

**INTÉRÊTS DIAGNOSTIQUES ET THÉRAPEUTIQUE  
DES ANTICORPS MONOCLONAUX  
EN NÉPHROLOGIE**

P. MAHIEU, J. C. DAVIN, M. MALAISE

# INTÉRÊTS DIAGNOSTIQUES ET THÉRAPEUTIQUE DES ANTICORPS MONOCLONAUX EN NÉPHROLOGIE

P. MAHIEU<sup>(1)</sup>, J. C. DAVIN<sup>(2)</sup>, M. MALAISE<sup>(3)</sup>

## Résumé

Les anticorps monoclonaux d'origine murine dirigés contre des antigènes localisés, de manière prépondérante, sur certaines cellules du tractus urinaire ou du néphron ont facilité le développement de nouveaux dosages immuno-enzymatiques applicables à des échantillons d'urine réduits (100 µl) et permettant de préciser, en cas d'insuffisance rénale aiguë : 1) le niveau de la lésion anatomique; 2) sa gravité; 3) sa réponse au traitement. Ces tests sont également très prometteurs pour définir le caractère bénin ou malin de certaines lésions parenchymateuses ou des voies excrétrices.

Les anticorps monoclonaux reconnaissant les lymphocytes qui infiltrent le parenchyme rénal après transplantation ont augmenté la précision du diagnostic et du pronostic émis lors d'un rejet. Ils sont également très efficaces pour le juguler ou pour apprécier les doses des drogues immunosuppressives conventionnelles à administrer dans ce cas.

## Introduction. Les anticorps polyclonaux

Le système immunitaire est notre principal moyen de défense contre les molécules étrangères qui ont pénétré dans l'organisme. De telles substances capables de déclencher une réponse immunologique sont appelées antigènes. Chaque molécule d'antigène possède une structure tridimensionnelle qui lui est propre et qui contient un grand nombre de déterminants ou épitopes. Lorsqu'une réponse immunologique se déclenche, les lymphocytes B prolifèrent et se différencient pour former finalement les plasmocytes, producteurs d'anticorps. Chaque clone de lymphocytes B — et dès lors chaque plasmocyte — assure la production spécifique d'un anticorps et d'un seul dirigé électivement contre un épitope. Ceci implique que, sur chaque molécule d'anticorps provenant d'un clone, il existe une région variable où la séquence en acides aminés et la structure spatiale représentent l'image en miroir de l'épitope correspondant. Comme l'antigène déclenchant la réponse immunologique contient, en général, un grand nombre d'épitopes, il induit la prolifération d'un grand nombre de clones de lymphocytes B. Il en résultera des anticorps issus de centaines, voire de milliers de clones différents. Ce sont les anticorps polyclonaux. En raison même de leur caractère polyvalent, bon nombre de produits de ces clones sont probablement dirigés contre des antigènes non souhaités, comme des impuretés ou des molécules possédant une structure apparentée à celle de l'individu lui-même. Un autre ennui de l'antisérum polyclonal est que la concentration en anticorps spécifiques, leur titre et leur affinité pour l'antigène, fluctuent au cours du temps. Les anticorps monoclonaux n'ont pas ces inconvénients.

## Les anticorps monoclonaux

Il est impossible, à l'heure actuelle, de cultiver à long terme les lymphocytes B, producteurs d'anticorps. Par contre, il est relativement aisé de cultiver des cellules B malignes, mieux connues sous le nom de myélome ou plasmocytome. A l'encontre des lymphocytes B normaux, ces cellules se reproduisent indéfiniment. Elles sont, de surcroît, clonogènes : en d'autres termes, une seule cellule est capable de proliférer et de former un clone *in vitro* et *in vivo*. Pour obtenir des anticorps monoclonaux, il restait à lui conférer la propriété de produire un anticorps dirigé contre un épitope et un seul. En 1975, Kohler et Milstein (14) réalisèrent la fusion d'une cellule de myélome avec un lymphocyte B normal, ce qui leur valut le prix Nobel de médecine en 1984. La cellule hybride (hybridome), qui est le produit de cette fusion, a donc « hérité » du pouvoir de prolifération de la cellule myéломateuse maligne d'une part, et de la capacité de synthétiser des anticorps monospécifiques, d'autre

(<sup>1</sup>) Agrégé de Faculté, Université de Liège, Département de Médecine interne (Pr. H. Van Cauwenberge), Service de Néphrologie.

