

## COMMUNICATION

# Immunologie de l'allogreffe osseuse et ostéo-cartilagineuse

Yvon LEBRANCHU \*

Si le mythe de remplacement d'un membre est profondément ancré dans les esprits comme en témoigne la légende de Saint-Côme et Saint-Damien rapportée au treizième siècle par Jacques de Voragine, si les premières tentatives de greffe osseuse ont été effectuées en Europe à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle et au début du XX<sup>e</sup> siècle, c'est la nécessité de réparation des pertes de substances osseuses chez les grands blessés de la guerre 1914-1918 qui a contribué à la structuration de services dédiés aux greffes osseuses comme l'hôpital auxiliaire n° 197, 19 rue d'Armaillé à Paris, dirigé par le Docteur Serge Voronoff où seront utilisées des greffes « autoplastiques » (autre os du patient), homoplastiques (os d'amputés), voire hétéroplastiques (os d'animal vivant ou bouilli). Cela permettra à Voronoff de décrire en 1916, à la suite de son ami Alexis Carrel, dans son « traité des greffes osseuses et articulaires », la prééminence des autogreffes sur les allogreffes et les xénogreffes. Mais, disait-il les greffons d'os d'amputés ou d'os de singes supérieurs ne sont pas rejetés totalement, car ils sont les supports d'une ostéogénèse de l'os receveur [1]. Mais c'est surtout dans la deuxième moitié du XX<sup>e</sup> siècle qu'a été étudiée l'immunologie de l'allogreffe osseuse, permettant de répondre à un certain nombre de questions :

### **L'allogreffe osseuse est-elle immunogénique et peut-elle induire des phénomènes de rejet en l'absence de traitement immunosuppresseur ?**

Les cellules osseuses expriment à leur surface des antigènes d'histocompatibilité, tant de classe I [2, 3] que de classe II après activation par l'Interféron gamma [4].

L'allogreffe osseuse induit chez l'animal une réponse humorale [5] à la fois contre les antigènes d'histocompatibilité de classe I et de classe II [6], mais aussi une réponse

---

\* Service de néphrologie et immunologie clinique, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours, 37044 Tours cedex

*Tirés à part* : Professeur Yvon LEBRANCHU, même adresse

*Article reçu le 4 février 2016 et accepté le 8 février 2016.*

cellulaire, même en l'absence de moelle osseuse [7] l'animal sensibilité étant capable de rejeter de manière accélérée une greffe de peau de l'animal sensibilisant [8]. Chez l'homme, une réponse humorale anti-HLA a été mise en évidence après des greffes ostéo-cartilagineuses massives par Urovitz [9], Rodrigo [10] et surtout par Friedlaender [11] qui a identifié des anticorps dirigés contre les antigènes HLA du greffon chez 9 des 43 greffés, 2 seulement ayant été transfusés.

Chez l'animal, une réaction du rejet aigu a pu être décrite avec infiltration lymphocytaire et macrophagique du greffon [12, 13]. La revascularisation du greffon permettant l'afflux de monocytes et de lymphocytes capables d'induire une réponse immunitaire indirecte diminue très rapidement dans l'allogreffe, contrairement à ce qui se passe dans l'autogreffe [14]. Les signes du rejet ont été décrits en 2008 par REIKERAS [15] : faible pont osseux, diminution de la minéralité, haut degré de résorption, diminution de la rigidité et de la résistance à la torsion, réduction du flux sanguin, réponse inflammatoire avec peu d'intégration. Chose importante le rejet semble accéléré chez l'animal sensibilisé [14]. Ainsi l'allogreffe osseuse massive est immunogénique chez l'animal et chez l'homme, capable d'induire une réaction de rejet aigu et d'être rejetée de manière accélérée en cas de sensibilisation préalable à la greffe. Ceci a conduit très rapidement à utiliser des allogreffes osseuses congelées.

