juill 1996;50(1):235-42.
4. Wong G, Howard K, Chapman JR, Chadban S, Cross N, Tong A, et al. Comparative survival and economic benefits of deceased donor kidney transplantation and dialysis in people with varying ages and co-morbidities. *PloS One*. 2012;7(1):e29591.
5. Jordan SC, Tyan D, Stablein D, McIntosh M, Rose S, Vo A, et al. Evaluation of intravenous immunoglobulin as an agent to lower allosensitization and improve transplantation in highly sensitized adult patients with end-stage renal disease: report of the NIH IG02 trial. *J Am Soc Nephrol JASN*. déc 2004;15(12):3256-62.
6. Vo AA, Choi J, Cisneros K, Reinsmoen N, Haas M, Ge S, et al. Benefits of rituximab combined with intravenous immunoglobulin for desensitization in kidney transplant recipients. *Transplantation*. 15 août 2014;98(3):312-9.

7. Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Zuber J, Anglicheau D, Timsit M-O, Martinez F, et al. Combined posttransplant prophylactic IVIg/anti-CD 20/plasmapheresis in kidney recipients with preformed donor-specific antibodies: a pilot study. *Transplantation*. 15 juin 2010;89(11):1403-10.
8. Montgomery RA, Lonze BE, King KE, Kraus ES, Kucirka LM, Locke JE, et al. Desensitization in HLA-incompatible kidney recipients and survival. *N Engl J Med*. 28 juill 2011;365(4):318-26.
9. Orandi BJ, Luo X, Massie AB, Garonzik-Wang JM, Lonze BE, Ahmed R, et al. Survival Benefit with Kidney Transplants from HLA-Incompatible Live Donors. *N Engl J Med*. 10 mars 2016;374(10):940-50.
10. Manook M, Koeser L, Ahmed Z, Robb M, Johnson R, Shaw O, et al. Post-listing survival for highly sensitised patients on the UK kidney transplant waiting list: a matched cohort analysis. *Lancet Lond Engl*. 18 févr 2017;389(10070):727-34.
11. Perry DK, Burns JM, Pollinger HS, Amiot BP, Gloor JM, Gores GJ, et al. Proteasome Inhibition Causes Apoptosis of Normal Human Plasma Cells Preventing Alloantibody Production. *Am J Transplant*. 2009;9(1):201-9.
12. Vo AA, Choi J, Kim I, Louie S, Cisneros K, Kahwaji J, et al. A Phase I/II Trial of the Interleukin-6 Receptor-Specific Humanized Monoclonal (Tocilizumab) + Intravenous Immunoglobulin in Difficult to Desensitize Patients. *Transplantation*. nov 2015;99(11):2356-63.
13. Kwun J, Burghuber C, Manook M, Iwakoshi N, Gibby A, Hong JJ, et al. Humoral Compensation after Bortezomib Treatment of Allosensitized Recipients. *J Am Soc Nephrol JASN*. juill 2017;28(7):1991-6.

14. Moreno Gonzales MA, Gandhi MJ, Schinstock CA, Moore NA, Smith BH, Braaten NY, et al. 32 Doses of Bortezomib for Desensitization Is Not Well Tolerated and Is Associated With Only Modest Reductions in Anti-HLA Antibody. *Transplantation*. 2017;101(6):1222-7.
15. Guthoff M, Schmid-Horch B, Weisel KC, Häring H-U, Königsrainer A, Heyne N. Proteasome inhibition by bortezomib: effect on HLA-antibody levels and specificity in sensitized patients awaiting renal allograft transplantation. *Transpl Immunol*. juin 2012;26(4):171-5.
16. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. 6 nov 1986;324(6092):73-6.
17. Tanaka T, Kishimoto T. Targeting interleukin-6: all the way to treat autoimmune and inflammatory diseases. *Int J Biol Sci*. 2012;8(9):1227-36.
18. Kishimoto T. IL-6: from its discovery to clinical applications. *Int Immunol*. 1 mai 2010;22(5):347-52.
19. Nakaoka Y, Isobe M, Takei S, Tanaka Y, Ishii T, Yokota S, et al. Efficacy and safety of tocilizumab in patients with refractory Takayasu arteritis: results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial in Japan (the TAKT study). *Ann Rheum Dis*. 2018;77(3):348-54.
20. Nakaoka Y, Isobe M, Tanaka Y, Ishii T, Ooka S, Niino H, et al. Long-term efficacy and safety of tocilizumab in refractory Takayasu arteritis: final results of the randomized controlled phase 3 TAKT study. *Rheumatol Oxf Engl*. 1 sept 2020;59(9):2427-34.

21. Illei GG, Shirota Y, Yarboro CH, Daruwalla J, Tackey E, Takada K, et al. Tocilizumab in systemic lupus erythematosus: data on safety, preliminary efficacy, and impact on circulating plasma cells from an open-label phase I dosage-escalation study. *Arthritis Rheum.* févr 2010;62(2):542-52.
22. Villiger PM, Adler S, Kuchen S, Wermelinger F, Dan D, Fiege V, et al. Tocilizumab for induction and maintenance of remission in giant cell arteritis: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl.* 7 mai 2016;387(10031):1921-7.
23. Calderón-Goercke M, Castañeda S, Aldasoro V, Villa I, Prieto-Peña D, Atienza-Mateo B, et al. Tocilizumab in giant cell arteritis: differences between the GiACTA trial and a multicentre series of patients from the clinical practice. *Clin Exp Rheumatol.* avr 2020;38 Suppl 124(2):112-9.
24. Khanna D, Denton CP, Lin CJF, van Laar JM, Frech TM, Anderson ME, et al. Safety and efficacy of subcutaneous tocilizumab in systemic sclerosis: results from the open-label period of a phase II randomised controlled trial (faSScinate). *Ann Rheum Dis.* févr 2018;77(2):212-20.
25. Khanna D, Lin CJF, Furst DE, Goldin J, Kim G, Kuwana M, et al. Tocilizumab in systemic sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* oct 2020;8(10):963-74.
26. Lee W-J, Lee S-T, Moon J, Sunwoo J-S, Byun J-I, Lim J-A, et al. Tocilizumab in Autoimmune Encephalitis Refractory to Rituximab: An Institutional Cohort Study. *Neurother J Am Soc Exp Neurother.* oct 2016;13(4):824-32.
27. Zhang C, Zhang M, Qiu W, Ma H, Zhang X, Zhu Z, et al. Safety and efficacy of tocilizumab versus azathioprine in highly relapsing neuromyelitis optica spectrum

- disorder (TANGO): an open-label, multicentre, randomised, phase 2 trial. *Lancet Neurol*. mai 2020;19(5):391-401.
28. Gergis U, Arnason J, Yantiss R, Shore T, Wissa U, Feldman E, et al. Effectiveness and safety of tocilizumab, an anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody, in a patient with refractory GI graft-versus-host disease. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 oct 2010;28(30):e602-604.
  29. Ganetsky A, Frey NV, Hexner EO, Loren AW, Gill SI, Luger SM, et al. Tocilizumab for the treatment of severe steroid-refractory acute graft-versus-host disease of the lower gastrointestinal tract. *Bone Marrow Transplant*. févr 2019;54(2):212-7.
  30. Chien JW, Zhang XC, Fan W, Wang H, Zhao LP, Martin PJ, et al. Evaluation of published single nucleotide polymorphisms associated with acute GVHD. *Blood*. 31 mai 2012;119(22):5311-9.
  31. Salama C, Han J, Yau L, Reiss WG, Kramer B, Neidhart JD, et al. Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19 Pneumonia. *N Engl J Med*. 7 janv 2021;384(1):20-30.
  32. Jones SA, Fraser DJ, Fielding CA, Jones GW. Interleukin-6 in renal disease and therapy. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. avr 2015;30(4):564-74.
  33. Horii Y, Muraguchi A, Iwano M, Matsuda T, Hirayama T, Yamada H, et al. Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 déc 1989;143(12):3949-55.
  34. Kiberd BA. Interleukin-6 receptor blockage ameliorates murine lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol JASN*. juill 1993;4(1):58-61.

35. Liang B, Gardner DB, Griswold DE, Bugelski PJ, Song XYR. Anti-interleukin-6 monoclonal antibody inhibits autoimmune responses in a murine model of systemic lupus erythematosus. *Immunology*. nov 2006;119(3):296-305.
36. Zhang XL, Topley N, Ito T, Phillips A. Interleukin-6 regulation of transforming growth factor (TGF)-beta receptor compartmentalization and turnover enhances TGF-beta1 signaling. *J Biol Chem*. 1 avr 2005;280(13):12239-45.
37. Simmons EM, Himmelfarb J, Sezer MT, Chertow GM, Mehta RL, Paganini EP, et al. Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure. *Kidney Int*. avr 2004;65(4):1357-65.
38. Pergola PE, Devalaraja M, Fishbane S, Chonchol M, Mathur VS, Smith MT, et al. Ziltivekimab for Treatment of Anemia of Inflammation in Patients on Hemodialysis: Results from a Phase 1/2 Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *J Am Soc Nephrol JASN*. janv 2021;32(1):211-22.
39. Dienz O, Eaton SM, Bond JP, Neveu W, Moquin D, Noubade R, et al. The induction of antibody production by IL-6 is indirectly mediated by IL-21 produced by CD4+ T cells. *J Exp Med*. 16 janv 2009;206(1):69-78.
40. Chavele K-M, Merry E, Ehrenstein MR. Cutting edge: circulating plasmablasts induce the differentiation of human T follicular helper cells via IL-6 production. *J Immunol Baltim Md* 1950. 15 mars 2015;194(6):2482-5.
41. Jones SA. Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6. *J Immunol Baltim Md* 1950. 15 sept 2005;175(6):3463-8.

