

6

Nouveaux immunosuppresseurs

Les progrès de l'immunosuppression des 10 dernières années ont surtout porté sur la diminution de l'incidence du rejet aigu dans une population de patients non immunisés, incidence qui est passée d'environ 50 % en 1995 à 10-20 % en 2008. Ces progrès ont également été associés à l'amélioration de la prévention anti-infectieuse, notamment la généralisation de la prophylaxie anti-CMV chez les patients à risque. La prophylaxie anti-infectieuse permet d'augmenter le niveau d'immunosuppression sans augmenter les complications infectieuses précoces post-greffe. En dehors de l'infection émergente à virus BK qui est probablement directement liée à l'augmentation du niveau d'immunosuppression, il ne semble pas que la diminution de l'incidence de rejet aigu soit associée à une augmentation de la morbidité ou de la mortalité infectieuse.

Ces 10 dernières années ont été une période de changement des pratiques. L'augmentation de l'activité de transplantation n'a pu se faire qu'avec l'augmentation du prélèvement de reins provenant de donneurs plus âgés, dit marginaux. Dans le même temps, l'âge moyen de la population des patients en attente de greffe a augmenté de façon significative. Enfin, bien que l'utilisation systématique du traitement par érythropoïétine (EPO) recombinante ait permis une réduction drastique des transfusions pré-greffe et des risques d'immunisation associés, le nombre des patients en attente de deuxième ou de troisième greffe a augmenté. Ces patients ont souvent développé des anticorps anti-HLA de classe I ou de classe II au cours de leur transplantation antérieure et sont des receveurs à haut risque de perte du greffon d'origine immunologique.

Paradoxalement, malgré la réduction de l'incidence du rejet aigu au cours de la première année de greffe, la durée de vie des greffons n'a pas augmenté de manière significative. La perte des greffons à long terme chez les patients vivants est secondaire à une entité appelée néphropathie chronique d'allogreffe (NCA). La NCA est d'origine immunologique, c'est le rejet chronique, et non immunologique. Chez les patients immunisés avant la greffe et porteurs d'anticorps anti-HLA, le risque de rejet chronique est augmenté. Les traitements immunosuppresseurs actuels contrôlent mal la réponse humorale et la réponse lymphocytaire T mémoire. La néphrotoxicité des inhibiteurs de la calcineurine est une composante importante de la part non immunologique de la néphropathie chronique d'allogreffe.

Par ailleurs, on constate une augmentation de l'incidence des cancers post-transplantation et de la mortalité par cancer chez les transplantés. Cette augmentation pourrait être liée au renforcement de l'immunosuppression et à l'élévation de l'âge des receveurs.

Les problèmes actuels en transplantation peuvent être résumés ainsi : l'utilisation de greffons de moindre qualité provenant de donneurs âgés ; une population plus âgée et plus souvent immunisée de patients en attente de greffe ; une faible efficacité des traitements sur la réponse immunitaire humorale ainsi que sur la réponse mémoire et sur le rejet chronique ; l'augmentation de l'incidence des cancers. Par ailleurs, il est indispensable de diminuer la toxicité rénale des immunosuppresseurs, car l'insuffisance rénale est une complication majeure de l'immunosuppression en transplantation d'organes (Ojo et coll., 2003).

Propriétés souhaitées pour les nouveaux immunosuppresseurs

Compte tenu des enjeux de la transplantation rappelés ci-dessus, les propriétés recherchées pour les nouveaux immunosuppresseurs peuvent être définies de la façon suivante :

- nouveau mode d'action ;
- efficacité sur le rejet aigu et le rejet chronique : inhibition des lymphocytes mémoires, blocage de la synthèse des alloanticorps, blocage du rejet chronique actif médié par des anticorps, inhibition des mécanismes effecteurs du rejet chronique (tels que la prolifération des cellules musculaires lisses) ;
- bon rapport bénéfice/risque (pas de néphrotoxicité, bonne tolérance globale) ;
- propriétés anti-tumorales ou pas d'effet protumoral ;
- potentiel pour induire la tolérance ;
- s'il s'agit d'un anticorps monoclonal, il doit être humanisé et bien toléré.

Nous verrons plus loin si les nouveaux immunosuppresseurs en cours de développement remplissent ces objectifs.

Mode d'action et classification des immunosuppresseurs

La quasi-totalité de l'arsenal thérapeutique immunosuppresseur cible la réponse adaptative dirigée contre les alloantigènes du greffon et dont le lymphocyte T représente la clef de voûte : les lymphocytes T CD8⁺ sont les effecteurs des réponses cellulaires cytotoxiques tandis que les lymphocytes T CD4⁺ apportent une aide indispensable à l'initiation des réponses humorales.

Bases moléculaires de l'activation lymphocytaire

L'activation d'un lymphocyte T requiert 3 signaux (figure 6.1).

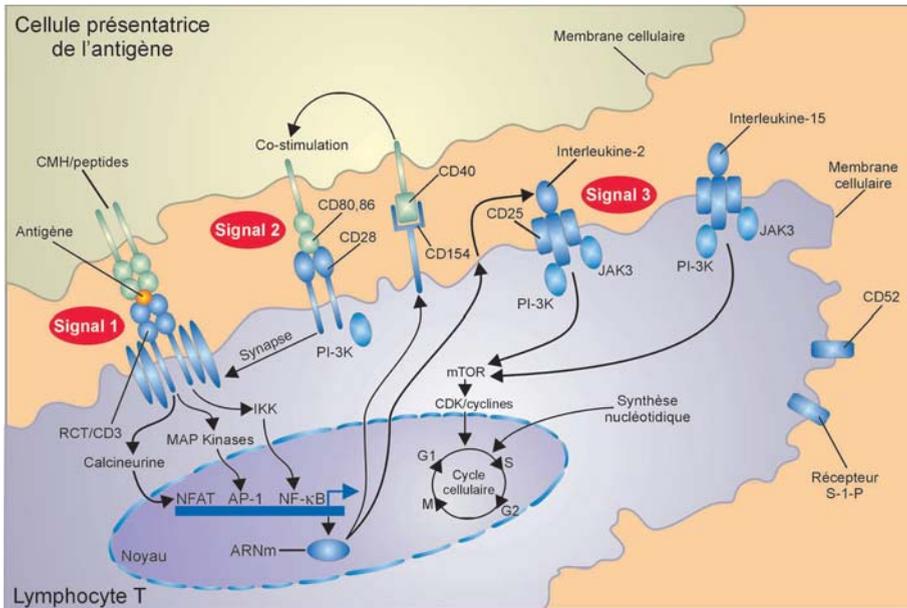


Figure 6.1 : Trois signaux d'activation lymphocytaire T (d'après Halloran, 2004)

AP-1 : *activating protein-1* ; CDK : *cyclin-dependent kinase* ; CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; IKK : I κ B kinase ; JAK3 : *Janus kinase 3* ; mTOR : *mammalian-target-of-rapamycin* ; NFAT : *nuclear factor of activated T cells* ; NF- κ B : *nuclear factor- κ B* ; PI-3K : *phosphoinositide-3-kinase* ; RCT : récepteur de la cellule T ; S-1-P : *sphingosine-1-phosphate*

Signal 1

Le signal 1 consiste en la reconnaissance par le récepteur spécifique (RCT) présent sur la surface du clone lymphocytaire, du complexe HLA et du peptide porté par la cellule présentatrice d'antigène (CPA). L'oligomérisation des RCT aboutit à la déphosphorylation de deux tyrosine kinases, Fyn et Lck. Ces deux tyrosine kinases initient une cascade de phosphorylations activant la phospholipase C γ qui dégrade le phosphatidylinositol 6,5 phosphate en inositol triphosphate (IP3) et en diacylglycérol. L'augmentation de l'IP3 intra-cytoplasmique provoque la libération du calcium stocké dans le réticulum endoplasmique. L'augmentation du calcium intracellulaire active un ensemble de protéines notamment une phosphatase : la calcineurine. La calcineurine activée agit en déphosphorylant le facteur de transcription NF-AT (*Nuclear Factor of Activated T cell*) qui peut alors migrer vers le noyau.

Simultanément, le diacylglycérol active la protéine kinase C (PKC), une sérine thréonine kinase qui agit sur de nombreux substrats, en particulier

I κ B associée dans le cytoplasme au facteur de transcription NF- κ B sous forme d'un complexe inactif. La phosphorylation d'I κ B entraîne son ubiquitination et sa dégradation par le protéasome, libérant NF- κ B qui migre alors vers le noyau. L'activation de la PKC entraîne également la synthèse *de novo* des produits des proto-oncogènes c-fos et c-jun qui s'associent pour constituer le facteur de transcription AP-1.

NF-AT, NF- κ B et AP-1 se fixent aux séquences régulatrices situées en 5' du promoteur de différents gènes notamment ceux qui codent pour l'interleukine 2 (IL-2) et la chaîne α du récepteur à l'IL-2 (CD25). Cette dernière, en s'associant aux chaînes β et γ d'expression constitutive, lui confère une très haute affinité pour l'IL-2.

Signal 2

Le signal 2 (co-stimulation) est indispensable à la mise en place complète du programme d'activation lymphocytaire. En l'absence de co-stimulation, le signal 1 conduit à un état d'anergie lymphocytaire. Le décryptage des voies de co-stimulation fait actuellement l'objet de recherches intensives. En plus de la première voie identifiée (CD28/CD80, CD86), de très nombreuses autres interactions existent entre ligands et récepteurs, exprimés au niveau des CPA d'une part et des lymphocytes T d'autre part, régulant de façon positive ou négative la réponse immune. Les couples de ligands aux interactions positives suivants sont ainsi déjà définis : CD40L/CD40, CD2/LFA3, ICOS/ICOL, OX40/OX40L, CD27/CD70, 4-1BB/4-1BBL (tableau 6.1). Le principal couple de ligand/récepteur ayant un effet inhibiteur de l'activation lymphocytaire et permettant de contrôler l'amplification de la réponse immune est le couple CD28/CTLA4. Finalement, ce « signal 2 », qui correspond plutôt à l'intégration de nombreux signaux, va déterminer la nature du programme biologique mis en place par le lymphocyte (activation *versus* anergie, polarisation...).

La conjonction des signaux 1 et 2 permet au lymphocyte de passer de la phase G0 (repos) à la phase G1 (transformation lymphoblastique) au cours de laquelle un grand nombre de gènes sont transcrits (notamment ceux de l'IL-2 et du CD25).

Signal 3

Le signal 3 est initié par l'IL-2, un facteur de croissance des lymphocytes T. Agissant de manière autocrine et paracrine, l'IL-2 se fixe sur son récepteur de haute affinité et transduit un signal via mTOR (*mammalian Target of Rapamycin*) responsable de la progression en phase S du cycle cellulaire. C'est au cours de la phase S que commence la réplication de l'ADN qui culmine en phase G2. Cette réplication, prélude indispensable à la division cellulaire, nécessite la synthèse des bases puriques et pyrimidiques. L'IL-2 n'est pas le seul facteur de prolifération du lymphocyte T. D'autres cytokines

dont les récepteurs appartiennent à la même famille peuvent également être impliqués. Il s'agit de l'IL-15, l'IL-7, l'IL-9, l'IL-21 et l'IL-4. Les interleukines de la famille de l'IL-2 se fixent sur leurs récepteurs hétérodimériques et leur fixation permet le rapprochement des chaînes du récepteur, non liées de manière covalente. Les chaînes de ces récepteurs sont associées dans leur partie intracellulaire aux protéines kinases de la famille JAK. La liaison de la cytokine à son récepteur initie ainsi le rapprochement des kinases JAK associées aux chaînes du récepteur qui s'activent par transphosphorylation. Cette activation des kinases JAK est l'élément initiateur de la transduction du signal du récepteur.

