



La Xénotransplantation, bientôt une réalité clinique ?

Rev Med Suisse 2007 ; 3 : 1632-6

A. Sgroi
R. M. Baertschiger
P. Morel
L. H. Buhler

Drs Antonino Sgroi,
 Reto M. Baertschiger, Leo H. Buhler
 et Pr Philippe Morel
 Unité d'investigations chirurgicales
 HUG, 1211 Geneve 14

Xenotransplantation, soon a clinical reality ?

Organ transplantation has encountered great development during the 80^{ies}. However, the number of organ donations and transplantations performed stabilized during the 90^{ies}, with a concomitant increase of patients on the waiting list. Xenotransplantation, i.e. the use of animal organs for transplantation to humans, is one among various alternatives to human organ donation. Xenotransplantation offers several advantages, e.g. it would be possible to transplant all patients at an early stage of their disease. The main barriers to xenotransplantation are the strong immunological responses that human develop against animal antigens and zoonoses. To overcome these hurdles, genetically modified pigs have been engineered by cloning and could allow the initiation of new clinical trials in a near future.

Si la transplantation d'organes a connu un développement important dans les années 80, le nombre de donneurs d'organes et de transplantations effectuées s'est stabilisé dans les années 90. Parallèlement, le nombre de patients décédant en liste d'attente pour une greffe n'a fait que croître. Une des alternatives à l'utilisation d'organes humains, la xénotransplantation, l'utilisation d'organes animaux pour la transplantation chez l'homme, est une solution expérimentale offrant de nombreux avantages. En effet, il serait possible de greffer les patients candidats à une transplantation à un stade précoce de leur maladie. Les barrières s'opposant à une application clinique sont surtout immunologiques et infectieuses. Pour surmonter ces barrières, des porcs génétiquement modifiés pourraient dans un avenir proche permettre l'initiation de nouveaux essais cliniques.

INTRODUCTION

La transplantation d'organes est le seul traitement efficace pour sauver des patients souffrant d'une insuffisance terminale d'un organe vital. L'augmentation de l'incidence d'insuffisance d'organes et le manque en organes donneurs résultent

en un temps d'attente plus long mais également en une augmentation du nombre de décès sur liste d'attente. En effet, en Suisse, le nombre de donneurs d'organes décédés a significativement reculé durant les dix dernières années. Durant l'année 2006, seulement 444 patients ont pu bénéficier d'une greffe d'organe, alors que 1304 étaient inscrits sur une liste d'attente (figure 1). Ce déséquilibre persiste malgré les mesures adoptées pour augmenter le nombre d'organes disponibles tels que des programmes d'éducation pour inciter au don, des modifications des lois pour la transplantation d'organes, de l'utilisation d'organes donneurs non optimale, des développements de nouvelles techniques chirurgicales, comme par exemple la technique du *split liver* qui consiste à diviser un foie en deux parties pour greffer deux receveurs et, enfin, de l'utilisation des donneurs vivants. C'est pour cela qu'il est nécessaire de trouver une alternative aux organes humains. Parmi les différentes alternatives, la xénotransplantation, c'est-à-dire l'utilisation d'organes, de tissus ou cellules d'animaux pour la transplantation chez l'homme, est une solution expérimentale développée dans le but de réduire ce déséquilibre entre les organes donneurs à disposition et les besoins des patients. Grâce à la xénotransplantation, il serait possible de greffer tous les candidats à une transplantation, à un stade moins avancé de leur maladie et de manière élective.

Les types de procédures considérés comme de la xénotransplantation sont les suivants :

1. la *transplantation d'organes entiers* est une procédure dans laquelle un organe d'origine animale, tel qu'un rein ou un foie, est transplanté chez un homme ;
2. la *transplantation cellulaire ou tissulaire* est la transplantation de cellules animales sans aucune connexion vasculaire entre l'animal et les vaisseaux sanguins du receveur ;