42. Roll P, Muhammad K, Schumann M, Kleinert S, Einsele H, Dörner T, et al. In vivo effects of the anti-interleukin-6 receptor inhibitor tocilizumab on the B cell compartment. *Arthritis Rheum.* 2011;63(5):1255-64.
43. Muhammad K, Roll P, Seibold T, Kleinert S, Einsele H, Dörner T, et al. Impact of IL-6 receptor inhibition on human memory B cells in vivo: impaired somatic hypermutation in pre-switch memory B cells and modulation of mutational targeting in memory B cells. *Ann Rheum Dis.* août 2011;70(8):1507-10.
44. Cassese G, Arce S, Hauser AE, Lehnert K, Moewes B, Mostarac M, et al. Plasma cell survival is mediated by synergistic effects of cytokines and adhesion-dependent signals. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 août 2003;171(4):1684-90.
45. Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, Lord GM. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Exp Immunol.* avr 2007;148(1):32-46.
46. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature.* 11 mai 2006;441(7090):235-8.
47. Faust SM, Lu G, Marini BL, Zou W, Gordon D, Iwakura Y, et al. Role of T cell Transforming Growth Factor  $\beta$  Signaling and IL-17 in Allograft Acceptance and Fibrosis Associated with Chronic Rejection. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 déc 2009;183(11):7297.
48. Van Kooten C, Boonstra JG, Paape ME, Fossiez F, Banchereau J, Lebecque S, et al. Interleukin-17 activates human renal epithelial cells in vitro and is expressed during renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol JASN.* août 1998;9(8):1526-34.

49. Kimura A, Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur J Immunol.* juill 2010;40(7):1830-5.
50. Sarantopoulos A, Tselios K, Gkougkourelas I, Pantoura M, Georgiadou A-M, Boura P. Tocilizumab treatment leads to a rapid and sustained increase in Treg cell levels in rheumatoid arthritis patients: comment on the article by Thiolat et al. *Arthritis Rheumatol* Hoboken NJ. sept 2014;66(9):2638.
51. Rochman I, Paul WE, Ben-Sasson SZ. IL-6 increases primed cell expansion and survival. *J Immunol Baltim Md* 1950. 15 avr 2005;174(8):4761-7.
52. Casiraghi F, Ruggenti P, Noris M, Locatelli G, Perico N, Perna A, et al. Sequential monitoring of urine-soluble interleukin 2 receptor and interleukin 6 predicts acute rejection of human renal allografts before clinical or laboratory signs of renal dysfunction. *Transplantation.* 27 mai 1997;63(10):1508-14.
53. Vandebroecke C, Caillat-Zucman S, Legendre C, Noel LH, Kreis H, Woodrow D, et al. Differential in situ expression of cytokines in renal allograft rejection. *Transplantation.* mars 1991;51(3):602-9.
54. Choi J, Aubert O, Vo A, Loupy A, Haas M, Puliyananda D, et al. Assessment of Tocilizumab (Anti-Interleukin-6 Receptor Monoclonal) as a Potential Treatment for Chronic Antibody-Mediated Rejection and Transplant Glomerulopathy in HLA-Sensitized Renal Allograft Recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* sept 2017;17(9):2381-9.
55. Massat M, Congy-Jolivet N, Hebral A-L, Esposito L, Marion O, Delas A, et al. Do anti-IL-6R blockers have a beneficial effect in the treatment of antibody-mediated rejection

- resistant to standard therapy after kidney transplantation? *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 3 nov 2020;
56. Lavacca A, Presta R, Gai C, Mella A, Gallo E, Camussi G, et al. Early effects of first-line treatment with anti-interleukin-6 receptor antibody tocilizumab for chronic active antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Clin Transplant.* août 2020;34(8):e13908.
  57. Pottebaum AA, Venkatachalam K, Liu C, Brennan DC, Murad H, Malone AF, et al. Efficacy and Safety of Tocilizumab in the Treatment of Acute Active Antibody-mediated Rejection in Kidney Transplant Recipients. *Transplant Direct.* avr 2020;6(4):e543.
  58. Chandran S, Leung J, Hu C, Laszik ZG, Tang Q, Vincenti FG. Interleukin-6 blockade with tocilizumab increases Tregs and reduces T effector cytokines in renal graft inflammation: A randomized controlled trial. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 17 déc 2020;
  59. Kim I, Wu G, Chai N, Klein AS, Jordan S. Anti-interleukin 6 receptor antibodies attenuate antibody recall responses in a mouse model of allosensitization. *Transplantation.* 27 déc 2014;98(12):1262-70.
  60. Wu G, Chai N, Kim I, Klein AS, Jordan SC. Monoclonal anti-interleukin-6 receptor antibody attenuates donor-specific antibody responses in a mouse model of allosensitization. *Transpl Immunol.* mars 2013;28(2-3):138-43.
  61. Noble J, Metzger A, Naciri Bennani H, Daligault M, Masson D, Terrec F, et al. Apheresis Efficacy and Tolerance in the Setting of HLA-Incompatible Kidney Transplantation. *J Clin Med.* 23 mars 2021;10(6):1316.

62. Jouve T, Laheurte C, Noble J, Weinhard J, Daligault M, Renaudin A, et al. Immune responses following tocilizumab therapy to desensitize HLA-sensitized kidney transplant candidates. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 3 juin 2021;
63. Nishimoto N, Terao K, Mima T, Nakahara H, Takagi N, Kakehi T. Mechanisms and pathologic significances in increase in serum interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor after administration of an anti-IL-6 receptor antibody, tocilizumab, in patients with rheumatoid arthritis and Castleman disease. *Blood*. 15 nov 2008;112(10):3959-64.
64. Vo A, Ammerman N, Huang E, Toyoda M, Ge S, Peng A, et al. CLAZAKIZUMAB® (ANTI-IL-6) FOR DESENSITIZATION OF HIGHLY-HLA SENSITIZED PATIENTS AWAITING KIDNEY TRANSPLANT (NCT03380962). *Transplantation*. sept 2020;104(S3):S104.
65. Jordan S, Ge S, Ammerman N, Toyoda M, Huang E, Peng A, et al. CLAZAKIZUMAB (ANTI-IL-6) INDUCES FOXP3+ TREGS IN HIGHLY HLA SENSITIZED PATIENTS RECEIVING HLA-I KIDNEY TRANSPLANTATION (NCT03380962). *Transplantation*. sept 2020;104(S3):S105.
66. Emery P, Rondon J, Parrino J, Lin Y, Pena-Rossi C, van Hoogstraten H, et al. Safety and tolerability of subcutaneous sarilumab and intravenous tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Oxf Engl*. 01 2019;58(5):849-58.
67. Rostaing LPE, Malvezzi P. HLA-Incompatible Kidney Transplantation--Worth the Risk? *N Engl J Med*. 10 mars 2016;374(10):982-4.
68. Schinstock CA, Smith BH, Montgomery RA, Jordan SC, Bentall AJ, Mai M, et al. Managing highly sensitized renal transplant candidates in the era of kidney paired

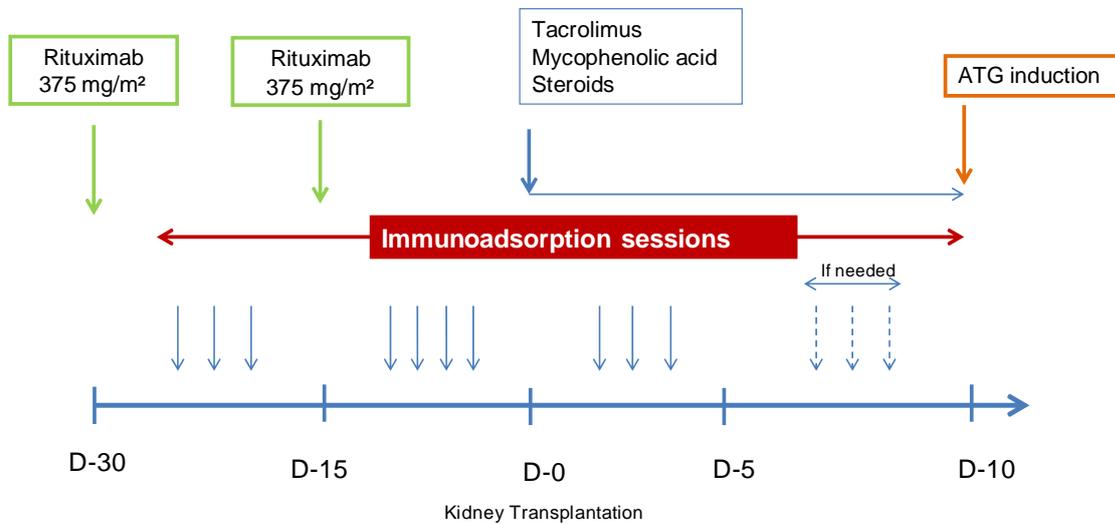
donation and the new kidney allocation system: Is there still a role for desensitization?