Tableau 6.1 : Mode d'action des immunosuppresseurs utilisés en transplantation d'organes en 2008

Mécanisme d'action	Molécule
Déplétants	
Pan-déplétants (déplétants T et B)	Alemtuzumab (Campath-1H®)
Déplétants T	Anticorps polyclonaux Anti-lymphocytaire OKT3 (effet mixte : déplétion de 20 % du pool lymphocytaire T/ agit principalement en bloquant le signal 1)
Déplétants B	Rituximab
Inhibiteurs de l'activation lymphocytaire	
Inhibiteurs du signal 1	
– Anticalcineurine	Ciclosporine, tacrolimus
– Autres	OKT3 et autres anticorps anti-CD3
Inhibiteurs du signal 2	Belatacept
Inhibiteurs de la prolifération lymphocytaire	
Inhibiteurs du signal 3 (G1→S)	Anti-CD25, inhibiteurs de mTOR
Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques	
– Bases puriques	Azathioprine, mycophénolate mofétil
– Bases pyrimidiques	Leflunomide, brequinar
Alkylant	Cyclophosphamide

NB : Les corticostéroïdes ont une action immunosuppressive complexe, résultante d'effets multiples.

Classification des immunosuppresseurs actuels en fonction de leur mode d'action

On peut classer les immunosuppresseurs actuels en fonction de la phase de la réponse immune ciblée par leur mécanisme d'action (figure 6.2) et de leur effet sur les populations lymphocytaires (anticorps déplétants ou non déplétants). Le mode d'action des immunosuppresseurs couramment utilisés en transplantation d'organes est indiqué dans le tableau 6.I.

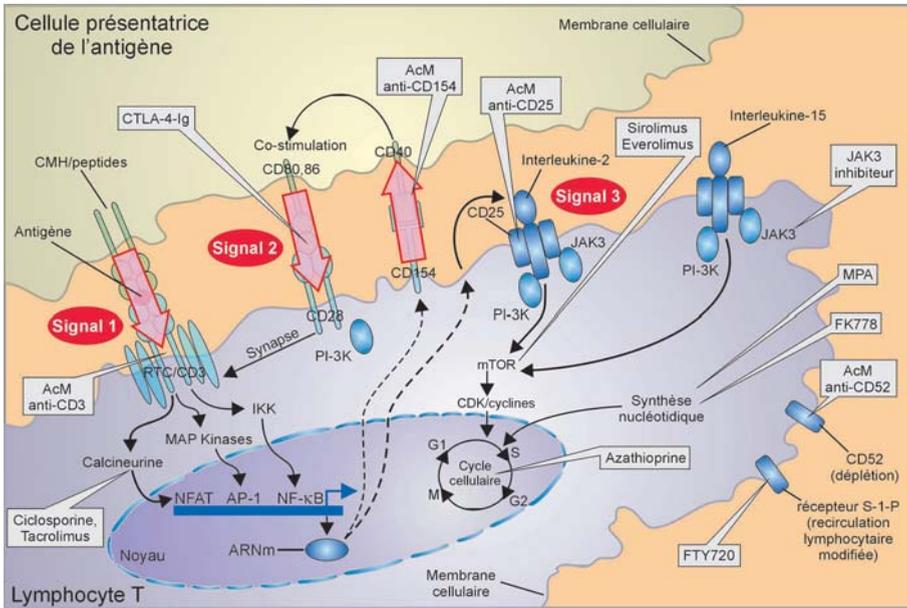


Figure 6.2 : Place des immunosuppresseurs au cours de la réponse immunitaire (d'après Halloran, 2004)

AP-1 : activating protein-1 ; CDK : cyclin-dependent kinase ; CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; IKK : IκB kinase ; JAK3 : Janus kinase 3 ; mTOR : mammalian-target-of-rapamycin ; NFAT : nuclear factor of activated T cells ; NF-κβ : nuclear factor-κβ ; PI-3K : phosphoinositide-3-kinase ; RCT : récepteur de la cellule T ; S-1-P : sphingosine-1-phosphate

Nouveaux immunosuppresseurs

Des nouvelles molécules immunosuppressives aux modes d'actions divers sont régulièrement testées *in vitro*, puis *in vivo* chez l'animal avant d'être utilisées chez l'homme en phase I, puis II et III. Pour des raisons liées à une efficacité insuffisante, ou à un mauvais rapport bénéfice/risque, peu de ces molécules parviendront sur le marché des immunosuppresseurs. On peut ainsi citer le FTY 720 qui n'a pas été retenu pour la transplantation d'organes en raison d'œdème maculaire chez le diabétique, et qui reste en cours d'évaluation dans le cas de la sclérose en plaque, le FK 778 dont le développement a été arrêté en raison de son faible rapport bénéfice/risque lié en partie à l'apparition d'anémie. Nous avons donc choisi ici de présenter soit des molécules déjà en phase III, qui devraient obtenir leur autorisation de mise sur le marché très prochainement (belatacept), soit des molécules en cours d'évaluation plus précoce, dont les mécanismes d'action sont originaux, et dont les données actuelles laissent espérer une mise sur le marché dans l'immunosuppression en transplantation d'organes.

Les nouveaux immunosuppresseurs sont classés selon leur mode d'action, de la même façon que les immunosuppresseurs listés dans le tableau 6.I.

Inhibition du signal 1

L'ISA 247 est un inhibiteur de la calcineurine, en cours de développement par Isotechnika dans le cas du psoriasis (phase III) et de la prévention du rejet en transplantation (phase II). Des études précliniques pour le traitement de l'uvéïte sont également en cours (Anglade et coll., 2007). Les données expérimentales suggèrent que l'ISA 247 est trois fois plus efficace que la ciclosporine pour la prévention du rejet aigu et significativement moins néphrotoxique. Cette combinaison d'une meilleure efficacité avec une meilleure tolérance rénale apporte un bénéfice thérapeutique sur les autres inhibiteurs de la calcineurine. On note également moins de diabète et de tremblement (Dumont, 2004 ; Anonyme, 2007). Il reste à savoir si ces avantages seront retrouvés sur une large population de patients et s'ils seront suffisamment convaincants pour aboutir à une autorisation de mise sur le marché en transplantation.

Inhibition du signal 1 et du signal 2

L'AEB-071 est un inhibiteur de l'activation précoce lymphocytaire T via le blocage de la protéine kinase (PKC). La PKC est impliquée dans les voies de signalisation des lymphocytes T et B (Tan et Parker, 2003). Il existe plusieurs isoformes de la PKC. La PKC δ est essentiellement exprimée dans les lymphocytes T et active les facteurs de transcription AP-1 et NF- κ B, conduisant à la production de l'IL-2. Les études *in vitro* montrent que l'AEB-071 exerce ses fonctions immunosuppressives en bloquant les différentes isoformes de la PKC, l'activation cellulaire T précoce, la production d'IL-2 et la prolifération cellulaire induite par les facteurs de croissance (Yabu et Vincenti, 2007). L'AEB-071 inhibe donc l'activation lymphocytaire T précoce par une voie indépendante de la calcineurine. Les signaux de transduction initiés par le RCT et par le CD28 (Yabu et Vincenti, 2007) sont bloqués par cet inhibiteur. L'AEB-071 est utilisé par voie orale et métabolisé par le cytochrome P450. Chez les volontaires sains, l'AEB-071 réduit la production intracellulaire d'IL-2 et a une activité antiproliférative similaire à celle du MMF (Yabu et Vincenti, 2007). Les études précliniques chez le primate indiquent que l'AEB-071 prolonge la survie des greffons rénaux en association ou non avec la ciclosporine (Yabu et Vincenti, 2007). L'AEB-071 est efficace dans le psoriasis (Skvara et coll., 2008). Les essais cliniques de phase II sont en cours et évaluent l'efficacité et la tolérance de l'AEB-071 en combinaison avec l'évérolimus, le tacrolimus, et le mycophénolate mofétil. La tolérance clinique semble bonne et l'AEB-071 ne semble pas néphrotoxique. L'AEB-071 se place donc en bonne position pour remplacer les inhibiteurs de la calcineurine, mais des études de phase III sont nécessaires pour mieux juger de sa tolérance clinique et de son efficacité en transplantation d'organes chez l'homme.

Inhibition du signal 2

L'inhibition du co-signal a depuis longtemps été considérée comme une des principales voies permettant d'induire la tolérance. En effet, *in vitro* le blocage des voies de co-stimulation tout en maintenant la présentation de l'antigène par la voie du RCT induit une anergie lymphocytaire spécifique de l'antigène. Les premières expériences *in vivo* chez la souris montraient que l'inhibition des voies de co-stimulation par le blocage de l'interaction CD28/CD80-CD86 avec la molécule de fusion CTLA4-Ig (développée pour inhiber la voie de co-stimulation induite par la liaison à CD80/CD86) induisait une tolérance immunitaire en greffe de peau et greffe de cœur (Larsen et coll., 1996). Ces expériences réalisées en 1996 ont provoqué un grand enthousiasme et le développement de nombreuses molécules inhibitrices du co-signal de stimulation chez l'homme. Cependant, l'induction de tolérance n'a pas pu être obtenue chez les primates avec des protocoles similaires. C'est la redondance des voies de co-stimulation qui explique, chez l'homme et le primate, l'absence d'induction de tolérance par le blocage unique de la voie du CD28. Malgré l'échec des premiers inhibiteurs du co-signal de stimulation à induire la tolérance, les inhibiteurs de la voie CD28 sont des immunosuppresseurs prometteurs, par leur spécificité sur le blocage de la réponse immune, leur mode d'action complémentaire de ceux déjà existants, et leur profil de toxicité favorable, n'induisant ni néphrotoxicité ni complications métaboliques contrairement aux inhibiteurs de la calcineurine ou aux inhibiteurs de mTOR (Vincenti et Luggen, 2007).

Signal de co-stimulation lié à CD28

L'interaction entre CD28 et ses ligands, CD80 et CD86, est essentielle pour initier la réponse lymphocytaire T, spécifique de l'antigène. Le CD28 est exprimé de manière constitutive à la surface de 80 % des lymphocytes T (Linsley et coll., 1993). L'augmentation de l'expression de CD28, suivant l'activation lymphocytaire et l'engagement de CD28 avec ses deux ligands CD80 et CD86, favorise la prolifération et la survie cellulaire grâce à l'expression de protéines anti-apoptotiques, prépare la machinerie cellulaire aux besoins nécessaires à l'expansion clonale, et augmente la sécrétion cytokinique. Les signaux transmis par le CD28 induisent la différenciation cellulaire T en phénotype Th1, la production d'anticorps par les lymphocytes B et la prolifération des lymphocytes T activés (Alegre et coll., 2001).

L'expression des ligands de CD28, CD86 et CD80, n'est pas régulée de la même manière. CD86 est constitutivement exprimé à la surface des CPA. Son expression est augmentée rapidement à la surface lors de la rencontre entre la CPA et le lymphocyte T. Le niveau d'expression membranaire de CD80 est plus faible sur les cellules au repos, et augmente plus tardivement après une stimulation lymphocytaire prolongée. Ces différences d'expression suggèrent deux rôles différents pour ces deux ligands de CD28 : CD86 serait important pour initier l'activation lymphocytaire T, tandis que CD80 serait

impliqué dans le maintien de la réponse immune. CD80 et CD86 se lient à un autre récepteur membranaire des lymphocytes T, CTLA-4, qui partage 30 % d'homologie avec CD28 (Linsley et coll., 1992). L'affinité de CTLA-4 pour CD80 et CD86 est 500 à 2 500 fois plus importante que celle de CD28. L'expression de CTLA-4 débute après 24 à 48 heures d'activation lymphocytaire, et inhibe l'activation des lymphocytes T CD4 et CD8 naïfs ou déjà activés. Ceci induit une diminution de l'expression du récepteur à l'IL-2 et un blocage des lymphocytes T en phase G1 (Alegre et coll., 2001). De plus, CD86 se lierait préférentiellement à CD28 et CD80 à CTLA-4.

