

**UNIVERSITE DE NANTES**

---

**FACULTE DE MEDECINE**

---

Année 2016/17

N° 178

**THESE**

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

(Néphrologie)

par

*Simon VILLE*

*né le 29/12/1984 à Compiègne*

---

Présentée et soutenue publiquement le *21/10/2016*

---

**ETUDE DE L'IMPACT DE LA PROPHYLAXIE ANTI-VIRALE SUR L'INCIDENCE DES  
LYMPHOPROLIFERATIONS EBV INDUITES CHEZ LES GREFFES RENaux  
ADULTES SERONEGATIFS**

---

Président : Monsieur le Professeur Gilles BLANCHO

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Jacques DANTAL

Au terme de ces quelques années d'études je tiens à remercier l'ensemble des personnes et des institutions sans lesquelles ce parcours n'aurait été possible, que ce soit dans la sphère privée qui s'est récemment enrichie...que dans le milieu professionnel, aussi bien à la faculté que dans les services ou au laboratoire.

<b>Remerciement .....</b>	<b>1</b>
<b>Table des matières.....</b>	<b>2</b>
<b>Revue de la littérature .....</b>	<b>4</b>
<b>1 l'Epstein-Barr Virus (EBV) un virus pourvoyeur de lymphomes. ....</b>	<b>4</b>
1.1 perspectives historiques.....	5
1.2 La persistance de l'EBV ou comment exploiter le système immunitaire. ....	7
1.2.1. La primo-infection et le programme de croissance.....	8
1.2.2. Le centre germinatif et le « default » programme.....	9
1.2.3. Les cellules B mémoires et la phase de latence.....	9
1.3 Pathogénie des lymphomes liées à l'EBV.....	12
1.3.1. Cas général .....	12
1.3.2. Cas des patients EBV négatifs.....	14
<b>2 Les lymphomes post transplantation.....</b>	<b>16</b>
2.1 Aspect anatomopathologique .....	16
2.2 Epidémiologie .....	19
2.2.1. Incidence et facteurs de risques.....	19
2.2.2. Pronostic.....	21
2.2.3. Cas des patients séronégatifs.....	22
2.3 Les Principes du traitement.....	23
2.3.1. La réduction de l'immunosuppression .....	24
2.3.2. Les traitements anti-viraux.....	24
2.3.3. La chimiothérapie et le rituximab.....	25
2.3.4. La thérapie cellulaire.....	26
2.4 Prévention des PTLDs .....	27
2.4.1. Les Traitements anti-viraux .....	27
2.4.2. Immunoprophylaxie .....	32
2.4.3. Monitoring de la charge virale et stratégie préemptive.....	32
<b>Introduction.....</b>	<b>39</b>
<b>Materials and Methods.....</b>	<b>41</b>
<b>Results.....</b>	<b>43</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>52</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>56</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>61</b>

# REVUE DE LA LITTÉRATURE

## **1 L'EPSTEIN-BARR VIRUS (EBV) UN VIRUS POURVOYEUR DE LYMPHOMES.**

## 1.1 PERSPECTIVES HISTORIQUES.

En 1958, Burkitt décrit le lymphome qui prendra son nom comme une maladie touchant les enfants en Afrique équatoriale (1). Il est rapidement mis en évidence que la « ceinture du lymphome » correspond à la zone d'endémie du paludisme suggérant un lien entre le paludisme, ou un autre agent infectieux véhiculé par les moustiques, et le développement de cette maladie (2). Mais en 1964, à partir de culture de cellules tumorales issues de lymphome de Burkitt, Epstein et Barr identifièrent un nouvel Herpes virus nommé Epstein-Barr Virus (première description d'un virus basé sur la microscopie électronique). Ces cellules exprimaient dans leur noyau un antigène défini sérologiquement : l'EBV Nuclear Antigen (EBNA) (3). Cette découverte sera à l'origine du paradigme selon lequel certaines néoplasies peuvent être induites par des virus (4,5).

En 1967, les études *in vitro* confirmèrent cette hypothèse. En effet il était démontré que l'EBV pouvait immortaliser des lymphocytes B, ceux-là même à l'origine du lymphome de Burkitt, avec une grande efficacité (> 50% des cellules cibles) (6). Une fois infecté de façon latente, on obtenait des lignées cellulaires lymphoblastoïdes (LCLs) qui proliféraient continuellement.

La production aisée de ce matériel permit une étude approfondie de l'infection latente par l'EBV. Il était montré que l'EBNA était en fait composé de 6 éléments (définis comme EBNA-1, EBNA-2....) et que les LCLs exprimaient des protéines virales dites latentes dont certaines membranaires (Latent Membrane Protein, LMP). Sous le contrôle du facteur de transcription EBNA-2, ces protéines agissent pour maintenir le lymphocyte B dans un état s'apparentant à son activation par un antigène (on parle dans ce cas de lymphoblastes). Ce programme était qualifié de croissance (growth transcription programme ou programme de latence 3).

Il était par la suite démontré que les individus infectés par le virus de l'EBV produisent une puissante réponse immunitaire en particulier via des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) spécifiques (7). Cela suggérait qu'*in vivo*, la prolifération des cellules B infectées de façon latente (s'apparentant aux LCLs) est en permanence contrôlée par la réponse immunitaire.

Les cellules B observées dans le lymphome de Burkitt sont, à l'opposé des LCLs, des cellules de petite taille aux contours réguliers, de la même façon elles diffèrent dans l'expression des protéines de latence de l'EBV, parmi les neuf protéines de latence décrites dans les LCLs seul l'EBNA-1 est présente dans les cellules B du lymphome de Burkitt (situation qualifiée de EBNA1-only transcription programme ou de latence 1). La situation se complexifia encore avec la mise en évidence de protéines de latence de l'EBV au sein des cellules B malignes responsables de la maladie de Hodgkin, puisqu'elles expriment uniquement l'EBNA-1 associé au LMP-1 et au LMP-2 (default transcription programme ou latence 2). A ce stade, 3 formes d'infection latente différentes étaient décrites (cf **Tableau 1**) et aucune observée à l'état physiologique *in vivo*, suggérant une interaction entre l'EBV et son hôte, l'humain, plus complexe qu'initialement appréhendé.

**Tableau 1**, EBNA signifie EBV Nuclear Antigen et LMP Latent Membrane Protein.  
(d'après Thorley-Lawson, *NEJM*, 2004)

Type de cellules B infectées	Présentation pathologique / expérimentale	Programme	Gènes exprimés	Fonction du programme
cellule native	Lignée Cellulaire Lymphoblastoïde (LCL) Lymphome Post Transplantation	Growth (latence 3)	EBNA-1 à EBNA6 LMP-1, LMP-2A et 2B	Activation
cellule du centre germinatif	Maladie de Hodgkin	Default (latence 2)	EBNA-1 LMP-1 et LMP-2A	Différentiation en cellules mémoires
cellule mémoire		Latency		

## **1.2 LA PERSISTANCE DE L'EBV OU COMMENT EXPLOITER LE SYSTÈME IMMUNITAIRE.**

Les premiers travaux sur l'EBV étaient réalisés *in vitro* avec des LCLs ou des lignées issues de lymphome de Burkitt. A partir de 1995 les analyses *in vivo* permirent de comprendre comment un virus infectant plus de 90% de la population à l'âge adulte pouvait persister dans l'organisme de son hôte en étant inoffensif, dans la très grande majorité des cas (8,9).

Les cellules B infectées par l'EBV présentes dans le sang périphérique ne sont pas des lymphoblastes mais de petites cellules B mémoires ayant connue une sélection antigénique comme en témoigne la commutation isotypique et la maturation d'affinité de leur immunoglobuline. Elles n'expriment aucune protéine virale latente (latency transcription programme ou latence 0). C'est le cas aussi bien lors de la primo-infection (survenant souvent à un âge précoce) qu'elle soit symptomatique ou non (sous la forme d'une mononucléose infectieuse), qu'à son décours, tout au long de la vie.

Dans la décennie qui suivit, les progrès croissant en virologie et en immunologie permirent de poser une hypothèse concernant la relation entre les lymphoblastes et les lymphocytes B mémoires, à savoir que l'EBV récapitule l'ontogénèse des cellules B de son hôte, pour s'y établir et y persister (2).

### 1.2.1. LA PRIMOICTION ET LE PROGRAMME DE CROISSANCE.

L'EBV ou virus de l'herpès 4 (HHV4) est un virus à ADN appartenant à la famille des Herpesviridae. Son réservoir est strictement humain. L'EBV possède deux cycles : i) un cycle lytique lors duquel sont produites des protéines structurales dont la protéine virale de capsid VCA (pour Viral Capsid Antigen) qui aboutit à la lyse de la cellule infectée libérant ainsi quelques virus infectieux, ii) un cycle latent pendant lequel quelques épisomes d'EBV (ADN circulaire) persistent dans leurs cellules hôte en se dupliquant à chaque mitose.

C'est par la salive que l'EBV pénètre dans l'organisme, il se multiplie d'une part via son cycle lytique dans les cellules épithéliales et d'autre part infecte les cellules B naïves

présentent dans les tissus lymphoïdes situés dans la sphère ORL (amygdales et végétations adénoïdes). Les cellules B vont alors exprimer le programme de croissance (latence 3) qui va les activer et entraîner leur prolifération de la même façon que les cellules B naïves s'activent au contact de leur antigène spécifique. Comme ces dernières, elles vont s'établir dans un follicule.

L'infection par l'EBV est contrôlée par une réponse immunitaire spécifique aussi bien humorale que cellulaire. Les anticorps circulants limitent la dissémination du virus sous forme encapsulé et les CTLs détruisent les cellules infectées qui expriment des protéines virales à leur surface.

#### 1.2.2. LE CENTRE GERMINATIF ET LE « DEFAULT » PROGRAMME.

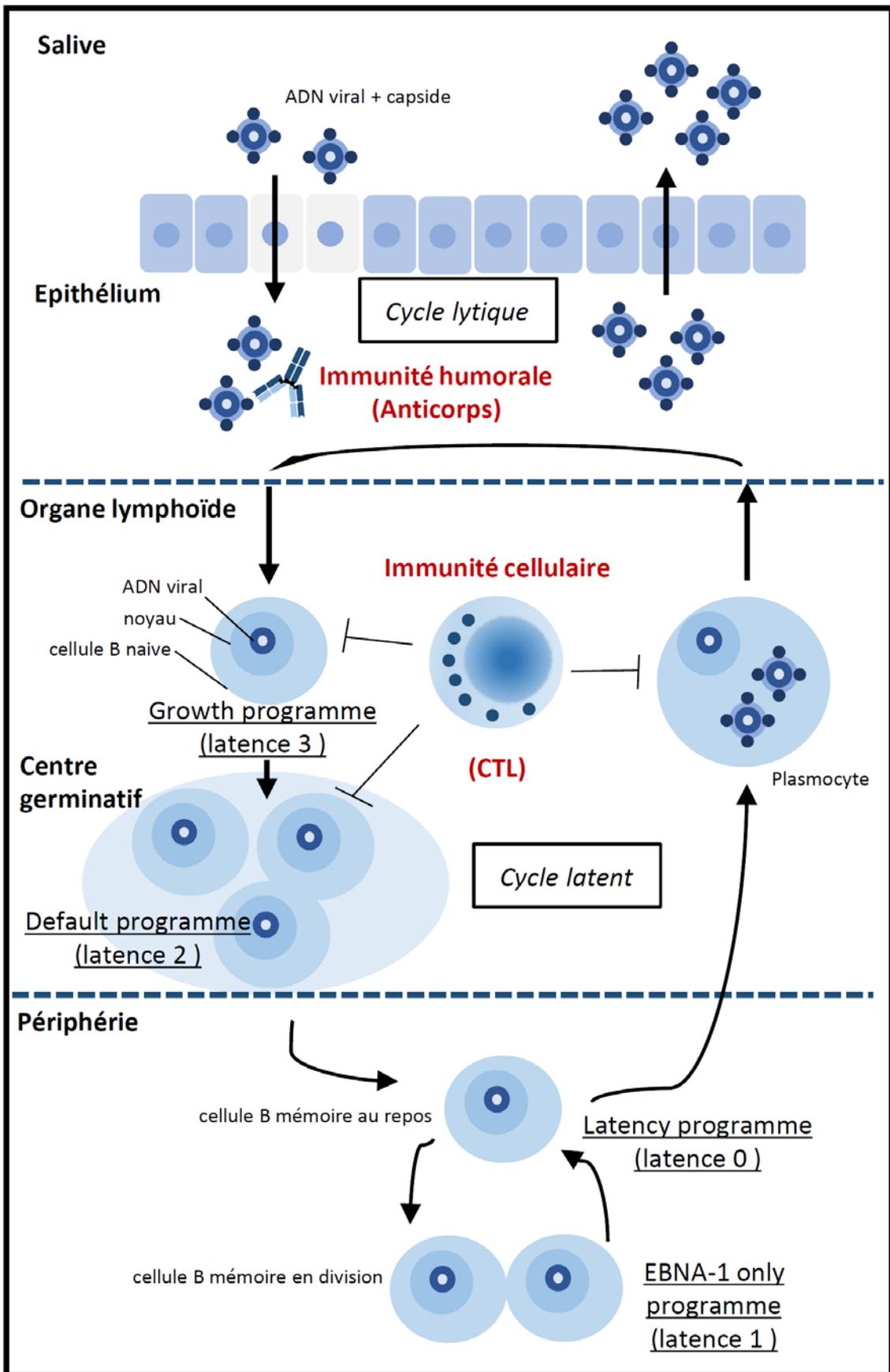
Au niveau des follicules les cellules B infectées vont commuter leur programme de croissance en default programme (latence 2) et entrer dans le processus de différenciation prenant place dans le centre germinatif. Il a été montré que la LMP-1 et la LMP-2, exprimée à ce stade sont capables de produire les signaux délivrés habituellement aux lymphocytes B via d'autres molécules dans le contexte d'une stimulation antigénique. En particulier la LMP-1 peut en partie se substituer à CD40 principale molécule de co-stimulation responsable de la prolifération et de la différenciation des cellules B au sein du centre germinatif (10).

