Clonal hematopoiesis of indeterminate potential is associated with acute kidney injury

Caitlyn Vlasschaert, Cassianne Robinson-Cohen, Jianchun Chen, Elvis Akwo, Alyssa C Parker, Samuel A Silver, Pavan K Bhatraju, Hannah Poisner, Shirong Cao, Ming Jiang, Yinqiu Wang, Aolei Niu, Edward Siew, Joseph C Van Amburg, Holly J Kramer, Anna Kottgen, Nora Franceschini, Bruce M Psaty, Russell P Tracy, Alvaro Alonso, Dan E Arking, Josef Coresh, Christie M Ballantyne, Eric Boerwinkle, Morgan Grams, Ming-Zhi Zhang, Bryan Kestenbaum, Matthew B Lanktree, Michael J Rauh, Raymond C Harris Jr, Alexander G Bick

Publication : Nat Med 2024 Mar 7 doi: 10.1038/s41591-024-02854-6.

Mots clés : hématopoièse clonale de signification indéterminée, CHIP, insuffisance rénale aiguë, inflammation

INTRODUCTION

L'hématopoïèse clonale de potentiel indéterminé (CHIP) est un processus hématologique fréquent, caractérisé par l'expansion clonale des cellules souches hématopoïétiques après une mutation génétique somatique acquise. La CHIP est présente chez 3,4 % de la population générale, et augmente avec l'âge jusqu'à 10-20% après 65 ans. Ce phénomène a été associé à des réponses inflammatoires dérégulées dans les cellules de la lignée myéloide, notamment les monocytes/macrophages.

Alors que moins de 0,5 % des cas de CHIP par an évoluent vers une hémopathie caractérisée (myélodysplasie, syndrome myéloprolifératif ou leucémie aigue myéloide), la CHIP est associée à un risque de surmortalité estimé à 40 %, en grande partie à cause de maladies qui ne touchent pas le système hématopoïétique (maladies cardiovasculaires, atteintes pulmonaires, maladies hépatiques notamment). Sur le plan physiopathologique, il a été suggéré un rôle des variants génétiques acquis dans le phénotype pro-inflammatoire des macrophages, favorisant le développement de ces pathologies.

Plusieurs études épidémiologiques ont montré un lien potentiel entre CHIP et maladie rénale chronique (association entre CHIP et DFG estimé, ainsi que progression de la MRC). Les auteurs s'intéressent ici au lien entre CHIP et insuffisance rénale aigue (IRA). Ils vont tester l'hypothèse que la CHIP est un facteur de risque d'IRA, par l'analyse de larges banques de données épidémiologiques, et l'exploitation de modèles murins de CHIP.

MATERIEL ET METHODES PRINCIPAUX

Etude épidémiologique

Les variants génétiques acquis des différentes cohortes ont été décrits précédemment (cohortes UK biobank UKB, Atherosclerosis Risk in communities (ARIC) et Cardiovascular Health Study (CHS)) ou identifiés par next generation sequencing utilisant un panel dédié.

Pour les cohortes UKB, ARIC et CHS, l'IRA est identifiée lors d'une hospitalisation ou d'un décès en utilisant les codes CIM-10 dédiés dans les 30j post-IRA. Seul le premier épisode d'IRA est considéré. Dans l'étude ASSESS-AKI, la résolution de l'IRA est définie par une réduction de 25% ou 26.5mM de la créatinine sérique à 72h.

Pour les études de cohortes prospectives (UKB, ARIC et CHS), les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de R v.4.2.1. Les associations entre CHIP et IRA ont été évaluées à l'aide de régression des risques proportionnels de Cox, ajustée sur l'âge, le sexe, le DFGe initial, le statut tabagique initial, le diabète et l'hypertension, ainsi que l'origine ethnique. Le suivi a été censuré au décès, à l'insuffisance rénale terminale ou à la fin du suivi de l'étude.