Abatacept et bélatacept : inhibiteurs du co-signal médié par CD28

Deux molécules ont été développées pour inhiber la voie de co-stimulation médiée par CD28 : l'abatacept, molécule de fusion entre le domaine de liaison extracellulaire de CTLA-4 et la fraction Fc d'une IgG1, et le belatacept, forme modifiée de l'abatacept, pour obtenir une meilleure affinité avec le CD80/CD86. Ces deux molécules, en se liant à CD80 et CD86 avec une meilleure affinité que CD28, permettent un blocage de la voie du co-signal médié par CD28 mais n'ont pas d'effet sur les autres voies de co-stimulation (Vincenti, 2008). *In vitro*, l'abatacept inhibe la prolifération lymphocytaire et la réponse immunitaire humorale (Judge et coll., 1996). L'abatacept a essentiellement été développé dans le traitement des formes modérée ou sévère de la polyarthrite rhumatoïde, résistantes aux anti-TNF (Ostor, 2008) ou au méthotrexate et a obtenu l'AMM (autorisation de mise sur le marché) par la FDA (*Food and Drug Administration*) dans le cadre de cette indication. L'abatacept a une efficacité démontrée dans d'autres maladies auto-immunes telles que le psoriasis (Abrams et coll., 1999).

Le bélatacept est une forme modifiée par mutagenèse de l'abatacept au niveau des sites de liaison au ligand, ayant une meilleure affinité pour CD80 et surtout CD86 qui est un élément clef dans le déclenchement de la réponse allo-immune (Larsen et coll., 2005). Ces modifications diminuent le coefficient de dissociation pour CD86 et CD80 et entraînent une efficacité 10 fois plus importante de l'inhibition de la prolifération lymphocytaire T en réponse aux alloantigènes *in vitro* et de la diminution de la synthèse d'anticorps *in vivo* chez le primate (Larsen et coll., 2005). Chez le primate, le bélatacept permet une prolongation de la survie des greffons, seul ou en association avec du mycophénolate mofétil et des corticoïdes. De plus, en présence de bélatacept, les primates ne développent pas d'anticorps anti-HLA (Larsen et coll., 2005) ce qui a un intérêt considérable dans la prévention du rejet chronique. Ces études précliniques montrent que le bélatacept est efficace pour bloquer la réponse allo-immune et a un potentiel important en transplantation d'organes.

Une étude de phase II chez l'homme a été conduite après ces premiers résultats encourageants chez le primate. Le bélatacept à deux doses différentes a été associé à une induction par un anticorps anti-récepteur de l'IL-2 (basiliximab), du mycophénolate mofétil et des corticoïdes, et comparé à la ciclosporine

dans une étude randomisée ouverte multicentrique, chez des patients recevant une première greffe de rein, et à faible risque immunologique (Vincenti et coll., 2005). Les patients sous bélatcept avaient la même incidence de rejet aigu au cours des 6 premiers mois que les patients sous ciclosporine, mais avaient à 6 mois et à un an une meilleure fonction rénale. De plus, on notait une moindre fibrose interstitielle et atrophie tubulaire sur les biopsies systématiques réalisées dans le groupe bélatcept que dans le groupe ciclosporine. Le profil de tolérance clinique était très bon, sans effet secondaire propre au produit démontré. En effet, dans les deux groupes sous bélatcept (deux doses différentes), les taux de complication cardiovasculaires et métaboliques, telles que hypertension artérielle, dyslipidémie et diabète post-transplantation, étaient inférieurs à ceux du groupe sous ciclosporine (Vincenti et coll., 2005). De manière intéressante, une étude préliminaire réalisée dans une partie de la population incluse dans cet essai thérapeutique a montré que le traitement par bélatcept ne semblait pas favoriser l'expansion de cellules lymphocytaires T régulatrices, suggérant que le traitement devait être poursuivi au long cours pour garder son efficacité (Chavez et coll., 2007). Les études de phase III sont actuellement en cours.

Il est donc très probable que le bélatcept obtienne une AMM pour la transplantation d'organes. Ses avantages sont sa spécificité immunologique, qui limite les effets secondaires, son efficacité comparable à la ciclosporine dans la prévention du rejet aigu, sa capacité chez le primate à diminuer la réponse anticorps allogénique, son absence de néphrotoxicité et sa très bonne tolérance clinique. Le point faible est le mode d'administration, parentérale, qui pourrait cependant être un avantage pour augmenter l'observance thérapeutique. Enfin, sa capacité à induire la tolérance n'a été montrée que dans les modèles murins. Cependant, en association avec d'autres inhibiteurs du co-signal et un traitement par la rapamycine, le bélatcept pourrait être un des immunosuppresseurs en première place dans les protocoles d'induction de tolérance. Enfin, il ne possède pas de propriété intrinsèque anti-tumorale.

Autres inhibiteurs du signal 2

Les anticorps monoclonaux anti-CD80 et anti-CD86 ont montré leur capacité dans la prévention du rejet rénal chez le primate, seuls (Kirk et coll., 2001), ou en association avec les immunosuppresseurs conventionnels (Hausen et coll., 2001). Une étude de phase I chez l'homme a montré que les anticorps anti-CD80 (h1F1) et anti-CD86 (h3D3) en association avec de la ciclosporine, du mycophénolate mofétil et des stéroïdes étaient bien tolérés (Vincenti, 2002). Des études cliniques sont encore nécessaires pour connaître la place des anticorps anti-CD80 et anti-CD86 dans l'arsenal thérapeutique en transplantation d'organes.

Les anticorps monoclonaux inhibiteurs du CD28 sont intéressants car ils n'inhibent pas la liaison de CD86 et CD80 avec CTLA-4 mais permettent de maintenir le signal négatif induit par CTLA-4, ce qui augmente la durée du blocage de l'activation des lymphocytes. L'utilisation d'anticorps

monoclonaux anti-CD28 prévient le rejet aigu et chronique dans les modèles de transplantation rénale chez le rongeur (Laskowski et coll., 2002 ; Haspot et coll., 2005). Cependant, d'autres anticorps anti-CD28 agonistes induisent une activation lymphocytaire majeure, responsable d'un orage cytokinique et induisant une défaillance multi-organe chez les 6 premiers volontaires sains (Suntharalingam et coll., 2006). Des études précliniques et cliniques complémentaires sont nécessaires pour sélectionner des anticorps anti-CD28 dépourvus de tout effet agoniste avant une utilisation chez l'homme.

Le blocage de la voie CD40/CD40L (CD154) a été exploré depuis de nombreuses années pour induire la tolérance dans les modèles animaux. Les anticorps anti-CD154 ont une efficacité démontrée pour la prévention du rejet de cœur, de rein et de peau et l'induction de tolérance dans les modèles murins (Hancock et coll., 1996 ; Larsen et coll., 1996), et chez le primate (Kirk et coll., 1999). Dans un modèle murin de transplantation rénale, les anticorps anti-CD154 ont un effet inhibiteur sur les lymphocytes cytotoxiques et un effet facilitateur sur les cellules T régulatrices (Meng et coll., 2008). Le blocage de la voie CD40 par CD40Ig induit la tolérance à la greffe de cœur par le développement de cellules régulatrices CD8 (Guillonnet et coll., 2007). Cependant, ces propriétés tolérogènes n'ont pas été confirmées chez le primate (Kirk et coll., 1999). De plus, les essais chez l'homme ont été interrompus en raison de thromboses artérielles, possiblement liées à la présence de CD154 sur les plaquettes, favorisant le thrombus artériel (Andre et coll., 2002). D'autres anticorps anti-CD154, tels que IDEC-131, ont été développés et ont montré des propriétés tolérogènes chez le primate en association à un traitement par rapamycine et des transfusions spécifiques du donneur (Preston et coll., 2005 ; Pearl et coll., 2007). L'utilisation d'IDEC-131 est donc prometteuse en transplantation chez l'homme mais devra préalablement montrer l'absence de propriétés thrombogènes.

Le développement d'anticorps anti-CD40 (Haanstra et coll., 2003 et 2005 ; Imai et coll., 2007) pourrait permettre d'inhiber le couple CD40/CD40L dont la fonction co-stimulatrice est très importante dans l'activation lymphocytaire, sans induire les effets secondaires thrombogènes liés au blocage de CD154.

Inhibition du signal 3

Les inhibiteurs du signal 3 sont actuellement les inhibiteurs de la protéine mTOR. Les nouveaux inhibiteurs portent essentiellement sur le blocage de la protéine kinase JAK3.

Inhibiteurs de JAK3

Les kinases de la famille JAK (*Janus Kinase*) sont des tyrosine kinases cytoplasmiques associées à la partie intracellulaire des chaînes des récepteurs de la superfamille des récepteurs de cytokine. Quatre tyrosine kinases appartiennent à la famille des JAK kinases : JAK1, JAK2, JAK3 et TYK2. La tyrosine kinase JAK3 est une cible tout particulièrement intéressante pour

inhiber le système immunitaire car elle est associée à la chaîne γ_c des récepteurs de la famille de l'interleukine 2. La chaîne γ_c est un des composants des récepteurs de l'IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 et IL-21. Le rôle crucial de γ_c dans le système immunitaire est illustré de manière remarquable : ses mutations sont responsables d'un déficit immunitaire grave, le DICS (déficit immunitaire combiné sévère) lié au chromosome X. Les enfants porteurs de ces mutations n'ont pas de lymphocytes T, pas de lymphocytes NK et leurs lymphocytes B ne sont pas fonctionnels. Ces enfants décèdent en absence de traitement spécifique dans la première année de vie. On sait maintenant que les mutations de la kinase JAK3 entraînent un phénotype identique aux mutations de la chaîne γ_c . Les mutations de γ_c , comme celles de JAK3, induisent une dysfonction de 6 récepteurs de cytokines impliquées dans la prolifération lymphocytaire, la différenciation des thymocytes, la commutation isotypique, la prolifération et la différenciation des lymphocytes NK, et la fonction des cellules CD8 mémoire. JAK3 est exprimé principalement dans les cellules lymphoïdes et myéloïdes, à haut niveau dans les cellules NK et les thymocytes, dans les cellules T et B activées, mais pas dans les lymphocytes au repos.

Les inhibiteurs de JAK3 entraînent un blocage de la transduction du signal des cytokines de la famille de l'IL-2, soit IL-2, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21 et sont des immunosuppresseurs potentiellement intéressants car ciblant principalement les cellules du système immunitaire, et inhibant préférentiellement les cellules lymphocytaires activées impliquées dans la réponse allo-immune. L'inhibiteur de JAK3 CP-690,550 a été développé comme immunosuppresseur par voie orale en transplantation. Sa capacité à inhiber JAK3 est 1 000 fois supérieure à celle des autres inhibiteurs de JAK3 (Borie et coll., 2003 ; Kudlacz et coll., 2004). Dans une étude en transplantation rénale chez les primates, le CP-690,550 prolonge de manière significative et dépendante de la dose la survie des greffons rénaux par rapport au groupe témoin confirmant son efficacité dans la prévention du rejet d'allogreffe (Borie et coll., 2005). L'effet secondaire principal noté est une anémie observée sous forte dose, probablement liée à l'inhibition croisée de JAK2, associée au récepteur de l'EPO. D'autres inhibiteurs de JAK3 ont été essayés en transplantation : le NC 1153, testé avec succès dans un modèle de transplantation rénale chez le rat (Stepkowski et coll., 2006) et le R348 qui a aussi une efficacité dans la prévention du rejet d'allogreffe cardiaque chez le rat, et semble particulièrement synergique dans ce modèle en association avec le tacrolimus (Deuse et coll., 2008).

Les études de phase I chez l'homme ont montré que le CP-690,550 était bien toléré, les effets secondaires principaux étaient des troubles digestifs d'intensité faible à modérée. Il n'y avait pas de dégradation de la fonction rénale. Une anémie était observée aux plus fortes doses de 15 et 30 mg. Des mesures pharmacocinétiques suggéraient une interaction entre les inhibiteurs de la calcineurine et le CP-690,550 (Tedesco-Silva et coll., 2006a).

Les études de phase II avec le CP-690,550 sont en cours pour préciser l'efficacité et la tolérance des anti-JAK3 en transplantation. Le CP-690,550 à

deux doses différentes est comparé au tacrolimus, en association avec du mycophénolate mofétil, et des corticostéroïdes après une thérapie d'induction par un anticorps anti-récepteur de l'IL-2.