### **L'allogreffe osseuse congelée est-elle encore immunogénique et peut-elle induire un rejet en l'absence d'immunosuppression ?**

La congélation entraînant la destruction des cellules viables, en particulier des cellules immunitaires du greffon, en diminue l'immunogénicité [16]. Mais en détruisant aussi les cellules osseuses, elle entraîne la perte des propriétés ostéo-inductives du greffon. Mais, même après congélation, l'allogreffe osseuse est capable d'induire une réponse immunitaire, probablement en raison de la présence d'antigènes dans les cellules mortes et les débris capables d'être présentés de façon indirecte par les monocytes et les macrophages du receveur [17, 18]. La réponse immunitaire est plus faible et moins durable qu'en cas d'allogreffe fraîche, mais plus accentuée au niveau de la synoviale [19].

Une réponse humorale anti-HLA a aussi été détectée chez l'homme après utilisation des greffons congelés [20, 11]. Il faut noter qu'il existe plusieurs procédés de congélation [21] et que l'antigénicité varie probablement selon ces procédés. Ainsi chez l'animal, l'utilisation de greffons congelés pendant une longue période (1 an) n'induit pas de réponse humorale contrairement à des greffons congelés pendant une période courte (48 h) [22]. De même le DMSO permet la destruction des cellules immunitaires [23], mais garde la viabilité des chondrocytes dans les greffes ostéo-cartilagineuses [14]. Si la congélation ne semble totalement réduire l'immunogénicité du greffon, les conséquences cliniques de cette réponse immunitaire semblent faibles. Il n'a pas été décrit de rejet aigu chez l'animal [22] et l'ablation du greffon n'a pas mis en évidence de signes de rejet chez l'homme [24] Néanmoins des manifestations inflammatoires régressives sous traitement immunosuppresseur ont été observées dans 9 % des cas par Poitout [21], témoignant peut être d'une réaction qui

pourrait plutôt s'apparenter à un rejet chronique. Ceci mériterait d'être réétudié avec les techniques modernes de détection et d'identification des anticorps anti-HLA, ainsi que l'éventuel rôle des anticorps dirigés contre les antigènes HLA du greffon préformés avant la greffe.

### **L'allogreffe ostéo-cartilagineuse est-elle immunogénique et peut-être induire un rejet en l'absence de traitement immunosuppresseur ?**

L'allogreffe ostéo-cartilagineuse pour réparation du cartilage associe le cartilage à un support osseux qui permet un ancrage sur l'os du receveur. Les chondrocytes expriment des antigènes d'histocompatibilité et sont potentiellement immunogènes [3] et sont protégés par le cartilage qui, s'il est intact, constitue un site immunoprivilégié. La partie osseuse peut, elle, induire une réponse immunitaire d'intensité variable [25-27]. La congélation réduit son immunogénicité mais détruit plus de 95 % des chondrocytes et entraîne une détérioration de la matrice extra-cellulaire. Aussi la grande majorité des allogreffes ostéo-cartilagineuses sont non congelées et potentiellement immunogéniques. La cryopréservation par le DMSO pourrait améliorer la viabilité des chondrocytes tout en diminuant l'immunogénicité.

Là encore, les conséquences cliniques de cette réponse immunitaires sont mal définies. Elles sont considérées comme faibles ou nulles. L'ablation du greffon n'a, lorsqu'il a été réalisé, pas mis en évidence de réaction immunitaire [28, 29].

Néanmoins, l'existence d'anticorps anti-greffon est corrélée avec un aspect moins satisfaisant à l'IRM [30] et pour Friedlaender, le matching HLA améliorerait les résultats et la présensibilisation altérerait le greffon [31]. Là encore, les études sont relativement anciennes et mériteraient d'être revues avec les nouvelles techniques de détection des anticorps anti-HLA.