(<sup>2</sup>) Spécialiste-adjoint, Université de Liège, Service de Pédiatrie (Pr. F. Geubelle), Secteur de Néphrologie.

(<sup>3</sup>) Assistant, Université de Liège, Service de Rhumatologie et Département de Médecine physique et Réhabilitation (Pr. P. Franchimont).

part. C'est en isolant un clone à partir de ces hybridomes que l'on obtient un anticorps monoclonal. La production d'anticorps monoclonaux se déroule en plusieurs phases : l'immunisation de la souris, la fusion de ses cellules spléniques avec les cellules myélomateuses murines, la sélection des anticorps et le clonage des hybridomes souhaités. Nous ne reviendrons pas sur ces techniques qui sont l'apanage de spécialistes, et qui sont bien décrites, pour ceux qui s'y intéressent particulièrement, par Galfre et Milstein (11). Il faut surtout retenir que toutes les molécules d'anticorps ainsi sélectionnées ont une structure peptidique et une spécificité identiques, qu'elles ne reconnaissent donc qu'un seul épitope et qu'elles peuvent être produites en quantité illimitée. On conçoit d'emblée que ce procédé de fusion a ouvert des perspectives nouvelles pour une meilleure compréhension des lois qui régissent le système immunitaire, ainsi que pour le développement de nouvelles méthodes thérapeutique et diagnostique. C'est le cas en néphrologie, comme dans d'autres disciplines.

### Intérêts diagnostiques des anticorps monoclonaux en néphrologie

La localisation du site anatomique principalement responsable des insuffisances rénales aiguës d'origine parenchymateuse repose, à l'heure actuelle encore, sur l'analyse histologique des prélèvements biopsiques. Malheureusement, la biopsie rénale n'est pas dénuée de risques, même lorsqu'elle est réalisée sous contrôle ultrasonographique (9). En outre, il n'est pas toujours évident de la répéter pour suivre l'évolution des lésions, soit spontanée, soit sous l'influence de différents traitements. Durant ces dix dernières années, plusieurs tests non invasifs ont été proposés : a) pour localiser la lésion le long du néphron; b) pour apprécier sa sévérité et son évolutivité; c) pour suivre l'efficacité éventuelle de la thérapeutique instaurée. Les plus fréquemment utilisés sont le dosage de la bêta-2-microglobuline dans l'urine (et le sérum), et la mesure des taux d'enzymes libérées dans l'urine à la suite de l'atteinte rénale, telles que la L-alanine aminopeptidase et la N-acétyl-bêta-D-glucosaminidase (NAG) (17, 19). La bêta-2-microglobuline est très instable lorsque le pH urinaire est inférieur à 6 (22). Les dosages enzymatiques urinaires sont influencés par la présence d'inhibiteurs ou par le pH (12, 21, 22). En outre, ils sont peu spécifiques en ce qui concerne à la fois la cause et le site de la lésion rénale. Par exemple, bien que les NAG proviennent principalement des cellules du tube contourné proximal, des taux urinaires élevés ont été trouvés non seulement chez les patients atteints de néphropathies tubulo-interstitielles aiguës, mais aussi dans différentes néphropathies glomérulaires pures, dans la néphroangiosclérose et dans les lésions rénales du diabète (5, 8, 15, 16, 21).

Récemment, des anticorps monoclonaux ont été préparés par fusion de cellules myélomateuses de souris avec des cellules spléniques de souris syngéniques immunisées avec des cellules rénales humaines normales, en culture primaire (6). Les structures reconnues par quelques-uns des anticorps monoclonaux obtenus sont résumées dans le tableau I (19). Deux d'entre eux (uro-4 et uro-4a) ont été récemment commercialisés (Cambridge Research Lab., Cambridge, Mass., USA). Ils reconnaissent une glycoprotéine de poids moléculaire élevé ( $\approx 120,000$ ), localisée dans la bordure en brosse des cellules du tube contourné proximal. Cet antigène (appelé gp 120) est en fait la protéine liant l'adénosine-déaminase (1). Les résultats du dosage du gp 120 par Elisa dans les urines normales et pathologiques sont repris dans le tableau II. Ils confirment ceux obtenus par Tolkoff-Rubin (22), à savoir que les taux urinaires de gp 120 sont beaucoup plus élevés dans les lésions tubulaires que glomérulaires. En outre, le même auteur a montré qu'il existait une relation entre la sévérité ou l'étendue des lésions tubulaires et les concentrations de gp 120 dans l'urine (22). Enfin, la mesure séquentielle des taux urinaires de cet antigène permet de suivre l'évolution des lésions tubulaires, soit spontanée, soit sous traitement. Ainsi, par exemple, en cas d'atteinte tubulaire toxique secondaire à un surdosage en cyclosporine, les concentrations urinaires de gp 120 diminuent parallèlement à la réduction des doses de cyclosporine administrées au patient, pour redevenir normales plusieurs jours avant les taux sériques de la créatinine.

