

-
2. Roumier A, Olivo-Marin JC, Arpin M, *et al.* The membrane-microfilament linker ezrin is involved in the formation of the immunological synapse and in T cell activation. *Immunity* 2001 ; 15 : 715-28.
 3. Allenspach EJ, Cullinan P, Tong J, *et al.* ERM-dependent movement of CD43 defines a novel protein complex distal to the immunological synapse. *Immunity* 2001 ; 15 : 739-50.
 4. Delon J, Germain RN. Information transfer at the immunological synapse. *Curr Biol* 2000 ; 10 : R923-33.
 5. Bretscher A, Chambers D, Nguyen R, *et al.* ERM-merlin and EBP50 protein families in plasma membrane organization and function. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2000 ; 16 : 113-43.
 6. Gautreau A, Louvard D, Arpin M. ERM proteins and NF2 tumor suppressor: the Yin and Yang of cortical actin organization and cell growth signaling. *Curr Opin Cell Biol* 2002 ; 14 : 104-9.
 7. Pearson MA, Recek D, Bretscher A, *et al.* Structure of the ERM protein moesin reveals the FERM domain fold masked by an extended actin binding tail domain. *Cell* 2000 ; 101 : 259-70.
 8. Serrador JM, Nieto M, Alonso-Lebrero JL, *et al.* CD43 interacts with moesin and ezrin and regulates its redistribution to the uropods of T lymphocytes at the cell-cell contacts. *Blood* 1998 ; 91 : 4632-44.
 9. Cyster JG, Shotton DM, Williams AF. The dimensions of the T lymphocyte glycoprotein leukosialin and identification of linear protein epitopes that can be modified by glycosylation. *EMBO J* 1991 ; 10 : 893-902.
 10. Manjunath N, Correa M, Ardman M, *et al.* Negative regulation of T-cell adhesion and activation by CD43. *Nature* 1995 ; 377 : 535-8.

NOUVELLE

Anticorps anti-érythropoïétine chez des patients insuffisants rénaux traités par l'hormone recombinante

Nicole Casadevall, Patrick Mayeux

N. Casadevall : Service d'Hématologie Biologique, Hôtel-Dieu, 1, place du Parvis de Notre Dame, 75181 Paris Cedex 04, France.

P. Mayeux : Département d'Hématologie, Institut Cochin, 27, rue du Faubourg Saint-Jacques, 75014 Paris, France.

L'érythropoïétine (Épo) est indispensable à la formation des globules rouges et l'invalidation des gènes codant pour l'Épo ou son récepteur (ÉpoR) provoque une anémie létale chez la souris au stade fœtal [1]. L'Épo est principalement produite par le rein chez l'animal adulte et, dans une faible proportion, par le foie. L'anémie observée chez les insuffisants rénaux est en grande partie due à une forte diminution de la production rénale d'Épo. Toutefois, la production hépatique d'hormone, et probablement une production rénale résiduelle, permettent de maintenir une certaine érythropoïèse médullaire. La mise sur le marché d'érythropoïétine recombinante à la fin des années 1980 a permis de traiter l'anémie de ces patients dans les pays occidentaux et a supprimé leurs besoins transfusionnels et, du même coup, tous les risques et inconvénients associés à cet acte. L'Épo recombinante est également prescrite lors d'anémies

associées à d'autres pathologies comme les cancers, ou celles qui sont observées lors d'actes chirurgicaux. Elle est également utilisée dans des protocoles d'auto-transfusions programmées.

La forme circulante de l'Épo est une molécule de 165 acides aminés avec une structure tridimensionnelle très stable formant quatre hélices α . La molécule est fortement glycosylée, sa masse moléculaire totale est d'environ 34 kDa, la masse moléculaire de la partie protéique est de 18,3 kDa. L'Épo est fortement conservée chez les mammifères, comme en témoignent les 80 % d'identité au niveau protéique de l'Épo humaine et murine, et une activité biologique totalement conservée d'une espèce à l'autre. Deux types d'Épo humaine recombinante sont commercialisées actuellement en France - l'Épo α et l'Épo β - qui ne diffèrent qu'au niveau de la glycosylation : l'Épo α portant davantage d'acides sialiques que l'Épo β .

Malgré la grande conservation des séquences, l'Épo est une molécule très antigénique et l'injection d'Épo recombinante humaine à un animal provoque quasi systématiquement l'apparition d'anticorps neutralisants. Dans la majorité des cas, ces anticorps neutralisent aussi l'Épo endogène de l'animal et conduisent à des érythroblastopénies sévères. Néanmoins, le traitement par l'Épo recombinante est remarquablement bien toléré et, depuis sa mise sur le marché jusqu'en 1997, seuls trois cas d'apparition d'anticorps neutralisants ont été rapportés dans le monde [2-4]. Cependant, depuis 4 ans nous avons détecté l'apparition d'anticorps neutralisants chez 34 patients traités par l'Épo recombinante. Un article récemment publié décrit les treize premiers cas identifiés [5]. Tous ces patients avaient été traités par l'Épo recombinante pour des anémies