Inhibition de la migration lymphocytaire : FTY 720

Le FTY 720 est un analogue de structure des sphingosides et un agoniste des récepteurs de la phosphatase S1P. Il inhibe la migration des lymphocytes qui sont bloqués dans les organes lymphoïdes secondaires dès la première injection (Yopp et coll., 2006). Les études cliniques ont montré son efficacité dans la prévention du rejet aigu avec un effet synergique en combinaison avec la ciclosporine ou le tacrolimus. Il a un effet lymphopéniant prédominant sur les lymphocytes T, et agit sur la sous population CD4+ qui est bloquée dans les organes lymphoïdes secondaires. Il n'y a pas d'action sur les cellules NK et sur les monocytes. Le FTY 720 peut bloquer le rejet chronique dans un modèle de greffe cardiaque chez le rat (Zhang et coll., 2006) et a aussi un effet anti-angiogénique et anti-tumoral *in vivo* et *in vitro* (Nagaoka et coll., 2008 ; van Meeteren et coll., 2008).

Le FTY 720 semblait donc un immunosuppresseur très prometteur en raison de son mode d'action très original. Les premières études chez l'homme ont montré une efficacité comparable à celle du MMF (Salvadori et coll., 2006 ; Tedesco-Silva et coll., 2006b). Cependant, deux effets secondaires sérieux ont été notés : une bradycardie lors de la première dose et surtout l'apparition d'œdèmes maculaires chez les patients diabétiques (Tedesco-Silva et coll., 2006a). Cet œdème maculaire a entraîné l'interruption du développement en transplantation. Le FTY 720 pourrait être réservé aux patients ayant une sclérose en plaque (Horga et Montalban, 2008).

Nouveaux anticorps monoclonaux

Les anticorps monoclonaux ont l'avantage de cibler très précisément la réponse immune. Cependant, malgré le nombre important d'anticorps disponibles pour la recherche biomédicale, seul un tout petit nombre a obtenu une AMM en transplantation d'organes. Les nouveaux anticorps monoclonaux en cours de développement indiqués ci-dessous devraient pouvoir être utilisés en transplantation au cours des prochaines années.

Anti-CD3 humanisés non mitogéniques

Les anticorps anti-CD3 (OKT3, anticorps murin IgG2a) ont été les premiers anticorps monoclonaux utilisés en transplantation d'organes chez l'homme au début des années 1980. Ils ont été largement utilisés avant la mise à disposition d'une nouvelle génération d'immunosuppresseurs (mycophénolate

mofétil, tacrolimus et anticorps anti-récepteurs à l'IL-2) en traitement d'induction ou en traitement curatif des rejets aigus corticorésistants. Les études contrôlées avaient en effet rapidement montré que l'OKT3 était un immunosuppresseur très puissant dans le traitement des rejets aigus. Cependant, les deux principales limites dans l'utilisation de l'OKT3 qui sont l'immunisation xénogénique liée à sa nature murine et ses effets secondaires ont conduit à l'abandon progressif de l'OKT3 en transplantation d'organes. L'immunisation anti-OKT3 est fréquente et peut conduire à son inefficacité (Legendre et coll., 1992). Elle rend quasi impossible une utilisation postérieure. Les effets secondaires sont un orage cytokinique lors des deux premières injections pouvant entraîner une fièvre élevée, des frissons, vomissements, une diarrhée, un œdème pulmonaire lésionnel, des arthralgies, myalgies, et plus rarement un œdème cérébral. Cet orage cytokinique est lié à l'activation rapide et massive de l'ensemble des lymphocytes T circulants lors du pontage entre le CD3 lymphocytaire et le monocyte via la fixation de la fraction Fc de l'anticorps sur son récepteur membranaire monocytaire (Ferran et coll., 1993).

Les nouveaux anticorps anti-CD3 non mitogéniques ont été développés pour éviter ces deux écueils. La genèse d'anticorps humanisés ou chimériques diminue considérablement le risque d'immunisation. Par ailleurs, l'introduction de mutations au niveau des gènes codant pour plusieurs acides aminés dans la fraction Fc des anticorps anti-CD3 réduit leur liaison aux récepteurs Fc monocytaires et en font des anticorps non activateurs. L'activation lymphocytaire après injection des anticorps anti-CD3 non mitogéniques est très diminuée et la libération de cytokines pro-inflammatoires très faible. Ces modifications structurales ont rendu les anticorps anti-CD3 bien tolérés chez l'homme. Les principaux effets secondaires retrouvés sont un syndrome pseudo-grippal modéré et bien contrôlé par le paracétamol (Chatenoud, 2004). Quatre anticorps anti-CD3 non mitogéniques ont été développés (tableau 6.II). Ils ont été utilisés dans le traitement du rejet aigu rénal chez l'homme (Friend et coll., 1999), la greffe d'îlots de Langerhans (Hering et coll., 2004), le rhumatisme psoriasique (Utset et coll., 2002) et surtout le diabète auto-immun chez les modèles murins (Belghith et coll., 2003) et chez l'homme (Keymeulen et coll., 2005). Les anticorps anti-CD3 mitogéniques et non mitogéniques entraînent une déplétion partielle lymphocytaire T, et une modulation négative du récepteur T (Chatenoud, 2006) qui rend impossible la présentation de l'antigène par la CPA. De plus, les anticorps anti-CD3 ont la capacité d'induire une tolérance vis-à-vis d'alloantigènes et d'autoantigènes et peuvent restaurer la tolérance au soi dans le contexte de pathologies auto-immunes établies (Chatenoud, 2005 et 2007). Ils ont la particularité de bloquer les cellules T cytotoxiques et de favoriser l'émergence de cellules régulatrices CD4CD25+ adaptatives chez la souris (You et coll., 2007) et chez l'homme. L'émergence de cellules régulatrices CD8+ chez l'homme a aussi été décrite (Bisikirska et coll., 2005). C'est sur cette base que les anticorps anti-CD3 ont été réintroduits en clinique, en auto-immunité, sous la forme

d'anticorps humanisés non mitogéniques pour une utilisation comme agents tolérogènes. Deux essais thérapeutiques de phase II chez des patients diabétiques de type I ont confirmé leur bonne tolérance clinique (Herold et coll., 2002 ; Keymeulen et coll., 2005). Chez les patients diabétiques ayant reçu les anticorps anti-CD3 non mitogéniques pendant quelques jours seulement, la production d'insuline endogène était préservée après 6, 12 et même 24 mois de traitement (Herold et coll., 2005). Cet effet se traduit également par une diminution significative des doses d'insuline exogène nécessaires au maintien d'un bon contrôle métabolique (Herold et coll., 2005).

Tableau 6.II : Différents anticorps anti-CD3 non mitogéniques en cours de développement chez l'homme (d'après Chatenoud, 2005)

Indication clinique	Anticorps monoclonal	Essai	Nombre de patients	Résultats	Références
Rejet aigu d'allogreffe rénale	Traitement avec OKT3γ1 Ala-Ala pendant 12 jours consécutifs (en association avec immunosuppresseurs conventionnels)	Phase I	7 patients traités par anticorps	Bon profil de sécurité Rejet réversible chez 5 patients sur 7	Woodle et coll., 1999
Rejet aigu d'allogreffe rénale	Traitement avec ChAglyCD3 pendant 8 jours consécutifs (en association avec immunosuppresseurs conventionnels)	Phase I	9 patients traités par anticorps	Bon profil de sécurité Rejet réversible chez 7 patients sur 9	Friend et coll., 1999
Diabète insulino-dépendants auto-immuns	Traitement avec OKT3γ1 Ala-Ala pendant 14 jours consécutifs	Phase I/II	24 (12 avec traitement actif ; 12 témoins non traités)	À 1 an, préservation de la masse de cellules β chez 9 patients sur 12 <i>versus</i> 2 contrôles non traités sur 12	Herold et coll., 2002
Arthrite psoriasique	Traitement avec OKT3γ1 Ala-Ala pendant 12-14 jours consécutifs	Phase I/II	7 patients traités par anticorps	Six patients sur 7 avaient une amélioration ≥ 75 % du nombre d'articulations avec inflammation	Utset et coll., 2002
Prévention du rejet d'allogreffe d'îlots de Langerhans	Traitement avec OKT3γ1 Ala-Ala pendant 12 jours consécutifs (en association avec immunosuppresseurs conventionnels)	Phase I	6 patients traités par anticorps	Indépendance à l'insuline et maintien de l'indépendance chez 4 patients sur 6, avec un contrôle métabolique normal	Hering et coll., 2004
Diabète insulino-dépendants auto-immuns	Traitement avec ChAglyCD3 pendant 6 jours consécutifs	Phase II (double aveugle, contrôle placebo)	80 (40 avec traitement actif ; 40 avec placebo)	Diminution significative des besoins en insuline durant les 18 mois suivant le traitement	Keymeulen et coll., 2005

En conclusion, les anticorps anti-CD3 humanisés non mitogéniques sont en cours de phase III chez l'homme dans le diabète auto-immun et en phase II en transplantation rénale. Leur bonne tolérance, leur absence de néphrotoxicité, leur spécificité, et leur potentiel pour induire la tolérance par le biais des cellules régulatrices en font des futurs immunosuppresseurs très prometteurs en transplantation d'organes et dans les maladies auto-immunes.

Alemtuzumab : anticorps monoclonal humanisé anti-CD52

L'alemtuzumab (Campath-1H®) est un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre CD52, une glycoprotéine ancrée dans la membrane cellulaire par les phosphatidylinositols et principalement exprimée par les lymphocytes T et B, les monocytes macrophages, les cellules *Natural Killer* et les thymocytes. L'alemtuzumab ne semble pas avoir d'effet sur les plasmocytes et semble également épargner les cellules mémoires (Pearl et coll., 2005 ; Magliocca et Knechtle, 2006).

L'alemtuzumab utilisé en traitement d'induction entraîne une déplétion lymphocytaire T et B profonde (> 99 %) et durable (Magliocca et Knechtle, 2006) qui pourrait permettre de diminuer les doses et le nombre des immunosuppresseurs d'entretien en transplantation rénale. C'est R. Calne qui a, le premier, utilisé l'alemtuzumab en induction pour traiter les patients en monothérapie avec de la ciclosporine. Dans son étude pilote, 31 patients recevaient deux doses de 20 mg d'alemtuzumab et de la ciclosporine avec un taux résiduel de 100 à 150 ng/ml (Calne et coll., 1999). À 5 ans, 29 patients avaient encore un greffon fonctionnel et on notait 6 épisodes de rejet aigu (Watson et coll., 2005). Calne a introduit le terme de « *Prope tolerance* » en raison de ces bons résultats obtenus avec de faibles doses de ciclosporine malgré l'absence d'étude montrant un état de tolérance allogénique (Calne et coll., 1999). Cette approche a été utilisée avec le sirolimus (Knechtle et coll., 2003). Les patients (n = 29) recevaient deux doses de 20 mg d'alemtuzumab à J0 et J1 et du sirolimus en monothérapie. Finalement, 28 % des patients ont développé des rejets humoraux précoces, sévères, riches en monocytes et macrophages (Knechtle et coll., 2003). Après 3 ans de suivi, la survie des greffons et des patients était de 96 % et 100 % respectivement, et 57 % des patients étaient traités en monothérapie soit par du sirolimus (13 patients) soit par du tacrolimus (Barth et coll., 2006). Cette étude pilote montrait que l'utilisation de l'alemtuzumab en traitement d'induction, avec du sirolimus en traitement d'entretien, ne permettaient pas d'induire une tolérance, malgré la déplétion lymphocytaire. L'incidence élevée de rejets humoraux précoces montre que l'association alemtuzumab/sirolimus en monothérapie n'est pas souhaitable en début de transplantation.

