

Analyse phénotypique des lymphocytes NK : un marqueur de risque de Syndrome Lymphoprolifératif Post-Transplantation chez les enfants greffés du foie

Ugo Bréda¹, Xavier Stephenne¹, Pascale Saussoy², Etienne Sokal¹, Françoise Smets¹

Promoteur : Pr Françoise Smets



BUT DE L'ÉTUDE

Le Syndrome Lymphoprolifératif Post-Transplantation (PTLD) est une complication potentiellement sévère chez les enfants greffés du foie, généralement associée à l'infection par le virus d'Epstein-Barr (EBV). Le monitoring par PCR de la charge virale en EBV est actuellement la méthode la plus aisée afin de détecter les enfants à risque de PTLD. Cependant, la spécificité d'une charge virale élevée reste limitée. Un nombre croissant de publications ont mis en évidence le rôle des lymphocytes Natural Killer (NK) dans le contrôle de la primo-infection à EBV. Une modification du nombre et de la fonction des cellules NK a également été décrite chez les enfants atteints de PTLD ayant bénéficié d'une transplantation thoracique.

MÉTHODES

Entre août 2013 et juillet 2015, nous avons prospectivement analysé les taux de lymphocytes NK totaux et de leurs sous-populations par cytométrie de flux chez 29 enfants greffés du foie. Dans cette population, nous avons également mesuré l'expression de 3 récepteurs membranaires : NKG2D, NKp46 et PD-1.

RÉSULTATS

Cinq patients (17.2%) ont développé un PTLD au cours de la première année post-greffe (médiane : 84 jours, range : 83-109 jours). Chez ces enfants, durant le premier trimestre post-greffe, nous avons identifié une augmentation de la proportion des lymphocytes NK totaux (CD3-CD56 \pm , 13.52% vs. 9.05%, $p = 0.0011$) et des NK CD3-CD56dimCD16+ (63.08% vs. 43.18%, $p = 0.0011$) ainsi qu'une diminution de la proportion des NK CD3-CD56bright (5.26% vs 10.42%, $p = 0.0033$). Dans ce contexte, un test associant un taux de NK CD3-CD56 $\pm \geq 12.5\%$ et un taux de NK CD3-CD56dimCD16+ $\geq 63\%$ offrait des valeurs prédictives positives et négatives de 100% afin de détecter les enfants à risque de PTLD. Une corrélation entre les taux de lymphocytes NK et la charge virale en EBV (négative, basse, élevée ou PTLD) a également été observée, bien que ces résultats ne soient pas significatifs ($p = 0.05-0.089$). Nous n'avons pas mis en évidence de différence d'expression des récepteurs membranaires entre les patients atteints ou non de PTLD.

CONCLUSION

L'analyse phénotypique des lymphocytes NK par cytométrie de flux pourrait être un outil efficace et facilement intégrable en routine clinique pour suivre les enfants greffés du foie dans le but d'identifier rapidement les patients à risque de PTLD.

NK cell phenotype as a risk marker of post-transplant lymphoproliferative disease in liver-transplanted children

OBJECTIVES AND STUDY

Post-transplantation lymphoproliferative disease (PTLD) is a serious complication in liver-transplanted children, most often related to Epstein-Barr virus (EBV) infection. The monitoring of EBV viral load using PCR is the easiest method to identify children at risk of PTLD. Yet a high viral load has a low specificity following pediatric liver transplantation. The role of NK cells in the control of EBV primary infection is increasingly recognized, and a modification of both their phenotype and function was demonstrated in thoracic transplanted children developing PTLD.

METHODS

Between August 2013 and July 2015, we prospectively analyzed the rate of total NK cells and the proportion of their subpopulations using flow cytometry in 29 liver-transplanted children. In this population, we also measured the expression of three membrane receptors of NK cells: NKG2D, NKp46, and PD-1.

RESULTS

Five patients (17.2%) developed PTLD within 1 year post-transplantation (median: 84 days, range: 83-109 days). In these children, in the first trimester following the transplant, we detected an increased proportion of total NK cells (CD3-CD56 \pm , 13.52% vs. 9.05%, $p=0.0011$), CD3-CD56dimCD16+

cells (63.08% vs. 43.18%, $p=0.0011$), and a reduced proportion of CD3-CD56bright cells (5.26% vs. 10.42%, $p=0.0033$). In this context, a test based on a CD3-CD56 \pm cell rate $\geq 12.5\%$ and CD3-CD56dimCD16+ cell rate $\geq 63\%$ would offer a positive and negative predictive value of 100%, respectively, to detect children at risk of PTLD. These increased or decreased NK cell proportions were also observed in correlation with the EBV load (negative, low, high, or PTLD), yet without statistical significance ($p=0.05-0.089$). We found no differences in NK membrane receptor expressions between patients with or without PTLD.

CONCLUSION

The phenotypic analysis of NK cells using flow cytometry could be an easy and useful tool to monitor pediatric liver transplant recipients enabling us to quickly identify children at risk of PTLD.

AFFILIATIONS

¹ Cliniques universitaires Saint-Luc, Service de Pédiatrie, avenue Hippocrate 10, B-1200 Bruxelles

² IREC (Institut de Recherche expérimentale), Université catholique de Louvain, Département de Biologie clinique, B-1200 Bruxelles