consécutives à des insuffisances rénales de diverses étiologies. Tous les autres caractères déterminés (sexe, âge, groupes sanguins et tissulaires HLA) étaient hétérogènes dans ce groupe de patients. Ils avaient tous développé une résistance au traitement après une période de latence plus ou moins longue (de 3 à 67 mois selon les patients) pendant laquelle leur réponse à l'hormone était normale. Cette résistance s'accompagnait de l'apparition brutale d'une anémie sévère nécessitant des transfusions répétées. Devant l'absence de cause évidente à cette anémie et à cette résistance (infection virale, hémorragie, inflammation, déficit en fer), des myélogrammes furent réalisés et montrèrent une érythroblastopénie majeure. La présence d'anticorps anti-Épo fut alors recherchée dans le sérum de ces patients, et plusieurs critères nous ont permis d'en affirmer l'existence. Ces sérums inhibent la formation des colonies érythroïdes dans des cultures de moelle normale. L'inhibition est due aux IgG du sérum et est levée par de fortes concentrations d'Épo. Cette inhibition est spécifique de la lignée érythroblastique et les sérums ne modifient pas la formation des colonies granulocytaires à partir de progéniteurs granuleux de la moelle normale stimulés par le G-CSF (*granulocyte-colony stimulating factor*). De plus, les IgG du sérum fixent de l'Épo marquée à l'iode radioactif. Cette propriété a été utilisée pour caractériser ces anticorps anti-Épo. Leur capacité de fixation a été mesurée ; elle varie selon les patients entre 3 et 86 unités d'Épo par ml de sérum. Les concentrations circulantes d'Épo étant de l'ordre de 20 mU/ml de sérum, ces capacités de fixation montrent que ces anticorps peuvent fixer toute l'Épo circulante. Leur affinité est très élevée (Kd compris entre 90 et 400 pM), proche de celle du récepteur pour l'Épo. Ils reconnaissent la partie protéique de la molécule et pas la partie glucidique. Dans tous les cas sauf un, l'Épo dénaturée n'est plus reconnue par ces anticorps, suggérant la présence d'épitopes confor-

mationnels. Ces anticorps reconnaissent toutes les molécules d'Épo humaine, naturelle ou recombinante, actuellement disponibles, y compris la darbépoïétine. L'arrêt du traitement par l'hormone et, dans certains cas, un traitement immunosuppresseur ont permis de diminuer les taux d'anticorps de façon plus ou moins rapide selon les patients. La disparition des anticorps, observée chez plusieurs d'entre eux, s'accompagne toujours d'une reprise de l'érythropoïèse.

On ne sait pas ce qui explique la production de ces anticorps. La seule caractéristique commune à tous ces patients est qu'ils sont tous traités par de l'Épo recombinante pour une anémie consécutive à une insuffisance rénale d'origine variée. Il est clair que le traitement par l'Épo recombinante est responsable de l'apparition de ces anticorps. En effet, l'apparition spontanée d'anticorps anti-Épo est extrêmement rare ; un seul cas documenté a été jusqu'à présent rapporté [6]. La brutale apparition de ces anticorps après plus de 10 ans d'une utilisation clinique satisfaisante d'Épo recombinante montre que ce n'est pas la molécule elle-même qui est en cause, mais une modification apparue au cours de ces dernières années et qui concerne soit les patients, soit le produit commercial. Rien ne permet d'envisager que la population de patients insuffisants rénaux actuellement traités par l'Épo recombinante soit différente de celle qui était traitée auparavant, et n'avait pas développé de tels anticorps. Par ailleurs, il ne semble pas y avoir de lien entre l'évolution des pratiques médicales, en particulier celles concernant l'hémodialyse, et l'apparition de ces anticorps. Des modifications subtiles du produit

commercial pourraient être à l'origine de ces anticorps. La très grande majorité des patients chez lesquels de tels anticorps ont été décelés étaient traités par de l'Épo α . Seul un patient avait reçu uniquement de l'Épo β , et il est le seul à avoir développé des anticorps reconnaissant un épitope linéaire sur la molécule d'Épo. Un autre patient recevait les deux types d'Épo recombinante lorsqu'il a développé ces anticorps. On peut donc envisager, sans toutefois pouvoir l'affirmer, que des modifications de formulation de l'Épo α soient à l'origine de cette immunogénicité. Néanmoins, la fréquence d'apparition de tels anticorps reste faible en regard du nombre important de malades traités. Il est donc probable que des facteurs individuels favorisent l'apparition de tels anticorps. Les paramètres évidents que sont la liaison avec un phénotype HLA particulier ayant été éliminés, d'autres facteurs plus subtils, par exemple l'existence possible d'un polymorphisme au niveau de la molécule d'Épo, sont maintenant à envisager. ♦

Development of anti-erythropoietin antibodies in patients with renal failure treated by the hormone

RÉFÉRENCES

1. Wu H, Liu X, Jaenish R, Lodish HF. Generation of committed erythroid BFU-E and CFU-E progenitors does not require erythropoietin or the erythropoietin receptor. *Cell* 1995 ; 83 : 59-67.
2. Bergrem H, Danielson BG, Eckardt KU, Kurtz A, Strisberg M. A case of anti-erythropoietin antibodies following recombinant human erythropoietin treatment. In : *Erythropoietin: molecular physiology and clinical application*. New York : Marcel Dekker, 1993 : 266-75.
3. Peces R, de la Torre M, Alcazar R, Urrea JM. Antibodies against recombinant human erythropoietin in a patient with erythropoietin-resistant anemia. *N Engl J Med* 1996 ; 335 : 524-5.
4. Prabhakar S, Muhlfelder T. Antibodies to recombinant human erythropoietin causing pure red cell aplasia. *Clin Nephrol* 1997 ; 47 : 331-5.
5. Casadevall N, Nataf J, Viron B, et al. Pure red-cell aplasia and anti-erythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin. *N Engl J Med* 2002 ; 346 : 469-75.
6. Casadevall N, Dupuy E, Molho-Sabatier P, Tobelem G, Varet B, Mayeux P. Spontaneous auto-antibody against erythropoietin in a case of pure red cell aplasia. *N Engl J Med* 1996 ; 334 : 630-3.