Le groupe de Pittsburgh a comparé de manière rétrospective un traitement d'induction par thymoglobuline ou alemtuzumab associé à un traitement d'entretien par tacrolimus, dont les doses étaient progressivement réduites,

et les injections espacées. Les données étaient comparées à un groupe historique comprenant plusieurs immunosuppresseurs d'entretien sans induction. L'incidence de rejet aigu était très faible dans le groupe alemtuzumab (1 %) et 74 % des patients sous alemtuzumab restaient en monothérapie par le tacrolimus (Shapiro et coll., 2005). Une étude prospective plus récente et randomisée a comparé un traitement d'induction par alemtuzumab et tacrolimus monothérapie en entretien avec une trithérapie comprenant tacrolimus, stéroïdes et mycophénolate mofétil sans traitement d'induction (Margreiter et coll., 2008). À un an, la survie des patients et des greffons était similaire dans les deux groupes, le taux de rejet aigu de 20 % dans le groupe alemtuzumab et 32 % dans le groupe témoin ($p = 0,09$). Le taux d'infection par le CMV était plus important dans le groupe alemtuzumab.

L'utilisation d'un traitement par alemtuzumab a été proposée pour l'éviction ou l'arrêt très précoce de la corticothérapie, chez des patients recevant du tacrolimus et du mycophénolate mofétil en traitement d'entretien. Les études publiées montrent de bons résultats sur la survie des patients et des greffons et un taux faible de rejet aigu (7 à 13 %) comparables aux résultats obtenus avec un anticorps anti-récepteur de l'IL-2 ou de la thymoglobuline. La majorité de ces études montrent une incidence plus élevée d'infections par le CMV chez les patients recevant de l'alemtuzumab (Ciancio et coll., 2004 et 2005 ; Kaufman et coll., 2005 ; Ortiz et coll., 2008). Les mêmes conclusions sont rapportées chez des patients transplantés avec des greffons provenant de donneurs décédés d'arrêt cardiaque (Schadde et coll., 2008). Cependant, la qualité méthodologique de ces études le plus souvent rétrospectives et les résultats à court terme ne permettent pas de connaître réellement les bénéfices apportés par l'alemtuzumab en traitement d'induction par rapport aux anticorps anti-récepteurs de l'IL-2 ou la thymoglobuline dans cette indication.

Une étude pilote randomisée portant sur 40 patients a évalué l'arrêt des CNI (*calcineurin inhibitors*) après induction par alemtuzumab. À un an de transplantation, la survie des patients et des greffons et la fonction rénale étaient similaires avec ou sans arrêt des CNI. On notait plus de rejet dans le groupe des patients ayant arrêté les CNI (4 cas *versus* 0) mais la majorité des patients restaient sans CNI dans le groupe d'étude. De manière intéressante, le pourcentage de cellules régulatrices CD4+CD25+FoxP3+ était plus élevé jusqu'à 6 mois dans le groupe des patients ayant arrêté les CNI (Pascual et coll., 2008).

En conclusion, les études pilote initiales n'ont pas permis de montrer un effet tolérogène de l'alemtuzumab. Les études rétrospectives portant sur un plus grand nombre de patients ont suggéré que l'utilisation de l'alemtuzumab en traitement d'induction pouvait permettre de réduire le traitement immunosuppresseur d'entretien, mais les études réalisées ne portent pas sur le long terme et il n'y a pas de conclusion claire sur la supériorité de l'alemtuzumab par rapport aux autres traitements d'induction. Cependant, la facilité d'utilisation de l'alemtuzumab, injecté en une à deux doses par voie périphérique,

son coût inférieur à celui de la thymoglobuline en font un traitement d'induction prometteur en transplantation comme le témoignent les résultats d'une étude récente en transplantation rénale et pancréatique (Farney et coll., 2008). Enfin l'alemtuzumab a été utilisé en transplantation hépatique, intestinale et thoracique (Tzakis et coll., 2003 ; Magliocca et Knechtle, 2006) et dans le traitement d'un rejet aigu sévère après transplantation des deux mains (Schneeberger et coll., 2004).

Les bénéfices apportés par l'alemtuzumab devront néanmoins être confirmés par des études prospectives de grande envergure similaires à celles déjà réalisées avec les anticorps anti-récepteurs de l'IL-2.

Rituximab : anticorps anti-CD20

Le rituximab est un anticorps chimérique dirigé contre le CD20. Sa fixation induit l'apoptose des cellules CD20+, ce qui entraîne une déplétion lymphocytaire B profonde et durable. L'injection de rituximab à la dose de 375 mg/m² de surface corporelle par voie intraveineuse périphérique chez des patients transplantés entraîne une déplétion quasi complète des lymphocytes B (CD19+) dans le sang périphérique pendant un an et persistant les 3 années suivantes chez 91 % des patients greffés. Cette déplétion débute dès les 3 premiers jours après injection et est maximale après la 3^e semaine (Genberg et coll., 2007). Cette lymphopénie B n'est pas liée à la persistance de l'anticorps monoclonal dont la demi-vie est de 12 jours dans le sang périphérique (Vieira et coll., 2004). Une injection unique de rituximab permet une réduction significative du nombre de lymphocytes CD19+ dans les ganglions périphériques (Genberg et coll., 2006 et 2007). La déplétion lymphocytaire B est retrouvée fréquemment mais non constamment au niveau du greffon (Lehnhardt et coll., 2006 ; Steinmetz et coll., 2007 ; Thauvat et coll., 2008). L'injection de rituximab ne modifie pas la population lymphocytaire T CD3+ et ne touche pas les plasmocytes (Ramos et coll., 2007).

La déplétion lymphocytaire B profonde induite par l'injection du rituximab permet une utilisation pour plusieurs indications : réduction de la masse tumorale dans les lymphomes CD20+, traitement des maladies auto-immunes médiées par les autoanticorps, et enfin, utilisation en transplantation d'organes pour diminuer la synthèse des anticorps anti-HLA et des anticorps naturels anti-A ou anti-B. Nous verrons ci-dessous les principales utilisations du rituximab en transplantation.

Désensibilisation des patients en attente de transplantation

Dans une étude pilote réalisée chez 9 patients en hémodialyse, on observait chez 80 % des patients traités par une dose unique de rituximab, une diminution des anticorps anti-HLA. Cette diminution n'était cependant que mineure chez 40 % de ce petit nombre de patients (Vieira et coll., 2004).

Dans une étude prospective portant sur 20 patients hyper-immunisés en hémodialyse inscrits sur la liste d'attente de transplantation, l'association d'IVIg (immunoglobulines polyclonales intraveineuses) à fortes doses et de deux doses de rituximab (1 g à J7 et J22) entraînait une diminution significative du taux d'anticorps anti-HLA (PRA pour *Panel-Reactive Antibody* : 77 ± 19 % avant traitement *versus* 44 ± 30 % après traitement, $p < 0,001$). Parmi les patients ainsi traités, 80 % pouvaient être transplantés avec de très bons résultats à un an (survie des patients 100 %, survie des greffons 94 %, créatininémie moyenne 133 ± 97 $\mu\text{mol/l}$). On notait cependant un rejet aigu chez 50 % des patients, dont 31 % de rejet avec présence d'anticorps dans les biopsies. Aucun patient ne développait d'anticorps anti-rituximab (Vo et coll., 2008).

Traitement du rejet aigu humoral

Les rejets humoraux, mieux définis depuis la mise en évidence des dépôts de C4d sur les biopsies, leur meilleure caractérisation histologique et la détermination plus sensible des anticorps anti-HLA circulants, sont des rejets sévères pouvant conduire à la perte du greffon. Le rituximab a été utilisé avec succès dans ces rejets en transplantation cardiaque (Aranda et coll., 2002 ; Kaczmarek et coll., 2007), hépatique (Usuda et coll., 2005), pancréatique (Melcher et coll., 2006) et rénale (Becker et coll., 2004 ; Alausa et coll., 2005 ; Faguer et coll., 2007 ; Steinmetz et coll., 2007). Cependant, les cas rapportés concernent un petit nombre de patients et n'ont pas été contrôlés. Par ailleurs, l'efficacité du rituximab n'est pas constant (Bierl et coll., 2006 ; Wade et coll., 2006).

Transplantation ABO incompatible

Les transplantations incompatibles dans le système des groupes sanguins ABO ont longtemps été réalisées avec un traitement combinant splénectomie, IVIg, immunoabsorption ou plasmaphérèses, en association au traitement immunosuppresseur. L'utilisation du rituximab en association avec les plasmaphérèses, les IVIg, ou l'immunoabsorption permet de se passer de la splénectomie avec une élimination des anticorps naturels et des résultats sur la survie des patients transplantés à moyen terme (3 ans) comparables à ceux obtenus avec des donneurs ABO compatibles (Tyden et coll., 2005 ; Saito et coll., 2006 ; Genberg et coll., 2008).

Traitement des lymphomes post-transplantation

Les syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation sont une des principales complications post-transplantation et liés à l'immunosuppression. Le rituximab, déjà utilisé pour le traitement des lymphomes non hodgkiniens chez les patients non transplantés, a été utilisé très tôt dans le traitement des syndromes lymphoprolifératifs chez les patients transplantés cardiaque (Zilz et coll., 2001). Un essai prospectif multicentrique chez les patients transplantés d'organe, avec 4 injections de rituximab de 375 mg/m^2 chacune, a

montré un taux de réponse de 44 % à J80, se maintenant chez 67 % des patients la première année (Choquet et coll., 2006). L'efficacité du rituximab est moindre pour les lymphomes tardifs et monoclonaux (Choquet et coll., 2007). Pour ces lymphomes, il est préférable d'associer le rituximab à la chimiothérapie, soit en première intention, soit en cas d'échec du traitement (Elstrom et coll., 2006 ; Lee et coll., 2007).

Traitement des maladies auto-immunes post-greffe

Le traitement par le rituximab peut être utilisé pour la récurrence des maladies auto-immunes sur le greffon observées après transplantation. Le rituximab peut ainsi être utilisé pour le traitement des récurrences de vascularites⁶ à ANCA (*AntiNeutrophil Cytoplasmic Antibody*) (Geetha et coll., 2007) et glomérulonéphrites⁷ extra-membraneuses (Gallon et coll., 2006 ; Weclawiak et coll., 2008). Les résultats actuels sont encore très préliminaires et demandent d'être confirmés par des études à plus long terme et à plus grande échelle. Bien que des cas de rémissions de récurrence de hyalinose segmentaire et focale aient été décrits après injection de rituximab (Gossmann et coll., 2007 ; Meyer et coll., 2007), l'efficacité de ce traitement ne semble pas retrouvé constamment dans cette indication (Yabu et coll., 2008). Enfin, le rituximab pourrait être utilisé dans le traitement des cryoglobulinémies associées aux glomérulonéphrites membranoprolifératives chez les patients atteints ou non d'hépatite C (Basse et coll., 2005 ; Bestard et coll., 2006).

Limites dans l'utilisation du rituximab

Les effets secondaires liés à l'injection sont très faibles chez les patients transplantés : aucun effet secondaire sévère chez 9 patients en hémodialyse (Vieira et coll., 2004). L'effet secondaire le plus fréquent est de la fièvre chez 43 à 85 % des patients. Les effets secondaires sont plus importants chez les patients traités pour des lymphomes, probablement en raison de la lyse tumorale responsable de libération de cytokines, quasi inexistante dans le contexte de traitement de rejet aigu ou de désensibilisation. Enfin, on peut observer l'apparition d'anticorps anti-rituximab, chez 2/9 patients hémodialysés recevant du rituximab pour désensibilisation (Vieira et coll., 2004), sans savoir si ces anticorps bloquent l'efficacité du rituximab.

En conclusion, le rituximab est de plus en plus largement utilisé en transplantation d'organes, avec une efficacité possible pour un grand nombre d'indications. Cependant, en dehors des lymphomes post-transplantation, aucune étude contrôlée n'a été réalisée. Il est donc actuellement impossible

6. Les vascularites regroupent plusieurs maladies qui comportent toutes une atteinte inflammatoire de la paroi vasculaire.

7. Une glomérulonéphrite est une affection des glomérules (structures particulières du cortex rénal), le plus souvent mais pas toujours d'origine inflammatoire.

de savoir le poids réel du rituximab dans l'efficacité des protocoles de désensibilisation et de traitement du rejet aigu humoral, par rapport aux plasmaphèreses et aux IVIg. Des études prospectives et randomisées seront nécessaires dans les prochaines années pour apprécier pleinement le rôle du rituximab en transplantation d'organes.