Clin Transplant. déc 2019;33(12):e13751.

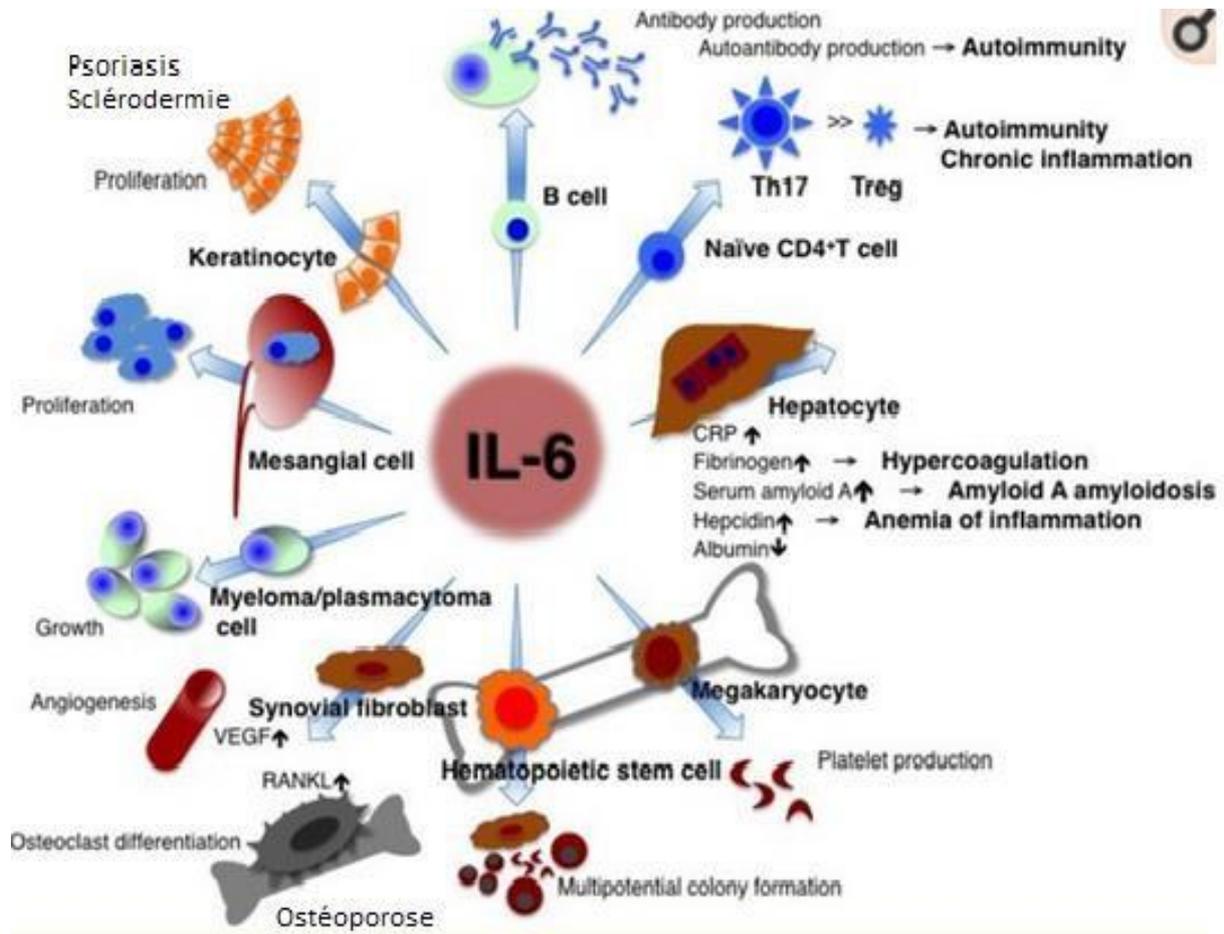
## Annexes

**Annexe 1** : protocole standard utilisé au CHU de Grenoble pour la désimmunisation des sujets hyperimmunisés en attente d'une transplantation rénale.

### Desensitization protocol applied to HLA-incompatible kidney transplant patients at Grenoble University Hospital, France



**Annexe 2** : le caractère pléiotropique de l'IL-6 et son implication dans la physiopathologie de pathologie auto-immune, hématologique, et inflammatoire (modifié d'après Tanaka et Kishimoto (16))



**Annexe 3** : article rédigé à partir de ce travail de thèse, soumis à Néphrologie et Thérapeutique, accepté pour relecture (en cours de relecture par le rédacteur en chef à la date de la soutenance de thèse)

## **Désimmunisation et blocage de la voie de l'IL-6 : quelle place pour le tocilizumab ?**

Jules Weinhard<sup>1</sup>MD, Johan Noble<sup>1</sup>MD, Thomas Jouve<sup>1,2</sup>MD, PhD, Paolo Malvezzi<sup>1</sup>MD, Lionel Rostaing<sup>1,2</sup> MD PhD.

<sup>1</sup>Service de Néphrologie, Hémodialyse, Aphérèses, et Transplantation Rénale, CHU Grenoble, Alpes, France – [jweinhard@chu-grenoble.fr](mailto:jweinhard@chu-grenoble.fr) – [jnoble@chu-grenoble.fr](mailto:jnoble@chu-grenoble.fr) – [tjouve@chu-grenoble.fr](mailto:tjouve@chu-grenoble.fr) – [pmalvezzi@chu-grenoble.fr](mailto:pmalvezzi@chu-grenoble.fr) – [lrostaing@chu-grenoble.fr](mailto:lrostaing@chu-grenoble.fr)

<sup>2</sup> Université Grenoble-Alpes, France

### **Auteur correspondant / Corresponding author :**

Lionel Rostaing, MD, PhD – numéro Orcid: 0000-0002-5130-7286

Service de Néphrologie, Hémodialyse, Aphérèses, et Transplantation Rénale, CHU Grenoble, Alpes, France

Mel: [lrostaing@chu-grenoble.fr](mailto:lrostaing@chu-grenoble.fr)

Tel: +33476768945

Fax: +33476765263

**Titre court / Short title :** Désimmunisation et Tocilizumab / Desimmunization and Tocilizumab

**Conflit d'intérêt / Conflict of interest:** aucun / none

**Points forts / Highlights :** L'interleukine-6 (IL-6) joue un rôle central dans la réponse immunitaire. Son blocage direct (clazakizumab) ou indirect via son récepteur (tocilizumab) pourrait être d'un intérêt soit dans le cadre de la désimmunisation avant greffe rénale HLA incompatible soit dans le cadre du rejet humoral chronique actif. Dans cette revue de la littérature nous examinons la place du blocage de l'IL-6 dans la préparation à la greffe rénale (désimmunisation) HLA incompatible.

Interleukin-6 (IL-6) plays a central role in the immune response. Its direct (clazakizumab) or indirect blockade via its receptor (tocilizumab) could be of interest either in the context of desimmunization before incompatible HLA renal transplant or in the context of chronic active humoral rejection. In this review of the literature, we examine the role of IL-6 blockade in preparation for HLA incompatible kidney transplant (desimmunization).

## **Résumé :**

**Contexte** : la désimmunisation (DES) améliore l'accès à la greffe rénale des sujets hyperimmunisés. La place centrale de l'IL-6 dans la réponse immunitaire fait du tocilizumab (anticorps monoclonal anti-IL6R) une molécule d'intérêt pour optimiser l'efficacité de la DES.

**Méthode** : revue systématique en utilisant sur Pubmed les MeSH terms : tocilizumab, clazakizumab, Interleukin-6, kidney transplantation, desensitization.

**Etudes récentes** : l'IL-6 est impliquée dans la réponse humorale (sécrétion d'IL-21 permettant la différenciation des plasmocytes) et cellulaire (différenciation du lymphocyte T (LT) vers un profil Th17 plutôt que T régulateur). En matière de DES, une première étude a suggéré l'intérêt du tocilizumab après échec du protocole standard (aphérèse, rituximab, IgIV). Une étude récente a montré que, en monothérapie, le TCZ diminuait le taux d'anticorps anti-HLA mais insuffisamment pour autoriser une greffe rénale. L'immunophénotypage lymphocytaire a toutefois montré un blocage de la maturation des cellules B sous TCZ, suggérant l'intérêt potentiel – à plus long terme – du TCZ pour prévenir le rebond des anticorps anti-HLA. Cette hypothèse est étayée par une récente étude où le clazakizumab (anticorps monoclonal anti-IL-6), associé au protocole standard et poursuivi après la greffe, permettait à 9/10 patients d'être greffés. Ceux-ci n'avaient développé aucun DSA (Donor Specific Antibody) à 6 mois post-greffe.

