Printemps des Sciences 2021
Sciences biomédicales

Faculté de Médecine
B.Nisrine, K.Sephora, M.Yasmina,
N.Cécile, N. Diane, S. Zéna

# Greffe et cellules souches, jusqu'où ira-t-on ?

## Xénogreffe : Et si les animaux étaient les sauveurs de demain ?

### *Qu'est-ce qu'une xénogreffe ou xénotransplantation ?*

Les xénogreffes ou xénotransplantations sont des opérations chirurgicales pour remplacer l'organe malade d'un humain ou d'un animal par un organe sain (greffon) issu d'un donneur d'espèce différente de celle du receveur.

Les xénogreffes sont une alternative à la **pénurie d'organes humains**. En effet, malheureusement plusieurs patients décèdent dans l'attente d'une greffe. La Belgique fait partie d'Eurotransplant, un organisme regroupant 8 pays européens qui coopèrent pour répondre au mieux à la demande d'organes. Pour l'année 2019, Eurotransplant a comptabilisé 2042 greffes à parti de donneurs décédés et 1299 à partir de donneurs vivants. Le besoin en organes dépasse le nombre d'organes disponible. Par conséquent, 13 985 patients étaient encore inscrits sur la liste d'attente des dons d'organes d'Eurotransplant au 1e janvier 2020. En Belgique (2019), 72 transplantations ont été effectuées à partir de donneurs vivants et 312 à partir de donneurs décédés. Cependant, ces chiffres sont bien trop bas par rapport au nombre de patients en attente d'organes : 1341 patients étaient toujours sur la liste au 1e janvier. Par exemple, en Belgique, les reins sont les organes les plus demandés avec une liste de 914 patients en attente d'une transplantation [1].

Pour qu'une xénogreffe soit efficace, il faut que l'organe du donneur ressemble biologiquement à celui du receveur : leurs ADN doivent se ressembler. L'ADN est le code présent dans chaque cellule, c'est ce qui rend chaque être vivant unique. Les espèces les plus proches de l'Homme sont les grands singes, cela pourrait faire d'eux d'éventuels donneurs d'organes. Cependant, d'un point de vue éthique, ceci n'est pas acceptable. En effet, les grands singes sont des espèces menacées dont l'exploitation mènerait à leur extinction. De plus, leur reproduction n'est pas optimale (gestation longue, petite portée) et leurs organes sont trop petits. Les chercheurs se sont alors intéressés à une espèce plus éloignée mais beaucoup plus bénéfique **: le porc** [2]. Il peut être un donneur pour l'Homme et ce, pour plusieurs raisons : sa facilité d'élevage, sa disponibilité et son coût. De plus, ces organes ont une taille et un fonctionnement qui rappellent ceux de l'Homme. Le cochon a également des gènes (ADN) très ressemblant à ceux de l'Homme [3][4].

### *Rejet de greffon, principal obstacle dans les xénotransplantations*

Actuellement, les xénogreffes sont principalement des interventions expérimentales. Pour rendre possible les xénotransplantations de tissus porcins chez l'Homme, il va falloir remédier au problème de **rejet.** Le rejet d'organe est un phénomène observé à la suite d'une réaction immunitaire, qui a lieu dans le corps du receveur. La réponse immunitaire consiste à défendre l'organisme des corps étrangers en les détruisant. Ce sont les cellules immunitaires et leur produit tels que les anticorps (molécule de défense immunitaire produit par les lymphocyte B) qui joueront le rôle principal dans cette réponse. Il existe plusieurs types de rejets : le rejet hyper aigu, le rejet aigu ou cellulaire et le rejet chronique [5][6].

**Le rejet hyper aigu** est observé de manière quasi immédiate une fois l'organe sain implanté et vascularisé. Il résulte d'une activité des anticorps . Le receveur possède déjà des anticorps dans sa circulation qui seront dirigé contre le greffon. On appelle ces anticorps, « les anticorps naturels xénogéniques ».

**Exemple du Porc** : Les tissus porcins possèdent une molécule de sucre à la surface de leurs cellules : le galactose-α-1,3-galactose [7]. Elle est présente sur l'endothélium (couche de cellules à l'intérieur du cœur et des vaisseaux) de tous les mammifères sauf chez les primates dont l'Homme. Les anticorps sont capables de reconnaitre les Galα1-3Gal comme étant des corps étrangers [8]. Ils vont donc se fixer massivement sur ces molécules étrangères et provoquer une cascade de réaction qui va boucher les vaisseaux entraînant la mort de l'organe. Cette fixation massive provoque l'activation du système du complément [9]. Ce système est constitué d'un ensemble d'enzymes

(protéines qui facilitent une réaction chimique), qui va activer un mécanisme de défense du corps contre des corps étrangers. On peut trouver des protéines du complément à la surface des cellules. L'activation de ce système entrainera la destruction des cellules étrangères et donc de l'organe greffé en général.