#### 1.2.3. LES CELLULES B MÉMOIRES ET LA PHASE DE LATENCE.

Après que leur immunoglobuline ait effectué la commutation isotypique et la maturation d'affinité, les cellules B vont acquérir un phénotype mémoire et exprimer le programme de latence (latence 0) dans lequel aucune protéine virale n'est exprimée. Une exception survient lorsque, pour maintenir leur homéostasie, une cellule B mémoire se divise, elle va alors exprimer EBNA-1 pour permettre à l'ADN viral de se dupliquer.

Pour clore le cycle d'infection virale et de persistance, le cycle lytique se réactive dans une faible proportion de cellules mémoires (et/ou lors de leur ultime différenciation en plasmocytes) lorsqu'elles se situent dans l'anneau de Waldeyer pour permettre au virus via la salive d'infecter d'autres individus.

L'EBV lors de l'infection des cellules B naïves reproduit donc l'ontogénèse des cellules B indépendamment de toute activation antigénique afin de persister dans des cellules mémoires dont la caractéristique est de se maintenir dans l'organisme pour une longue période (11)(cf **Figure 1**). La réponse immunitaire anti EBV via les CTL n'est valable qu'aux stades où les cellules B expriment des protéines de latences virales qui constituent l'antigène spécifique, ce qui n'est pas le cas des cellules mémoires qui peuvent ainsi rester indemnes (11).



**Figure 1,** modèle d'établissement de l'infection virale latente par le virus de l'EBV.

(D'après Thorley-Lawson, *Nat Rev Microbiol*, 2008)

## 1.3 PATHOGÉNIE DES LYMPHOMES LIÉES À L'EBV.

### 1.3.1. CAS GÉNÉRAL

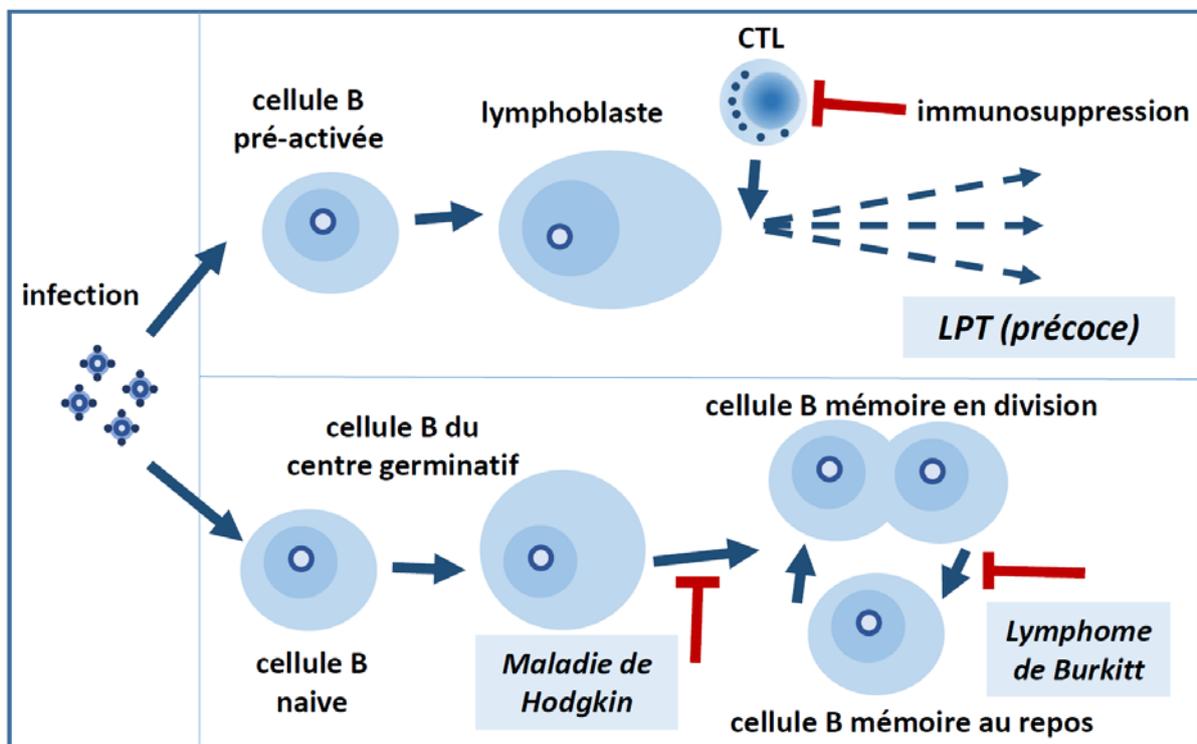
Les patients immunodéprimés sont sujets aux lymphoproliférations B, en particulier après une transplantation d'organe. Dans la plupart des situations il s'agit de lymphomes B diffus à grandes cellules, équivalant de lymphoblastes exprimant le programme de croissance. En 1999 Babcock a étudié le phénotype des cellules B infectées par l'EBV chez des patients immunodéprimés. Il a constaté que contrairement à ce qui était imaginé il s'agissait, comme chez les individus sains de cellules B mémoires et non pas de lymphoblastes (12).

Le développement d'une Lymphoprolifération Post Transplantation (LPT) ne se résume donc pas qu'aux conséquences de l'immunosuppression inhérente à la greffe qui empêcherait les CTLs spécifiques anti-EBV de limiter la prolifération de lymphoblastes. Un évènement inaugural est également nécessaire. La principale hypothèse est qu'une cellule B non-naïve, à un stade de différenciation plus ou moins avancé, s'infecte, exprime le programme de croissance qui ne lui est pas « destiné » conduisant à une prolifération non interrompue ni par l'entrée dans le default programme et la différenciation qui s'en suit habituellement ni à fortiori par la réponse T cytotoxique annihilée par l'immunosuppression (13) (cf **figure 2**).

Néanmoins les LPT sont hétérogènes par différents aspects et probablement également d'un point de vue physiopathologique.

D'une part il convient de différencier greffe d'organe solide en particulier rénal et greffe de moelle osseuse. En effet dans ce dernier cas, contrairement à ce qui est observé en transplantation d'organes solides, plus de 90% des LPT dérivent des cellules B du donneur. Une situation approchante réside dans les LPT touchant l'organe greffé, qui sont précoces et dans de nombreux cas d'origine du donneur (14).

D'autre part, au-delà des lymphomes B diffus à grandes cellules, souvent précoces (< 1 an), d'autres types de lymphomes (en particulier lymphome de Burkitt et maladie de Hodgkin) sont décrits avec des stades de latence différents et donc avec une physiopathologie différente. (cf **figure 2**)



**Figure 2,** Mécanisme supposé des lymphomes EBV induits.

(D'après Thorley-Lawson, *NEJM*, 2004)

### 1.3.2. CAS DES PATIENTS EBV NÉGATIFS.

La perte du frein de l'immunité acquise anti-EBV est donc une des composantes de la pathogénie des LPT. Après transplantation, le risque maximum de développer un LPT est observé chez les patients naïfs de toute infection EBV (séronégatifs), leur réponse secondaire étant inexistante et la primaire rendu inefficace par l'immunosuppression.

Dans le cas d'un receveur séronégatif greffé avec un organe issu d'un donneur infecté de façon latente par l'EBV, le virus responsable du LPT est originaire du donneur (15). Deux mécanismes sont à distinguer : i) les cellules B du donneur, infectées de façon latente sont responsables du LPT (le plus souvent de l'organe transplanté), ii) il existe une transmission du virus du donneur au receveur, situation inédite, puisque en situation physiologique la transmission est faite par voie orale.

Il existe peu de données sur la physiopathologie précise de l'infection par l'EBV dans cette situation. Une étude prospective récente réalisée dans une population pédiatrique de transplantés rénaux (34% de patient EBV séronégatifs avec un donneur EBV séropositif) dans laquelle les enfants étaient étroitement surveillés par des PCR EBV et des sérologies itératives a permis de décrire cette situation (16). Cinq mois après la transplantation, en absence de prophylaxie antivirale (cf ci-dessous), tous les enfants séronégatifs étaient infectés (au moins une PCR EBV positive) (17). La séroconversion survenait en moyenne 5,2 mois après la première virémie, témoignant de l'impact de l'immunosuppression. Pour ces primo-infections, le pic et l'aire sous la courbe de la charge virale étaient significativement supérieurs, en comparaison à des situations de réactivation. En cas de primo-infection symptomatiques (syndrome pseudo-grippal ou mononucléose infectieuse) ces éléments étaient significativement diminués, reflétant une réponse immunitaire active. Une autre cohorte de patients séronégatifs, chez l'adulte cette fois, retrouvait des résultats comparables avec 60% des patients virémiques lors des douze premiers mois (certains sous traitement antiviral), au

long cours environ 10% des patients ne présentaient pas de primo-infection. Notons que les patients séronégatifs greffés avec un donneur également séronégatif peuvent aussi faire une primo-infection (18) mais que dans ce cas le risque de LPT ne semble pas augmenté.

En 2000, Qu et Al ont étudié le profil d'expression des gènes de l'EBV peu après la transplantation chez des enfants dont la majorité était séronégatifs pour l'EBV avant la greffe (19). Dans ce contexte correspondant à une primoinfection transmise par la greffe, ils ont individualisé deux groupes de patients. Le premier, dans lequel la majorité des enfants avaient une charge virale basse, présentait un profil compatible avec une infection latente de cellules B mémoires rejoignant les données de Babcock. Mais le second, dans lequel la charge virale était le plus souvent élevée, présentait des profils différents jamais décrit dans le sang périphérique de sujet immunocompétents (association diverse de LMP-1, LMP-2, EBNA2 et même de ZEBRA une protéine caractéristique du cycle lytique) suggérant un mécanisme d'infection singulier dans cette situation qui l'est tout autant.

## **2 LES LYMPHOMES POST TRANSPLANTATION.**

### **2.1 ASPECT ANATOMOPATHOLOGIQUE**

Dès 1968 Starzl décrit des lymphomes chez les patients transplantés rénaux (dans la discussion de (20)), c'est lui qui en 1984 consacra l'acronyme PTLD pour « Post Transplantation Lymphoproliferative Disease » (21). Les premières données anatomopathologiques identifiaient tout un spectre de lymphoproliférations chez ces patients (22). Initialement en absence d'anticorps monoclonaux, une première classification distinguait deux types de prolifération B en se basant sur la présence ou l'absence de grandes cellules anormales : les hyperplasies polymorphes et les lymphomes polymorphes. L'immunomarquage des immunoglobulines révéla finalement la monoclonalité de l'ensemble de ces formes (ce qui fut confirmé ultérieurement par des approches moléculaire). L'EBV était par ailleurs identifié dans ces tumeurs (23).

La stratégie thérapeutique visant à réduire l'immunosuppression s'avéra payante dans la majorité des situations rendant caduque la distinction entre hyperplasie et lymphome polymorphes. En revanche, l'examen approfondi des tumeurs identifia une plus grande uniformité des cellules composant les tumeurs résistantes à la levée de l'immunosuppression, donnant naissance au concept de LPT monomorphes s'opposant aux polymorphes.

Par la suite d'autres entités furent observées, d'une part d'authentiques proliférations polyclonales (composées de plasmocyte ou similaire aux lésions observées en cas de mononucléose infectieuse) et d'autres part d'autres types de lymphomes comme des maladies de Hodgkin ou encore des lymphomes T.

En 1996 la société d'hématologie synthétisa l'ensemble de ces données en proposant une classification composée de trois entités : i) les lésions précoces (correspondant aux

hyperplasies polyclonales), ii) LPT polymorphes et iii) LPT monomorphes dans laquelle les tumeurs doivent être classées selon la nomenclature internationale des lymphomes.