**Conclusion** : le TCZ en monothérapie est insuffisant. En association à un protocole standard, il ne semble pas améliorer l'accès à la greffe par rapport au protocole standard seul. Il pourrait cependant en améliorer les résultats à long terme (moindre risque de rejet humoral) en bloquant la maturation des cellules B.

**Mots clés** : tocilizumab, clazakizumab, désimmunisation ; greffe rénale ; anticorps anti-HLA.

**Abstract:**

Background: desensitization (DES) allows kidney transplantation for HLA highly sensitized subjects. Due to the central role of IL-6 in immunological response, tocilizumab (monoclonal antibody directed against IL-6 receptor) could probably improve DES efficacy.

Methods: Pubmed systematic review by using MeSH terms: tocilizumab, Interleukin-6, kidney transplantation, and desensitization.

Studies: IL-6 plays a role in humoral response (plasmocyte differentiation induced by lymphocyte T, IL-21 secretion) as well as in cellular response (differentiation of LT Th 17 rather than T reg). In DES field, TCZ was first studied as second-line treatment after failing of standard-of-care (SOC) (apheresis, rituximab +/- IgIV). Recent study showed that TCZ as a monotherapy attenuated anti-HLA antibodies rates but was not sufficient to allow transplantation. However, lymphocyte immunophenotyping showed that TCZ hindered B cells maturation. Thereby, TCZ could improve long-term efficacy of DES, by limiting the anti-HLA rebound and so avoiding antibody-mediated rejection. This hypothesis is supported by a recent study which used clazakizumab (monoclonal antibody directed against IL-6) in association with SOC. In that study, clazakizumab was continued after kidney transplantation. Results were encouraging because 9/10 patients were transplanted and there was no donor-specific antibody at 6 months post-transplantation.

Conclusion: tocilizumab as a monotherapy fails to desensitize HLA highly sensitized kidney transplant candidates. In association with SOC, tocilizumab does not seem to significantly improve kidney allograft access (short-term efficacy) vs. SOC only. However, it could improve long-term prognosis of HLA incompatible transplantation by hindering B-cell maturation and, thereby, avoiding DSA rebounds after transplantation.

**Keywords :** Tocilizumab; clazakizumab; desensitization; kidney transplantation; anti-HLA alloantibody.

**Abréviations / Abbreviations:**

cAMR : chronic active antibody-mediated rejection

DES : desensibilisation ou désimmunisation

DFG : débit de filtration glomérulaire

DSA : donor-specific alloantibody

IgIV : immunoglobulines polyvalentes par voie intra-veineuse

LT : lymphocyte T

MFI : mean fluorescent intensity

SOC : standard-of-care

TCZ : tocilizumab

## **Introduction :**

La transplantation rénale est reconnue comme le meilleur traitement de suppléance de l'insuffisance rénale terminale en termes de survie et de qualité de vie mais également d'un point de vue médico-économique (1–3). Malheureusement, et dans le contexte de pénurie de greffon, l'accès à la greffe des sujets hyperimmunisés s'avère souvent difficile, voire quasiment impossible. Ces sujets ayant développé des anticorps anti-HLA au cours d'expositions allogéniques antérieures (transplantation d'organe, grossesse, transfusion sanguine), le nombre de greffons potentiellement compatibles est limité. Afin d'améliorer leur accès à la greffe, un protocole de désimmunisation (DES) peut être entrepris, visant non seulement à éliminer ces anticorps anti-HLA mais également à en bloquer la production.

Développée initialement dans le cadre du don vivant apparenté HLA ou ABO incompatible, la DES est désormais envisageable pour augmenter les chances d'obtenir un greffon issu d'un donneur décédé. Le « standard-of-care » (SOC) actuel de la DES a été développé empiriquement et validé par quelques études (4–6) qui préconisent d'associer : des séances d'aphérèse (échange plasmatique, plasmaphérèse par double-filtration, ou immunoadsorption semi-spécifique), du rituximab (anticorps monoclonal anti-CD20), une triple immunosuppression classique (anti-calcineurine, acide mycophénolique, et stéroïdes) et éventuellement des immunoglobulines polyvalentes par voie intraveineuse (IgIV).

Plus difficile à organiser dans le cadre d'un donneur décédé, les résultats de ces protocoles de DES sont essentiellement étayés dans le cadre de transplantations à partir de donneur vivant. Ainsi, Montgomery *et al.* ont montré que les receveurs HLA incompatibles ayant bénéficié d'un protocole de DES et ayant reçu un greffon d'un donneur vivant ont une meilleure survie par rapport à ceux qui restent en dialyse ou finissent par obtenir un greffon compatible d'un donneur décédé (7). Les résultats de cette étude monocentrique ont été étayés par une étude multicentrique de plus grande envergure confirmant un bénéfice en matière de survie à 8 ans (8). Ces deux études concernaient la population américaine. Elles sont à nuancer avec les résultats d'une étude anglaise menée par Manook *et al.* et n'ayant pas montré d'avantage en matière de survie chez des patients hyperimmunisés ayant bénéficié d'une greffe (donneur vivant) HLA incompatible comparé à un groupe de patients restant en dialyse en attente d'un greffon issu d'un donneur décédé (9). Cette différence entre études américaine et anglaise peut s'expliquer par la survie intrinsèquement moins bonne des sujets dialysés aux Etats-Unis comparés aux sujets dialysés en Angleterre. En outre, les résultats de l'étude de Manook *et al.* peuvent être vus sous deux angles différents : l'absence d'amélioration de la

survie par la pratique des greffes HLA incompatibles, ou l'absence de surmortalité de protocoles de DES permettant d'améliorer l'accès à la greffe des sujets hyperimmunisés et donc, a priori, leur qualité de vie.

Chez certains patients, ces protocoles de DES sont mis en échec et ne parviennent pas à diminuer suffisamment le taux d'anticorps anti-HLA pour autoriser la transplantation de greffons portant les spécificités HLA correspondantes. Une des hypothèses pour expliquer cela est l'absence, avec les protocoles actuels, d'action sur les plasmocytes et notamment les plasmocytes mémoires. Avec le rituximab, cela peut paraître évident puisqu'il s'agit d'un anticorps monoclonal anti-CD20 et que ce marqueur CD20 n'est précisément plus exprimé par les plasmocytes. Ainsi, Perry et al. ont montré *in vitro* que le rituximab mais également les IgIV et les globulines anti-thymocytaires (ATG) (utilisées comme traitement d'induction à la greffe) ne parvenaient ni à induire l'apoptose des plasmocytes ni à bloquer la production d'anticorps (10). En parallèle, Vo et al. ont montré que, dans leur cohorte de 600 patients hyperimmunisés ayant bénéficié d'un protocole de désensibilisation par IgIV + rituximab, l'échec de DES était plus fréquent chez les patients ayant un taux important de plasmocytes mémoires avec spécificités anti-HLA (11).

L'idée a alors germé d'utiliser des traitements permettant de mieux cibler les plasmocytes. En premier lieu et par analogie au traitement du myélome (dû à une prolifération monoclonale de plasmocytes), le bortezomib a été étudié. *In vivo*, chez des primates hyperimmunisés, il permet une diminution du taux de cellules productrices d'anticorps et du taux de plasmocytes CD38<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>CD20<sup>-</sup> de la moelle osseuse, mais n'entraîne pas de diminution du taux de DSA (12). *In vivo*, chez des patients hyperimmunisés, le bortezomib permet dans certaines études de diminuer le taux de DSA mais sans parvenir à négativer le cross-match par microlymphocytotoxicité et donc sans améliorer l'accès à la greffe (13,14). Le bortezomib expose, par ailleurs, à des effets indésirables fréquents et n'a donc pas de pertinence dans le domaine de la désimmunisation.

Dans ce contexte où l'enjeu est de trouver une molécule permettant de mieux cibler l'ensemble des facettes de la réponse immunitaire responsable de la production d'anticorps anti-HLA, l'étude du blocage de l'IL-6 s'avère pertinente tant cette cytokine occupe une place centrale dans la régulation de la réponse immunitaire humorale et cellulaire. Nous avons ainsi réalisé une revue de la littérature visant à préciser la place du Tocilizumab (anticorps monoclonal anti-IL-6R) dans les protocoles de DES en présentant d'abord les études justifiant le rationnel physiopathologique du tocilizumab, puis en détaillant ensuite les études cliniques.