Le système du complément est cependant hautement régulé par des protéines tels que la DAF (Facteur accélérant le déclin). Celle-ci empêche le complément d'agir en provoquant la dissociation des enzymes. Les enzymes dissociées deviennent non-fonctionnels et par conséquent l'organe n'est pas détruit et le rejet est évité [9] [10].

**Le rejet aigu** est observé dans les jours, semaines suivant la greffe. Les cellules présentatrices d'antigènes (APC) et complexe majeur d'histocomptabilité (CMH) entre alors en jeu. Le CMH est présent à la surface des toutes les cellules et permet la reconnaissance de peptides résultant de la fragmentation d'un antigène (molécule capable de provoquer une réponse immunitaire si elle est étrangère à l'organisme du receveur). Lors d'une xénogreffe, le CMH animal est fortement incompatible au CMH humain. Les APCs du receveur vont reconnaitre l'antigène et le présenter à un autre type de cellule immune appelé lymphocytes T. Les lymphocytes T vont alors détruire les cellules du greffon.

**Le rejet chronique** se produit des années après la greffe. Il résulte aussi d'une activité cellulaire. Les APCs du donneur circulent dans son corps. Même si la diffusion d'antigène dans le corps humain est faible, les antigènes vont s'accumuler au cours du temps. Le fait que les APCs soient en mouvement augmente la probabilité de rencontre entre l'antigène étranger et l'APC du donneur. Si cela se produit, on observe alors une réaction immunitaire contre le greffon et donc, un rejet. [9][11][12]

*Comment éviter les rejets ?*

Le rejet est inévitable mais il peut être retardé en prenant un traitement immunosuppresseur ou par une plasmaphérèse. Cette dernière consiste à supprimer les anticorps xénoréactifs du plasma donneur [13]. Le traitement immunosuppresseur consiste à diminuer l'activité du système immunitaire afin de lutter contre la destruction du greffon. Un des problèmes qui se pose avec la prise d'immunosuppresseurs est l'affaiblissement immunitaire (= immunodépression), qui rend le patient vulnérable à d'autres maladies (cancer, maladie infectieuse, …) [14]. Toutefois, d'autres stratégies ont été mises en place pour retarder le rejet, notamment dans le cas des rejets hyper aigu lors des transplantations d'organes porcins. En effet, les chercheurs ont réussi à modifier génétiquement les tissus porcins en utilisant des techniques de génie génétique (= technique qui permet de modifier l'ADN) [15]. Cette technique consistait à remplacer le gène codant pour la molécule de sucre Galα1-3Gal à la surface des cellules porcines par des morceaux d'ADN inactif [16]. Le rejet hyper aigu n'a pas lieu sans la présence des molécules Galα1-3Gal [8]. Ces manipulations génétiques ont permis une plus grande tolérance des greffons. Cependant, ne nous réjouissons pas trop vite, d'autres problèmes se posent tels que des troubles de la coagulation, des syndromes inflammatoires et des rejets chroniques même si une plasmaphérèse ou un traitement d'immunosuppresseurs est pris [2].

***Zoonose : autre problématique des xénogreffes***

Une zoonose est **la transmission de maladies de l'animal à l'Homme**. Il s'agit d'une réalité qui ne peut être évitée mais qui peut être contrôlée, notamment en imposant des conditions d'élevage strictes et des dépistages d'infections connues chez les animaux et les receveurs [17].