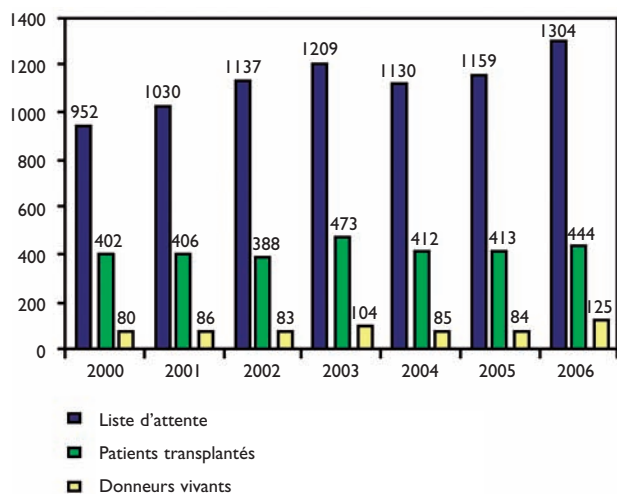


Figure 1. Activité de transplantation clinique en Suisse (2000-2006)

Graphique indiquant le nombre de patients en liste d'attente d'une greffe, le nombre total de transplantations effectuées, ainsi que le nombre de transplantations effectuées à partir d'un donneur vivant en Suisse durant les cinq dernières années.

3. *la perfusion extracorporelle* se produit lorsque le sang humain circule en dehors de son corps à travers soit d'un organe animal, soit à travers un dispositif bioartificiel contenant des cellules animales cultivées sur une matrice artificielle ;

4. *l'exposition à des matériaux dérivés d'animaux vivants* est une procédure dans laquelle des fluides, des cellules, des tissus ou des organes sont extraits du corps du patient, puis sont mis en contact avec des cellules, des tissus ou des organes d'animaux et sont ensuite injectés à nouveau chez le même patient.

XÉNOTRANSPLANTATION ET ESSAIS PRÉCLINIQUES

Etant donné que les primates sont relativement proches immunologiquement de l'homme, il pourrait être préférable de les utiliser comme donneurs pour la xénotransplantation plutôt que d'autres mammifères. Toutefois, en raison de la différence de taille, de la rareté de certaines espèces et du risque de transmission de maladies virales que véhiculent les singes, le choix de l'animal donneur pour la xénotransplantation s'est focalisé durant les dernières années sur le porc. En effet, cet animal présente une taille de ses organes semblables à l'homme et son élevage est facilité par une reproduction rapide et élevée. Toutefois, la présence du sucre Gal α 1,3 galactose (Gal) à la surface de toutes les cellules porcines, sucre contre lequel l'homme a développé des anticorps naturels, crée la première barrière pour la xénotransplantation.¹

Afin de prévenir le rejet hyperaigu de xéno greffes d'organes de porc sur des primates, plusieurs techniques sont possibles. Une première possibilité est d'enlever par plas-

maphérèse les anticorps naturels anti-Gal. Toutefois, la production est telle que les anticorps reviennent à leur taux normal en quelques jours. Une autre stratégie est de dépléter ou bloquer pharmacologiquement le système du complément. Ces méthodes toutefois ne préviennent pas les réponses immunes secondaires qui sont la production de nouveaux anticorps dirigés contre des protéines qui se trouvent à la surface des cellules porcines, anticorps non-Gal, ainsi que la réponse cellulaire qui ressemble à un rejet en cas d'allogreffe. Pour bloquer ces réponses secondaires, les médicaments disponibles actuellement pour le contrôle du rejet en allogreffe ne se sont montrés que partiellement efficaces.

Une autre méthode pour prévenir le rejet hyperaigu est d'induire un chimérisme hématopoïétique xénogénique chez le singe, afin d'induire une tolérance et pouvoir ainsi greffer des organes porcins dans un second temps.^{2,3} Cependant, ces approches ne se sont avérées que partiellement concluantes, avec des complications thrombotiques, infectieuses et un chimérisme partiel avec une survie des greffons que légèrement prolongée.