Différents anticorps monoclonaux ont également été préparés à partir de cellules carcino-mateuses rénales ou vésicales (10, 23). Il est apparu que ces réactifs sont très utiles pour étudier l'expression phénotypique de différents antigènes à la surface des cellules rénales

TABLEAU I. Distribution de différents anticorps monoclonaux le long du néphron.

Dénomination du monoclonal	Glomérule	Tube proximal	Anse de Henle	Tube distal	Tube collecteur	Epithélium urinaire
Uro-1	□					□
Uro-2	□	□				
Uro-3		□				
Uro-4 <sup>(1)</sup>		□	□	□	□	
Uro-4a <sup>(1)</sup>		□	□	□	□	
Uro-5			□	□	□	□
Uro-8			□	□		
Uro-10		□				

(<sup>1</sup>) Ces deux anticorps sont déjà commercialisés (Cambridge Research Lab., Cambridge, Mass. USA). Ils reconnaissent l'antigène gp 120, correspondant à la protéine des cellules du tube contourné proximal liant l'adénosine-déaminase (1).

TABLEAU II. Résultats de la recherche de l'antigène gp 120 par Elisa dans l'urine de sujets normaux et de patients atteints de diverses néphropathies.

Pathologie	Nombre	Elisa (unités arbitraires/100 µl d'urine)
Néphropathies glomérulaires	14	≤ 0,6
Insuffisance fonctionnelle prérénale	7	≤ 0,6
Nécrose tubulaire aiguë	12	> 1
Pyélonéphrite	4	> 1
Cystite bactérienne	11	< 0,2
Sujets normaux	25	< 0,2

carcinomateuses (23). Ces cellules étant, en général, dérivées des cellules épithéliales du tube contourné proximal, Klotz et coll. (13) ont mesuré par ELISA les taux sériques de l'antigène gp 120 chez des patients atteints de carcinome rénal. Ils ont constaté que ces taux sont très élevés chez la plupart des patients, et qu'ils diminuent dans la période postopératoire immédiate. Les anticorps monoclonaux uro-4 et uro-4a (tableau I), marqués au radio-iode, ont également permis le repérage immunoscintigraphique de cellules carcinomateuses dans le rein (2). Des constatations similaires ont été faites (10) avec des anticorps monoclonaux dirigés contre les cellules cancéreuses vésicales. En effet, certains anticorps ne réagissant pas avec les cellules normales reconnaissent, par contre, des antigènes portés par les cellules tumorales particulièrement invasives (10).

#### Intérêts diagnostique et thérapeutique des anticorps monoclonaux après transplantation rénale

De nombreux anticorps monoclonaux se lient spécifiquement aux cellules lymphocytaires impliquées dans les réactions de rejet survenant après transplantation rénale. Les mieux caractérisés, et les plus fréquemment utilisés, sont les anticorps OKT3, OKT4 et OKT8 (Ortho Pharm., Raritan, New Jersey, USA) (pour une revue, cf. réf. 18). Dans le sang humain normal, les anticorps monoclonaux OKT3 réagissent avec tous les lymphocytes T matures, tandis que les anticorps OKT4 et OKT8 permettent de scinder les cellules T matures en deux sous-populations qui sont fonctionnellement différentes et qui ne se chevauchent pas. Les anticorps OKT4 réagissent en effet avec les cellules T « helper », tandis que les OKT8 reconnaissent uniquement les cellules T « suppressives » (18). L'utilisation de ces anticorps monoclonaux a certainement permis une meilleure compréhension des mécanismes respon-

sables des réactions de rejet. En outre, ils ont un intérêt pratique évident, pour les raisons suivantes :

a) l'administration par voie intraveineuse des anticorps monoclonaux OKT3 contrôle très bien les réactions de rejet cellulaire (4, 7);