La positivité pour le virus de l'EBV (présente dans plus de 90% des cas) n'a pas été retenu comme nécessaire à la définition de LPT qui englobe tous les lymphomes survenant après une transplantation alors même que certains d'entre eux sont certainement « spontanés ». Celle-ci est recherchée par immunomarquage des protéines de latence de l'EBV en particulier la LMP-1, qui n'est, comme nous l'avons vue ci-dessus, pas toujours présente en fonction du programme de latence exprimé. La méthode alternative est l'hybridation in situ des ARN précoces de l'EBV (EBER) qui est toujours positive.

En 2008 l'OMS a produit une classification de l'ensemble des hémopathies dans laquelle sont intégrés les LPT (cf **Tableau 2**), elle reprend la classification de la société d'hématologie en la simplifiant (la catégorie « autre » étant supprimée) et en excluant les lymphomes indolents de la définition de LPT (le statut de la leucémie lymphoïde chronique n'étant pas précisé) (24).

Parmi les formes monomorphes, les proliférations B représentent plus de 85% des cas avec une vaste majorité de lymphomes B diffus à grandes cellules (DLCL), leur phénotype étant précisé en immunohistochimie. D'autres lymphoproliférations B sont plus rares : essentiellement lymphome de Burkitt, et lympho-proliférations plasmocytaires. Alors que les lymphomes T et NK sont peu fréquents, la maladie de Hodgkin ainsi que des formes approchantes (dites Hodgkin-like), constituées de cellules tumorales B et d'un important infiltrat réactionnel sont plus fréquentes.

---

**Table 2,** Classification OMC 2008 des lymphomes post transplantation (LPT)

---

Lésions précoces

Hyperplasie plasmacytique

LPT s'apparentant à une mononucléose infectieuse

Hyperplasie folliculaire floride

LPT polymorphe

LPT monomorphe

Cellules B

Lymphome B diffu à grandes cellules B

Lymphome de Burkitt

Myelome multiple

Lesion s'apparantant à un plasmocytome

Autres

Cellules T

Lymphome T périphérique

Lymphome T hépatosplénique

Autres

LPT de type maladie de Hodgkin

---

## **2.2 EPIDÉMIOLOGIE**

### **2.2.1. INCIDENCE ET FACTEURS DE RISQUES**

Les LPT sont les néoplasies les plus fréquemment rencontrées chez les patients transplantés d'organes solides après les cancers cutanés (25,26).

Leur prévalence est très variable en fonction de l'organe transplanté et de l'âge du receveur. Les enfants sont plus à risque car ils sont plus souvent séronégatif pour l'EBV ce qui est un facteur de risque majeur. Alors que la greffe rénale est la moins à risque avec le foie et le cœur, le poumon et le pancréas sont d'avantage pourvoyeur. Cela est certainement lié d'une part au degré d'immunosuppression et d'autre part à la quantité de tissus lymphatiques présent dans l'organe transplanté (27).

Pour les transplantés rénaux, le risque de lymphome est environ 20 fois supérieur à celui de la population générale avec une incidence globale de 0.4% à 2% chez les adultes (28).

Il convient de distinguer les LPT précoces, survenant la première année après la greffe et les LPT dites tardives survenant au-delà. Classiquement les précoces sont souvent issus des cellules du donneur et situé au sein de l'allogreffe, fortement lié au niveau d'immunosuppression et de bon pronostic après diminution de celle-ci, car très clairement induit par l'EBV. A l'inverse les LPT tardives sont à l'image des lymphomes B de la population générale, développés aux dépends des cellules du receveur, moins souvent lié à l'EBV, répondant moins favorablement à la diminution de l'immunosuppression, souvent diffus et de moins bon pronostic (29).

Il existe en France un registre prospectif des LPT après transplantation rénale et combinée rein-pancréas (181 cas, recensés entre janvier 1998 et décembre 2007), avec un long suivi, ayant permis de mieux caractériser cette pathologie et d'identifier ses facteurs de

risques (30,31). L'incidence cumulative était de 0,34% à 1 an, de 1% à 5 ans et de 2.1% à 10 ans avec un sur-risque la première année et à partir de la 8<sup>ième</sup>. Comme attendu les lymphomes au sein de la greffe étaient surreprésentés les deux premières années alors que les lymphomes digestifs étaient les plus fréquents après 7 ans alors que les lymphomes cérébraux survenaient entre ces deux extrêmes.

Concernant les facteurs de risque, l'analyse multivariée révélait une association entre la survenue d'une LPT et l'âge > 46 ans, la transplantation simultanée rein-pancréas, la période de transplantation avant 2001, avoir 5 ou 6 mismatch HLA, l'induction avec un sérum anti-lymphocytaire et enfin le mismatch EBV qui demeurait un facteur de risque pour les LPT tardifs.

Ces données sont en accord avec les études historiques retrouvant une association entre l'OKT3 et les LPT (32). Les données américaines récentes ont montré une absence d'association entre le Campath et le risque de LPT, probablement du fait d'une déplétion B concomitante (33). Concernant les traitements d'entretien, cette même étude ne retrouvait pas non plus de sur-risque avec l'utilisation du tacrolimus en comparaison à la ciclosporine contrairement à ce qui a été rapporté (34). En revanche, malgré un rôle protecteur supposé par les données *in vitro*, les inhibiteurs du mTOR étaient associés à un surrisque, ce qui a été confirmé depuis (35). Enfin, le mycophenolate mofétil aurait un rôle protecteur potentiellement lié à un effet spécifique sur la prolifération des lymphocytes B (36,37). Plus récemment, lors de son évaluation dans 2 essais de phase III, le Belatacept, une protéine de fusion bloquant le ligand de la principale molécule de costimulation CD28, a été associé à une forte incidence de LPT, en particulier du système nerveux central, impliquant des patients séronégatifs pour l'EBV, ce qui a conduit à contre indiquer son utilisation chez ces patients (38,39).

Par ailleurs le nombre important de LPT dans le registre français permettait de mettre en évidence les facteurs de risque spécifiques de certains sous-groupes. Ainsi les LPT précoces (plus souvent polymorphes) étaient associés au mismatch HLA-B et à la durée d'ischémie froide probablement du fait d'une stimulation allogénique plus intense car amorcée par les mécanismes non spécifiques de l'immunité innée.

Concernant l'immunosuppression, les traitements d'induction lympho-déplétants étaient particulièrement associés aux lymphomes monomorphes tardifs ainsi qu'aux lymphomes cérébraux, ces deux entités étant également associées à un âge avancé. La ciclosporine et l'imurel étaient quant à eux associés aux lymphomes au sein de la greffe.

### 2.2.2. PRONOSTIC

La mortalité du LPT est élevée, oscillant entre 40 et 70% à 5 ans. L'International Prognostic Index (IPI) qui prend en considération l'âge supérieur à 60 ans, le *Performans Status* (PS), le nombre de sites ganglionnaires atteints, le stade selon Ann Arbor et enfin le taux de LDH sérique, est issu des cohortes de DLBCL. Bien que cette dernière entité soit la plus fréquemment rencontrée en cas de LPT, il s'agit d'une maladie spécifique et plus hétérogène. Ainsi à partir de la cohorte française évoquée ci-dessus, dans laquelle la survie à 5 ans était de 53% et celle à 10 ans de 45%, des facteurs pronostics ont été identifiés et un score spécifique établi (40). Les facteurs de bon pronostic étaient l'induction par un anti-IL2R, une survenue précoce et la diminution de l'immunosuppression. Ceux de mauvais pronostic étaient l'âge > 55 ans, une créatininémie > 133 µmol/L, un taux de LDH élevé, une histologie monomorphe et la dissémination. Ces 5 facteurs constituent un score allant de 0 à 5 (les autres facteurs non pris en compte étaient l'atteinte du système nerveux central, l'envahissement au-delà des séreuses et les formes T). La mortalité à 5 ans était de 8% pour le groupe à faible

risque (score à 0), de 17% pour le groupe à risque modéré (score à 1), de 41% pour le groupe à risque élevé (score à 2 ou 3) et enfin de 65% pour le groupe à très haut risque (score à 4 ou 5).

Concernant le statut EBV de la tumeur, alors que les premières études rapportaient un moins bon pronostic pour les tumeurs EBV négatives (qui constituent certainement une entité différente) cela n'est pas retrouvée dans les études prospectives plus récentes ni dans une étude rétrospective récente focalisée sur le sujet (21).

Initialement l'absence d'immunisation pour le CMV chez le receveur (sérologie négative lors de la transplantation) et la survenue d'une infection à CMV ont été identifiées comme des facteurs de risque de LPT (41), sans que cela ne soit retrouvé dans les études plus récentes (42). Les statuts sériques pour le CMV et l'EBV sont fortement corrélés pouvant certainement expliquer les résultats obtenus dans les études les plus anciennes dans lesquelles la sérologie EBV était le plus souvent inconnue.

### 2.2.3. CAS DES PATIENTS SÉRONÉGATIFS.

La séroprévalence de l'EBV atteint 90 à 95% à l'âge adulte. Le moment de la séroconversion varie en fonction des conditions socio-économiques. Elle est précoce et le plus souvent infra-clinique dans les pays en voie de développement où 50% des enfants sont séropositifs à 5 ans. Ailleurs elle survient souvent entre 15 et 24 ans, se manifestant classiquement sous la forme d'une mononucléose infectieuse.

Dès 1985, la séronégativité pour l'EBV a été identifiée comme le plus important facteur de risque de développer un LPT, expliquant en partie leur incidence plus importante chez l'enfant (43). Cela est également le cas pour les LPT tardifs dans une moindre mesure

que pour les précoces. En revanche, comme attendu, les LPT négatifs pour l'EBV ne sont pas associés à la séronégativité (44).

En 1995 Aris et al rapportèrent une série pédiatrique de transplantés pulmonaires dans laquelle l'incidence de LPT précoce s'élevait à 33% parmi les enfants séronégatifs contre 1,7% chez les patients immunisés (45).

En 2009, Opelz a publié les données de la Collaborative Transplant Study (CTS) en s'intéressant aux patients pour lesquels le statut EBV était connu (soit 18 682, greffés entre 1995 et 2007) (42). L'incidence de la séronégativité était à l'âge adulte d'environ 10%. Le risque de développer un LPT était 6,5 fois supérieur parmi les patients EBV négatif et particulièrement durant la première année de greffe. Ce risque persistait quel que soit l'âge du receveur et ne concernait que les patients ayant reçu un organe d'un donneur séropositif. Dans le cas contraire (D-/R-) le risque rejoignait celui des patients EBV positifs sauf pour les transplantés hépatiques où curieusement le statut sérologique EBV n'affectait pas le risque de LPT (pas de sur-risque en cas de sérologie EBV D+/R-).

Dans le registre français, les patients séronégatifs recevant un greffon d'un donneur positif présentaient un sur-risque de 5.3, allant jusqu'à 11.7 si on se focalisait sur les LPT précoces. Ainsi ces patients, pourtant rare, représentaient 27% des cas de LPT précoces. Pour les LPT tardifs le sur-risque était de 2,2 (31).

Concernant le pronostic, la séronégativité ne semble pas influencer la survie.

## **2.3 LES PRINCIPES DU TRAITEMENT**

En préambule il convient de préciser que la prise en charge des LPT n'est pas consensuelle car reposant sur des données avec un faible niveau de preuve (27). En effet

l'hétérogénéité de cette maladie (organes transplantés, type histologique, statut EBV, précoce ou tardive) rend la mise en place d'essai clinique difficile tout comme l'interprétation de leur résultats (à ce jour, seule des études rétrospectives et prospectives de phase 2 ont été réalisées).

### 2.3.1. LA RÉDUCTION DE L'IMMUNOSUPPRESSION

La baisse voire l'arrêt des traitements immunosuppresseur afin de permettre la restauration de la réponse immunitaire (en particulier la réponse cytotoxique anti-EBV), est la première étape nécessaire à la prise en charge des LPT. En absence de rémission complète un traitement actif visant les cellules tumorales doit être introduit. Comme exposé ci-dessus l'efficacité de cette stratégie a rapidement été mise en évidence, elle est à la base de la distinction entre forme polymorphe et forme monomorphe, classiquement résistante à cette seule approche (21). Il n'existe pas de consensus quant aux modalités précises de la réduction ou de l'arrêt de l'immunosuppression, dont l'efficacité très variable concerne d'avantage la population pédiatrique, les formes précoces et comme dit précédemment polymorphes. A noter que la seule étude prospective ayant quantifié l'efficacité de cette stratégie (dans ce cas arrêt de l'azathioprine et diminution de 75% des inhibiteurs de la calcineurine) n'a observé aucune rémission complète (46). Plus récemment une étude a montré un taux de rémission de 45% par simple diminution de l'immunosuppression (37% de réponse complète et 8% de réponse partielle). Le taux de rechute était de 17% parmi les rémissions complètes (47).