Les chercheurs ont découvert un type de virus porcin, les Porcines Endogenous Retrovirus (PERVs), capable d'infecter les cellules humaines [18]. Les PERVs sont des rétrovirus classés en trois sous-classes : PERV-A, PERV-B et PERV-C. Le PERV-A et PERV-B peuvent infecter les cellules humaines in vitro mais ne provoquent pas forcément de dégâts chez l'Homme. Ceux-ci peuvent

Faculté de Médecine
B.Nisrine, K.Sephora, M.Yasmina,
N.Cécile, N. Diane, S. Zéna

constituer un risque lorsqu'ils s'infiltrent dans l'organisme humain. En effet, ces virus peuvent se recombiner avec les virus humains et créer ainsi un nouveau type de virus potentiellement dangereux pour l'Homme. En ce qui concerne le PERV-C, celui-ci ne se réplique pas sur les cellules humaines [19][20]. Les PERVs posent donc un problème lors de l'utilisation de tissus et d'organes porcins dans la xénotransplantation : ils ne peuvent pas être éliminés des cellules porcines et donc le risque de transmission à l'humain reste présent [21][15][22]. Cependant, une avancée récente concernant l'élimination de ces virus a été réalisée par un groupe de chercheurs. À ce jour, seulement 62 gènes du PERV ont été identifiés et ont pu être inactivés dans le génome porcin [23]. Il se peut qu'il y ait d'autres gènes encore non identifiés.

### *Xénogreffe pour le traitement du diabète de type 1*

Le pancréas est un organe qui participe à la digestion mais qui sécrète surtout une hormone importante appelée **l'insuline**. Celle-ci est sécrétée par les cellules bêta des îlots de Langerhans [Figure 1]. Cette hormone permet de diminuer le taux de glucose dans le sang (glycémie). Le sucre va être distribué par le sang aux différents organes du corps qui vont absorber ce sucre et l'utiliser comme énergie. L'insuline va jouer un rôle de régulateur qui va permettre de garder le taux de glucose dans le sang ni trop élevé, ni trop bas.

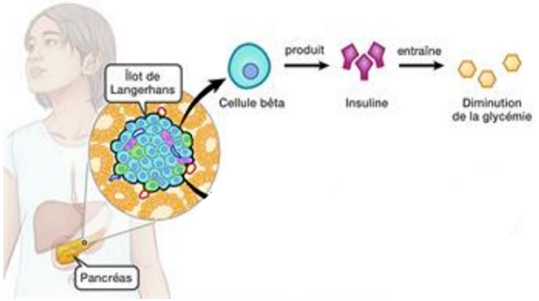


***Figure 1*** *Les îlots de Langerhans sont constitués de cellules bêta. Celles-ci produisent de l'insuline, entraînant la diminution de la glycémie.* *https://www.aboutkidshealth.ca/fr/Article?contentid=1717&language=French*

**Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune**, c'est-à-dire que le système immunitaire détruit ses propres cellules bêta. Une personne diabétique du type 1 n'a donc pas assez d'insuline. Pour substituer cette perte de cellules bêta dans le DT1, l'injection d'insuline est le traitement classique. Néanmoins, dans les cas les plus graves comme l'hypoglycémie sévère, une greffe des îlots pancréatiques d'une personne décédée est réalisée [16]. Cependant, il y a des limitations : les donneurs sont rares et parfois plusieurs donneurs sont nécessaires pour transplanter un patient. L'insuline porcine est très similaire à celle de l'Homme donc on pourrait soigner une personne diabétique en lui greffant des îlots pancréatiques de porc.

A ce jour, de nombreux essais cliniques de xénotransplantations d'îlots de Langerhans ont lieu afin de traiter le diabète de type 1 [24][17]. La **Xénotransplantation de cellules** consiste à introduire, à un endroit bien vascularisé dans le receveur, des cellules qui vont sécréter des hormones ou des facteurs qui compenseraient la déficience d'un organe.

### *L'encapsulation*

Pour éviter le rejet ou auto-immunité, les cellules transplantées doivent être protégées du système immunitaire humain. Pour se faire, les scientifiques injectent ces cellules entourées d'une enveloppe biologique artificielle (membranes) : il s'agit du **processus d'encapsulation**. Les îlots pancréatiques sont placés dans une capsule semi-perméable de +/- 850 µm. Cette capsule est formée par le dépôt de mini gouttelettes d'une solution contenant ces îlots dans un bain gélifiant [25]. Cette membrane doit être à la fois résistante pour protéger les îlots encapsulés du système immunitaire de l'hôte et perméable pour permettre des échanges (nutrition, insuline et oxygène) entre les cellules encapsulées et l'organisme récepteur [4,3]. Les îlots encapsulés ont besoin d'un apport en oxygène suffisant. Un apport insuffisant entraîne une perte de masse (mort des îlots) et de fonction des cellules.