Etant donné que les rejets humoraux hyperaigus et aigus sont liés à l'activation du complément, les technologies de transgénèse ont permis de développer des porcs modifiés génétiquement et exprimant des protéines humaines de régulation du complément, dès le milieu des années 90.⁴ Les organes prélevés sur ces porcs transgéniques ont permis d'inhiber et de moduler l'activité du complément après xénotransplantation chez le singe. Ils ont également permis de prolonger la survie des greffons de plusieurs jours à plusieurs semaines. Les traitements immunosuppresseurs associés à l'utilisation de ces organes restaient cependant très lourds avec des effets secondaires et des complications délétères importants. Le problème du rejet hyperaigu, lié à la présence de Gal sur les cellules porcines et la présence d'anticorps naturels anti-Gal, n'était toujours pas résolu. Deux équipes aux Etats-Unis ont alors développé des porcs *knock-out* pour la Gal-transférase, c'est-à-dire des porcs ne possédant plus de Gal à la surface de leur cellules. Lors de xénotransplantations de cœur et de rein de ces porcs dans les singes, aucun rejet hyperaigu n'a été observé et la survie des greffons a été prolongée, avec une durée de deux à six mois pour le cœur (médiane de 78 jours) et une survie de 83 jours d'un singe en insuffisance rénale greffé avec un rein porcine, associé à du tissu thymique afin de faciliter l'induction de chimérisme.^{5,6} Ces prolongations sont importantes et permettraient de possibles applications cliniques qui ne sont actuellement pas encore réalisables en raison des risques infectieux liés aux divers virus endogènes présents chez le porc et du rejet humoral et cellulaire chronique. En effet, le rejet hyperaigu a été maîtrisé en abolissant l'expression de la Gal-transférase mais la réponse immune du receveur contre d'autres protéines, comme par exemple le complexe majeur d'histocompatibilité porcine (*Swine leukocyte antigen* – SLA) et contre d'autres antigènes à la surface des cellules porcines, active et endommage les cellules endothéliales du greffon et induit un rejet.

La xénotransplantation d'îlots pancréatiques porcins a également été très étudiée dans des modèles utilisant



des singes diabétiques pour une possible alternative à l'allotransplantation d'îlots chez l'humain. Les îlots de Langerhans porcins expriment moins de Gal que les autres organes et ne risquent un rejet hyperaigu que dans une moindre mesure. Une équipe d'Atlanta a greffé des îlots de porcs non modifiés à des singes diabétiques et a atteint une insulino-indépendance de plus de trois mois avec un traitement immunosuppresseur compatible avec une possible application clinique.⁷ Néanmoins, les îlots ont été rejetés après trois mois et, dans le futur, des traitements immunosuppresseurs plus spécifiques doivent être développés.

En résumé, en recherche préclinique, en utilisant des organes de porcs transgéniques, en évaluant des thérapies induisant un chimérisme et une possible tolérance immunologique, ainsi que des traitements immunosuppresseurs de plus en plus ciblés, la survie des organes (essentiellement le rein et le cœur) et des îlots de Langerhans a été prolongée avec des records allant jusqu'à six mois. Néanmoins, d'importants progrès dans les traitements immunosuppresseurs, la création de porcs transgéniques pour de multiples gènes humains régulant la réponse immune et le complément, ainsi qu'une évaluation des risques infectieux et de transmission de virus entre espèces seront nécessaires dans les prochaines années afin d'améliorer les résultats et de passer à des applications cliniques.

XÉNOTRANSPLANTATION ET ESSAIS CLINIQUES

Depuis les années 90, plusieurs essais cliniques de xénotransplantation ont été tentés chez l'homme.⁸

XÉNOTRANSPLANTATION D'ORGANES ENTIERES

Xénotransplantation de cœur

En 1990, un chirurgien polonais, le Dr Religa, a effectué un cas de transplantation de cœur porcine. Cette greffe avait été effectuée dans l'attente d'un organe compatible pour une allotransplantation. Le patient est décédé 24 heures post-transplantation à cause de la défaillance de la greffe dû à un rejet.⁹

Xénotransplantation hépatique

En 1992 et 1993, Thomas Starzl et son équipe ont effectué deux transplantations de foie de babouins.^{10,11} Les deux receveurs ne présentaient pas les critères de liste d'attente standards pour l'époque.

En ce qui concerne le premier cas, le patient est décédé 70 jours après transplantation à cause d'une hémorragie cérébrale causée par une infection à *aspergillus*, elle-même due à une forte immunosuppression. Comme attendu, plusieurs paramètres biochimiques tels que l'albumine et les facteurs de coagulations plasmatiques avaient un profil de babouin. Une régénération hépatique a néanmoins eu lieu car le foie donneur était petit par rapport au poids du patient.

Quant au deuxième patient, il est décédé d'une insuffisance hépatique, trois semaines après l'opération.

XÉNOTRANSPLANTATION CELLULAIRE OU TISSULAIRE

Xénotransplantation de cellules neuronales

En 2001, Savitz a transplanté des cellules fœtales neuronales porcines chez cinq patients avec des infarctus des ganglions basaux. Deux patients ont présenté une amélioration de la parole, du langage et de la motricité qui a persisté durant quatre ans. Chez un patient, le déficit moteur s'est aggravé transitoirement et un autre a développé une épilepsie.¹²

Xénotransplantation d'îlots de Langerhans

De tous les types de xénotransplantation, la transplantation d'îlots de Langerhans est probablement la plus proche d'une application clinique à large échelle.