## **I- Matériels et méthodes**

Nous avons réalisé une revue systématique de la littérature en utilisant Pubmed avec les mots clefs (issus du MeSH) suivants : tocilizumab, Interleukin-6, kidney transplantation, desensitization.

## **II- Rationnel physiopathologique : IL-6 et réponse immunitaire**

L'IL-6 est une cytokine pléiotropique dont les sites d'action sont aussi nombreux que les champs thérapeutiques possibles du tocilizumab : impact sur l'hématopoïèse (anémie du syndrome inflammatoire), sur la différenciation des ostéoclastes (ostéoporose), sur la prolifération kératocytaire (psoriasis et atteintes cutanées de la sclérodermie) ou encore sur la régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire (15). Nonobstant, sa place dans la réponse immunitaire est décisive, et c'est d'ailleurs sa capacité à induire la production d'anticorps par les lymphocytes B qui a amené à sa découverte en 1985 (16). Elle était d'ailleurs prénommée alors, BSF-2 (pour B-cell Stimulating Factor 2) ou BCDF (pour B-cell differentiation factor). Son rôle central dans les différentes réponses immunitaires est désormais bien documenté.

### **IL-6 et réponse immunitaire innée.**

Impliquée dès les phases précoces de réponse du système immunitaire inné, l'IL-6 va être libérée par les monocytes et macrophages (mais également par les lymphocytes, les cellules endothéliales, et les cellules dendritiques) suite à la reconnaissance, via leur TLR (Toll-like Receptor), de « signaux dangers » d'origine infectieuse (PAMP : pathogen-associated molecular patterns) ou non (DAMP : danger-associated molecular patterns). L'IL-6 va ensuite stimuler la production hépatocytaire des protéines de l'inflammation telles que CRP, SAA, haptoglobine, ou fibrinogène.

### **IL-6 et réponse immunitaire humorale adaptative (réponse « B »)**

Tout d'abord, l'IL-6 joue un rôle dans la différenciation de la cellule B mature en cellule capable de sécréter des anticorps. En effet, l'IL-6 favorise la différenciation du LT CD4<sup>+</sup> en LT « follicular helper » qui va libérer l'IL-21 nécessaire à la différenciation de la cellule B mature en plasmocytes (17,18). Il a d'ailleurs été démontré que les plasmablastes ont une capacité importante à produire de l'IL-6 et ainsi à engendrer de nombreux LT follicular helper, et que les taux circulants de ces deux populations cellulaires étaient non seulement plus élevés chez

les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde qu'en population générale, mais également plus bas après mise sous Tocilizumab (19). Donc, l'acquisition par la cellule B mature de la capacité à produire des anticorps (i.e. la différenciation en plasmocytes) est sous la dépendance de l'IL-6. Ce concept est par ailleurs soutenu par des études menées chez des souris mutées n'exprimant pas le gène de l'IL-6 et chez qui on constate une nette diminution de la réponse immunitaire B avec notamment une baisse des IgG1, IgG2a et IgG3 (20).

De plus, l'IL-6 joue un rôle dans la génération et la régulation des cellules B mémoires. En effet, le blocage de l'IL-6 par le tocilizumab chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde est associé à une diminution significative des cellules B mémoires pré-switch (IgM<sup>+</sup>) et post-switch (IgG<sup>+</sup>) (21,22).

Enfin, il a été montré *in vivo* chez la souris que l'IL-6 participait à la survie des plasmocytes de longue durée de vie nichés dans la moelle osseuse (23).

#### IL-6 et réponse immunitaire **cellulaire** adaptative (réponse « T »)

La différenciation d'un LT CD4<sup>+</sup> naïf en l'un ou l'autre de ces effecteurs (Th1, Th2, Th17, ou Treg), qui auront chacun un rôle différent, dépend notamment de l'environnement cytokinique : l'IL-12 oriente vers un profil Th1 ; l'IL-4 oriente vers un profil Th2 ; le TGF-β oriente vers un profil Treg (cellules T régulatrices) ; l'association TGF-β et IL-6 oriente vers un profil Th-17 (24). Il a par ailleurs été montré que l'orientation vers Th17 ou Treg était « mutuellement exclusive » : la génération de Treg nécessite la présence exclusive de TGF-β, alors que la présence d'IL-6 (en association avec le TGF-β) orientera vers un profil Th17 tout en empêchant la différenciation en Treg (25). Or, si les Treg induisent une immunotolérance et diminuent les réponses auto-immunes et allo-immunes, les Th17 sont quant à eux associés au développement des maladies auto-immunes et inflammatoires chroniques, et semblent également impliqués dans la physiopathologie des rejets aigus cellulaires en transplantation rénale et du rejet chronique en transplantation cardiaque (24,26,27).

En outre, la différenciation du LT CD8<sup>+</sup> en LT cytotoxique est également favorisée par l'IL-6 (28,29). Enfin, il a également été démontré l'importance de l'IL-6 dans la différenciation et la survie des cellules T mémoires de longue durée de vie (long-term memory T-cells) (30).

Ainsi, du fait de la place centrale qu'occupe l'IL-6 dans la réponse immunitaire adaptative à la fois sur le versant humoral et sur le versant cellulaire, l'utilisation du tocilizumab comme traitement de DES s'avère pertinente.

### **III- Tocilizumab en transplantation rénale**

#### Tocilizumab

Le tocilizumab (TCZ) est un anticorps monoclonal dirigé spécifiquement contre le récepteur de l'IL-6, qu'il s'agisse de la forme membranaire ou soluble de ce récepteur. Initialement, il a obtenu l'AMM pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et de l'arthrite juvénile idiopathique systémique. Du fait de la multitude de sites d'action de l'IL-6 et d'un profil de tolérance favorable dans les premières cohortes rhumatologiques, le tocilizumab a été étudié dans de nombreuses autres indications au cours des 15 dernières années : maladie de Takayasu réfractaire (31), lupus érythémateux disséminé (32), artérite à cellules géantes (33), neuromyéélite optique récidivante (34), maladie du greffon contre l'hôte (acute Graft versus Host Disease) post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (35) et même plus récemment dans la pneumopathie à SARS-CoV2 (36).

#### Tocilizumab et rejet médié par les anticorps

Dans le domaine de la transplantation rénale, le tocilizumab a d'abord été étudié dans les rejets humoraux. Le rejet humoral chronique actif (chronic active antibody-mediated rejection cAMR) est un enjeu thérapeutique majeur en transplantation rénale car il constitue l'une des principales causes de perte de greffon. Pourtant, aucun traitement n'a clairement fait la preuve de sa supériorité. Choi *et al.* ont utilisé le tocilizumab chez 36 patients atteints de cAMR ayant échappé au SOC et ont obtenu des résultats encourageants : 91 % de survie patient (survie globale) et 80 % de survie de greffon à 6 ans, associée à une diminution des DSA et à une fonction rénale stable à 2 ans (37). Ils ont observé 4 pertes de greffon liées à un cAMR. Celles-ci sont survenues chez des patients chez qui le TCZ avait été arrêté prématurément (1 pour raison médicale, 3 pour raison financière), suggérant un effet rebond lié à l'accumulation d'IL-6 sous traitement (par blocage de son récepteur par le TCZ) (38). Pour éviter cela, l'utilisation du Clazakizumab (anticorps monoclonal inhibant directement l'IL-6) a été testé dans une étude contrôlée randomisée chez 20 patients présentant une forme tardive de rejet médié par les anticorps, actif ou chronique actif («late active or chronic active ABMR») (39). Après 12 semaines de traitement, le groupe clazakizumab présentait une diminution

significative de la MFI des DSA par rapport au groupe placebo, et un moindre déclin du DFG. Cependant, l'analyse de sécurité (critère de jugement principal) faisait état de complications infectieuses sévères chez 5 patients (25%) et de diverticulites coliques compliquées chez 2 patients (10%).

Ces données encourageantes d'efficacité sont par ailleurs à nuancer avec les résultats d'une série de 9 patients avec un cAMR résistant au SOC et traités par tocilizumab : en comparaison à une cohorte historique sous SOC seul, le tocilizumab n'apporte pas d'amélioration significative sur la fonction du greffon et sur les lésions histologiques (40). Pour savoir si l'effet potentiellement bénéfique du tocilizumab décrit par Choi *et al.* nécessite l'exposition préalable aux autres thérapies immunosuppressives, Lavacca *et al.* ont utilisé le tocilizumab en 1<sup>ère</sup> intention chez 15 patients transplantés rénaux présentant un cAMR déjà sérieux (60% avec glomérulopathie du transplant classée cg3 selon BANFF) avec des résultats satisfaisants : stabilité de la fonction rénale et de la protéinurie (sur une durée de suivi de 20,7 mois), diminution significative du taux de DSA, amélioration des lésions d'inflammation microvasculaire (sur la biopsie à 6 mois) et stabilité des autres lésions histologiques (41). A noter que les données concernant l'utilisation du tocilizumab dans le traitement du rejet humoral aigu (acute active AMR) sont plus limitées (42).