### **Quel est le rôle de la moelle osseuse des os des allogreffes de tissus composites vascularisés ?**

Plus de cent trente greffes de tissus composites vascularisés, mains, membres, face ont été réalisées depuis 1995 [32]. Cette greffe de plusieurs tissus (peau, muscles, vaisseaux, nerfs, os, moelle osseuse s'est avérée très immunogénique marquée par un pourcentage élevé de rejet aigus dans la première année (50 à 100 % contre environ 15 % pour les greffes d'organes vascularisés comme le rein, le foie ou le cœur). De façon intéressante, la majorité des lymphocytes T identifiés au niveau des zones de rejet semblent être des lymphocytes T du donneur, CD8+, de phénotype mémoire, plutôt que du receveur [33], suggérant une réponse des lymphocytes T du donneur contre les cellules immunitaires du receveur migrant dans la peau (équivalent d'une réaction de GVH locale). Il existe aussi des rejets aigus tardifs, peut-être liés à la persistance dans la peau greffée plusieurs années après la greffe de ces lymphocytes T mémoires résidants du donneur mais aussi de cellules de Langerhans du donneur. L'existence de ces rejets aigus nécessite un traitement immunosuppresseur similaire à celui utilisé dans les greffes d'organes chez les sujets à haut risque immunologique.

Il ne semble pas y avoir de rejet aigu sans atteinte cutanée. La peau joue donc un rôle de sentinelle par des modifications cliniques précoces faciles à observer et son accès facile à la biopsie. Pour les greffes de la face un lambeau de peau du donneur est greffé au niveau abdominal pour éviter des cicatrices au niveau du visage.

De plus des signes de rejet chronique avec vasculopathie du greffon commencent à être observés, ainsi qu'une réponse humorale avec apparition d'anticorps dirigés contre les antigènes HLA du greffon.

La consolidation osseuse des os vascularisés ne pose aucun problème et à ce jour, aucun signe de rejet n'a été observé.

La présence de moelle osseuse vascularisée du donneur pose des problèmes intéressants. Les cellules immunitaires du donneur sont-elles capables d'induire une réaction de GVH ? Cela ne semble pas être le cas et la moelle osseuse semble être rejetée sous traduction clinique [34]. Chez l'animal la moelle osseuse vascularisée semble, au contraire, prolonger la survie d'un greffon. En effet, l'absence de moelle osseuse vascularisée diminue la survie d'une greffe de face chez le singe et augmente la réponse humorale [35] car la moelle osseuse vascularisée offre un environnement pro-toléro-gène. Cette augmentation de la survie semble être associée à un haut degré de chimérisme mixte dans le sang du receveur. Les précurseurs des cellules dendritiques du donneur pourraient migrer dans le thymus du receveur pour induire une double sélection négative des précurseurs lymphocytaires T du receveur entraînant une délétion des lymphocytes T alloréactifs similaire à celle des lymphocytes T auto-réactifs [36].

Néanmoins, chez l'homme, cet effet bénéfique de la moelle osseuse vascularisée n'a pas été observé, comme n'a pas été non plus observé un chimérisme mixte important et durable, même lorsque de la moelle osseuse du donneur est injectée lors de la greffe composite. Cette discordance entre l'animal et l'homme n'est pas expliquée. Elle tient peut-être au ratio de niches hématopoïétiques des os vascularisés greffés par rapport au reste du greffon.

Aussi, afin d'éviter la survenue d'un rejet chronique d'un organe non vital, mais aussi pour éviter les complications d'un traitement immunosuppresseur intense et prolongé (infectieuses, tumorales, métaboliques, cardio-vasculaires, etc.), des stratégies de greffes de moelle osseuse non myélo-ablatives sont envisagées. En effet, ce type de stratégie a pu induire une tolérance de l'organe greffé en cas de greffe de rein chez des patients atteints de myélome [37, 38]. Ainsi pour la première fois, en 2014, une tolérance de greffe vascularisée composite associée à un haut degré de chimérisme mixte a été rapportée chez le miniporc [39], ouvrant la voie à son utilisation chez l'homme.