En 1990, en Suède, Groth a greffé des îlots de Langerhans fœtales porcines à des patients diabétiques et immunosupprimés pour une greffe rénale préexistante (n = 10). Ces îlots ont été transplantés sous la capsule rénale ou par injection dans la veine porte dans le foie. Les patients n'ont pas reversé leur diabète, mais du C-peptide porcine a été mis en évidence dans l'urine chez les patients avec transplantation intraportale.¹³

En Nouvelle-Zélande, Elliot a transplanté des îlots de Langerhans porcines encapsulés dans la cavité abdominale de deux patients. En effet, l'encapsulation permet de protéger les îlots porcines du système immunitaire du receveur, car elle ne permet ni aux globules blancs ni aux anticorps d'entrer en contact avec les îlots, mais elle permet aux cellules d'effectuer tout autre type d'échange métabolique avec son environnement. Une diminution des besoins en insuline ainsi qu'un meilleur contrôle de l'hémoglobine glyquée ont pu être observés. Du C-peptide porcine a également été détecté dans les urines chez les deux patients pendant quatorze mois. Plusieurs années après la transplantation, des capsules, prélevées dans la cavité péritonéale par laparoscopie, contenaient encore des îlots porcines viables. Des expériences in vitro ont montré que ces îlots sécrétaient encore de l'insuline après stimulation par du glucose.^{14,15}

Plus récemment, au Mexique, le Dr Valdes-Gonzales et ses collègues ont rapporté la transplantation d'îlots porcines avec des cellules de Sertoli, placés dans une prothèse en téflon et greffés en sous-cutané. Douze adolescents non-immunosupprimés ont reçu ces deux types cellulaires. Onze ont reçu une deuxième greffe après six-neuf mois et quatre ont été transplantés à nouveau trois ans après. Chez six patients, une réduction significative des besoins en insuline a été documentée sur quatre ans dont deux sont devenus insulino-indépendants temporairement.¹⁶

En 2005, en Chine, le Dr Wang a présenté les résultats de ces travaux concernant la transplantation d'îlots porcines dans l'artère hépatique de vingt patients diabétiques. Différents régimes immunosuppresseurs ont été administrés aux receveurs. Tous les patients, ayant reçu des stéroïdes, ont montré une diminution de leur besoin en insuline pour une période d'un an et la présence de C-peptide porcine.¹⁷

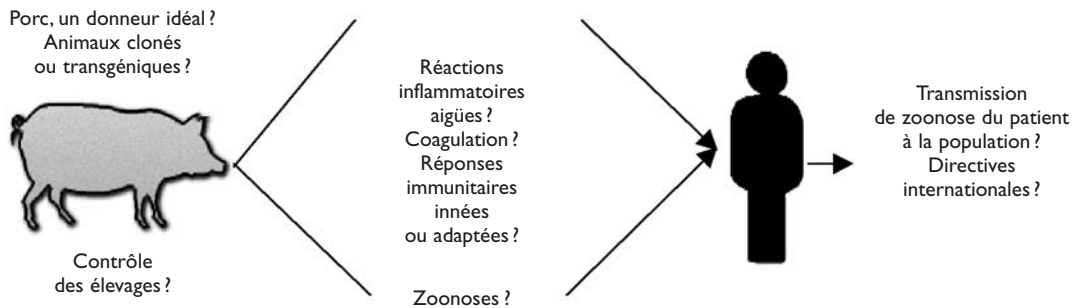


Figure 2. Problèmes actuels que pose la xénotransplantation du porc vers l'homme

Schéma indiquant les nombreuses questions et barrières actuelles pour l'application clinique de la xénotransplantation.