En parallèle, Chandran *et al.* ont réalisé une étude contrôlée, randomisée, incluant 30 patients transplantés rénaux avec une fonction du greffon stable, présentant une inflammation infraclinique définie histologiquement (sur une biopsie systématique) par une inflammation interstitielle modérée (BANFF i ou ti 1-2 et t0) (43). Les sujets ont été randomisés entre un groupe traitement (tocilizumab 8mg/kg tous les mois, 6 injections) et un groupe placebo. Les auteurs ont ainsi montré une diminution significative de l'inflammation interstitielle chez 62.5% des sujets sous tocilizumab, versus 21.4% dans le groupe témoin (p=0.03), associée à une augmentation du taux de cellules T régulatrices Treg. D'après cette étude, le tocilizumab pourrait donc avoir un intérêt dès les stades précoces d'inflammation du greffon et avant même le stade de rejet.

### Tocilizumab et désimmunisation

Il existe peu d'études concernant l'utilisation du TCZ dans les protocoles de désimmunisation chez des patients hyperimmunisés en attente de transplantation rénale. Une étude menée *in vivo* chez des souris sensibilisées par une greffe de peau HLA-incompatible (HLA-A2) suggère que le TCZ permet non seulement une diminution du taux d'anticorps anti-HLA-A2 mais également du nombre de plasmocytes (produisant ces anticorps) dans la moelle osseuse et dans la rate (44,45).

Chez l'homme, Vo *et al.* ont testé le TCZ comme traitement de désensibilisation de 2<sup>ème</sup> ligne chez 10 patients hyperimmunisés chez qui le protocole classique de désensibilisation (IgIV + rituximab +/- échanges plasmatiques) avait échoué (au moins à 2 reprises) (11). Le profil de sécurité (critère de jugement principal) du traitement s'est avéré favorable, et 5 patients sur 10 ont pu être greffés après un délai moyen de 8,1 mois (alors qu'il s'était écoulé 25 mois depuis la première tentative de désensibilisation). Il n'y avait pas de rejet humoral à la biopsie systématique à 6 mois ni de développement de DSA, mais il existait un rejet humoral à 12 mois chez un seul patient, ayant bien répondu au traitement. En somme, cette étude menée sur un petit effectif suggère l'intérêt d'adjoindre le tocilizumab au protocole de désimmunisation standard chez les patients hyperimmunisés les plus difficiles à désensibiliser.

Afin d'évaluer l'efficacité et la sécurité d'un protocole de désimmunisation exclusivement basé sur le tocilizumab, Daligault *et al.* ont réalisé une étude monocentrique, non randomisée, chez 14 patients hyperimmunisés en attente d'un greffon rénal et n'ayant, jusqu'alors, bénéficié d'aucun autre traitement de désimmunisation (46). Tout en ayant un profil de sécurité favorable (1 seul évènement indésirable grave de nature infectieuse), il a été observé une baisse significative de la MFI de l'anticorps anti-HLA immunodominant ainsi que du nombre d'anticorps avec une MFI > 10 000. Toutefois, cette baisse n'était pas cliniquement significative, puisque les MFI restaient à des niveaux incompatibles avec une greffe, et un seul patient a ainsi pu être greffé. En revanche, 11/14 patients ont débuté, à la suite du tocilizumab, un protocole classique de DES (aphérèse, rituximab, triple immunosuppression [tacrolimus, acide mycophénolique, stéroïdes]) et 8 ont pu être greffés. La greffe a été réalisée en moyenne 9,6 mois après le début du TCZ alors que leur temps d'attente sur liste entre la date de la dernière inscription et le début de TCZ était de 90,2 mois. En comparaison, Noble *et al.* ont récemment publié les résultats du protocole de désimmunisation standard utilisé au Centre Hospitalo-Universitaire de Grenoble (aphérèse, rituximab, immunosuppression par tacrolimus, mycophénolate mofetil, prednisone) entre 2016 et 2020 : 45 sujets ont été traités (18 avec un

projet de donneur vivant, 27 pour un projet de donneur décédé) dont les 13 patients de l'étude de Daligault et al. ayant bénéficié préalablement du tocilizumab (47). En retirant ces derniers, 32 patients ont ainsi été traités dont 29 ont pu être greffés (91%). Ces études suggèrent donc qu'en matière d'amélioration d'accès à la greffe des sujets hyperimmunisés, le TCZ seul n'est pas suffisant, et que l'adjonction du TCZ en amont d'un protocole standard de DES ne semble pas faire mieux que le protocole standard seul.

En revanche, l'intérêt du TCZ pourrait se trouver à plus long terme. En reprenant la cohorte des patients grenoblois traités par Tocilizumab seul, Jouve et al. se sont attachés à caractériser, par cytométrie en flux, le profil lymphocytaire de ces sujets comparés à des patients hyperimmunisés en dialyse et à des sujets sains (48). Ils ont ainsi montré que le tocilizumab allait inhiber la maturation des cellules B (diminution significative des cellules B post-centre germinatif, des plasmablastes et des plasmocytes). Ainsi, en entravant la maturation des cellules B, il est possible que le tocilizumab – en association au protocole standard de désimmunisation – limite le rebond des anticorps anti-HLA après la greffe et améliore ainsi, à long terme, le résultat des protocoles de désimmunisation. Plutôt qu'améliorer l'accès à la greffe, le tocilizumab permettrait donc surtout d'améliorer la survie du greffon à long terme en limitant le risque de rebond post-greffe des anticorps anti-HLA et donc de rejet humoral. Dès lors, la question pourrait se poser de poursuivre le tocilizumab après la greffe HLA incompatible.

Dans cette optique, une étude a été menée en utilisant du clazakizumab, un anticorps monoclonal dirigé directement contre l'IL-6 et étudié dans la polyarthrite rhumatoïde (non encore commercialisé). Vo et al. ont ainsi utilisé la clazakizumab comme traitement de désimmunisation chez 10 patients hyperimmunisés recevant, en parallèle, des IgIV et des échanges plasmatiques (49). Tout en ayant un profil de sécurité favorable, une baisse significative des anticorps anti-HLA a été observée entre le début et la fin du traitement chez 9/10 patients qui ont tous pu être transplantés. Le clazakizumab a été poursuivi après la transplantation et aucun des patients ne présentait de DSA à 6 mois post-transplantation. En outre, il a été constaté, chez ces patients, qu'il existait à 6 mois post-transplantation une augmentation significative du taux de LT reg exprimant FoxP3, suggérant que le clazakizumab permettrait d'orienter la réponse T vers un profil tolérogène (50). De façon intéressante, Jouve et al. n'avaient pas noté d'augmentation significative de cette population lymphocytaire sous tocilizumab (48).

## **Conclusion et ouverture**

Poursuivre la recherche de nouveaux traitements et procédures de DES est un enjeu majeur afin d'améliorer l'accès à la greffe des sujets hyperimmunisés tout en garantissant non seulement la sécurité, mais aussi l'efficacité à l'échelle individuelle (accès à la greffe, fonction du greffon à long terme) et collective (respect du principe d'utilité : désimmuniser suffisamment efficacement pour que proposer un greffon à un sujet hyperimmunisé ne réduise pas la durée de vie du greffon qu'on aurait espéré avoir chez un sujet non immunisé). Le tocilizumab est un candidat de choix du fait de la place centrale qu'occupe l'IL-6 dans la régulation de la réponse immunitaire cellulaire et humorale. Lorsqu'il est utilisé en monothérapie, sans autre traitement de DES, le tocilizumab permet une diminution des anticorps anti-HLA, mais qui reste insuffisante pour permettre une greffe. En revanche, le blocage de la maturation des cellules B que le TCZ induit suggère que son adjonction au protocole standard de DES permettrait d'améliorer, à long terme, les résultats des greffes HLA-incompatibles en diminuant le rebond des anticorps post-greffe. La poursuite du TCZ après la greffe pourrait alors se justifier pour diminuer le risque de rejet humoral. L'efficacité et la sécurité d'une telle procédure reste à démontrer par une étude comparant cette stratégie au protocole de DES standard.