Pour ASSESS-AKI, les résultats ont été analysés à l'aide de tests de chi2 et d'analyses de régression logistique ajustée en fonction de l'âge, du sexe, de la créatinine initiale, du stade de l'IRA, du tabagisme et de l'origine ethnique, des antécédents de diabète, d'hypertension et de maladie cardiovasculaire.

Modèles expérimentaux

Pour déterminer l'effet de la déficience hématopoïétique en *Tet2* dans les modèles murins d'IRA, des greffes de moelle osseuse ont été réalisées selon la méthode habituelle. Brièvement, les souris receveuses ont été irradiées de manière létale avec 9 Gy. Les cellules de la moelle osseuse ont été prélevées sur des fémurs et des tibias de donneurs syngéniques. Les souris receveuses ont reçu un total de 5×10^6 de cellules de moelle osseuse dans 0,2 ml de milieu par injection rétro-orbitaire. Les souris ont reçu soit 100 % de moelle osseuse WT, soit 80 % de moelle osseuse WT et 20 % de moelle osseuse de souris présentant une délétion *Tet2* spécifique des cellules souches hématopoïétiques (Vav1-iCre;Tet2 -/-).

Pour les études d'ischémie-reperfusion aiguë, les souris ont été anesthésiées et soumises à un clampage vasculaire unilatéral du rein pendant 32 min avec néphrectomie controlatérale simultanée. Pour les études d'ischémie-reperfusion chronique, le rein gauche a été soumis à 32 minutes d'ischémie et le rein droit n'a été retiré qu'après le 8e jour de l'opération. Pour l'UUO, les souris ont été anesthésiées et l'uretère gauche a été ligaturé.

RESULTATS

Analyse épidémiologique

CHIP et incidence de l'IRA

Dans la cohorte UKB de 428.793 participants, l'âge moyen est de 57 ans, et le DFG moyen de 97.8ml/mn/1,73m^2. Les gènes le plus souvent mutés sont *DNMT3A*, *TET2*, et *ASXL1* (ce qui est habituel). Sont notés 15736 épisodes d'IRA (3.1 épisodes par 1000 pers-année). La CHIP est associée à un risque accru de 34% (HR 1,34, 95% confidence interval (CI) = 1.29–1.40, P < 0.0001) de développer une IRA en analyse de Cox ajustée pour les différents facteurs confondants. L'association est encore plus élevée en restreignant les analyses aux cas d'IRA nécessitant la dialyse (HR 1,65, 95% CI = 1.24–2.20, P = 0.001). L'association est en particulier retrouvée pour les CHIP avec variants génétiques dans des gènes non-*DNMT3A* (telles que *TET2,* HR 1,21, 95% CI = 1.04–1.44 ; ou *JAK2* HR 2,73, 95% CI = 1.76–4.24). Le risque d'IRA est proportionnel à la fréquence allélique du variant (représentant la fréquence des cellules

circulantes portant le variant, exprimée en %age), avec un HR de 1,19 95% CI = 1.13–1.25 par augmentation de 10% de FAV.

Dans 2 autres cohortes prospectives de 10570 et 2790 individus (Atherosclerosis Risk in communities (ARIC) cohort et Cardiovascular Health Study (CHS)), suivis durant 9 et 7 ans en médiane, la CHIP est associée à une augmentation du risque d'IRA de 20% (HR 1,20, 95% CI = 1.03–1.39). En métanalyse globale incluant les données des 3 cohortes, le risque d'IRA associé à la CHIP est de 26% (HR 1,26, 95% CI = 1.19–1.34). Si le risque absolu d'IRA est plus élevé chez les patients avec MRC, l'effet lié à la CHIP est similaire dans les populations avec et sans CKD.

Enfin, des analyses de randomisation mendélienne (MR) à deux échantillons suggèrent également un rôle causal de la CHIP dans le développement d'IRA.