PERFUSION EXTRACORPORELLE

En 2004, le Dr Demetriou et ses collègues ont décrit une étude clinique prospective randomisée multicentrique du traitement de l'insuffisance hépatique par un dispositif bioartificiel composé d'hépatocytes porcins (*Hepat-assist*). Un total de 171 patients (85 patients contrôles et 86 patients traités) souffrant soit d'une hépatite fulminante soit d'une non fonction primaire de greffon ont été inclus dans l'étude. Une amélioration de la survie n'a pas été démontrée dans cette étude sauf dans le sous-groupe des patients souffrant d'une hépatite fulminante. Toutefois, une amélioration neurologique et une diminution de 18% de la concentration d'ammonium et de bilirubine total ont pu être obtenues grâce au traitement.¹⁸

LES BARRIÈRES À LA XÉNOTRANSPLANTATION

La xénotransplantation comporte également de multiples limitations incluant le rejet immunologique du tissu animal, l'incompatibilité moléculaire, métabolique entre l'organe donneur et l'homme et les risques de transmission de maladies infectieuses, connues mais peut-être aussi inconnues, de l'animal vers l'homme (figure 2). Les risques potentiels de la xénotransplantation pour la santé publique incluent :

1. la transmission d'organismes pathogènes pour l'homme mais non pathogènes pour l'animal donneur ;
2. la transmission d'organismes qui ne seraient normalement pas pathogènes chez l'homme, mais qui le deviendraient chez un patient immunosupprimé ou immunocompromis ;
3. la recombinaison ou réarrangement d'agents infectieux menant à de nouvelles souches infectieuses. Actuellement, le rétrovirus endogène porcine, ADN de virus porcine intégré dans le génome porcine, pose une inquiétude toute particulière à cause de sa capacité à infecter des cellules humaines *in vitro* et parce que, jusqu'à maintenant, il a été impossible de l'éliminer du génome porcine.¹⁹ A ce jour, des études rétrospectives de patients exposés à des cellules ou des tissus porcins n'ont pas mis en évidence d'infection par le rétrovirus endogène porcine, mais des études plus

approfondies seront encore nécessaires.²⁰

Les risques de zoonoses peuvent être minimisés par un règlement et une supervision stricts en ce qui concerne l'élevage des animaux, des contrôles appropriés des procédures chirurgicales et un dépistage des animaux et des receveurs pour les infections connues.

En mai 2004, l'Organisation mondiale de la santé (OMS), consciente des risques de zoonoses, a adopté la résolution WHA57.18 dans laquelle elle propose aux Etats membres de n'autoriser les xéno greffes que s'il existe un système de contrôle efficace par des autorités nationales de santé.²¹ L'OMS encourage également les Etats membres d'établir des normes de réglementation concernant l'élevage et l'utilisation d'animaux exempts d'organismes pathogènes, l'autorisation des interventions, l'approbation des essais cliniques du point de vue de l'éthique et des modalités de consentement et de l'information aux patients.

En outre, l'OMS demande aux Etats membres de dresser un inventaire des essais cliniques de xénotransplantation qui ont lieu sur leur territoire. Une collaboration entre l'OMS, les Hôpitaux Universitaires de Genève et l'Association internationale de xénotransplantation a permis de mettre sur pied un site Internet : www.humanxenotransplant.org²² avec pour but de collecter des informations concernant toute pratique de xénotransplantation chez l'homme et d'identifier les pays dans lesquels de telles pratiques ont lieu.

Nous espérons que ce site permettra d'établir l'envergure actuelle de la xénotransplantation dans le monde.

CONCLUSION

Des progrès scientifiques récents ont permis de faire fonctionner des xéno greffes de porcs chez des primates jusqu'à six mois. Des essais cliniques avec surveillance stricte des donneurs et receveurs pourraient voir le jour prochainement. Toutefois, des expériences sur l'homme se déroulent déjà dans plusieurs pays sans régulation optimale et créant un risque infectieux pour l'humanité. Pour que ces essais s'effectuent dans un cadre plus sûr, l'OMS a adopté une résolution qui propose aux Etats membres d'adopter des règles strictes pour les futurs essais de xénotransplantation. ■



Implications pratiques

- > Le nombre de dons d'organes de donneurs décédés a significativement diminué en Suisse durant les cinq dernières années, entraînant une augmentation du nombre de patients en liste d'attente de greffe, avec risque accru de décès, faute de n'avoir reçu un organe à temps
- > Des alternatives à l'utilisation d'organes humains pour la transplantation sont nécessaires, parmi celles-ci, la xéno-transplantation pourrait offrir une source illimitée d'organes
- > Les barrières immunologiques à la xéno-transplantation sont très vigoureuses, et le développement de porcs génétiquement modifiés et nés par clonage pourrait dans un avenir proche permettre l'initiation de nouveaux essais cliniques