## **Bibliographie/References :**

1. Port FK, Wolfe RA, Mauger EA, Berling DP, Jiang K. Comparison of survival probabilities for dialysis patients vs cadaveric renal transplant recipients. *JAMA*. 1993;270(11):1339-43. doi:10.1001/jama.1993.03510110079036.
2. Laupacis A, Keown P, Pus N, Krueger H, Ferguson B, Wong C, et al. A study of the quality of life and cost-utility of renal transplantation. *Kidney Int*. 1996;50(1):235-42. doi: 10.1038/ki.1996.307.
3. Wong G, Howard K, Chapman JR, Chadban S, Cross N, Tong A, et al. Comparative survival and economic benefits of deceased donor kidney transplantation and dialysis in people with varying ages and co-morbidities. *PloS One*. 2012;7(1):e29591. doi: 10.1371/journal.pone.0029591.
4. Jordan SC, Tyan D, Stablein D, McIntosh M, Rose S, Vo A, et al. Evaluation of intravenous immunoglobulin as an agent to lower allosensitization and improve transplantation in highly sensitized adult patients with end-stage renal disease: report of the NIH IG02 trial. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2004;15(12):3256-62. doi: 10.1097/01.ASN.0000145878.92906.9F.
5. Vo AA, Choi J, Cisneros K, Reinsmoen N, Haas M, Ge S, et al. Benefits of rituximab combined with intravenous immunoglobulin for desensitization in kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2014;98(3):312-9. doi: 10.1097/TP.0000000000000064.
6. Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Zuber J, Anglicheau D, Timsit M-O, Martinez F, et al. Combined posttransplant prophylactic IVIg/anti-CD 20/plasmapheresis in kidney recipients with preformed donor-specific antibodies: a pilot study. *Transplantation*. 2010;89(11):1403-10. doi: 10.1097/TP.0b013e3181da1cc3.
7. Montgomery RA, Lonze BE, King KE, Kraus ES, Kucirka LM, Locke JE, et al. Desensitization in HLA-incompatible kidney recipients and survival. *N Engl J Med*. 2011;365(4):318-26. doi: 10.1056/NEJMoa1012376.
8. Orandi BJ, Luo X, Massie AB, Garonzik-Wang JM, Lonze BE, Ahmed R, et al. Survival Benefit with Kidney Transplants from HLA-Incompatible Live Donors. *N Engl J Med*. 2016;374(10):940-50. doi: 10.1056/NEJMoa1508380.
9. Manook M, Koeser L, Ahmed Z, Robb M, Johnson R, Shaw O, et al. Post-listing survival for highly sensitised patients on the UK kidney transplant waiting list: a matched cohort analysis. *Lancet Lond Engl*. 2017;389(10070):727-34. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31595-1.
10. Perry DK, Burns JM, Pollinger HS, Amiot BP, Gloor JM, Gores GJ, et al. Proteasome Inhibition Causes Apoptosis of Normal Human Plasma Cells Preventing Alloantibody Production. *Am J Transplant*. 2009;9(1):201-9. doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02461.x.
11. Vo AA, Choi J, Kim I, Louie S, Cisneros K, Kahwaji J, et al. A Phase I/II Trial of the Interleukin-6 Receptor-Specific Humanized Monoclonal (Tocilizumab) + Intravenous Immunoglobulin in Difficult to Desensitize Patients. *Transplantation*. 2015;99(11):2356-63. doi: 10.1097/TP.0000000000000741.

12. Kwun J, Burghuber C, Manook M, Iwakoshi N, Gibby A, Hong JJ, et al. Humoral Compensation after Bortezomib Treatment of Allosensitized Recipients. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2017;28(7):1991-6. doi: 10.1681/ASN.2016070727.
13. Moreno Gonzales MA, Gandhi MJ, Schinstock CA, Moore NA, Smith BH, Braaten NY, et al. 32 Doses of Bortezomib for Desensitization Is Not Well Tolerated and Is Associated With Only Modest Reductions in Anti-HLA Antibody. *Transplantation*. 2017;101(6):1222-7. doi: 10.1097/TP.0000000000001330.
14. Guthoff M, Schmid-Horch B, Weisel KC, Häring H-U, Königsrainer A, Heyne N. Proteasome inhibition by bortezomib: effect on HLA-antibody levels and specificity in sensitized patients awaiting renal allograft transplantation. *Transpl Immunol*. 2012;26(4):171-5. doi: 10.1016/j.trim.2012.01.002.
15. Tanaka T, Kishimoto T. Targeting interleukin-6: all the way to treat autoimmune and inflammatory diseases. *Int J Biol Sci*. 2012;8(9):1227-36. doi: 10.7150/ijbs.4666.
16. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. 1986;324(6092):73-6. doi: 10.1038/324073a0.
17. Kishimoto T. IL-6: from its discovery to clinical applications. *Int Immunol*. mai 2010;22(5):347-52. doi: 10.1093/intimm/dxq030.
18. Dienz O, Eaton SM, Bond JP, Neveu W, Moquin D, Noubade R, et al. The induction of antibody production by IL-6 is indirectly mediated by IL-21 produced by CD4+ T cells. *J Exp Med*. 2009;206(1):69-78. doi: 10.1084/jem.20081571.
19. Chavele K-M, Merry E, Ehrenstein MR. Cutting edge: circulating plasmablasts induce the differentiation of human T follicular helper cells via IL-6 production. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2015;194(6):2482-5. doi: 10.4049/jimmunol.1401190.
20. Jones SA. Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2005;175(6):3463-8. doi: 10.4049/jimmunol.175.6.3463.
21. Roll P, Muhammad K, Schumann M, Kleinert S, Einsele H, Dörner T, et al. In vivo effects of the anti-interleukin-6 receptor inhibitor tocilizumab on the B cell compartment. *Arthritis Rheum*. 2011;63(5):1255-64. doi: 10.1002/art.30242.
22. Muhammad K, Roll P, Seibold T, Kleinert S, Einsele H, Dörner T, et al. Impact of IL-6 receptor inhibition on human memory B cells in vivo: impaired somatic hypermutation in pre-switch memory B cells and modulation of mutational targeting in memory B cells. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(8):1507-10. doi: 10.1136/ard.2010.141325.
23. Cassese G, Arce S, Hauser AE, Lehnert K, Moewes B, Mostarac M, et al. Plasma cell survival is mediated by synergistic effects of cytokines and adhesion-dependent signals. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2003;171(4):1684-90. doi: 10.4049/jimmunol.171.4.1684.
24. Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, Lord GM. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Exp Immunol*. 2007;148(1):32-46. doi: 10.1111/j.1365-2249.2007.03356.x.

25. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*. 2006;441(7090):235-8. doi: 10.1038/nature04753.
26. Faust SM, Lu G, Marini BL, Zou W, Gordon D, Iwakura Y, et al. Role of T cell Transforming Growth Factor  $\beta$  Signaling and IL-17 in Allograft Acceptance and Fibrosis Associated with Chronic Rejection. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2009;183(11):7297. doi: 10.4049/jimmunol.0902446.
27. Van Kooten C, Boonstra JG, Paape ME, Fossiez F, Banchereau J, Lebecque S, et al. Interleukin-17 activates human renal epithelial cells in vitro and is expressed during renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol JASN*. 1998;9(8):1526-34. doi: 10.1681/ASN.V981526.
28. Kimura A, Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur J Immunol*. 2010;40(7):1830-5. doi: 10.1002/eji.201040391.
29. Sarantopoulos A, Tselios K, Gkoukourelias I, Pantoura M, Georgiadou A-M, Boura P. Tocilizumab treatment leads to a rapid and sustained increase in Treg cell levels in rheumatoid arthritis patients: comment on the article by Thiolat et al. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. 2014;66(9):2638. doi: 10.1002/art.38714.
30. Rochman I, Paul WE, Ben-Sasson SZ. IL-6 increases primed cell expansion and survival. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2005;174(8):4761-7. doi: 10.4049/jimmunol.174.8.4761.
31. Nakaoka Y, Isobe M, Tanaka Y, Ishii T, Ooka S, Niuro H, et al. Long-term efficacy and safety of tocilizumab in refractory Takayasu arteritis: final results of the randomized controlled phase 3 TAKT study. *Rheumatol Oxf Engl*. 2020;59(9):2427-34. doi: 10.1093/rheumatology/kez630.
32. Illei GG, Shirota Y, Yarboro CH, Daruwalla J, Tackey E, Takada K, et al. Tocilizumab in systemic lupus erythematosus: data on safety, preliminary efficacy, and impact on circulating plasma cells from an open-label phase I dosage-escalation study. *Arthritis Rheum*. 2010;62(2):542-52. doi: 10.1002/art.27221.
33. Calderón-Goercke M, Castañeda S, Aldasoro V, Villa I, Prieto-Peña D, Atienza-Mateo B, et al. Tocilizumab in giant cell arteritis: differences between the GiACTA trial and a multicentre series of patients from the clinical practice. *Clin Exp Rheumatol*. 2020;38 Suppl 124(2):112-9. PMID: 32441643
34. Zhang C, Zhang M, Qiu W, Ma H, Zhang X, Zhu Z, et al. Safety and efficacy of tocilizumab versus azathioprine in highly relapsing neuromyelitis optica spectrum disorder (TANGO): an open-label, multicentre, randomised, phase 2 trial. *Lancet Neurol*. 2020;19(5):391-401. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30070-3.
35. Ganetsky A, Frey NV, Hexner EO, Loren AW, Gill SI, Luger SM, et al. Tocilizumab for the treatment of severe steroid-refractory acute graft-versus-host disease of the lower gastrointestinal tract. *Bone Marrow Transplant*. 2019;54(2):212-7. doi: 10.1038/s41409-018-0236-z.