Efalizumab : anticorps anti-LFA1

LFA1 est une molécule d'adhésion impliquée dans la migration leucocytaire, la formation de la synapse immunologique, et pouvant donner un co-signal d'activation. L'efalizumab est un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre LFA1, ayant reçu son agrément dans le traitement du psoriasis. L'efficacité et la tolérance de l'efalizumab en transplantation ont été testées dans une étude prospective de phase I/II chez 38 patients transplantés rénaux. Les patients recevaient par ailleurs de la ciclosporine, du mycophénolate mofétil et des corticoïdes. À 6 mois, on notait une survie des patients et des greffons de 97 % et 95 % respectivement, et un taux de rejet aigu prouvé par biopsie de 11 %. À noter que 8 % des patients présentaient un syndrome lymphoprolifératif post-transplantation (Vincenti et coll., 2007). D'autres études chez l'homme sont nécessaires avant l'utilisation de cet immunosuppresseur en transplantation.

Autres anticorps monoclonaux

D'autres anticorps monoclonaux ont été développés et pourraient devenir de futurs immunosuppresseurs. Les anticorps anti-CD2 (antigène des lymphocytes T) ont été utilisés chez le primate (Dehoux et coll., 2000) et dans un protocole d'induction de tolérance chez l'homme (Kawai et coll., 2008). Les anticorps dirigés contre le composant C5 de la cascade d'activation du complément pourraient avoir un intérêt majeur dans le traitement des rejets humoraux (Wang et coll., 2005 ; Rother et coll., 2008). Tous ces anticorps monoclonaux doivent faire la preuve de leur efficacité et de leur bonne tolérance avant une utilisation chez l'homme.

Critères d'évaluation pour le développement des nouveaux immunosuppresseurs

Les années 1990 à 2005 ont été une période faste pour le développement des immunosuppresseurs actuels. Ont été mis sur le marché le tacrolimus, les inhibiteurs de mTOR, les anticorps anti-récepteurs de l'IL-2 et le mycophénolate mofétil. Ces immunosuppresseurs sont utilisés couramment en

transplantation. Pendant toutes ces années, les critères principaux d'efficacité des produits à l'étude étaient l'incidence des rejets aigus, la survie des greffons et des patients, ou des critères composites incluant ces principaux paramètres. Actuellement, avec la diminution de l'incidence du rejet aigu à moins de 15 % chez les patients en première greffe, la très bonne survie des patients et des greffons, d'autres critères sont nécessaires pour le développement des nouveaux immunosuppresseurs.

Il est nécessaire de disposer de critères de substitution (*surrogate markers*) permettant d'évaluer à court terme l'évolution des greffons à long terme (Hariharan et coll., 2004 ; Lachenbruch et coll., 2004). La difficulté provient de la nécessité de valider ces critères de substitution avant leur utilisation dans les études cliniques. Plusieurs critères de substitution peuvent être utilisés : la créatininémie, le rapport 1/créatininémie, la pente d'évolution de la créatininémie au cours de la première année (Hariharan et coll., 2004). On peut aussi utiliser des paramètres histologiques, tels que la quantification de la fibrose interstitielle ou la quantification des lésions vasculaires (Seron et Moreso, 2007 ; Servais et coll., 2007), la transition épithélio-mésenchymateuse (Hertig et coll., 2008). D'autres marqueurs biologiques pourraient être utilisés : biomarqueurs urinaires ou sanguins fondés sur l'évaluation du profil d'expression de gènes par les puces à ADN (Brouard et coll., 2007 ; Anglicheau et Suthanthiran, 2008), anticorps catalytiques (Wootla et coll., 2008), anticorps anti-HLA...

Il est probable que les études cliniques futures utiliseront plusieurs marqueurs différents sous forme de critères composites tant que la validation d'un marqueur principal n'aura pas été réalisée. Enfin, la majorité des études à court terme ne suffisent plus pour valider l'intérêt d'un immunosuppresseur, et la durée des études de développement d'un nouvel immunosuppresseur en phase III devrait être d'au moins 3 ans. Il paraît nécessaire d'inclure dans tout protocole de développement d'un nouvel immunosuppresseur des biopsies systématiques pour détecter les rejets infracliniques ou des signes de toxicité rénale impossibles à prédire en absence d'histologie.

Les effets secondaires des immunosuppresseurs en développement devront être au cœur des critères d'évaluation, et tout particulièrement leur néphrotoxicité, complication majeure de toutes les transplantations d'organe.

Enfin, les nouveaux protocoles devront s'intéresser aux populations à risques, patients hyper-immunisés, patients âgés, patients diabétiques, patients infectés chroniquement par des virus (hépatites B, C, virus HIV) qui sont souvent exclus des études cliniques prospectives.

En conclusion, le développement de nouveaux immunosuppresseurs reste nécessaire en transplantation d'organes. Bien que les résultats actuels soient très bons à court terme, et bons à long terme, la durée de vie des greffons n'a pas beaucoup augmenté ces dernières années.

Des médicaments non néphrotoxiques, bien tolérés au long terme, avec des propriétés anti-tumorales, et pouvant induire la tolérance, ou ne pas l'inhiber sont nécessaires. Les expériences récentes (FTY 720, FK 778) montrent que le chemin est long et incertain depuis des données prometteuses dans les modèles animaux jusqu'à l'autorisation de mise sur le marché. Les critères de tolérance aux médicaments prendront de plus en plus de place dans l'évaluation des nouveaux immunosuppresseurs. Ne seront promus que les produits apportant une avancée importante (induction de tolérance par exemple) ou ceux dont la tolérance clinique est remarquable. Le belatacept et les anticorps anti-CD3 humanisés non mitogéniques pourraient faire partie de cette dernière catégorie.

BIBLIOGRAPHIE

ABRAMS JR, LEBWOHL MG, GUZZO CA, JEGASOTHY BV, GOLDFARB MT, et coll. CTLA4Ig-mediated blockade of T-cell costimulation in patients with psoriasis vulgaris. *J Clin Invest* 1999, **103** : 1243-1252

ALAUSSA M, ALMAGRO U, SIDDIQI N, ZUIDERWEG R, MEDIPALLI R, HARIHARAN S. Refractory acute kidney transplant rejection with CD20 graft infiltrates and successful therapy with rituximab. *Clin Transplant* 2005, **19** : 137-140

ALEGRE ML, FRAUWIRTH KA, THOMPSON CB. T-cell regulation by CD28 and CTLA-4. *Nat Rev Immunol* 2001, **1** : 220-228

ANDRE P, PRASAD KS, DENIS CV, HE M, PAPALIA JM, et coll. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin--dependent mechanism. *Nat Med* 2002, **8** : 247-252

ANGLADE E, YATSCOFF R, FOSTER R, GRAU U. Next-generation calcineurin inhibitors for ophthalmic indications. *Expert Opin Investig Drugs* 2007, **16** : 1525-1540

ANGLICHEAU D, SUTHANTHIRAN M. Noninvasive prediction of organ graft rejection and outcome using gene expression patterns. *Transplantation* 2008, **86** : 192-199

ANONYME. ISA 247: trans-ISA 247, trans-R 1524, ISA(TX)247, ISAtx 247, ISATx247, LX 211, LX211, R 1524, R-1524. *Drugs R D* 2007, **8** : 103-112

ARANDA JM, JR., SCORNIK JC, NORMANN SJ, LOTTENBERG R, SCHOFIELD RS, et coll. Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) therapy for acute cardiac humoral rejection: a case report. *Transplantation* 2002, **73** : 907-910

BARTH RN, JANUS CA, LILLESAND CA, RADKE NA, PIRSCH JD, et coll. Outcomes at 3 years of a prospective pilot study of Campath-1H and sirolimus immunosuppression for renal transplantation. *Transpl Int* 2006, **19** : 885-892

BASSE G, RIBES D, KAMAR N, MEHRENBARGER M, ESPOSITO L, et coll. Rituximab therapy for de novo mixed cryoglobulinemia in renal transplant patients. *Transplantation* 2005, **80** : 1560-1564

BECKER YT, BECKER BN, PIRSCH JD, SOLLINGER HW. Rituximab as treatment for refractory kidney transplant rejection. *Am J Transplant* 2004, **4** : 996-1001

BELGHITH M, BLUESTONE JA, BARRIOT S, MEGRET J, BACH JF, CHATENOU L. TGF-beta-dependent mechanisms mediate restoration of self-tolerance induced by antibodies to CD3 in overt autoimmune diabetes. *Nat Med* 2003, **9** : 1202-1208

BESTARD O, CRUZADO JM, ERCILLA G, GOMA M, TORRAS J, et coll. Rituximab induces regression of hepatitis C virus-related membranoproliferative glomerulonephritis in a renal allograft. *Nephrol Dial Transplant* 2006, **21** : 2320-2324

BIERL C, MILLER B, PRAK EL, GASIEWSKI A, KEARNS J, et coll. Antibody-mediated rejection in heart transplant recipients: potential efficacy of B-cell depletion and antibody removal. *Clin Transpl* 2006, 489-496

BISIKIRSKA B, COLGAN J, LUBAN J, BLUESTONE JA, HEROLD KC. TCR stimulation with modified anti-CD3 mAb expands CD8+ T cell population and induces CD8+CD25+ Tregs. *J Clin Invest* 2005, **115** : 2904-2913

BORIE DC, SI MS, MORRIS RE, REITZ BA, CHANGELIAN PS. JAK3 inhibition as a new concept for immune suppression. *Curr Opin Investig Drugs* 2003, **4** : 1297-1303

BORIE DC, LARSON MJ, FLORES MG, CAMPBELL A, ROUSVOAL G, et coll. Combined use of the JAK3 inhibitor CP-690,550 with mycophenolate mofetil to prevent kidney allograft rejection in nonhuman primates. *Transplantation* 2005, **80** : 1756-1764

BROUARD S, MANSFIELD E, BRAUD C, LI L, GIRAL M, et coll. Identification of a peripheral blood transcriptional biomarker panel associated with operational renal allograft tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, **104** : 15448-15453

CALNE R, MOFFATT SD, FRIEND PJ, JAMIESON NV, BRADLEY JA, et coll. Campath-1H allows low-dose cyclosporine monotherapy in 31 cadaveric renal allograft recipients. *Transplantation* 1999, **68** : 1613-1616

CHATENOU L. Anti-CD3 antibodies: towards clinical antigen-specific immunomodulation. *Curr Opin Pharmacol* 2004, **4** : 403-407

CHATENOU L. CD3-specific antibodies restore self-tolerance: mechanisms and clinical applications. *Curr Opin Immunol* 2005, **17** : 632-637

CHATENOU L. CD3-specific antibodies as promising tools to aim at immune tolerance in the clinic. *Int Rev Immunol* 2006, **25** : 215-233

CHATENOU L, BLUESTONE JA. CD3-specific antibodies: a portal to the treatment of autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2007, **7** : 622-632

CHAVEZ H, BEAUDREUIL S, ABBED K, TAOUFIC Y, KRIAA F, et coll. Absence of CD4CD25 regulatory T cell expansion in renal transplanted patients treated in vivo with Belatacept mediated CD28-CD80/86 blockade. *Transpl Immunol* 2007, **17** : 243-248

CHOQUET S, LEBLOND V, HERBRECHT R, SOCIE G, STOPPA AM, et coll. Efficacy and safety of rituximab in B-cell post-transplantation lymphoproliferative disorders: results of a prospective multicenter phase 2 study. *Blood* 2006, **107** : 3053-3057

CHOQUET S, OERTEL S, LEBLOND V, RIESS H, VAROQUEAUX N, et coll. Rituximab in the management of post-transplantation lymphoproliferative disorder after solid organ transplantation: proceed with caution. *Ann Hematol* 2007, **86** : 599-607

CIANCIO G, BURKE GW, GAYNOR JJ, MATTIAZZI A, ROOHIPOUR R, et coll. The use of Campath-1H as induction therapy in renal transplantation: preliminary results. *Transplantation* 2004, **78** : 426-433

CIANCIO G, BURKE GW, GAYNOR JJ, CARRENO MR, CIROCCO RE, et coll. A randomized trial of three renal transplant induction antibodies: early comparison of tacrolimus, mycophenolate mofetil, and steroid dosing, and newer immune-monitoring. *Transplantation* 2005, **80** : 457-465