Faculté de Médecine
B.Nisrine, K.Sephora, M.Yasmina,
N.Cécile, N. Diane, S. Zéna

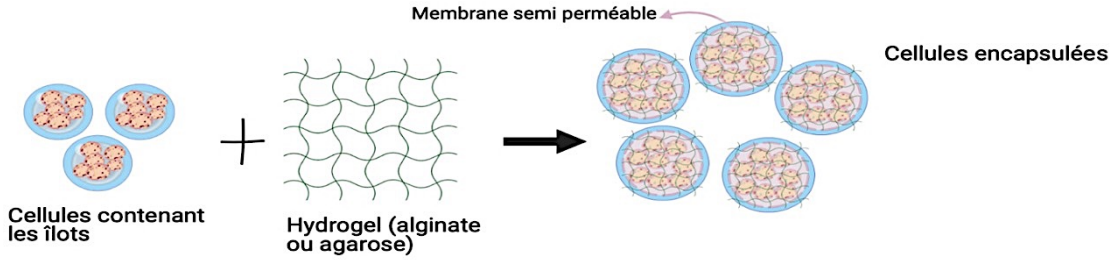


***Figure 2*** *Processus d'encapsulation.*

Bien que cette capsule empêche la reconnaissance directe du système immunitaire, elle n'empêche pas le relargage d'antigènes provenant des îlots encapsulés. Ainsi la vascularisation de ces îlots donnera accès au système immunitaire [12].

La formation de nouveaux vaisseaux sanguins est nécessaire pour assurer la nutrition et l'oxygénation du tissu greffé. Des chercheurs ont démontrer une possibilité de co-encapsulation avec différentes molécules telles que des molécules thérapeutiques, des facteurs de croissance et VEGF (facteur qui permet la formation de vaisseaux sanguins). Ces facteurs pouvaient augmenter la durabilité des îlots transplantés. Néanmoins, les VEGF ont une durée de vie définie donc cette action est très limitée dans le temps [26]. La taille des îlots influence la vascularisation. En effet, on observe une angiogenèse (croissance de nouveaux vaisseaux) beaucoup plus rapide dans les grands îlots que dans les petits îlots. Cela s'expliquerait par le fait que les plus grands îlots ont une meilleure capacité à produire des stimuli permettant la production de nouveaux vaisseaux [26].

D'autres études ont mis en évidence les obstacles à l'angiogenèse et donc à la vascularisation des îlots. Parmi ceux-ci figure la présence d'anticorps qui bloquent le processus de vascularisation des îlots transplantés ou encore l'action anti-proliférative des agents immunosuppresseurs. Ceux-ci peuvent entraîner une perte de micro-vaisseaux fonctionnels en raison de leur toxicité au niveau des cellules endothéliales.[2]

L'encapsulation d'îlots peut donc, théoriquement, empêcher le rejet de greffe, et ce, sans prise de médicaments, évitant ainsi les effets indésirables. Une expérience de transplantation d'îlots micro-encapsulés effectuée sur des singes rendus diabétiques, a confirmé la biocompatibilité entre singe et porc et la régulation partielle du diabète (on a pu observer une diminution de la glycémie) [27]. Certains îlots ont pu survivre plus de 6 mois après l'implantation et ont montré une légère augmentation du taux d'insuline suite à un test oral de tolérance au glucose (test qui consiste à provoquer une hyperglycémie en ingérant du glucose) [28]. Cette xénotransplantation d'îlots encapsulés a montré son efficacité sur des petits animaux, puis sur des singes et les études les plus récentes visent enfin l'Homme [17]. Actuellement de nombreux essais cliniques de transplantations d'îlots de porcs chez l'Homme sont réalisés un peu partout dans le monde (Chine, Russie, Nouvelle-Zélande, Argentine, …) [29]. Des résultats assez encourageants ont été observés : aucune preuve de transmission du PERV n'a été observée ; les besoins en insulines sont diminués ; l'arrêt de prise d'immunosuppresseur 1 an après la xénogreffe, [29][30]. Cependant, des complications ont été observées chez certains patients tels que des douleurs abdominales, des thromboses et infarctus du foie (lors d'injection intraportal d'îlots encapsulé), de la fièvre et une leucopénie (pas assez de globules blanc) 2 jours après la greffe, une pneumonie (causé par le traitement immunosuppressive) [29].

