

A Simple Molecular Tool for the Assessment of Kidney Transplant Biopsies

Tristan de Nattes^{1,2,3}, Jack Beadle³, Frederic Toulza³, Edvin Candon¹, Philippe Ruminy⁴, Arnaud François⁵, Dominique Bertrand¹, Dominique Guerrot¹, Fanny Drieux^{4,5}, Candice Roufousse³, Sophie Candon².

Publication

Clinical Journal of the American Society of Nephrology CJASN 18: 499–509, 2023. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.000000000000100>
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36723289/>

Mots-clés

Biopsie – transplantation – rejet – greffon rénal – diagnostic moléculaire

Introduction

Le rejet reste une des premières causes de perte de greffon rénal. Pour le diagnostiquer, une biopsie du greffon est nécessaire. Néanmoins, cet examen souffre de nombreuses limites : biais d'échantillonnage, hétérogénéité de présentation d'une même pathologie, variations inter-observateurs. Dans ce contexte, des outils moléculaires basés sur l'analyse de l'expression génique tissulaire se sont développés, principalement les puces à ADN microarray (Affymetrix) et les techniques de quantification d'ARN messagers (Nanostring). Ces outils ont permis d'identifier des gènes d'intérêt pour le diagnostic de rejet en transplantation rénale, menant à l'intégration de ces tests moléculaires dans les recommandations de Banff. En effet, pour le diagnostic de rejet humoral, l'expression génique peut désormais se substituer au 2^{ème} (preuve d'une interaction avec l'endothélium vasculaire) ou au 3^{ème} critère (arguments en faveur d'un anticorps : détection de DSA ou dépôts de C4d) du Banff. Malgré l'intérêt démontré de ces outils, leur implémentation en routine est encore limitée, avec moins de 10% des centres de transplantation ayant l'opportunité de les utiliser. Ceci peut être expliqué par plusieurs facteurs, comme leur coût (plus de 250€ par échantillon pour le B-HOT panel du Nanostring), l'investissement matériel nécessaire, ou la quantité de données générées qui requiert une analyse d'expert (770 gènes simultanés avec le B-HOT panel).

Le but de cette étude était de développer et valider un outil de diagnostic moléculaire pouvant être facilement utilisable en pratique clinique : la RT-MLPA (*reverse transcriptase multiplex ligation-dependent probe amplification*). Cette technique, utilisable sur des biopsies fixées incluses en paraffine, nécessite un séquenceur capillaire, équipement biomédical répandu, et permet d'évaluer simultanément un panel d'une vingtaine de gènes de manière rapide (moins de 24h) et peu coûteuse (15 à 20€ par échantillon). Un panel de gènes a été sélectionné et validé, et un site open-access a été développé pour l'analyse des résultats.

Méthode

Une cohorte bicentrique (Rouen, Londres) de 220 biopsies a été utilisée, regroupant des cas de rejets humoraux (ABMR), cellulaires (TCMR) et des biopsies sans rejet (NR). Les biopsies sans rejet étaient des biopsies « pour cause » présentant des lésions histologiques variées. A partir des données de littérature et des gènes identifiés par les recommandations de Banff, des gènes d'intérêt ont été sélectionnés. La moitié des biopsies a aussi été évaluée à l'aide du B-HOT panel du Nanostring.

Résultats

A partir des blocs de paraffine, un signal moléculaire a pu être obtenu dans 91% des échantillons. Un panel de 17 gènes discriminants pour les diagnostics ABMR, TCMR et NR, et représentatifs de la physiopathologie du rejet de greffe a été identifié. Ce panel regroupe des transcrits de cellules endothéliales, de cellules présentatrices d'antigènes et des transcrits lymphocytaires T, NK et B. L'évaluation de ce panel en RT-MLPA permet d'obtenir un profil moléculaire pour chaque biopsie (figure 1).