CHIP et récupération post-IRA

Les auteurs s'intéressent ensuite à la récupération après IRA, dans la cohorte ASSESS-AKI, incluant 769 individus avec une IRA per hospitalisation et suivis durant 5 ans. Parmi 321 individus avec analyse ADN, 74 (23%) ont une CHIP. Dans cette cohorte, les CHIP non-*DNMT3A* et les CHIP de FAV importante (>10%) sont associées à un risque >2 fois plus élevé d'IRA non-résolutive. De plus, les CHIP > 10% sont associées au risque d'insuffisance rénale termine ou à la perte de 50% du DFG à 5 ans (HR = 2.9, 95% CI = 1.1–8.0). Enfin, ces résultats sont reproduits dans une cohorte de 454 individus avec IRA de la bioVU biobank.

Modèles expérimentaux

Pour analyser le lien de causalité entre CHIP et IRA, les auteurs développent un modèle murin de transplantation de cellules souches hématopoiétiques mutées pour *Tet2 (*souris transplantées avec 80% de cellules *Tet2*$^{+/+}$ et 20% de cellules *Tet2* $^{-/-}$, notées *Tet2-/-* , afin de modéliser l'acquisition de variants somatiques chez l'homme).

Après ischémie reperfusion, les souris *Tet2-/-* présentent une IRA plus sévère, et de moins bonne récupération dans le temps (à J2 et J7) que les souris *Tet2+/+*. Une ischémie plus prolongée est même associée à une mortalité accrue chez les souris *Tet2-/-* comparées aux souris *Tet2+/+*.

De même, les lésions histologiques et l'infiltration macrophagique sont plus sévères chez les souris *Tet2-/-*, et elles présentent à J8 une expression rénale accrue (ARNm et protéine) de NGAL et KIM1 (marqueurs d'atteinte tubulaire). De même, l'expression ARNm intrarénale de cytokines pro-inflamatoires (*Il6, Tnf, Il1b*) et de chémokines (*Ccl2, Ccl3*) est également accrue. Les macrophages isolés des reins ont également une expression ARNm accrue de ces cytokines ((*Il6, Tnf, Il1b*). L'analyse en single-cell RNA seq montre une induction accrue des voies de signalisation pro-inflammatoires dans les macrophages des souris *Tet2-/-*.

Les auteurs s'intéressent ensuite à l'évolution à long terme post-ischémie. A J28, les souris *Tet2-/-* présentent plus de marqueurs d'atteinte rénale (ARNm et protéine NGAL), d'inflammation intrarénale (cytokines pro-inflammatoires), d'infiltration macrophagique, et de fibrose interstitielle.

Les auteurs développent ensuite le modèle d'obstruction urétéral unilatérale (UUO, modèle pro-fibrosant) chez les animaux *Tet2-/-*, pour montrer là encore une augmentation intrarénale des cytokines pro-inflammatoires, de l'infiltration macrophagique et neutrophilique, et de la fibrose interstitielle.

Enfin, les auteurs développent ces modèles (ischémie reperfusion et UUO) chez des animaux hétérozygotes pour une mutation gain de fonction de *jak2,* et montrent des résultats consistants avec ceux obtenus chez les animaux *Tet2-/-* (IRA plus sévère, plus d'infiltration macrophagique, plus d'inflammation rénale, persistante de façon plus prolongée ; fibrose interstitielle et inflammation rénale plus sévère à J28; fibrose interstitielle et inflammation rénale plus sévère après UUO).

POINTS FORTS

Première étude à montrer un lien épidémiologique entre CHIP et IRA

Première étude à montrer un lien entre CHIP et récupération après IRA

Qualité exceptionnelle des données épidémiologiques

Causalité soutenue par les modèles expérimentaux

Différents modèles de variants myéloïdes acquis avec des résultats similaires.

POINTS FAIBLES

Absence de proposition thérapeutique (inhibition de voies pro-inflammatoires telles que IL1beta ou IL6 ?) dans les modèles expérimentaux proposés

Le modèle UUO n'est pas un modèle d'IRA.

CONCLUSION

La CHIP apparaît comme un nouveau facteur prédisposant à l'IRA, avec un lien de causalité démontré chez l'animal, en favorisant l'inflammation intra-rénale. Cette étude ouvre des perspectives diagnostiques et thérapeutiques potentiellement majeures.

Par Khalil El Karoui pour la Néphrologie clinique