En conclusion, l'os, même après congélation, peut induire une réponse immunitaire qui mériterait d'être réétudiée, en utilisant les techniques récentes d'identification des anticorps anti HLA. Cette réponse immunitaire n'a néanmoins qu'une faible traduction clinique, du moins à court et moyen terme. La greffe de tissus composites vascularisés est très immunogénique, la peau est un organe sentinelle, l'os n'étant

jamais l'objet d'une réaction de rejet. Chez l'homme, contrairement à l'animal, la greffe de moelle osseuse vascularisée n'induit pas de chimérisme et de tolérance conduisant à imaginer l'association d'une greffe de moelle osseuse non myélo-ablative.

## RÉFÉRENCES

- [1] Voronoff S. Traité des greffes osseuses et articulaires. Doin Ed 1916.
- [2] Elves MW. Studies of the behaviour of allogeneic cancellous bone grafts in inbred rats. *Transplantation* 1975;19:41-425.
- [3] Langer F, Gross AE. Immunogenicity of allograft articular cartilage. *J Bone Joint Surg.* 1974;297-304.
- [4] Skodjh H, Hughes DE, Dobson PR, et al. Constitutive and inducible expression of HLA clas II determinants by human osteoblast-like cells *in vitro*. *J Clin Invest.* 1990;85:1421-1426.
- [5] Moscolo DL, Kawai S, Ray RD. In vitro studies of transplantation antigens present on bone cells in the rat. *J Bone Joint Surg.* 1977;59:342-348.
- [6] Stevenson S, Shaffer JW, Goldberg VM. The humoral response to vascular and nonvascular allografts of bone. *Clin Orthop Relat Res.* 1996;326:86-95.
- [7] Horowitz MC, Friedlaender GE. Induction of specific T-cell responsiveness to allogeneic bone. *J Bone Joint Surg.* 1991;73:1157-1168.
- [8] Bos GD, Goldberg VM, Zika JM. Immune responses of rats to frozen bone allografts. *J Bone Joint Surg.* 1983;65:239-246.
- [9] Urovitz EP, Langer F, Gross AE, West M. Cell-mediated immunity in patients following joint allografting. *Trans Orthop Res Soc.* 1976;1:132.
- [10] Rodrigo JJ, Fulle TC, Mankin HJ, et al. Cytotoxic HLA antibodies in patients with bone and cartilage allografts. *Trans Orthop Res Soc.* 1976;1:131.
- [11] Friedlaender GE, Strong DM, Sell KW. Studies on the antigenicity of bone. II. Donor-specific anti-HLA antibodies in human recipients of freeze-dried allografts. *J Bone Joint Surg.* 1984;66:107-12.
- [12] Burwell RG, Gowland G, Dexter F. Studies in the transplantation of bones. *J Bone Joint Surg.* 1963;45:597-608;
- [13] Bonfiglio M, Jeter WS. Immunological responses to bone. *Clin Orthop Rel Res.* 1972;87:19-27.
- [14] Wingenfeld C, Egli RJ, Hempfing A, et al. Cryopreservation of osteochondral allografts: dimethyl sulfoxide promotes angiogenesis and immune tolerance in mice. *J Bone Joint Surg.* 2002;84:1420-9.
- [15] Reikeras O, Shegarfi H, Naper C, et al. Impact of MHC mismatch and freezing on bone graft incorporation. *J Orthop Res.* 2008;26:926-931.
- [16] Hemdon CH, Chase SW. The fate of massive autogenous and homogenous bone graft including articular surfaces. *Surg Gynecol Obstet.* 1954;98:293-90.
- [17] Urist MR, Mikulski A, Boyd SD. A chemosterilized antigen-extracted autodigested alloimplant for bone banks. *Arch Surg.* 1975;110:416-428.
- [18] Friedlaender GE, Strong DM, Sell KW. Studies on the antigenicity of bone. *J Bone Joint Surg.* 1976;58:854-858.