### 2.3.2. LES TRAITEMENTS ANTI-VIRAUX

Quels qu'ils soient (acyclovir/valacyclovir, gancyclovir/valgancyclovir) leur efficacité se limite à la composante lytique du cycle de reproduction de l'EBV. Ainsi leur efficacité

théorique au stade de la LPT est limitée. Néanmoins il existe un cas rapporté par Hanto en 1982 de régression puis de croissance d'un LPT corrélées respectivement à l'introduction puis à l'arrêt de l'acyclovir (48). Sur cette base de nombreuses équipes ont utilisé des anti-viraux malgré l'absence d'essais comparatifs.

Une voie de recherche consiste à utiliser un traitement antiviral en association avec une molécule induisant le cycle lytique pour optimiser son efficacité. Une étude de phase I/II utilisant l'arginine butyrate et le gancyclovir a rapporté une rémission chez 9 des 15 patients inclus (49).

### 2.3.3. LA CHIMIOTHÉRAPIE ET LE RITUXIMAB

Les LPT étant majoritairement des lymphomes B (CD20 positif) leur prise en charge jusque-là dominée par la chimiothérapie de type CHOP (Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine et Prednisolone) a été bouleversé par l'arrivée du Rituximab (Mabthera®, Roche), un anticorps monoclonal anti-CD20 chimérique. Le Rituximab en monothérapie a été évalué dans 3 essais prospectifs de phase 2 où le taux de réponse globale était de 55%, proche de ceux observés avec la chimiothérapie (50–52). Ce taux de réponse élevé par rapport aux lymphomes B diffus « classique » atteste d'une physiopathologie spécifique.

La limite de cette approche est le taux élevé de rechute à 1 an (57% en cumulant les deux principales études) conduisant presque systématiquement à introduire un traitement de seconde ligne. Partant de ce constat et des taux élevés de mortalité observés avec la chimiothérapie par CHOP, un essai de phase 2, PTLD-1 Trial, a été monté où les patients reçoivent de façon séquentielle 4 injections de Rituximab puis 4 cycles de CHOP avec l'idée que cette dernière serai mieux tolérée après réduction de la masse tumorale et amélioration de l'état général (53). Les résultats ont été très satisfaisants avec un taux de réponse global de

90%, une survie moyenne de 6,6 ans et une faible toxicité de la chimiothérapie. Ces études ont permis d'identifier les patients qui pourraient bénéficier d'une monothérapie par le Rituximab, à savoir ceux en rémission complète ou en rémission partielle et avec un score IPI bas après 4 injection de Rituximab (54).

Par ailleurs une étude récente a montré que la fonction rénale des patients avec un LPT était préservée malgré la baisse de l'immunosuppression en cas de chimiothérapie par CHOP démontrant les vertus immunosuppressives de celle-ci, cela était également le cas dans une moindre mesure en cas de monothérapie par Rituximab (55).

#### 2.3.4. LA THÉRAPIE CELLULAIRE.

Cette stratégie consiste à reproduire la réponse immunitaire cellulaire anti-EBV ayant cours chez les sujets sains en infusant des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques des protéines de latence de l'EBV. Elle a été développée initialement pour les LPT survenant chez les receveurs de moelle osseuse. Dans ce cas les cellules tumorales sont originaires du donneur à partir duquel on développe *in vitro* les CTL anti-EBV.

En greffe d'organe solide la tumeur est le plus souvent originaire du receveur rendant cette stratégie complexe. En effet l'expansion *in vitro* des CTL anti-EBV du receveur est rendu difficile par le contexte d'immunosuppression voir par l'absence d'immunisation préalable (chez les sujets séronégatifs pour l'EBV) (56). Une stratégie alternative a consisté à générer une banque de CTL anti-EBV issus d'un panel de donneurs sains représentatif des principaux haplotypes du HLA. En 2007 une étude de phase 2 utilisant cette stratégie a montré des résultats intéressants avec un taux de réponse globale de 64% et de bons résultats à long terme (57). Malgré ces résultats encourageants peu de centres ont recours à cette technique du fait de la lourdeur de la procédure.

## 2.4 PRÉVENTION DES PTLDS

### 2.4.1. LES TRAITEMENTS ANTI-VIRAUX

#### *Rationnel et historique*

Les traitements anti-viraux (acyclovir et gancyclovir) sont efficaces *in vitro* sur la phase lytique du cycle de reproduction de l'EBV puisqu'ils agissent, après avoir été phosphorylés, en inhibant l'ADN polymérase virale (pas nécessaire lors du cycle latent où le virus utilise l'ADN polymérase de son hôte). Le gancyclovir d'avantage phosphorylé est réputé plus efficace que l'acyclovir. Le valacyclovir et le valgancyclovir sont des prodrogues de l'acyclovir et du gancyclovir respectivement, avec une meilleure absorption digestive.

Nous avons vu que l'EBV est présent sous forme latente dans les cellules B à l'origine des LPT, il existe néanmoins des arguments laissant à penser que le cycle lytique joue un rôle dans la pathogénie du LPT. En effet Babcock dans son étude princeps a identifié parmi les patients transplantés avec une charge virale élevées, 4 patients présentant uniquement un ADN de l'EBV épisomal, caractéristique d'une reproduction « latente », et 3 ayant à la fois de l'ADN épisomal et de l'ADN linéaire, caractéristique d'une reproduction lytique active (12). Par ailleurs, comme nous l'avons dit ci-dessus Qu et Al avait identifié des ARN appartenant au cycle lytique chez des patients récemment transplantés (19).

Dès 1992, Boyle et al testèrent l'efficacité du traitement antiviral dans un modèle de souris SCID (souris dépourvues de système immunitaire) ayant reçu des lymphocytes issus du sang périphérique de donneurs séropositifs pour l'EBV (infection « latente ») ou de donneurs séronégatifs secondairement infectés *in vivo* (infection « lytique »). Ils constatèrent que ni l'acyclovir ni le valacyclovir ne permettait de prévenir la survenue d'une lymphoprolifération B. Néanmoins, dans le modèle d'infection active, le traitement antiviral permettait de retarder son développement (58,59).

### *La population générale des transplantés d'organe.*

Les premières données sur les antiviraux en prévention des LPT ont été rapportées par Davis en 1995 dans une population de 123 transplantés hépatiques et de 83 reins-pancréas recevant du gancyclovir en post opératoire immédiat, puis 3 mois d'acyclovir montraient une faible incidence de LPT (2/83 et 1/123) en comparaison d'une cohorte historique (60). En 1997 Darenkov publia une étude avant (pas de traitement) / après (gancyclovir puis valacyclovir) de 377 transplantés, qui retrouvait significativement moins de LPT dans le groupe « protégé » (61). Le seul essai randomisé à ce jour, mené par Green en 1997, comparait dans une population pédiatriques de greffés hépatiques le gancyclovir pendant 2 semaines à cette même molécule relayé par de l'acyclovir pendant 50 semaines (62). Aucune différence significative ne fut observée entre les deux groupes, les limites de cette étude étant l'absence de bras contrôle.

Par la suite deux études rétrospectives issues de grands registres de transplantation rénale retrouvèrent des résultats contradictoires. En 2005 Funch et al mirent en évidence un effet bénéfique de la prophylaxie antivirale avec une réduction du risque de LPT de 83% en particulier la première année et avec le gancyclovir plutôt que l'acyclovir (63). En revanche Opelz, avec les données du CTS ne mis pas en évidence de différence significative entre les patients ayant ou non reçu une prophylaxie (64)

### *Les patients EBV négatifs*

Comme nous l'avons souligné précédemment les patients séronégatifs pour l'EBV à la greffe représentent une population particulière, où la transmission du virus n'est pas physiologique. Le cycle lytique qui participe à la propagation du virus pourrait dans ce cas

jouer un rôle décisif. Les données dans cette population sont rares, anciennes et réalisées sur des effectifs très réduits avec des groupes contrôles imparfaits.

Le traitement antiviral ne permet pas d'empêcher la transmission de l'EBV, en effet en 1998, McDiarmid publia des données prospectives concernant des enfants transplantés hépatiques où les patients séronégatifs recevaient au minimum 100 jours de gancyclovir par voie intra-veineuse (groupe fort risque) contre du gancyclovir uniquement pendant l'hospitalisation, relayé par de l'acyclovir en cas de séropositivité (faible risque) (65). Dans le groupe fort risque, la PCR EBV devint positive chez 15 des 18 enfants. Néanmoins aucun enfant ne développa de LPT avec un suivi moyen de 275 jours, contre 2 cas sur 22 enfants dans le groupe à faible risque.

Dans l'essai randomisé de Green 66% des enfants recevant une transplantation hépatique étaient séronégatifs, l'analyse de ce groupe ne mettait pas en évidence de différence significative entre prophylaxie antivirale courte (15 jours de gancyclovir IV) et prolongée (15 jours de gancyclovir IV suivi de 50 semaines d'acyclovir à fortes doses (800 mg/m<sup>2</sup> x2 /24h) (62). En 2002 dans une étude avant / après avec 18 patients greffés thoraciques, Malouf retrouva une incidence de LPT nulle dans le groupe avec prophylaxie vs 33% dans le groupe sans prophylaxie constitué de seulement 3 individus (66).

Dans les deux études rétrospectives citées ci-dessus la part des patients EBV négatifs était inconnue du fait de l'absence de généralisation de la sérologie en pré-greffe. La proportion d'enfants et donc probablement de patients EBV négatifs était plus importante dans l'étude de Funch, ce qui pourrait expliquer les résultats contradictoires. Néanmoins Opelz a publié les données du CTS concernant le groupe des patients connus EBV négatifs, et ne retrouvait pas d'efficacité du traitement antiviral (incidence de 2,7% avec prophylaxie vs 1,9% sans prophylaxie, p = 0,09) (42).

En 2012, Höcker et al ont publié une étude s'intéressant aux patients séronégatifs pour l'EBV issus d'une cohorte pédiatrique multicentrique de greffe rénale dans laquelle tous les patients bénéficiaient d'une surveillance systématique et rapprochée de la PCR virale (17). Sur la base de leur statut EBV et/ou des habitudes de chaque centre vis-à-vis de la prévention des LPT, 20 enfants avaient reçu un traitement par valgancyclovir pour une durée de 100 jours et 8 autres aucun traitement. Le traitement antiviral était significativement associé avec une plus faible incidence de primo-infection pendant la première année, définie comme une virémie détectable ou une séroconversion. A 5 mois tous les patients sans prophylaxie avaient contracté une primo-infection contre 25% dans le groupe avec prophylaxie dans lequel la primo-infection survenait le plus souvent après l'arrêt du traitement (45% à 1 an). Il n'existait pas de différence significative entre les deux groupes, ni pour les primo-infections dite symptomatiques (syndrome pseudo-grippal et mononucléose infectieuse) ni pour les LPT (un seul par groupe).

Ainsi il semble que les traitements antiviraux aient un effet sur le déroulement de la primo-infection, sans que l'effet clinique sur la survenue d'évènements à court terme ne soit démontré.

nom / année	type	patient	type de greffe (n)	induction	sero statut EBV (% positif)	groupe / TTT antiviral (n)	suivi moyen	résultats		
								Incidence LPT	p	
Davis / 1995	rapport	adulte	RP (83) F (123)	49% de SAL pour les RP	97%	Gancyclovir puis acyclovir	ND	2/83 1/123	ND	ND
Green / 1997	essai randomisé	enfant	F (48)	aucune	44%	GI : ganciclovir 2 s puis acyclovir 50 s (24) GII : ganciclovir 2 s uniquement (24)	1 an	globale : GI : 8 (33%) GII : 5 (21%) parmi EBV neg GI : 8 (66%) GII : 5 (33%)	NS	ND / cellules B EBER+
Darenkov / 1997	avant / après	adulte	R + RP + F (377)	SAL	GI : 97% GII : 93%	GI : contrôle (179) GII : Gancyclovir pendant durée SAL (198)	ND	GI : 7 (3,9) GII : 1 (0,5)	<0,03	67 jours (30 - 122) / ND
McDiarmid / 1998	prospectif	enfant	F (40)	aucune	GI : 0% GII : 100%	fonction statut EBV : GI ganciclovir pendant 100 jours (18) GII ganciclovir pendant hospitalisation puis acyclovir (22)	275 jours	GI : 0 GII : 2 (11%)	ND	< 1 an / polymorphe
Malouf / 2002	avant / après	adulte	P et CP (18)	aucune	0%	GI : acyclovir ou valacyclovir (15) GII : aucun (3)	724 jours	GI : 0 (0%) GII : 1 (33%)	ND	< 1 an
Funch / 2004	cas / témoin	adulte et enfant	R (100)	environ 40% de SAL	75% mais 42% de données manquantes	acyclovir ganciclovir		OR : 0,46 OR : 0,17	NS <0,05	< 1 an : 62% > 1 an : 38%
Opelz / 2007	retrospectif	adulte	R (44828)	25 % de SAL	ND	GI : aucune prophylaxie (30255) GII : anti-CMV Ig (2103) GIII : acyclovir (7670) GIV : gancyclovir (4800)	4,1 an	GIVS GII + GIII + GIV G IIVS GI G IIVS G III + IV	0,62 0,012 0,016	< 1 an
								G IIVS G II + III + IV	0,97	< 5 ans

**Tableau 3**, revue des études évaluant l'efficacité de la prophylaxie antiviral sur la survenue des LPT.

#### 2.4.2. IMMUNOPROPHYLAXIE

L'immunoprophylaxie active via une vaccination s'adressant en particulier aux enfants a été un important champ d'investigation sans résultats probant à ce jour (27), contrairement à l'immunoprophylaxie passive au moyen d'immunoglobulines IV (IgIV). En effet des Ig anti-EBV spécifiques sont retrouvées dans l'ensemble des préparations commerciales d'IgIV. En 1997 des données expérimentales, reprenant les modèles d'infection active et passive dans des souris SCID décrits ci-dessus, ont mis en évidence un effet bénéfique (59). Dans ce contexte un essai clinique a été conduit, en transplantation hépatique chez des enfants, retrouvant une tendance favorable à l'utilisation d'IgIV (prévalence de LPT à 2 ans de 9% dans le groupe traité vs 16% dans le groupe placebo)(67). Opelz dans une étude rétrospective des données du CTS retrouvait un effet bénéfique des IgIV (prescrites alors comme Ig-anti-CMV) sur la survenue des LPT précoces mais pas sur celle des tardifs (64).