DEHOUX JP, TALPE S, DEWOLF N, OTSUKA M, OIKE F, et coll. Effects on human and nonhuman primate immune response of a new rat anti-CD2 monoclonal antibody. *Transplantation* 2000, **69** : 2622-2633

DEUSE T, VELOTTA JB, HOYT G, GOVAERT JA, TAYLOR V, et coll. Novel immunosuppression: R348, a JAK3- and Syk-inhibitor attenuates acute cardiac allograft rejection. *Transplantation* 2008, **85** : 885-892

DUMONT FJ. ISAtx-247 (Isotechnika/Roche). *Curr Opin Investig Drugs* 2004, **5** : 542-550

ELSTROM RL, ANDREADIS C, AQUI NA, AHYA VN, BLOOM RD, et coll. Treatment of PTLN with rituximab or chemotherapy. *Am J Transplant* 2006, **6** : 569-576

FAGUER S, KAMAR N, GUILBEAUD-FRUGIER C, FORT M, MODESTO A, et coll. Rituximab therapy for acute humoral rejection after kidney transplantation. *Transplantation* 2007, **83** : 1277-1280

FARNEY A, SUNDBERG A, MOORE P, HARTMANN E, ROGERS J, et coll. A randomized trial of alemtuzumab vs. anti-thymocyte globulin induction in renal and pancreas transplantation. *Clin Transplant* 2008, **22** : 41-49

FERRAN C, BACH JF, CHATENOU L. In vivo T cell activation properties of anti-T cell monoclonal antibodies. *Exp Nephrol* 1993, **1** : 83-89

FRIEND PJ, HALE G, CHATENOU L, REBELLO P, BRADLEY J, et coll. Phase I study of an engineered aglycosylated humanized CD3 antibody in renal transplant rejection. *Transplantation* 1999, **68** : 1632-1637

GALLON L, CHHABRA D. Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) for the treatment of recurrent idiopathic membranous nephropathy in a renal transplant patient. *Am J Transplant* 2006, **6** : 3017-3021

GEETHA D, SEO P, SPECKS U, FERVENZA FC. Successful induction of remission with rituximab for relapse of ANCA-associated vasculitis post-kidney transplant: report of two cases. *Am J Transplant* 2007, **7** : 2821-2825

GENBERG H, HANSSON A, WERNERSON A, WENNBERG L, TYDEN G. Pharmacodynamics of rituximab in kidney allotransplantation. *Am J Transplant* 2006, **6** : 2418-2428

GENBERG H, HANSSON A, WERNERSON A, WENNBERG L, TYDEN G. Pharmacodynamics of rituximab in kidney transplantation. *Transplantation* 2007, **84** (Suppl 12) : S33-S36

GENBERG H, KUMLIEN G, WENNBERG L, BERG U, TYDEN G. ABO-incompatible kidney transplantation using antigen-specific immunoadsorption and rituximab: a 3-year follow-up. *Transplantation* 2008, **85** : 1745-1754

GOSSMANN J, SCHEUERMANN EH, PORUBSKY S, KACHEL HG, GEIGER H, HAUSER IA. Abrogation of nephrotic proteinuria by rituximab treatment in a renal transplant patient with relapsed focal segmental glomerulosclerosis. *Transpl Int* 2007, **20** : 558-562

GUILLONEAU C, HILL M, HUBERT FX, CHIFFOLEAU E, HERVE C, et coll. CD40Ig treatment results in allograft acceptance mediated by CD8CD45RC T cells, IFN-gamma, and indoleamine 2,3-dioxygenase. *J Clin Invest* 2007, **117** : 1096-1106

HAANSTRA KG, RINGERS J, SICK EA, RAMDIEN-MURLI S, KUHN EM, et coll. Prevention of kidney allograft rejection using anti-CD40 and anti-CD86 in primates. *Transplantation* 2003, **75** : 637-643

HAANSTRA KG, SICK EA, RINGERS J, WUBBEN JA, KUHN EM, et coll. Costimulation blockade followed by a 12-week period of cyclosporine A facilitates prolonged drug-free survival of rhesus monkey kidney allografts. *Transplantation* 2005, **79** : 1623-1626

HALLORAN PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004, **351** : 2715-2729

HANCOCK WW, SAYEGH MH, ZHENG XG, PEACH R, LINSLEY PS, TURKA LA. Costimulatory function and expression of CD40 ligand, CD80, and CD86 in vascularized murine cardiac allograft rejection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, **93** : 13967-13972

HARIHARAN S, KASISKE B, MATAS A, COHEN A, HARMON W, RABB H. Surrogate markers for long-term renal allograft survival. *Am J Transplant* 2004, **4** : 1179-1183

HASPOT F, SEVENO C, DUGAST AS, COULON F, RENAUDIN K, et coll. Anti-CD28 antibody-induced kidney allograft tolerance related to tryptophan degradation and TCR class II B7 regulatory cells. *Am J Transplant* 2005, **5** : 2339-2348

HAUSEN B, KLUPP J, CHRISTIANS U, HIGGINS JP, BAUMGARTNER RE, et coll. Coadministration of either cyclosporine or steroids with humanized monoclonal antibodies against CD80 and CD86 successfully prolong allograft survival after life supporting renal transplantation in cynomolgus monkeys. *Transplantation* 2001, **72** : 1128-1137

HERING BJ, KANDASWAMY R, HARMON JV, ANSITE JD, CLEMMINGS SM, et coll. Transplantation of cultured islets from two-layer preserved pancreases in type 1 diabetes with anti-CD3 antibody. *Am J Transplant* 2004, **4** : 390-401

HEROLD KC, HAGOPIAN W, AUGER JA, POUMIAN RUIZ E, TAYLOR L, et coll. Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2002, **346** : 1692-1698

HEROLD KC, GITELMAN SE, MASHARANI U, HAGOPIAN W, BISIKIRSKA B, et coll. A single course of anti-CD3 monoclonal antibody hOKT3gamma1(Ala-Ala) results in improvement in C-peptide responses and clinical parameters for at least 2 years after onset of type 1 diabetes. *Diabetes* 2005, **54** : 1763-1769

HERTIG A, ANGLICHEAU D, VERINE J, PALLET N, TOUZOT M, et coll. Early epithelial phenotypic changes predict graft fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2008, **19** : 1584-1591

HORGA A, MONTALBAN X. FTY720 (fingolimod) for relapsing multiple sclerosis. *Expert Rev Neurother* 2008, **8** : 699-714

IMAI A, SUZUKI T, SUGITANI A, ITOH T, UEKI S, et coll. A novel fully human anti-CD40 monoclonal antibody, 4D11, for kidney transplantation in cynomolgus monkeys. *Transplantation* 2007, **84** : 1020-1028

JUDGE TA, TANG A, TURKA LA. Immunosuppression through blockade of CD28:B7-mediated costimulatory signals. *Immunol Res* 1996, **15** : 38-49

KACZMAREK I, DEUTSCH MA, SADONI S, BRENNER P, SCHMAUSS D, et coll. Successful management of antibody-mediated cardiac allograft rejection with combined immunoadsorption and anti-CD20 monoclonal antibody treatment: case report and literature review. *J Heart Lung Transplant* 2007, **26** : 511-515

KAUFMAN DB, LEVENTHAL JR, AXELROD D, GALLON LG, PARKER MA, STUART FP. Alemtuzumab induction and prednisone-free maintenance immunotherapy in kidney transplantation: comparison with basiliximab induction--long-term results. *Am J Transplant* 2005, **5** : 2539-2548

KAWAI T, COSIMI AB, SPITZER TR, TOLKOFF-RUBIN N, SUTHANTHIRAN M, et coll. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. *N Engl J Med* 2008, **358** : 353-361

KEYMEULEN B, VANDEMEULEBROUCKE E, ZIEGLER AG, MATHIEU C, KAUFMAN L, et coll. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2005, **352** : 2598-2608

KIRK AD, BURKLY LC, BATTY DS, BAUMGARTNER RE, BERNING JD, et coll. Treatment with humanized monoclonal antibody against CD154 prevents acute renal allograft rejection in nonhuman primates. *Nat Med* 1999, **5** : 686-693

KIRK AD, TADAKI DK, CELNIKER A, BATTY DS, BERNING JD, et coll. Induction therapy with monoclonal antibodies specific for CD80 and CD86 delays the onset of acute renal allograft rejection in non-human primates. *Transplantation* 2001, **72** : 377-384

KNECHTLE SJ, PIRSCH JD, H. FECHNER J J, BECKER BN, FRIEDL A, et coll. Campath-1H induction plus rapamycin monotherapy for renal transplantation: results of a pilot study. *Am J Transplant* 2003, **3** : 722-730

KUDLACZ E, PERRY B, SAWYER P, CONKLYN M, MCCURDY S, et coll. The novel JAK-3 inhibitor CP-690550 is a potent immunosuppressive agent in various murine models. *Am J Transplant* 2004, **4** : 51-57

LACHENBRUCH PA, ROSENBERG AS, BONVINI E, CAVAILLE-COLL MW, COLVIN RB. Biomarkers and surrogate endpoints in renal transplantation: present status and considerations for clinical trial design. *Am J Transplant* 2004, **4** : 451-457

LARSEN CP, ELWOOD ET, ALEXANDER DZ, RITCHIE SC, HENDRIX R, et coll. Long-term acceptance of skin and cardiac allografts after blocking CD40 and CD28 pathways. *Nature* 1996, **381** : 434-438

LARSEN CP, PEARSON TC, ADAMS AB, TSO P, SHIRASUGI N, et coll. Rational development of LEA29Y (belatacept), a high-affinity variant of CTLA4-Ig with potent immunosuppressive properties. *Am J Transplant* 2005, **5** : 443-453

LASKOWSKI IA, PRATSCHKE J, WILHELM MJ, DONG VM, BEATO F, et coll. Anti-CD28 monoclonal antibody therapy prevents chronic rejection of renal allografts in rats. *J Am Soc Nephrol* 2002, **13** : 519-527

LEE JJ, LAM MS, ROSENBERG A. Role of chemotherapy and rituximab for treatment of posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Ann Pharmacother* 2007, **41** : 1648-1659

LEGENDRE C, KREIS H, BACH JF, CHATENOU D L. Prediction of successful allograft rejection retreatment with OKT3. *Transplantation* 1992, **53** : 87-90

LEHNHARDT A, MENGEL M, PAPE L, EHRICH JH, OFFNER G, STREHLAU J. Nodular B-cell aggregates associated with treatment refractory renal transplant rejection resolved by rituximab. *Am J Transplant* 2006, **6** : 847-851

LINSLEY PS, GREENE JL, TAN P, BRADSHAW J, LEDBETTER JA, et coll. Coexpression and functional cooperation of CTLA-4 and CD28 on activated T lymphocytes. *J Exp Med* 1992, **176** : 1595-1604

LINSLEY PS, BRADSHAW J, URNES M, GROSMAN L, LEDBETTER JA. CD28 engagement by B7/BB-1 induces transient down-regulation of CD28 synthesis and prolonged unresponsiveness to CD28 signaling. *J Immunol* 1993, **150** : 3161-3169

MAGLIOCCA JF, KNECHTLE SJ. The evolving role of alemtuzumab (Campath-1H) for immunosuppressive therapy in organ transplantation. *Transpl Int* 2006, **19** : 705-714

MARGREITER R, KLEMPNAUER J, NEUHAUS P, MUEHLBACHER F, BOESMUELLER C, CALNE RY. Alemtuzumab (Campath-1H) and tacrolimus monotherapy after renal transplantation: results of a prospective randomized trial. *Am J Transplant* 2008, **8** : 1480-1485

MELCHER ML, OLSON JL, BAXTER-LOWE LA, STOCK PG, POSSELT AM. Antibody-mediated rejection of a pancreas allograft. *Am J Transplant* 2006, **6** : 423-428

MENG L, WU Z, WANG Y, LASSMAN C, BUSUTTIL RW, et coll. Differential impact of CD154 costimulation blockade on alloreactive effector and regulatory T cells in murine renal transplant recipients. *Transplantation* 2008, **85** : 1332-1338