b) la surveillance du nombre de cellules OKT3 positives dans le sang circulant est indispensable pour adapter de manière adéquate les doses de drogues immunosuppressives durant la période suivant la transplantation; en effet, si ce nombre est inférieur à 400/mm<sup>3</sup>, l'incidence des rejets est inférieure à 2 % alors qu'elle atteint 10 % au moins lorsqu'il est supérieur à 400/mm<sup>3</sup> (3);

c) bien que l'utilité de la mesure des rapports OKT4/OKT8 reste controversée (3), il semble que les épisodes d'insuffisance rénale associés à des rapports normaux ( $\approx 2$ ) ou élevés sont surtout la conséquence d'un rejet cellulaire aigu, qui répond bien au traitement (3); par contre, les épisodes d'insuffisance rénale associés à des rapports OKT4/OKT8  $\leq 1$  sont liés à des lésions vasculaires et glomérulaires répondant très mal au traitement immunosuppressif (3, 20);

d) en outre, le risque d'infection par des virus du groupe de l'herpès augmente significativement lorsque ce rapport est inférieur à 1; les doses des drogues immunosuppressives ne doivent donc pas être augmentées — mais plutôt diminuées — dans ces conditions (20);

e) la présence de cellules OKT3 positives dans le greffon confirme le diagnostic de rejet cellulaire (3).

## Conclusions

Les anticorps monoclonaux d'origine murine, dirigés contre des antigènes portés par des cellules épithéliales du tractus urinaire et/ou du néphron, représentent un outil de choix pour le développement de nouveaux tests diagnostiques dans les affections rénales bénignes et malignes.

Les anticorps monoclonaux dirigés contre les lymphocytes infiltrant le parenchyme rénal lors des réactions de rejet ouvrent des voies prometteuses dans leur diagnostic et dans leur traitement.

## Bibliographie

- ANDY, R. J., FINSTAD, C. L., OLD, L. J., LLOYD, K. O., KORNFELD, R. — The antigen identified by a mouse monoclonal antibody raised against human renal cancer cells is the adenosine deaminase binding protein. *J. biol. Chem.*, 1984, 252, 12844-12849.
- BANDER, N. H., WELT, S., HOUGHTON, A. N., LLOYD, K. O., GRANDO, R., YEH, S., WHITMORE, W. F. Jr., VAUGHAN, E. D. Jr., OLD, L. J. — Radionuclide imaging of renal cancer with labelled monoclonal antibodies. *Surg. Forum*, 1984, 35, 652-655.
- BURTON, R. C., FERGUSON, P., GRAY, M., HALL, J., SMART, Y. C., NANRA, R. S. — Immune monitoring and suppression with monoclonal antibodies in renal transplantation, in *Proceedings of the Second Asian Pacific Congress of Nephrology*, BECKER, G. J., ATKINS, R. C., KINCAID-SMITH, P. S., Ed. The Dominion Press-Hedges and Bell, Maryborough 3465, 1983, 292-298.
- CHATENOUD, L., BERRITH, S., BENE, M. C., KREIS, H., BACH, J. F. — The effects of immunomodulation on peripheral T cell subsets. *J. clin. Immunol.*, 1982, 2, 615-665.
- COHEN, N., GERTLER, A., ATAR, H., ARID, BAR-KHAYIM — Urine and serum leucine aminopeptidase, N-acetyl-beta-glucosaminidase and glutamyl transpeptidase activities in diabetics with and without nephropathy. *Israel J. med. Sci.*, 1981, 17, 422-425.
- CORDON-CARDO, C., BANDER, N. H., FRADET, Y., FINSTAD, C. L., WHITMORE, W. F. Jr., LLOYD, K. O., OETTGEN, H. F., MELAMED, M. R., OLD, L. J. — Immuno-anatomic dissection of the human urinary tract by monoclonal antibodies. *J. Histochem. Cytochem.*, 1984, 32, 1035-1040.
- COSIMI, A. B., COLVIN, R. B., BURTON, R. C., RUBIN, C., GOLDSTEIN, G., KUNG, P. C., HANSEN, P. W., DELMONICO, F. L., RUSSEL, P. S. — Immunological monitoring and therapy of renal allograft recipient using monoclonal antibodies to human T-cell subsets. *New Engl. J. Med.*, 1981, 305, 308-314.
- DANCE, N., PRICE, R. G., CATTEL, W. R., LANDSELL, J., RICHARDS, B. — The excretion of N-acetyl-beta-glucosaminidase and beta-galactosidase by patients with renal disease. *Clin. chim. Acta*, 1970, 27, 87-92.
- DAVIN, J. C., LOMBET, J., MAHIEU, P. — Diagnostic des hématuries chez l'enfant. *Rev. méd. Liège*, 1987, 42, 59-64.
- FRADET, Y., CORDON-CARDO, C., THOMSON, T., DALY, M. E., WHITMORE, W. F. Jr, LLOYD, K. O., MELAMED, M. R., OLD, L. J. — Cell surface antigens of human bladder cancer defined by mouse monoclonal antibodies. *Proc. nat. Acad. Sci. USA*, 1984, 81, 224-228.
- GALFRE, G., MILSTEIN, C. — Preparation of monoclonal antibodies : strategies and procedures, in COLOWICK, S. P., KAPLAN, N. O., Ed., *Methods in enzymology*. Academic Press Inc., New York, 1981, 73, 1-46.
- JUNG, K., PERGANDE, M., SCHRODER, K. — Influence of pH on the activity of enzymes in urine at 37° C. *Clin. Chem.*, 1982, 28, 1814-1820.