#### 2.4.3. MONITORAGE DE LA CHARGE VIRALE ET STRATÉGIE PRÉEMPTIVE.

##### *Monitoring de la charge virale (PCR EBV)*

En 1992, c'est d'abord dans la salive que le monitoring de l'EBV par PCR a été étudié chez des patients transplantés, puis rapidement la PCR quantitative a permis de mesurer la charge virale dans le sang périphérique (68). Les sujets sains, présentent de façon intermittente des charges virales EBV faibles. Plusieurs études récentes ont montré que l'ADN de l'EBV était détecté chez une grande majorité des patients transplantés avec des phénotypes variables (69,70). La positivité prolongée et les taux élevés étaient un reflet du degré d'immunosuppression (puisque corrélés à ses complications spécifiques) (71). De nombreuses études ont montré une corrélation entre la charge virale et la survenue de LPT (68,72). Néanmoins, il s'agissait le plus souvent d'études rétrospectives se focalisant sur les cas de PTLD.

Récemment une étude prospective dans une population pédiatrique de greffe rénale dans laquelle tous les enfants étaient étroitement monitoré (avec 34% de D+/ R-) a montré une absence d'association entre l'intensité et la durée de la charge virale et la morbidité lié à l'EBV dans un sens comme dans l'autre (94% des enfants présentant une charge virale élevée de façon prolongée ne présentaient de LPT avec un suivi moyen de 5,3 ans, en revanche 2 des 3 enfants ayant présenté un LPT avait précédemment des charges virales faibles) (16). Les auteurs qui par ailleurs confirment l'association entre LPT et degré d'immunosuppression et absence d'immunité pour l'EBV recommandent, d'interpréter la charge virale au regard de ces éléments.

La charge virale EBV a été beaucoup étudiée pendant la phase précoce (la première année) mais concernant le long-terme, il existe très peu de données. Récemment Morton et al dans une cohorte de transplantés rénaux (12% de patients séronégatifs à la greffe), ont montré que la prévalence de la virémie augmentait avec le temps et que les patients séronégatifs à la greffe présentaient plus souvent des charges virales élevées de façon chronique, mais il n'y avait pas de corrélation entre les différents profils de virémie et la survenue de LPT. Les auteurs concluaient en recommandant une simple surveillance clinique en dehors des patients à risque (séronégatifs) (73).

### *Stratégie préemptive*

Bien qu'aucune donnée contrôlée ne soit disponible, le monitoring de l'EBV, plus ou moins agressif, associé à une baisse de l'immunosuppression empirique en cas d'augmentation et/ou de persistance de la charge virale, est devenu la règle (pour 77% des centres de transplantation en Europe comme récemment démontré) (74). De nombreux centres ont rapporté que la mise en place de telles stratégies ont permis une baisse de l'incidence des LPT en comparaison de leurs données historiques. Le risque de cette approche

est l'augmentation du taux de rejet en regard de la baisse de l'immunosuppression (qui a pu être constaté)(47,69).

Ainsi une nouvelle stratégie, d'abord développée en greffe de moelle osseuse (75,76), consiste à introduire du Rituximab associé ou non à la baisse de l'immunosuppression en cas de charge virale augmenté et/ou persistante. En 2011, Martin et al ont rapporté leur expérience dans une série de greffés rénaux et rein -pancréas à risque (D+/R- pour l'EBV) où les patients recevaient du Rituximab associé à une baisse de l'immunosuppression en cas de virémie persistante ou de primo-infection symptomatique (77). Sur les 20 patients virémiques, 6 ont reçu du Rituximab, 1 seul cas de LPT a été observé chez un patient non traité. Le groupe contrôle consistait en un groupe de 6 patients ayant échappé à l'inclusion dans le protocole, dans lequel 50% des patients ont présenté un LPT la première année. Plus récemment des données comparables ont été obtenues dans une série française de greffés cardiaques (78).

Au terme de cette revue de la littérature, plusieurs constats s'imposent. A ce jour, l'immunosuppression reste un préalable indispensable à la survie d'un organe transplanté. Malgré les progrès réalisés, elle demeure aspécifique, entravant le bon fonctionnement de l'immunité bien au-delà de la prévention du rejet, avec des conséquences pouvant être fatales. Les néoplasies viro-induites et en particulier les LPT due au virus de l'EBV sont parmi les plus préoccupantes de par leur fréquence et leur gravité. De nombreuses questions les concernant restent sans réponse, tant au niveau de leur physiopathologie précise qu'à celui de leur diagnostic, de leur prévention et de leur prise en charge.

Si on se limite aux formes induites par l'EBV, bien qu'ayant une origine commune, les LPT se caractérisent par une grande hétérogénéité expliquant certainement la difficulté à les étudier.

Les patients séronégatifs pour l'EBV lors de la transplantation représentent à coup sûr une sous population qu'il convient de distinguer. Bien que rare (environ 5% de la population), ils représentent une importante proportion des LPT qu'ils soient précoces ou tardifs, du fait d'un sur-risque majeur lorsqu'ils sont transplantés et dans le même temps « primo-infectés » avec l'organe d'un donneur séropositif pour l'EBV. Il est probable que dans cette situation singulière, l'oncogenèse, et donc les stratégies efficaces pour la prévenir, diffèrent de celles observées avec les patients séropositifs pour lesquels on observe parfois une réactivation principalement sous forme latente.

La question de l'efficacité de la prévention des LPT par l'administration d'antiviraux reste à ce jour non élucidée. Au-delà des études les plus anciennes ayant un très faible niveau de preuve et une durée de suivi limitée (60,61,65,66) les deux plus récentes (63,64) retrouvent des résultats contradictoires. Cela peut s'expliquer par l'hétérogénéité des populations étudiées. En effet comme nous l'avons vu, les antiviraux sont actifs uniquement sur le cycle lytique de l'EBV (et pas le latent) qui a une importance cruciale lors de la primo-infection. La

prophylaxie antivirale pourrait ainsi être plus efficace voir de manière exclusive, chez les patients séronégatifs pour l'EBV à l'inverse des patients déjà infectés de façon latente avant la greffe.

Aucune étude n'ayant à ce jour exploré spécifiquement cette hypothèse, c'est ce que nous avons voulu faire dans cette thèse en prenant l'avantage de la prescription des antiviraux dans le cadre de la prévention de la maladie à CMV. Nous avons ainsi réalisé une étude de cohorte rétrospective dans la population homogène des patients séronégatifs pour l'EBV lors de la transplantation d'un rein ou d'un rein combiné à un pancréas, dans laquelle nous avons étudié l'incidence de survenue des LPT en fonction de l'exposition ou non à un traitement anti-viral pendant 3 à 6 mois. Nous avons choisi de nous limiter aux adultes pour plus d'homogénéité et de débiter le recrutement à partir de l'année 2000 afin que l'effectif soit conséquent et la durée de suivi suffisante pour dépister les formes tardives et pas seulement précoces.

# **Antiviral prophylaxis in EBV seronegative kidney recipients prevents late onset PTLD.**

Simon Ville<sup>1,2</sup>, Berthe-Marie Imbert<sup>3</sup> and Jacques Dantal<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> INSERM UMR 1064, Nantes, France; Institut de Transplantation Urologie Néphrologie (ITUN), Université de Nantes, Nantes F-44000, France.

<sup>2</sup> Nephrology and Transplantation Departement, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France.

<sup>3</sup> Virology Laboratory, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France.

**Running title:** Antiviral prophylaxis in EBV seronegative kidney recipients.

**Abstract:** 294 words

**Main text:** 2295 words

**\* Correspondence should be addressed to:**

Pr. Jacques Dantal

INSERM UMR1064

30 bd Jean Monnet, 44093 Nantes Cedex 01, France

[jacques.dantal@chu-nantes.fr](mailto:jacques.dantal@chu-nantes.fr)

Phone : +33 (0)2 40 08 74 10 / Fax : +33 (0)2 40 08 74 11

## **Abstract :**

Post transplantation lympho-proliferative disease (PTLD) represents a major concern after kidney transplantation. Their pathogenesis is frequently related to Epstein Barr Virus (EBV) infection. EBV seronegativity of the recipient (around 5% in adult population) and EBV mismatch with the donor (D+/R-) are the main risk factor for as well early PTLD (< 1 year post transplantation) as late (> 1 year). The role of antiviral prophylaxis in EBV seronegative kidney recipients receiving organs from seropositive donors for prevention of PTLD remains controversial. In reality some recipients received antiviral drugs for prevent CMV infectious disease. We studied antiviral prophylaxis impact on PTLD incidence.

We performed a mono-centric retrospective cohort study, monitoring all adult kidney recipients EBV seronegative, transplanted between 01/01/2000 and 01/01/2016.

73 patients were EBV seronegative (2.95 % of all kidney recipients), 37 (50.7%, prophylaxis group) received antiviral drugs with valaciclovir or valganciclovir for 3 to 6 months vs 36 (49.3%, control group) received no antiviral drugs. Mean follow-up was 69 months in prophylaxis group and 91 months in control group. Antiviral drugs delay primo-infection with a primo-infection rate at 100 days post-transplant of 26% and 59% ( $p = 0.02$ ). All 13 observed PTLD were EBV related, 8 were early (only large B-cell lymphoma) and 5 late (with 1 Burkitt and 2 Hodgkin), furthermore we observed an EBV related smooth muscle neoplasm. Early PTLD incidence was not different between the two groups (4/37 and 4/36,  $p = 1$ , in prophylaxis and control group respectively). However concerning late events, EBV related neoplasia incidence were lower in patients treated with antiviral drugs in which no case was observed as opposed to control group in which 6 cases were reported ( $p = 0.02$ ). Despite a weak level of evidence our study suggests that antiviral prophylaxis could prevent late onset PTLD.

# INTRODUCTION

Kidney transplantation is the standard treatment for selected patients with end-stage renal disease. Transplant outcome have improved over time, but extensive morbidity results from immunosuppressive therapy, essential to prevent graft rejection. Apart from infection, cancer is the main cause of mortality and the most common malignancies are skin carcinoma and lymphomas (25,26). Indeed, 10 years after transplantation, 2% of kidney recipients will experiment a Post Transplantation Lympho-proliferative Disease (PTLD) (31).

Early PTLD, occurring during first year post transplant, are almost always related to Epstein - Barr Virus (EBV) and late PTLD in more than half of the case (27). EBV is ubiquitous herpesvirus, which infects most of the adult population. However, 5 to 10% of adults remain EBV-seronegative. Even if all immunocompromised patients could experiment PTLD due to EBV reactivation, EBV-seronegative recipients, lacking preexisting EBV specific immunity, are at higher risk of developing early but also late PTLD, especially when transplanted with an organ from a donor EBV seropositive (D+/R-) (42).

The role of antiviral prophylaxis after solid organ transplantation to prevent PTLD remains controversial (60,61,63–66). Antiviral drugs, i.e. (val-)aciclovir or (val-)ganciclovir, are efficient only against EBV lytic replication occurring mainly during primo-infection. Indeed, in seropositive patients, including viral reactivation periods, EBV located in memory B cell use essentially latent replication pathway (i.e host dependent pathway) that is resistant to these antiviral drugs (13). However, despite lack of evidence, but based on initial report showing that antiviral drugs were efficient in treating PTLD, they have been proposed for PTLD prophylaxis (48). Furthermore these same medications are extensively administered to prevent Cytomegalovirus (CMV) infection.