MEYER TN, THAISS F, STAHL RA. Immunoabsorption and rituximab therapy in a second living-related kidney transplant patient with recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *Transpl Int* 2007, **20** : 1066-1071

NAGAOKA Y, OTSUKI K, FUJITA T, UESATO S. Effects of phosphorylation of immunomodulatory agent FTY720 (fingolimod) on antiproliferative activity against breast and colon cancer cells. *Biol Pharm Bull* 2008, **31** : 1177-1181

OJO AO, HELD PJ, PORT FK, WOLFE RA, LEICHTMAN AB, et coll. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003, **349** : 931-940

ORTIZ J, PALMA-VARGAS J, WRIGHT F, BINGAMAN A, AGHA I, et coll. Campath induction for kidney transplantation: report of 297 cases. *Transplantation* 2008, **85** : 1550-1556

OSTOR AJ. Abatacept: a T-cell co-stimulation modulator for the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2008, **27** : 1343-1353

PASCUAL J, BLOOM D, TORREALBA J, BRAHMBHATT R, CHANG Z, et coll. Calcineurin inhibitor withdrawal after renal transplantation with alemtuzumab: clinical outcomes and effect on T-regulatory cells. *Am J Transplant* 2008, **8** : 1529-1536

PEARL JP, PARRIS J, HALE DA, HOFFMANN SC, BERNSTEIN WB, et coll. Immunocompetent T-cells with a memory-like phenotype are the dominant cell type following antibody-mediated T-cell depletion. *Am J Transplant* 2005, **5** : 465-474

PEARL JP, XU H, LEOPARDI F, PRESTON E, KIRK AD. CD154 blockade, sirolimus, and donor-specific transfusion prevents renal allograft rejection in cynomolgus monkeys despite homeostatic T-cell activation. *Transplantation* 2007, **83** : 1219-1225

PRESTON EH, XU H, DHANIREDDY KK, PEARL JP, LEOPARDI FV, et coll. IDEC-131 (anti-CD154), sirolimus and donor-specific transfusion facilitate operational tolerance in non-human primates. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1032-1041

RAMOS EJ, POLLINGER HS, STEGALL MD, GLOOR JM, DOGAN A, GRANDE JP. The effect of desensitization protocols on human splenic B-cell populations in vivo. *Am J Transplant* 2007, **7** : 402-407

ROTHER RP, ARP J, JIANG J, GE W, FAAS SJ, et coll. C5 blockade with conventional immunosuppression induces long-term graft survival in presensitized recipients. *Am J Transplant* 2008, **8** : 1129-1142

SAITO K, NAKAGAWA Y, SUWA M, KUMAGAI N, TANIKAWA T, et coll. Pinpoint targeted immunosuppression: anti-CD20/MMF desensitization with anti-CD25 in successful ABO-incompatible kidney transplantation without splenectomy. *Xenotransplantation* 2006, **13** : 111-117

SALVADORI M, BUDDE K, CHARPENTIER B, KLEMPNAUER J, NASHAN B, et coll. FTY720 versus MMF with cyclosporine in de novo renal transplantation: a 1-year, randomized controlled trial in Europe and Australasia. *Am J Transplant* 2006, **6** : 2912-2921

SCHADDE E, D'ALESSANDRO AM, KNECHTLE SJ, ODORICO J, BECKER Y, et coll. Alemtuzumab induction and triple maintenance immunotherapy in kidney transplantation from donors after cardiac death. *Transpl Int* 2008, **21** : 625-636

SCHNEEBERGER S, KRECZY A, BRANDACHER G, STEURER W, MARGREITER R. Steroid- and ATG-resistant rejection after double forearm transplantation responds to Campath-1H. *Am J Transplant* 2004, **4** : 1372-1374

SERON D, MORESO F. Protocol biopsies in renal transplantation: prognostic value of structural monitoring. *Kidney Int* 2007, **72** : 690-697

SERVAIS A, MEAS-YEDID V, BUCHLER M, MORELON E, OLIVO-MARIN JC, et coll. Quantification of interstitial fibrosis by image analysis on routine renal biopsy in patients receiving cyclosporine. *Transplantation* 2007, **84** : 1595-1601

SHAPIRO R, BASU A, TAN H, GRAY E, KAHN A, et coll. Kidney transplantation under minimal immunosuppression after pretransplant lymphoid depletion with Thymoglobulin or Campath. *J Am Coll Surg* 2005, **200** : 505-515; quiz A59-61

SKVARA H, DAWID M, KLEYN E, WOLFF B, MEINGASSNER JG, et coll. The PKC inhibitor AEB071 may be a therapeutic option for psoriasis. *J Clin Invest* 2008, **118** : 3151-3159

STEINMETZ OM, LANGE-HUSKEN F, TURNER JE, VERNAUER A, HELMCHEN U, et coll. Rituximab removes intrarenal B cell clusters in patients with renal vascular allograft rejection. *Transplantation* 2007, **84** : 842-850

STEPKOWSKI SM, KIRKEN RA. Janus tyrosine kinases and signal transducers and activators of transcription regulate critical functions of T cells in allograft rejection and transplantation tolerance. *Transplantation* 2006, **82** : 295-303

SUNTHARALINGAM G, PERRY MR, WARD S, BRETT SJ, CASTELLO-CORTES A, et coll. Cytokine storm in a phase 1 trial of the anti-CD28 monoclonal antibody TGN1412. *N Engl J Med* 2006, **355** : 1018-1028

TAN SL, PARKER PJ. Emerging and diverse roles of protein kinase C in immune cell signalling. *Biochem J* 2003, **376** : 545-552

TEDESCO-SILVA H JR., PINHEIRO MACHADO P, ROSSO FELIPE C, MEDINA PESTANA JO. Immunotherapy for de novo renal transplantation: what's in the pipeline? *Drugs* 2006a, **66** : 1665-1684

TEDESCO-SILVA H, PESCOVITZ MD, CIBRIK D, REES MA, MULGAONKAR S, et coll. Randomized controlled trial of FTY720 versus MMF in de novo renal transplantation. *Transplantation* 2006b, **82** : 1689-1697

THAUNAT O, PATEY N, GAUTREAU C, LECHATON S, FREMEAUX-BACCHI V, et coll. B cell survival in intragraft tertiary lymphoid organs after rituximab therapy. *Transplantation* 2008, **85** : 1648-1653

TYDEN G, KUMLIEN G, GENBERG H, SANDBERG J, LUNDGREN T, FEHRMAN I. ABO incompatible kidney transplantations without splenectomy, using antigen-specific immunoadsorption and rituximab. *Am J Transplant* 2005, **5** : 145-148

TZAKIS AG, KATO T, NISHIDA S, LEVI DM, TRYPHONOPOULOS P, et coll. Alemtuzumab (Campath-1H) combined with tacrolimus in intestinal and multivisceral transplantation. *Transplantation* 2003, **75** : 1512-1517

USUDA M, FUJIMORI K, KOYAMADA N, FUKUMORI T, SEKIGUCHI S, et coll. Successful use of anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) for ABO-incompatible living-related liver transplantation. *Transplantation* 2005, **79** : 12-16

UTSET TO, AUGER JA, PEACE D, ZIVIN RA, XU D, et coll. Modified anti-CD3 therapy in psoriatic arthritis: a phase I/II clinical trial. *J Rheumatol* 2002, **29** : 1907-1913

VAN MEETEREN LA, BRINKMANN V, SAULNIER-BLACHE JS, LYNCH KR, MOOLENAAR WH. Anticancer activity of FTY720: phosphorylated FTY720 inhibits autotaxin, a metastasis-enhancing and angiogenic lysophospholipase D. *Cancer Lett* 2008, **266** : 203-208

VIEIRA CA, AGARWAL A, BOOK BK, SIDNER RA, BEARDEN CM, et coll. Rituximab for reduction of anti-HLA antibodies in patients awaiting renal transplantation: 1. Safety, pharmacodynamics, and pharmacokinetics. *Transplantation* 2004, **77** : 542-548

VINCENTI F. What's in the pipeline? New immunosuppressive drugs in transplantation. *Am J Transplant* 2002, **2** : 898-903

VINCENTI F. Costimulation blockade in autoimmunity and transplantation. *J Allergy Clin Immunol* 2008, **121** : 299-306; quiz 7-8

VINCENTI F, LUGGEN M. T cell costimulation: a rational target in the therapeutic armamentarium for autoimmune diseases and transplantation. *Annu Rev Med* 2007, **58** : 347-358

VINCENTI F, LARSEN C, DURRBACH A, WEKERLE T, NASHAN B, et coll. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med* 2005, **353** : 770-781

VINCENTI F, MENDEZ R, PESCOVITZ M, RAJAGOPALAN PR, WILKINSON AH, et coll. A phase I/II randomized open-label multicenter trial of efalizumab, a humanized anti-CD11a, anti-LFA-1 in renal transplantation. *Am J Transplant* 2007, **7** : 1770-1777

VO AA, LUKOVSKY M, TOYODA M, WANG J, REINSMOEN NL, et coll. Rituximab and intravenous immune globulin for desensitization during renal transplantation. *N Engl J Med* 2008, **359** : 242-251

WADE E, GORAL S, KEARNS J, PIERCE E, TROFE J, et coll. Experience with antibody-mediated rejection in kidney allograft recipients. *Clin Transpl* 2006, 439-446

WANG H, JIANG J, LIU W, KUBELIK D, CHEN G, et coll. Prevention of acute vascular rejection by a functionally blocking anti-C5 monoclonal antibody combined with cyclosporine. *Transplantation* 2005, **79** : 1121-1127

WATSON CJ, BRADLEY JA, FRIEND PJ, FIRTH J, TAYLOR CJ, et coll. Alemtuzumab (Campath-1H) induction therapy in cadaveric kidney transplantation--efficacy and safety at five years. *Am J Transplant* 2005, **5** : 1347-1353

WECLAWIAK H, RIBES D, GUILBEAU-FRUGIER C, TOUCHARD G, KAMAR N, et coll. Relapse of membranous glomerulopathy after kidney transplantation: sustained remittance induced by rituximab. *Clin Nephrol* 2008, **69** : 373-376

WOODLE ES, XU D, ZIVIN RA, AUGER J, CHARETTE J, et coll. Phase I trial of a humanized, Fc receptor nonbinding OKT3 antibody, huOKT3gamma1(Ala-Ala) in the treatment of acute renal allograft rejection. *Transplantation* 1999, **68** : 608-616

WOOTLA B, NICOLETTI A, PATEY N, DIMITROV JD, LEGENDRE C, et coll. Hydrolysis of coagulation factors by circulating IgG is associated with a reduced risk for chronic allograft nephropathy in renal transplanted patients. *J Immunol* 2008, **180** : 8455-8460

YABU JM, VINCENTI F. Novel immunosuppression: small molecules and biologics. *Semin Nephrol* 2007, **27** : 479-486

YABU JM, HO B, SCANDLING JD, VINCENTI F. Rituximab failed to improve nephrotic syndrome in renal transplant patients with recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Transplant* 2008, **8** : 222-227

YOPP AC, LEDGERWOOD LG, OCHANDO JC, BROMBERG JS. Sphingosine 1-phosphate receptor modulators: a new class of immunosuppressants. *Clin Transplant* 2006, **20** : 788-795

YOU S, LEFORBAN B, GARCIA C, BACH JF, BLUESTONE JA, CHATENOU L. Adaptive TGF-beta-dependent regulatory T cells control autoimmune diabetes and are a privileged target of anti-CD3 antibody treatment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, **104** : 6335-6340

ZHANG Q, CHEN Y, FAIRCHILD RL, HEEGER PS, VALUJSKIKH A. Lymphoid sequestration of alloreactive memory CD4 T cells promotes cardiac allograft survival. *J Immunol* 2006, **176** : 770-777

ZILZ ND, OLSON LJ, MCGREGOR CG. Treatment of post-transplant lymphoproliferative disorder with monoclonal CD20 antibody (rituximab) after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2001, **20** : 770-772