13. KLOTZ, L. H., BANDER, N. H., THOMPSON, R., RUBIN, R. H., WHITMORE, W. F. Jr., OLD, L. J. — Staging and monitoring of renal cell carcinoma by serum assay for proximal tubular antigen. *Proc. urol. Assoc.*, 1987 (sous presse).
14. KOHLER, G., MILSTEIN, C. — Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 1975, 256, 495-497.
15. KUNIN, C. M., CHESNEY, R. W., CRAIG, W. A., ENGLAND, A. C., DE ANGELIS, C. — Enzymuria as a marker of renal injury and disease : studies of N-acetyl-beta-glucosaminidase in the general population and in patients with renal disease. *Pediatrics*, 1978, 62, 751-760.
16. MANSELL, M. A., JONES, N. F., ZIROYANNIS, P. N., TUCKER, S. M., MARSON, W. S. — Detection of renal artery stenosis by measuring urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase. *Brit. Med. J.*, 1978, I, 414-415.
17. PRICE, R. G. — Urinary enzymes, nephrotoxicity and renal disease. *Toxicology*, 1982, 23, 99-134.
18. REINHERZ, E. L., SCHLOSSMAN, S. F. — The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell.*, 1980, 19, 821-827.
19. SCHENTAG, J. J., PLAUT, M. E. — Patterns of urinary beta-2-microglobulin excretion by patients treated with aminoglycosides. *Kidney Int.*, 1980, 17, 654-661.
20. SCHOOLEY, R. T., HIRSCH, M. S., COLVIN, R. B., COSIMI, A. B., TOLKOFF-RUBIN, N. E., MC CLUSKEY, R. T., BURTON, R. C., RUSSEL, P. S., HERRIN, J. T., DELMONICO, F. A., GIORGI, J. F., HENLE, W., RUBIN, R. H. — Association of herpes-group virus infection with T-lymphocyte subset alterations, glomerulopathy, and opportunistic infections following renal transplantation. *New Engl. J. Med.*, 1983, 308, 307-313.
21. SHERMAN, R. L., DRAYER, D. E., LEYLAND-JONES, B. R., REIDENBERG, M. M. — N-acetyl-beta-glucosaminidase and beta-2-microglobulin, their urinary excretion in patients with renal parenchymal disease. *Arch. intern. Med.*, 1983, 143, 1183-1185.
22. TOLKOFF-RUBIN, N. E. — Monoclonal antibodies in the diagnosis of renal disease : a preliminary report. *Kidney Int.*, 1986, 29, 142-152.
23. UEDA, R., OGATA, S. I., MORRISSEY, D. M., FINSTAD, C. L., SZKUDLARCK, J., WHITMORE, W. F., OETTGEN, H. F., LLOYD, K. O., OLD, L. J. — Cell surface antigens of human renal cancer defined by mouse monoclonal antibodies : identification of tissue-specific kidney glycoproteins. *Proc. nat. Acad. Sci. USA*, 1981, 78, 5122-5126.

\*  
\* \*

Les demandes de tirés à part doivent être adressées au Dr Ph. Mahieu, Service de Néphrologie, Institut de Médecine, Hôpital de Bavière, 4020 Liège.