Whereas none prospective data are available, in recent years two large retrospective studies have given contradictory results, Funch et al concluded that (val-)aciclovir or (val-)ganciclovir administered in the first months post-transplant reduce the risk of PTLD (63), but Opelz et al did not observe a relevant influence of antiviral drugs on PTLD incidence (64). In these studies EBV-serostatus were frequently unknown and due to their limited number, EBV seronegative recipients were under represented. In addition, only few studies have explored the antiviral drugs effectiveness on PTLD incidence in the EBV seronegative population. Furthermore most often recipients were children and follow up time limited to the first 12 month post-transplant.

Thus we performed a mono-centric retrospective cohort study analyzing the relation between antiviral drugs prophylaxis and the occurrence of early and late EBV induced neoplasia in 73 EBV seronegative adult kidney or kidney combined kidney-pancreas transplant recipients.

# MATERIALS AND METHODS

## **Study design and patient population**

We performed a monocentric retrospective cohort study. Donor and recipient data were extracted from the DIVAT clinical prospective cohort ([www.divat.fr](http://www.divat.fr), N8CNIL 891735 version 2, August 2004). The data were computerized in real time as well as at each transplant anniversary.

Among all consecutive patients receiving a transplant (kidney or combined kidney-pancreas) at the Nantes University Hospital between January 2000 and January 2015, the inclusion criteria were, on the day of transplantation, to be older than 18 years and to present a negative EBV serology.

All patients received anti-viral prophylaxis in accordance with the protocol used in our center to prevent CMV infection. Patients at high risk (D+/R-) were treated 6 months, those at intermediate risk (D+/R+ ; D-/R+) only 3 months and finally those at low risk (D-/R-) received no treatment. Recipients received (val)aciclovir and since the year 2005 (val)ganciclovir, administered at a standard 'maintenance' dose of 900 mg once daily, adjusted for renal function.

Thus we compared two cohorts of patients, one cohort on chemoprophylaxis ("prophylaxis group") and a control cohort, which received no antiviral prophylaxis ("control group").

### **Diagnosis of EBV primary infection**

EBV primary infection was defined as positive EBV viremia and/or EBV seroconversion. Nantes University Hospital Virology Laboratory performed EBV viral load and EBV specific antibody measurement. According to our follow-up protocol they were determined annually but most often sooner and more frequently upon request by the nephrologist over the outpatient aftercare.

### **Diagnoses of PTLD**

PTLD was defined and classified by pathological criteria from tissues biopsy specimens by clinical pathologists according to WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. We did not consider “early lesion” but only polymorphic and monomorphic PTLD in our analysis. EBV was detected using latent membrane protein 1 (LMP1) or EBV-encoded RNA (EBER) histochemical stains.

### **Statistical Analysis**

Continuous variables were expressed as the mean +/- SEM, and compared with the Mann–Whitney nonparametric test. Discrete variable were compared using chi-square or Fisher ‘s exact test. Time to EBV primary infection or PTLD were plotted with the Kaplan–Meier representation, and survival time between different groups was evaluated with a log-rank test. Statistical significance was defined by a p value < 0.05. All statistical analyses were performed with GraphPad Prism (GraphPad Software).

# RESULTS

## Demographics

From January 1, 2000, through January 1, 2015, there was a total of 2475 kidney and kidney combined kidney-pancreas transplants performed at Nantes University hospital (ITUN). 73 recipients (2.95%) were identified as being EBV-seronegative before the transplantation. Among them 64 (87.6%) were EBV D+/R-, 5 (6.8%) D-/R- and 4 donor EBV sero-status were unknown (5.4%). According to our protocol 37 patients (50.7%) received antiviral drugs, (val)aciclovir or (val)ganciclovir, to prevent CMV infection (prophylaxis group) and 36 (49.3%) no treatment. In each group only 4 patients were misclassified (4 patients D-/R- in prophylaxis group; 3 D+/R- and 1 D+/R+ in control group).

The demographic data from the patients in the two groups are shown in Table 1. Groups were equivalent for age, gender and underlying disease leading to transplantation. There were also no differences for primary immunosuppression including exposure to anti-lymphocyte globulin (% patients and treatment duration). As expected donors and recipients CMV sero-status in the two groups were not equivalent ( $p < 0.01$ ). In addition, trend toward an increased incidence of CMV infection in the prophylaxis group were also noted ( $p = 0.06$ ).

Mean follow up were  $69.3 \pm 44.9$  and  $91.5 \pm 62.1$  months, in the prophylaxis group and in the control group respectively.

## EBV primo-infection

At 100 days post transplantation, EBV viremia and/or EBV serostatus, antiviral prophylaxis with (val-)aciclovir or (val-)ganciclovir was associated with a significantly lower incidence of EBV viremia (43% vs. 84% , $p=0.02$ ) and EBV primo-infection defined as EBV

positive viremia and/or seroconversion during follow-up (26% vs. 59%,  $p=0.02$ ) (**Table 2**). At this time primo-infection was only detected by positive viremia as none patient experimented seroconversion.

At one year follow-up no significant difference was found neither for positive viremia (43% and 58% for prophylaxis group and control group respectively) nor for primo-infection (72% vs. 74% for prophylaxis group and control group respectively). Moreover in the prophylaxis group, the majority of patients who developed EBV primo-infection did so only after termination of antiviral prophylaxis (**Figure 1**). Primo-infection occurred infrequently after the first year post transplantation and interestingly 16.7% of patients, whatever groups, remained seronegative, without any positive viremia through the whole follow-up. Of note among the 5 patients transplanted with an EBV seronegative donor (D-/R-), 3 (60%) experienced primo-infection.

### **Early PTLD**

There is no significance difference between the two groups in term of early PTLD incidence. Indeed, during the first years of follow-up, 4 PTLD were observed in each group (10.8% vs. 11.1%,  $p = 1$ ). Mean times to PTLD were  $7.2 \pm 1.3$  and  $6.0 \pm 2.1$  months ( $p = 0.55$ ) in prophylaxis and control groups respectively (**Figure 2**). In addition one patient in each group (25%) was a recipient of a combined kidney-pancreas transplantation. All patients were EBV serostatus D+/R- and when tested (7/8) had positive viremia at diagnosis ( $3.1 \pm 0.5$  months vs.  $3.4 \pm 1.8$  in prophylaxis group and control groups respectively  $p=0.59$ ). Among prophylaxis group, 3 patients received valganciclovir and 1 valaciclovir, only one was still treated at PTLD diagnosis. Pathological analysis revealed in all case EBV positive monomorphic PTLD, type diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) (**Table 3**). In half of the

patient, tumors spreads to multiples sites, kidney being the main organ affected in one case. In the other half, single site affected were mainly ORL although one cerebral localization was observed.

### **Late EBV induced neoplasia.**

Incidence of EBV induced neoplasia in follow-up after the first post transplantation year were significantly higher in recipient who did not received antiviral drugs as CMV prophylaxis (28.5% vs 0%) (**Figure 2**;  $p = 0.02$ ).

Whereas none EBV-induced neoplasia was observed in prophylaxis group, 5 patients presented a PTLD and 1 patient an EBV-associated post-transplant smooth muscle tumors in control group. Overall, 60% and 0% of EBV-induced neoplasia occurred after one year post transplantation in control and prophylaxis group respectively ( $p = 0.08$ ) with a mean time to neoplasia of  $7.2 \pm 1.2$  months vs.  $36.8 \pm 34$  ( $p=0.2$ ).

All patients who presented with late PTLD were EBV serostatus D+/R- and when tested (5/6) had positive viremia at the time of diagnosis ( $2.4 \pm 0.4$ ). Mean time to neoplasia after the first year post transplantation was  $45 \pm 29$  (from 15 to 91) months. Mean age at diagnosis was  $38.9 \pm 15$  (from 22 to 67) years. Half of patient were recipients of a combined kidney-pancreas transplantation ( $p < 0.01$ ). Pathological examination revealed that all tumors were EBV positive. Only one late PTLD were polymorphic, 4 others being monomorphic. Among this latter there were one Burkitt lymphoma, one Hodgkin and one Hodgkin-like lymphoma only the fourth was a DLBCL but uncommon because of its anaplastic pattern and its localization limited to central nervous system. Finally one patient developed EBV induced smooth muscle tumors located in liver.

Thus DLBCL represented 100% and 60% of tumors in prophylaxis and control group respectively ( $p = 0.2$ ).

When early and late events were combined, there was no significant difference between the two groups for the EBV-induced neoplasia. Considering that only patients with EBV-seropositive donor are at risk, we excluded from the analysis patient with EBV sero-status D-/R- and found a significantly lesser EBV-induced neoplasia in prophylaxis group when compared rates in both groups (**Table 4**,  $p=0.04$ ) that remained not significant trough Kaplan-Meier survival curves analysis.

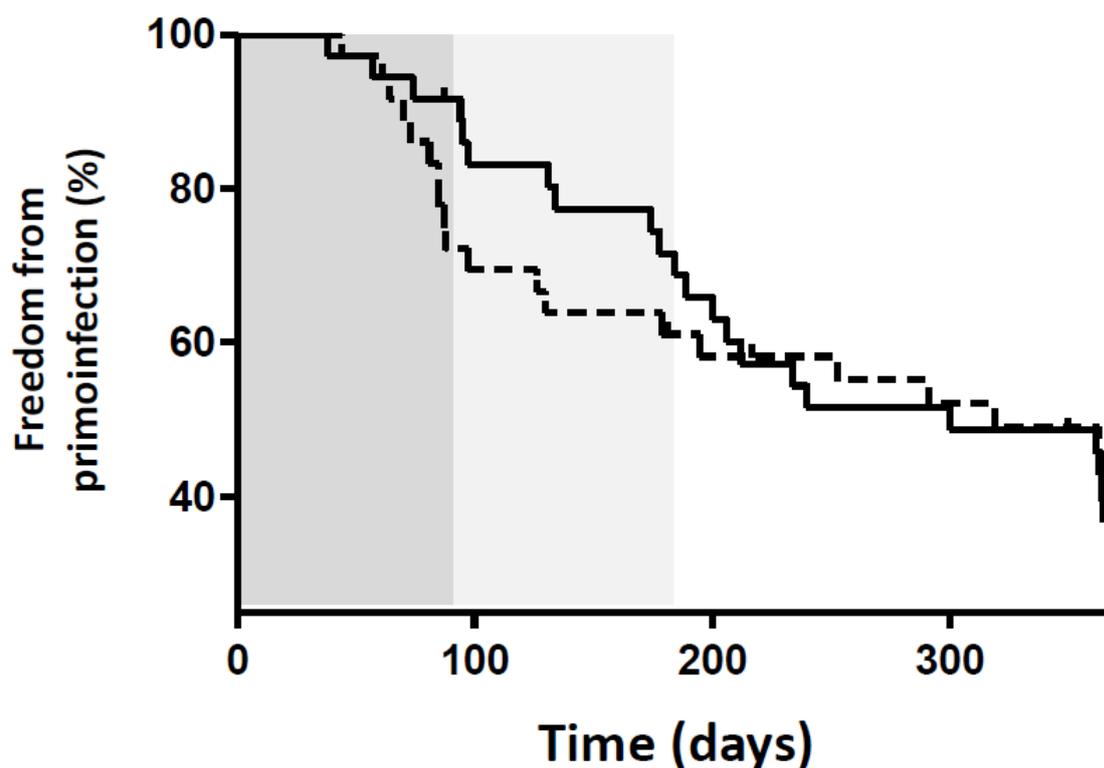
## Table and Figure legend

**Table 1, ,** Comparison of demographic data for patient received anti-viral drugs (prophylaxis group) or not (control group).