***Conclusion : Et demain ?***

Actuellement, les xénogreffes sont encore **des techniques expérimentales** mais les mécanismes des causes de rejet sont de mieux en mieux connus. Des progrès importants ont été réalisés afin de rendre possibles les différentes applications. Notamment, les modifications génétiques des animaux donneurs (génie génétique), les traitements d'immunosuppresseurs adaptés, la gestion du risque sanitaire (zoonose) et l'induction de la tolérance (acceptation psychologique, ...) [3][31]. Il est donc important de poursuivre les efforts dans la recherche scientifique concernant les xénogreffes afin de palier à cette pénurie d'organes et de sauver plus de vies.

Faculté de Médecine
B.Nisrine, K.Sephora, M.Yasmina,
N.Cécile, N. Diane, S. Zéna

## Bibliographie

1. https://www.eurotransplant.org/patients/belgique-francais/
2. DEHOUX J.-P., GIANELLO P. Xénotransplantation. Thèse de l'unité de Chirurgie expérimentale – Faculté de Médecine, Université catholique de Louvain 2003. Disponible en pdf sur http://www.facmv.ulg.ac.be/
3. Vandervaeren M. Les xénogreffes d'organes de porc chez l'homme...Une utopie ? Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Thèse, Université de Lille, 2014. Disponible en pdf sur https://pepite-depot.univ-lille2.fr/4. Dinnyes A, Schnur A, Muenthaisong S, Bartenstein P, Burcez C, Burton N, et al. Integration of nano- and biotechnology for beta-cell and islet transplantation in type-1 diabetes treatment. Cell Prolif 2020 ;53. https://doi.org/10.1111/cpr.12785..
5. Les différents rejets de greffes. Immunité des greffes 2015. https://greffondespoir.wordpress.com/rejet-de-greffes-2/ (accessed November 27, 2020).
6. N. Greeshma, A. Avinash, P. Venkatesh. « A Review of Xenotransplantation ». *International Journal of Research in Engineering, Science and Management*, vol. 3, nº 2, février 2020. https://www.ijresm.com/Vol.3_2020/Vol3_Iss2_February20/IJRESM_V3_I2_23.pdf
7. Vincent-Lungo A. Les intérêts potentiels du porc : de la pharmacologie à la thérapeutique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Thèse, Université de Lille, 2017. Disponible en pdf sur https://pepite-depot.univ-lille2.fr/7.
8. Pourcel, Christine & Charreau, Béatrice & Le Mauff, Br & Bouhours, JF & Anegon, Ignacio & Soulillou, JP. La xénogreffe chez l'homme : acquis et perspectives. Médecine/sciences. 2012 ; 13. 301. 10.4267/10608/366.
9. Jean Ripoche Marie-}osé Demares Nathalie Julen. *Les protéines régulatrices du système du complément*. 1989, https://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/3955/MS_1989_4_234.pdf?sequence=1.
10. DALMASSO, AGUSTIN P. *INHIBITION OF COMPLEMENT-MEDIATED ENDOTHELIAL CELL CYTOTOXICITY BY DECAY-ACCELERATING FACTOR*. 1991, https://journals.lww.com/transplantjournal/Abstract/1991/09000/INHIBITION_OF_COMPLEMENT_MEDIATED_ENDOTHELIAL_CELL.29.aspx
11. Delves, Peter J., et al. *Les fondements de l'immunologie*. De Boeck Supérieur, 2008.https://books.google.be/books?id=AlOf4-zwCr0C&pg=PA375&lpg=PA375&dq=anticorps+x%C3%A9nor%C3%A9actifs+contre+CMH&source=bl&ots=DnPJZZOWW5&sig=ACfU3U1TVuAwKQsNeXGwFoptm0KTOQ1e2g&hl=fr&sa=X&ved=2ahUKEwiug9CTm-fuAhUE4BoKHST1AggQ6AEwCHoECAYQAg#v=onepage&q=CMH&f=false
12. Robert Robitaille. *Transplantation d'îlots de Langerhans microencapsulés: biocompatibilité, survie et fonction*. Université de Montréal, Décembre 2002. https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/bitstream/handle/1866/14185/Robitaille_Robert_2002_these.pdf?sequence=1&fbclid=IwAR32acXFJCq22fAT024ANqYQ7Unb80tlQeppkek9iH5hYM1oEnicoWI2unI
13. Xu Y, Lorf T, Sablinski T, Gianello P, Bailin M, Monroy R, et al. Removal of anti-porcine natural antibodies from human and nonhuman primate plasma in vitro and in vivo by a Galalpha1-3Galbeta1-4betaGlc-X immunoaffinity column. Transplantation. 1998;65(2):172-9. DOI: 10.1097/00007890-199801270-00005
14. Kevin. [En ligne]. Immunodépression : définition, formes, causes et traitements [cité le 27 novembre 2020]. Disponible: https://www.pharmanity.com/blog/immunodepression-definition-formes-causes-traitements/6238
15. Pullen LC. Xenotransplantation: Time to Get Excited? Am J Transplant 2017; 17:2995–6. https://doi.org/10.1111/ajt.14553.
16. Bellin MD, Dunn TB. Transplant strategies for type 1 diabetes: whole pancreas, islet and porcine beta cell therapies. Diabetologia 2020; 63:2049–56. https://doi.org/10.1007/s00125-020-05184-7..
17. Sgroi A, Bühler LH, Morel P, Sykes M, Noel L. International human xenotransplantation inventory. Transplantation. 2010;90(6):597-603. DOI: 10.1097/TP.0b013e3181eb2e8c
18. Walters EM, Burlak C. Xenotransplantation literature update, May/June2020. Xenotransplantation 2020 ;27. https://doi.org/10.1111/xen.12638. .
19. Jestin A, Demange A, Blanchard Y. Les rétrovirus endogènes porcins (Perv) : inactivation des gènes viraux par CRISPR-Cas9 et perspectives en xénogreffes. Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine. Sept 2018 ;202(7) :1627-39.
20. Denner J, Schuurman H-J, Patience C. The International Xenotransplantation Association consensus statement on conditions for undertaking clinical trials of porcine islet products in type 1 diabetes--chapter 5: Strategies to prevent transmission of porcine endogenous retroviruses. Xenotransplantation. 2009;16(4):239-48. DOI: 10.1111/j.1399-3089.2009. 00544.x