- [19] Stevenson S. The immune response to osteochondral allografts in dogs. *J Bone Joint Surg.* 1987;69:573-82.
- [20] Lundgren G, Moller E, Thorsby E In vitro cytotoxicity by human lymphocytes from individuals immunized against Histocompatibility antigens. *Clin Exp Immunol.* 1970;6:671-680.
- [21] Poitout D, Nouaille de Gorce E, Tropiano P, et al. Long term outcome of large bone and osteochondral allografts *Bull Acad Natl Med.* 2008;192:895-911.
- [22] Reikeras O, Sigurdson UW, Shegarfi H. Impact of freezing on immunology and incorporation of bone allograft. *J Orthop Res.* 2010;28:1215-19.
- [23] Taylor MJ, Bank HL, Benton MJ. Selective killing of leucocytes by freezing: potential for reducing the immunogenicity of pancreatic islets. *Diabetes Res.* 1987;5:99-103.
- [24] Enneking WF, Mindell ER. 1991. Observations on massive retrieved human allografts. *J Bone Joint Surg.* 73:1123-1142.
- [25] Friedlaender GE, Horowitz MC. Immune responses to osteochondral allografts: nature and significance. *Orthopedics.* 1992;15:1171-5.
- [26] Strong DM, Friedlaender GE, Tomford WW, et al. Immunologic responses in human recipients of osseous and osteochondral allografts. *Clin Orthop Relat Res.* 1996:107-14.
- [27] Strauss EJ, Serson R, Barker JU, et al. The basic science and clinical applications of osteochondral allografts. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2012;70:217-231.
- [28] Oakeshott RD, Farine I, Pritzker KP, et al. A clinical and histologic analysis of failed fresh osteochondral allografts. *Clin Orthop Relat Res.* 198;233:283-94.
- [29] Kandel RA, Gross AE, Ganel A, et al. Histopathology of failed osteoarticular shell allografts. *Clinical Orthop Relat Res.* 1985;103-10.
- [30] Sirlin CB, Brossmann J, Boutin RD, et al. Osteochondral allografts of the knee: Comparison of MR imaging findings and immunologic responses. *Radiology.* 2001;219:35-43.
- [31] Friedlaender GE, Strong DM, Tomford WW, Mankin HJ. Long-term follow-up of patients with osteochondral allografts. A correlation between immunologic responses and clinical outcome. *Orthop Clin North Am.* 1999;583-8.
- [32] Petruzzo P, Lanzetta M, Dubernard, et al. JM. The international registry on hand and composite tissue transplantation. *Transplantation.* 2010;90:1590-94.
- [33] Guo Lian C, Bueno EM, Granter SR, et al. Biomarker evaluation of face transplant rejection: association of donor T cells with target cell injury. *Mod Pathol.* 2014;27:788-799.
- [34] Morelon E, Kanitakis J, Petruzzo P, et al. Immunological challenges in vascularized composite allotransplantation. *Curr Transpl Res.* 2015.
- [35] Brazio PS, Woodall J, Panda A, et al. Infused bone marrow fails to prevent vascularized composite allograft rejection in nonhuman primates. *Am J Transplant.* 2015;15:2011-12.
- [36] Sykes M. Mixed chimerism and transplant tolerance. *Immunity.* 2001;14:417-424.
- [37] Kawai T, Cosimi AB, Spitzer TR, et al. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. *N Engl J Med.* 2008;358:353-361.
- [38] Scandling JD, Busque S, Shizuru JA, et al. Chimerism, graft survival, and withdrawal of immunosuppressive drugs in HLA matched and mismatched patients after living donor kidney and hematopoietic cell transplantation. *Am J Transplant.* 2015;15:695-704.
- [39] Leonard DA, Kurtz JM, Mallard C, et al. Vascularized composite allograft tolerance across MHC barriers in a large animal model. *Am J Transplant.* 2014;14:343-355.