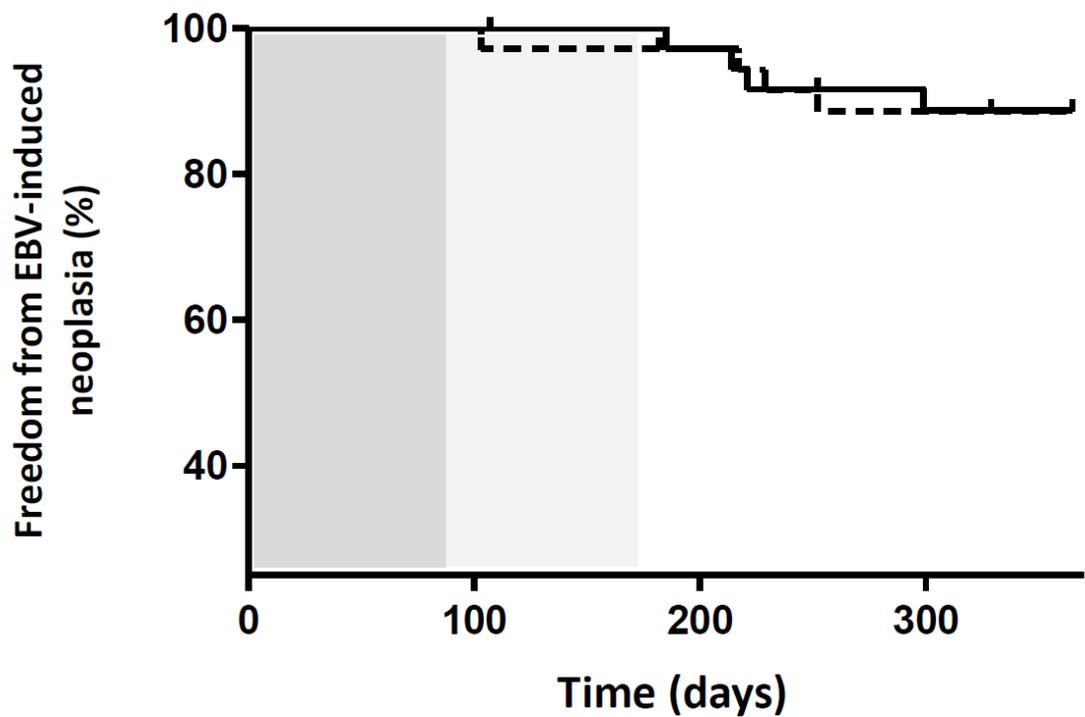
	prophylaxis (n= 37)		no prophylaxis (n= 36)		p value
	No	%	No	%	
Gender					
Female	10	27,0	13	41,9	0,19
Male	27	73,0	18	58,1	
Age at transplantation					0,36
18-32	10	29,4	15	41,7	
33-46	11	32,4	12	33,3	
47-60	7	20,6	3	8,3	
>60	9	26,5	6	16,7	
Nephropathy					0,51
ADPKD	5	13,5	2	5,6	
Diabetes	3	8,1	6	16,7	
Glomerulonephritis	6	16,2	6	16,7	
CTIN	8	21,6	3	8,3	
Glomerulosclerosis	7	18,9	8	22,2	
Congenital uropathy	3	8,1	5	13,9	
Other	5	13,5	6	16,7	
Type of transplant					0,48
Kidney	34	91,9	31	86,1	
Kidney + Pancreas	3	8,1	5	13,9	
Transplant range					0,24
1 <sup>st</sup>	34	91,9	36	100,0	
2 <sup>nd</sup>	3	8,8	0	0,0	
Donor					0,31
Deceased	34	91,9	30	83,3	
Living	3	8,1	6	16,7	
HLA mismatched					0,56
0 to 4	15	40,5	17	47,2	
4 to 6	22	59,5	19	52,8	
Donor EBV serostatus					0,36
Positive	35	94,6	29	80,6	
Negative	1	2,7	4	11,1	
Unknown	1	2,7	3	8,3	
CMV serostatus					< 0,01
D-/R-	4	10,8	32	88,9	
D+/R-	17	45,9	3	8,3	
D-/R+	8	21,6	0	0,0	
D+/R+	8	21,6	1	2,8	
CMV infection	7	18,9	1	2,8	0,06
Induction					0,28
antilymphocyte globulin	10	27,0	6	16,7	
Anti-IL2 receptor antibody	27	73,0	30	83,3	
Maintenance					
cyclosporine A	9	24,3	5	13,9	0,26
Tacrolimus	28	75,7	31	86,1	
MMF	36	97,3	34	94,4	0,61
Aziathioprine	1	2,7	2	5,6	
Steroids	28	75,7	22	61,1	0,18
Rejection	8	21,6	5	13,9	0,29
Follow-up					
mean follow-up time (month)	69,3 +/- 44,9		91,5 +/- 62,1		0,17
ongoing	23	62,2	23	63,9	0,87
return to dialysis	7	18,9	4	11,1	0,51
death	3	8,1	7	19,4	0,19
unknown	4	10,8	2	5,6	0,67

**Table 2**, Comparison of EBV viremia and primo-infection incidence after 100 days and one year of follow-up.

	100 days posttransplant		p value	12 months posttransplant		p value
	prophylaxis	no prophylaxis		prophylaxis	no prophylaxis	
positive viremia	6/14 (43)	16/19 (84)	0,02	9/21 (43)	14/24 (58)	0,3
primoinfection (positive viremia and / or EBV seroconversion)	6/23 (26)	16/27 (59)	0,02	26/36 (72)	25/34 (74)	0,9

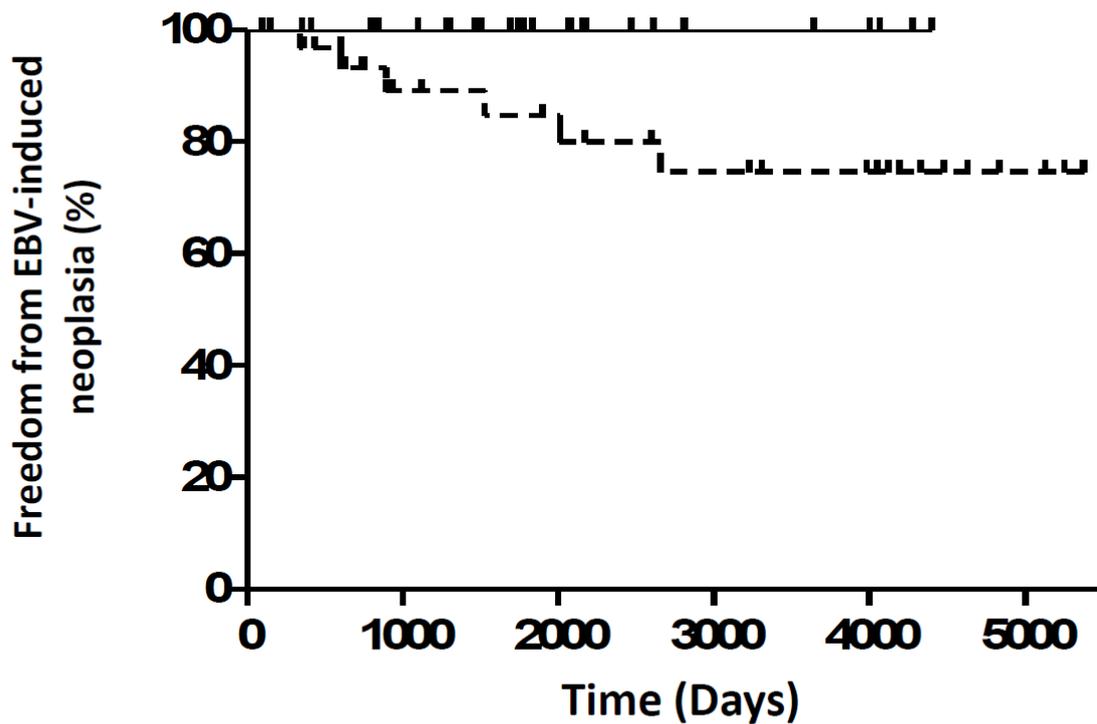


**Figure 1**, Epstein-Barr virus (EBV) primary infection-free survival in patients according to Kaplan-Meier during the first year post transplantation. Infection-free survival rates were 28% and 26% for the prophylaxis group (solid line, n = 37) and the control group (n = 36) respectively (ns). Shaded area represent period during which prophylaxis group patients received antiviral drugs. Vertical lines represent censored patient.



No. at risk	0	100	200	300	350
Prophylaxis	37	37	36	32	30
No prophylaxis	36	35	35	31	31

**Figure 2**, PTLD-free survival in patients according to Kaplan-Meier during the first year post transplantation. PTLD-free survival rates were 88.9% and 89.1% for the prophylaxis group (solid line, n = 37) and the control group (n = 36) respectively (ns). Shaded area represent period during which prophylaxis group patients received antiviral drugs. Vertical lines represent censored patient.



No. at risk						
Prophylaxis	30	24	14	5	4	0
No prophylaxis	31	21	18	14	11	4

**Figure 3**, EBV-induced-free neoplasia survival in patients according to Kaplan-Meier during follow-up after the first year post transplantation. EBV-induced-free neoplasia survival rates were 100% and 71.5% for the prophylaxis group (solid line, n = 30) and the control group (n = 31) respectively (p =0.02).

**Table 4**, Comparison of PTLD incidence between prophylaxis and no prophylaxis groups, among all patients or limited to patients at risk (EBV serostatus D+/R-)

	all patients		p values	patients at risk (D+/R-)		p values
	prophylaxis n (%)	no prophylaxis n (%)		prophylaxis n (%)	no prophylaxis n (%)	
Neoplasia EBV induced						
All	4 (10,8)	10 (27,7)	0,06	4 (11,1)	10 (31,2)	<b>0,04</b>
early	4 (10,8)	4 (11,1)	1	4 (11,1)	4 (11,1)	1
late	0 (0)	6 (19,3)	<b>0,01</b>	0 (0)	6 (28,5)	<b>&lt;0,01</b>

**Table 3, EBV-induced neoplasia characteristics.**

age of recipient at diagnosis and sex	nephropathy	Type of transplant	Transplant range	Donor	HLA mismatched	Donor EBV serostatus	Animal prophylaxis	CMV serostatus	CMV infection	rejection	Induction	Maintenance	time to PTLD	FTLD loc 1	FTLD loc 2	Ann Arbor Classification	B symptom	histology	EBV PCR	Treatment	Follow-up	
48 / M	diabetes	K+P	1	D	4	P	VG	D-/R-	N	N	ATG	FK-G-MMF	5	M	GIT	IV	Y	M / DUCBL	LMP1	3,9	R+CT	D
35 / F	glomerulonephritis	K	1	D	2	P	VA	D-/R-	N	N	ATG	cc/b-C-MMF	7	U	B	I	Y	M / DUCBL	P	3,1	R+CT+RT	CR
54 / F	glomerulonephritis	K	1	D	3	P	VG	D+/R+	N	N	anti-IL2R	FK-MMF	9	U	CNS	I	N	M / DUCBL	LMP1	2,9	R+CT	R
27 / M	glomerulonephritis	K	1	D	5	P	VG	D-/R+	Y	N	anti-IL2R	FK-G-MMF	7	M	LN	IV	Y	M / DUCBL	LMP1	2,5	R+CT	R
35 / M	Diabetes	K+P	1	D	2	P	0	D-/R-	N	N	ATG	cc/b-MMF	77	M	LN	IV	Y	M / Hodgkin-Like	LMP1	2,5	R+CT	D
37 / F	Other	K	1	D	3	P	0	D-/R-	N	N	anti-IL2R	FK-C-MMF	5	M	LN	IV	Y	M / DUCBL	LMP1	2,4	R+CT	BC
60 / F	Diabetes	K+P	1	D	4	P	0	D-/R-	N	N	ATG	cc/b-C-MMF	103	M	LN	IV	N	M / Hodgkin	LMP1	1,9	CT	D
40 / F	ADPKD	K	1	D	6	P	0	D-/R-	N	N	anti-IL2R	FK-MMF	7	U	ORL	I	N	M / DUCBL	UD	2,4	RHCTRT	BC
65 / M	glomerulonephritis	K	1	D	3	P	0	D-/R-	N	N	anti-IL2R	FK-G-MMF	3	M	K	IV	Y	M / DUCBL	LMP1	5,5	R+CT	D
20 / M	congenital ureapathy	K	1	L	3	P	0	D-/R-	N	N	anti-IL2R	FK-MMF	42	M	GIT	IV	Y	M / Burkitt	UD	2,1	CT	D
33 / M	Diabetes	K+P	1	D	3	P	0	D-/R-	N	Y	ATG	FK-G-MMF	63	U	CNS	I	N	M / DUCBL anaplastic	EBER	MD	R+CT	R
33 / F	Diabetes	K+P	1	D	3	P	0	D-/R-	N	N	ATG	FK-G-MMF	8	MD	ORL	MD	MD	M / DUCBL	EBER	MD	MD	D
31 / F	CTIN	K	1	D	3	P	0	D-/R-	N	N	anti-IL2R	FK-G-MMF	32	U	ORL	I	N	P	EBER	5,7	R	CR
32 / M	glomerulonephritis	K	1	D	5	P	0	D-/R-	N	N	anti-IL2R	FK-G-MMF	27	-	L	-	-	Smooth muscle tumor	EBER	2,5	CT	PR

# DISCUSSION

This is the first study, with a long term follow-up that address antiviral prophylaxis effectiveness on the prevention of EBV-induced neoplasia, specifically in EBV seronegative adult kidney recipients. Our data demonstrated that this anti-viral administered for CMV prophylaxis also delay (but not prevent) EBV primoinfection and reduce the late (but not the early) EBV related malignancies.