21. Łopata K, Wojdas E, Nowak R, Łopata P, Mazurek U. Porcine Endogenous Retrovirus (PERV) – Molecular Structure and Replication Strategy in the Context of Retroviral Infection Risk of Human Cells. Front Microbiol. 2018;9. DOI: 10.3389/fmicb.2018.0073016.
22. Denner J. Elimination of porcine endogenous retroviruses from pig cells. Xenotransplantation. 2015;22(6):411-2. DOI: https://doi.org/10.1111/xen.12210
23. Jarchum I. Getting rid of PERVs. Nature Biotechnology. 2016;34(1):46-46. DOI: 10.1038/nbt.3448 https://doi.org/10.1111/xen.12210
24. Database – HumanXenotransplant.org. [En ligne]. [cité le 27 novembre 2020].
25. Muthyala S, Safley S, Gordan K, Barber G, Weber C, Sambanis A. The effect of hypoxia on free and encapsulated adult porcine islets-an in vitro study. Xenotransplantation 2017 ;24 : e12275. https://doi.org/10.1111/xen.12275..
26. Breuval A. La greffe d'îlots de Langerhans microencapsulés comme traitement du diabète de type 1. Thèse, Université de Lille, 2018. Disponible en pdf sur https://pepite-depot.univ-lille2.fr
27. Dufrane D. Macro- or microencapsulation of pig islets to cure type 1 diabetes. WJG 2012; 18:6885. https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i47.6885.
28. Elliott RB, Escobar L, Tan PLJ, Muzina M, Zwain S, Buchanan C. Live encapsulated porcine islets from a type 1 diabetic patient 9.5 yr after xenotransplantation. Xenotransplantation 2007; 14:157–61. https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2007.00384.x.
29. Wang W, Mo Z, Ye B, Hu P, Liu S, Yi S. A clinical trial of xenotransplantation of neonatal pig islets for diabetic patients. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2011;36(12):1134-40. DOI: 10.3969/j.issn.1672-7347.2011.12.002
30. Heneine W, Tibell A, Switzer WM, Sandstrom P, Rosales GV, Mathews A, et al. No evidence of infection with porcine endogenous retrovirus in recipients of porcine islet-cell xenografts. Lancet. 1998;352(9129):695-9. DOI: 10.1016/S0140-6736(98)07145-1
31. Dufrane D, Goebbels R-M, Saliez A, Guiot Y, Gianello P. Six-month survival of microencapsulated pig islets and alginate biocompatibility in primates: proof of concept. Transplantation 2006; 81:1345–53. 24. Dufrane D. Macro- or microencapsulation of pig islets to cure type 1 diabetes. WJG 2012 ;18 :6885. https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i47.6885