Bibliographie

- 1 Cooper DKC, Good AH, Koren E, et al. Identification of α -galactosyl and other carbohydrates that are bound by human anti-pig antibodies: Relevance to discordant xenografting in man. *Transplant Immunol* 1993; 1:198-205.
- 2 * Buhler L, Basker M, Alwayn IP, et al. Coagulation and thrombotic disorders associated with pig organ and hematopoietic cell transplantation in nonhuman primates. *Transplantation* 2000;70:1323-31.
- 3 Buhler L, Awwad M, Treter S, et al. Pig hematopoietic cell chimerism in baboons conditioned with a non-myeloablative regimen and CD154 blockade. *Transplantation* 2002;73:12-22.
- 4 Schmoeckel M, Nollert G, Shahmohammadi M, et al. Prevention of hyperacute rejection by human decay accelerating factor in xenogeneic perfused working hearts. *Transplantation* 1996;62:729-34.
- 5 ** Kuwaki K, Tseng YL, Dor FJ, et al. Heart transplantation in baboons using alpha1,3-galactosyltransferase gene-knockout pigs as donors: Initial experience. *Nat Med* 2005;11:29-31.
- 6 ** Yamada K, Yawaza K, Shimizu A, et al. Marked prolongation of porcine renal xenograft survival in baboons through the use of alpha1,3-galactosyltransferase gene-knockout donors and the cotransplantation of vascularized thymic tissue. *Nat Med* 2005;11:32-4.
- 7 * Cardona K, Korbitt GS, Milas Z, et al. Long-term survival of neonatal porcine islets in nonhuman primates by targeting costimulation pathways. *Nat Med* 2006; 12:304-6.
- 8 * Mohiuddin MM. Clinical Xenotransplantation of Organs: Why Aren't We There Yet? *PLoS Med* 2007; 4:e75.
- 9 Czaplicki J, Blonska B, Religa Z. The lack of hyperacute xenogeneic heart transplant rejection in a human. *J heart Lung Transpl* 1992;11:393-7.
- 10 Starzl TE, Fung JJ, Tzakis A, et al. Baboon-to-human-liver transplantation. *Lancet* 1993;341:65-71.
- 11 Starzl TE, Fung JJ, Tzakis A. Human liver transplantation. *Xeno* 1993;1:4.
- 12 Savitz SI, Dinsmore J, Wu J, et al. Neurotransplantation of fetal porcine cells in patients with basal ganglia infarcts: A preliminary safety and feasibility study. *Cerebrovasc Dis* 2005;20:101-7.
- 13 Groth CG, Korsgren O, Tibell A, et al. Transplantation of porcine fetal pancreas to diabetic patients. *Lancet* 1994;344:1402-4.
- 14 Elliot RB, Escobar L, Garkavenko O, et al. No evidence of infection with porcine endogenous retrovirus in recipients of encapsulated porcine islet xenografts. *Cell Transplant* 2000;9:895-901.
- 15 Elliot RB, Escobar L, Tan PLJ, et al. Long-term survival of alginate encapsulated piglet islets in a patient with type I diabetes (Abstract OP-054). Presented at the 10th Congress of international pancreas and islet transplantation association in Geneva 2005.
- 16 Valdes-Gonzales RA, Dorantes LM, Garibay GN, et al. Xenotransplantation of porcine neonatal islet of Langerhans and Sertoli cells: A 4-year study. *Eur J Endocrinol* 2005;153:419-27.
- 17 Wang W, Zhaohui M, Bin Y, et al. Intra-hepatic artery transplantation of newborn porcine islets into 20 type I diabetic patients with steroids immunosuppression protocol (Abstract OP-056). Presented at the 10th Congress of international pancreas and islet transplantation association in Geneva 2005.
- 18 Demetriou AA, Brown RS Jr, Busutil RW, et al. Prospective, randomized, multicenter, controlled trial of a bioartificial liver in treating acute liver failure. *Ann Surg* 2004;239:660-7.
- 19 Patience C, Takeuchi Y, Weiss RA. Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs. *Nat Med* 1997;3:282-6.
- 20 Dinsmore JH, Manhart C, Raineri R, et al. No evidence for infection of human cells with porcine endogenous retrovirus (PERV) after exposure to porcine fetal neuronal cells. *Transplantation* 2000;70:1382-9.
- 21 * Sykes M, Sandrin M, Cozzi E, et al. World health organization resolution on xenotransplantation. *Xenotransplantation* 2004;11:224-5.
- 22 ** Inventory of human xenotransplantation practice website: www.humanxenotransplant.org

* à lire

** à lire absolument