36. Salama C, Han J, Yau L, Reiss WG, Kramer B, Neidhart JD, et al. Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19 Pneumonia. *N Engl J Med*. 2021;384(1):20-30. doi: 10.1056/NEJMoa2030340.
37. Choi J, Aubert O, Vo A, Loupy A, Haas M, Puliyananda D, et al. Assessment of Tocilizumab (Anti-Interleukin-6 Receptor Monoclonal) as a Potential Treatment for Chronic Antibody-Mediated Rejection and Transplant Glomerulopathy in HLA-Sensitized Renal Allograft Recipients. *Am J Transplant*. 2017;17(9):2381-9. doi: 10.1111/ajt.14228.
38. Nishimoto N, Terao K, Mima T, Nakahara H, Takagi N, Kakehi T. Mechanisms and pathologic significances in increase in serum interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor after administration of an anti-IL-6 receptor antibody, tocilizumab, in patients with rheumatoid arthritis and Castleman disease. *Blood*. 2008;112(10):3959-64. doi: 10.1182/blood-2008-05-155846.
39. Doberer K, Duerr M, Halloran PF, Eskandary F, Budde K, Regele H, et al. A Randomized Clinical Trial of Anti-IL-6 Antibody Clazakizumab in Late Antibody-Mediated Kidney Transplant Rejection. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2021;32(3):708-22. doi: 10.1681/ASN.2020071106.
40. Massat M, Congy-Jolivet N, Hebral A-L, Esposito L, Marion O, Delas A, et al. Do anti-IL-6R blockers have a beneficial effect in the treatment of antibody-mediated rejection resistant to standard therapy after kidney transplantation? *Am J Transplant*. 2021;21(4):1641-1649; doi: 10.1111/ajt.16391.
41. Lavacca A, Presta R, Gai C, Mella A, Gallo E, Camussi G, et al. Early effects of first-line treatment with anti-interleukin-6 receptor antibody tocilizumab for chronic active antibody-mediated rejection in kidney transplantation. *Clin Transplant*. 2020;34(8):e13908. doi: 10.1111/ctr.13908.
42. Pottebaum AA, Venkatachalam K, Liu C, Brennan DC, Murad H, Malone AF, et al. Efficacy and Safety of Tocilizumab in the Treatment of Acute Active Antibody-mediated Rejection in Kidney Transplant Recipients. *Transplant Direct*. 2020;6(4):e543. doi: 10.1097/TXD.0000000000000988.
43. Chandran S, Leung J, Hu C, Laszik ZG, Tang Q, Vincenti FG. Interleukin-6 blockade with tocilizumab increases Tregs and reduces T effector cytokines in renal graft inflammation: A randomized controlled trial. *Am J Transplant* 2021;21(7):2543-2554. doi: 10.1111/ajt.16459.
44. Kim I, Wu G, Chai N, Klein AS, Jordan S. Anti-interleukin 6 receptor antibodies attenuate antibody recall responses in a mouse model of allosensitization. *Transplantation*. 2014;98(12):1262-70. doi: 10.1097/TP.0000000000000437.
45. Wu G, Chai N, Kim I, Klein AS, Jordan SC. Monoclonal anti-interleukin-6 receptor antibody attenuates donor-specific antibody responses in a mouse model of allosensitization. *Transpl Immunol*. 2013;28(2-3):138-43. doi: 10.1016/j.trim.2013.03.003.
46. Daligault M, Bardy B, Noble J, Bourdin A, Masson D, Naciri Bennani H, et al. Marginal Impact of Tocilizumab Monotherapy on Anti-HLA Alloantibodies in Highly Sensitized

- Kidney Transplant Candidates. *Transplant Direct*. 2021;7(5):e690. doi: 10.1097/TXD.0000000000001139.
47. Noble J, Metzger A, Naciri Bennani H, Daligault M, Masson D, Terrec F, et al. Apheresis Efficacy and Tolerance in the Setting of HLA-Incompatible Kidney Transplantation. *J Clin Med*. 2021;10(6):1316. doi: 10.3390/jcm10061316.
  48. Jouve T, Laheurte C, Noble J, Weinhard J, Daligault M, Renaudin A, et al. Immune responses following tocilizumab therapy to desensitize HLA-sensitized kidney transplant candidates. *Am J Transplant*. 2021; doi: 10.1111/ajt.16709.
  49. Vo A, Ammerman N, Huang E, Toyoda M, Ge S, Peng A, et al. Clazakizumab® (Anti-IL-6) For Desensitization Of Highly-Hla Sensitized Patients Awaiting Kidney Transplant (NCT03380962). *Transplantation*. 2020;104(S3):S104. doi: 10.1097/01.tp.0000698796.63079.e4
  50. Jordan S, Ge S, Ammerman N, Toyoda M, Huang E, Peng A, et al. Clazakizumab (Anti-IL-6) Induces Foxp3+ Tregs In Highly Hla Sensitized Patients Receiving HLAI Kidney Transplantation (NCT03380962). *Transplantation*. 2020;104(S3):S105. doi: 10.1097/01.tp.0000698800.17823.68

**Tableau 1** : Principales études sur la sécurité et l'efficacité du Tocilizumab comme traitement de désimmunisation.

Etude	Design / population	Intervention	Critères de jugements	Résultats principaux
Kim et al.  DOI : 10.1097/TP.0000000000000437  Transplantation 2014	Etude pré-clinique, <i>in vivo</i>  Souris sensibilisées par greffe de peau HLA-A2 incompatible	TCZ intrapéritonéal (10 à 30mg/kg x3/semaines pendant 4 semaines)  vs. placebo	MFI Ac anti-HLA-A2  Taux de - LT fh - LT fh 17 - LT reg - PC longue durée vie	<input type="checkbox"/> MFI Ac anti-HLA-A2 (p=0.0076)  <input type="checkbox"/> taux : - LT fh - LT fh 17 - PC longue durée vie  <input checked="" type="checkbox"/> LT reg
Vo et al.  DOI: 10.1097/TP.0000000000000741  Transplantation 2015	Essai phase I/II, monocentrique, non contrôlé  10 sujets HI Après échec DES par RTX + IgIV +/- EP	TCZ 8mg/kg J15 puis 1/mois pendant 6 mois + IgIV J0 et J15 (2 g/kg)	Efficacité : - % patients greffés - Rejet biopsie M6 - DSA à M6  Sécurité	5/10 sujets transplantés (délais moyen 8.1 mois post-1 <sup>er</sup> TCZ)  A M6 : pas de DSA, pas de rejet humoral  A M12 : 1 rejet humoral (bonne réponse au traitement) ; pas de perte de greffon  2 EI graves : -OAP (insuffisance dialyse) avec épilepsie (non relié au TCZ) - colite infectieuse perforée (peut-être lié au TCZ)
Daligault et al.  DOI: 10.1097/TXD.0000000000001139	Essai phase II, monocentrique, non contrôlé  Sujets HI ; 1 <sup>ère</sup> tentative de DES	TCZ 8mg/kg (1/mois ; pendant ≥ 6 mois)  Aucune autre procédure de	Efficacité : - MFI ac anti-HLA immunodominant - Nombre ac anti-HLA avec MFI > 10 000 - % patients greffés	<input checked="" type="checkbox"/> : - MFI ac anti-HLA immunodominant (p < 0.05) - Nombre Ac anti-HLA avec MFI > 10 000 (p < 0.05)

Transplantation Direct 2021		DES préalable ou concomitante	Sécurité	Mais non cliniquement significatif : 1/14 patient greffé  1 EI grave : spondylodiscite
Jouve et al.  DOI: 10.1111/ajt.16709  AJT 2021	Etude monocentrique, contrôlée, non randomisée  Sujets HI (1 <sup>ère</sup> tentative de DES)  Groupes contrôle : - sujets HI restant en dialyse sans DES - sujets sains	TCZ 8mg/kg (1/mois ; ≥ 6 mois)  Aucune autre procédure de DES préalable ou concomitante	Evolution taux : -LT fh 1 ; LT fh 2 ; LT fh 17 ; LT reg - plasmablastes, plasmocytes, cellules B mémoires  Evolution MFI ac anti-HLA	<u>Population T</u> : Pas de changement significatif : LT fh 1 ; LT fh 2 ; LT fh 17 ; LT reg  <u>Population B</u> : ↔ blocage maturation ☒ : - cellules B post-centre germinatif, - plasmablastes - plasmocytes  <u>MFI Ac anti-HLA</u> : même constat que Daligault et al. (même cohorte)

*Abréviations* : CJP : critère de jugement principal ; CJS : critères de jugement secondaires ; DES : désimmunisation ; DFG : débit de filtration glomérulaire ; EI : effets indésirables ; EP : échanges plasmatiques ; HI : hyperimmunisé ; IgIV : immunoglobulines polyvalentes par voie intraveineuse ; LT fh (1,2,17) : lymphocytes T follicular helper (1,2,17) ; LT reg : lymphocytes T régulateurs ; MFI : mean fluorescent intensity ; PC : plasmocytes ; RTX : rituximab.