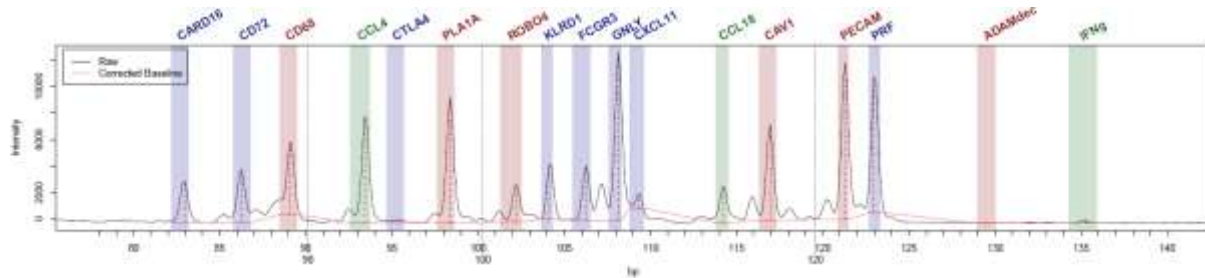


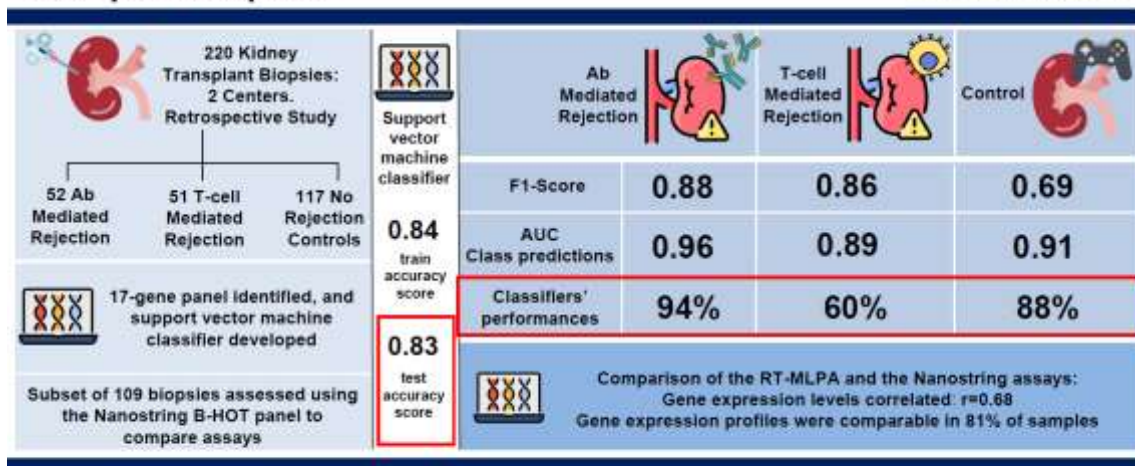
Figure 1: exemple de profil moléculaire correspondant à un rejet humoral.

Dans un second temps, un *support machine classifier* basé sur les données moléculaires et la présence ou non d'un DSA a été construit. Ce dernier permettait de classer correctement les biopsies dans 83% des cas. Les performances du classifieur étaient meilleures pour le diagnostic d'ABMR, avec une sensibilité de 94% et une spécificité de 94%. Pour les biopsies sans rejet, la sensibilité était de 89% et la spécificité de 81%. Pour le diagnostic de TCMR, la sensibilité était de 60% et la spécificité était de 96%. En exprimant les résultats à l'aide de courbes ROC, les AUC pour les diagnostics d'ABMR, TCMR et NR étaient respectivement de 0.96, 0.89 et 0.91.

Ensuite, les résultats obtenus par la RT-MLPA ont été comparés à ceux obtenus à l'aide du Nanostring. Les valeurs d'expression géniques issues de l'une ou l'autre de ces techniques étaient corrélées, $r = 0.68$, $p < 0.01$, et les profils moléculaires obtenus étaient comparables dans 81% des cas.

Simple Molecular Tool for the Assessment of Kidney Transplant Biopsies

CJASN
Official Journal of the American Society of Nephrology



Conclusions: The 17-gene panel RT-MLPA assay, developed here for formalin-fixed paraffin-embedded kidney transplant biopsies, classifies kidney transplant rejection with an overall accurate prediction ratio of 0.83.

Tristan de Nattes, Jack Beadie, Frederic Toulza, et al. *A Simple Molecular Tool for the Assessment of Kidney Transplant Biopsies*. CJASN. Visual Abstract by Nayan Arora, MD

Conclusion

Cette étude a permis de développer un outil de diagnostic moléculaire utilisable sur tissu paraffiné et présentant les caractéristiques favorables à son déploiement en pratique clinique (prix, rapidité, et simplicité). Ce test permet de classer correctement les biopsies de greffon rénal dans 83% des cas.

Les points forts de l'étude

- Développement et validation d'un outil pouvant être utilisé en pratique clinique, avec un site open-access permettant l'interprétation des données,
- Utilisation de biopsies contrôles représentatives de la pratique clinique,
- Comparaison avec le gold standard de diagnostic moléculaire actuel (B-HOT panel du Nanostring).

Les points faibles de l'étude

- Pas de données sur l'impact du diagnostic moléculaire sur la prise en charge des patients : ces outils moléculaires permettront-ils de guider la prise en charge et d'améliorer la survie du greffon ?
- Bien que l'étude soit multicentrique, les effectifs pourraient être augmentés.
- Ces résultats bénéficieraient d'une validation multicentrique de grande envergure.

Dr Tristan de Nattes premier auteur de la publication pour le CJN