We observed that, whereas at 100 days, patient treated with antiviral drugs had significantly less positive EBV viremia compared with control group, this difference did not exist at one year post transplantation. As presented above antiviral drugs used are only active on EBV lytic replication (i.e. essentially during primo-infection). In EBV seronegative recipient transplanted with an organ from a seropositive donor, primo-infection occur in a vast majority of recipients (16,18). Even if it is an original and non-physiological situation (EBV being transmitted via donor passenger lymphocytes instead of oropharyngeal shedding) EBV lytic replication occurred probably that could explained some antiviral drug effects. Previously experimental model of “lytic infection” in SCID mouse have shown that antiviral drugs delay primo-infection (58,59). Recently Höcker et al. in a pediatric prospective study with only kidney recipient at risk (i.e. EBV D+/R-), closely monitored for EBV viremia, shown that (val-)ganciclovir during 100 days post-transplant decreased significantly incidence of primo infection including at one year (45% and 100% in prophylaxis and control groups respectively). Furthermore they revealed that antiviral drugs were associated with a lower EBV viral load, suggesting a biological effect on active EBV replication (17).

We observe that at 100 days post transplantation all patients with a positive viremia were still seronegative, likely due to the inhibition of the humoral response by immunosuppression. Others, in adults and in children SOT recipients, have already described

that seroconversion could occur only several months after positive viremia (77). Interestingly among patients with EBV-seronegative donor 60% experiment primo-infection, a recent published cohort of EBV seronegative kidney recipients including EBV D-/R- sero-status, find identical result, suggesting an alternative transmission pathway (18). However absence of increased risk of PTLD has been shown in this population (42).

Despite this effect on primo-infection, we observed identical number of PTLD during the first year post transplant among the two groups, suggesting for emergence of the PTLD, pathophysiological mechanisms independent of the timing of primo-infection. To date, some studies addressing this question specifically in EBV seronegative transplant recipients, revealing a beneficial effect of antiviral treatment on early EBV incidence and some others none (60,61,63–66). The only controlled trial, performed in pediatric liver transplant recipients, observed a trend toward a higher PTLD incidence in a group treated with ganciclovir 2 weeks then acyclovir 50 weeks compared with a group receiving only ganciclovir during 2 weeks (66% and 33% respectively) (62).

As expected all 8 PTLD were EBV positive and pathological examination revealed only DLBCL. Indeed early PTLD are usually EBV-induced and constituted of activated B-blasts that expressed the EBV growth program. They are thought to be recently infected B cells unable to stop their proliferation and to become resting memory B cells as normally occurs in addition to an ineffective cellular immune response via cytotoxic T lymphocytes (CTL) EBV-specific are unable to limit their spread. Most often reduction of immunosuppression allows to boost the immune response of these latter cells and causes tumoral remission.

Surprising the incidence of late onset EBV-induced neoplasia was significantly lower in prophylaxis group compared with control group. Indeed whereas 6 events were observed in this latter, none was observed in patient having received prophylaxis. Current available

studies, mainly in pediatric setting, care about the first year post transplantation because most of the PTLD are thought to occur during this period. However recent cohort of transplanted patients revealed that, although PTLD occur most frequently during early period, its incidence remained high throughout years post transplantation (31). Five PTLD and smooth muscle tumor were EBV-induced as reported in up that 50% of late PTLD. As opposed to what was seen in early PTLD, most case were not DLCBL but other histologic type, suggesting a different oncogenesis process. We have seen that exposition to antiviral drugs during first contact with EBV via this particular pathway (lymphocyte passenger in transplanted organ) impact EBV infection and potentially its progression. Tumorigenesis is a complex process (5) and antiviral prophylaxis, even early, could finally protect patient from tumors onset. In this regard some experimental data in humanized mice have shown that lytic phase has an important role in the development of lymphoma (79,80).

Our study has several limitations mainly due to his retrospective design. First, groups are not equivalent concerning CMV donor-recipient serostatus because all patients, except CMV D-/R-, received antiviral drugs. Early studies revealed an association between CMV seronegativity and PTLD incidence (41), however this is not confirmed in a recent cohorts (31,42). A potential explanation is that CMV and EBV seronegativity are positively correlated and previously EBV serostatus was often unknown. Moreover, whatever the treatment group in our series, no CMV disease was observed among patients developing PTLD. Of interest, Opelz reported an association between hospitalizations related to CMV infection (42), possibly due to absence of antiviral prophylaxis, and PTLD incidence in the follow-up.

Patients in prophylaxis group did not receive the same treatment. Although (val)ganciclovir is *in vitro*, more efficient than val(ciclovir) this difference was not evidenced in a recent prospective study comparing these two drugs (16,17).

Obviously, a prospective, randomized trial investigating the effect of antiviral prophylaxis on PTLD incidence would have been more relevant, but such a study is difficult to perform because EBV seronegative adult patients are rare and antiviral prophylaxis is already currently recommended for CMV infection prevention.

# CONCLUSION

In summary our data shown that antiviral prophylaxis in adult EBV seronegative kidney recipient delay EBV primoinfection in post-transplant period without prevent early PTLD as opposed to late PTLD whose incidence was significantly decreased in prophylaxis group. According to their good tolerance, treatment with (val-) ganciclovir or (val-) acyclovir should be recommended for all EBV seronegative recipients whatever their CMV serostatus during at least 3 months post kidney transplantation.

A notre connaissance, cette étude est la première à poser la question de l'efficacité de la prophylaxie antivirale pour prévenir les LPT, spécifiquement chez les receveurs adultes séronégatifs pour l'EBV lors de la greffe. Nos données retrouvent que les antiviraux retardent sans l'empêcher la primo-infection, et préviennent les néoplasies EBV induites tardives (et pas les précoces).

A 100 jours le taux de primo-infection était supérieur dans le groupe contrôle par rapport au groupe traité sans que cela ne se vérifie après 1 an. Les antiviraux seraient donc actifs dans ce cas particulier où le virus est transmis par l'organe transplanté, suggérant que le cycle lytique de l'EBV, le seul impacté par ces molécules, prend part au mécanisme de transmission. Des données expérimentales anciennes obtenues chez la souris SCID (58), ainsi qu'une récente étude ayant monitoré la virémie de l'EBV d'enfants séronégatifs lors de la transplantation (16,17), retrouvent également un effet partiel des antiviraux sur la primo-infection par l'EBV.

Malgré cet effet sur la primo-infection, nous n'avons pas observé de différence concernant l'incidence des LPT précoces, laissant à penser que l'oncogenèse propre à ces derniers est indépendante du délai d'apparition de la primo-infection. Les études ayant posé la question de l'effet des antiviraux sur l'incidence des LPT précoces, dans la population spécifique des receveurs séronégatifs, ont observé des résultats contradictoires (60,61,63–65), le seul essai contrôlé (dans une population pédiatrique de greffés hépatiques) ne mettait pas en évidence d'effet positif (62). Tous les LPT précoces que nous avons observés étaient des lymphomes B diffus à grandes cellules, EBV induits, constitués de lymphoblastes exprimant le programme de croissance de l'EBV (latence 3), dont la différenciation en cellules B mémoires semble bloquée et que les lymphocytes T cytotoxiques, rendu inopérant par l'immunosuppression, ne peuvent éliminer.

Etonnamment, l'incidence des néoplasies EBV induites tardives, survenant donc à distance de l'arrêt des anti-viraux, était significativement plus faible dans le groupe traité. A la différence de ce que nous avons observé dans les formes précoces, les LPT tardifs, bien qu'induits par l'EBV, n'étaient pas dans la majorité des cas constitué de lymphoblastes mais d'autres types cellulaires B correspondant aux différents stades de différenciation consécutifs à leur infections par l'EBV : cellules B du centre germinatif pour la maladie de Hodgkin et cellules B mémoires pour le lymphome de Burkitt.

La principale limite de notre étude est lié à sa conception rétrospective, ayant pour conséquence un déséquilibre entre les groupes concernant le statut CMV du couple donneur / receveur, le groupe contrôle étant essentiellement constitué de patient D- / R-. Bien que l'infection à CMV ait pu être incriminée dans la survenue de LPT (41), les données récentes ne retrouvent pas cette association (31,42) et suggèrent qu'il s'agissait d'un biais de confusion lié à la corrélation entre séronégativité pour le CMV et l'EBV.

Au terme de cette étude, des réflexions de différents ordres peuvent être menées. Premièrement, malgré un faible niveau de preuve et du fait de la bonne tolérance relative du (val-) gancyclovir et du (val-) acyclovir, nos résultats nous amènent à recommander leur prescription au moins 3 mois après la greffe chez tous les sujets séronégatifs pour l'EBV, quel que soit leur statut pour le CMV. Seul un essai randomisé et contrôlé pourrait démontrer ce que nous avons observé. Néanmoins étant donné d'une part la faible proportion de patients séronégatifs pour l'EBV et d'autre part l'utilisation largement répandue (à juste titre) des anti-viraux en post transplantation dans le cadre de la prophylaxie de l'infection à CMV, ce projet paraît illusoire.

Un des apports de cette étude est de mettre en exergue les patients adultes séronégatifs pour l'EBV qui du fait de leur faible nombre ne le sont que rarement de façon exclusive. Même si cela était déjà bien décrit, nos données authentifient que ces patients ont un risque

très important de développer une LPT. D'un point de vu pragmatique cela rend nécessaire la mise en place de protocole de surveillance rapproché puis d'une démarche diagnostique active en cas de suspicion. En effet même si de nombreuses questions restent sans réponses tant au niveau du suivi et du diagnostic que de la thérapeutique, le retard de prise en charge ne peut être que néfaste. Ces patients doivent donc être clairement identifiés et considérés avec une attention spécifique.

Les principales problématiques les concernant sont celles du suivi et du diagnostic et de façon corrélée, du rapport bénéfice / risque de la stratégie préemptive. En effet la seule modalité de suivi disponible à ce jour demeure la surveillance de la virémie. Néanmoins nous avons vu que la sensibilité et surtout la spécificité de cet outil pris isolément sont limitées, pouvant conduire à une intervention non dénuée de risques : le rejet en cas de baisse de l'immunosuppression ; les complications infectieuses en cas de prescription abusive de Rituximab. Il convient donc de mettre en œuvre de nouvelles stratégies de dépistage plus spécifiques, dont le développement nécessite une meilleure compréhension de l'oncogenèse des LPT qui reste à ce jour limitée (5,13).

Cet objectif est compliqué par la particularité de l'EBV d'être un virus à tropisme strictement humain, rendant impossible son étude dans les modèles animaux classiques. Ainsi les souris humanisées (dépourvues de système immunitaire et reconstituées avec des cellules humaines) représentent un modèle expérimental séduisant (81). Comme nous l'avons vu, dès le début des années 90, Boyle utilisa les souris SCID pour étudier l'effet des antiviraux sur la lymphoprolifération B induite par l'EBV : alors que dans le modèle d'infection «latente » les antiviraux ne permettaient pas de prévenir la survenue d'une lymphoprolifération B, dans le modèle d'infection active, le traitement antiviral permettait de retarder son développement (58).

Néanmoins ce modèle reste rudimentaire, en effet les souris étant incapables de produire une réaction immunitaire contre l'EBV, il ne permet pas de prendre en compte la réponse T EBV spécifique, élément prépondérant dans le développement des LPT. Plus récemment, une nouvelle génération de souris humanisées est apparue, dans lesquelles, une réponse T, spécifique de l'EBV a pu être observée (82). Dans ces souris l'EBV induit une lymphoprolifération B qui s'apparente à un DLCBL puisque constituée de lymphoblastes exprimant le programme de croissance de l'EBV (latence 3)(83). Dans ce modèle, Ma et al ont montré qu'un EBV ayant un cycle lytique déficient (KO pour la protéine virale BZLF1) induisait significativement moins de lympho-prolifération B (2/14) que le virus sauvage (6/11), suggérant un rôle du cycle lytique dans le développement des lymphomes (80). Très récemment Lee et Al ont montré que la composition du système immunitaire influence l'oncogenèse induite par l'EBV. En effet alors que les souris infectées 8 semaines après leur reconstitution (prédominance de cellules B) développaient majoritairement un lymphome non hodgkinien, celles infectées 15 semaines post reconstitution (prédominance de cellules T) présentaient principalement un lymphome hodgkinien (84).

Ainsi, en écho à nos propres données, le questionnement sur l'importance du cycle lytique dans l'émergence des lymphoproliférations EBV induites et la nécessité de distinguer leurs différentes formes anatomopathologiques, sont au centre des recherches qui permettront peut-être dans le futur d'approfondir les connaissances fondamentales sur les LPT et par la même leur prise en charge.

# BIBLIOGRAPHIE

1. Burkitt D. A sarcoma involving the jaws in African children. *Br J Surg.* 1958 Nov;46(197):218–23.
2. Thorley-Lawson DA, Allday MJ. The curious case of the tumour virus: 50 years of Burkitt's lymphoma. *Nat Rev Microbiol.* 2008 Dec;6(12):913–24.
3. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. VIRUS PARTICLES IN CULTURED LYMPHOBLASTS FROM BURKITT'S LYMPHOMA. *Lancet Lond Engl.* 1964 Mar 28;1(7335):702–3.
4. Young LS, Rickinson AB. Epstein–Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer.* 2004 Oct;4(10):757–68.
5. Mesri EA, Feitelson MA, Munger K. Human viral oncogenesis: a cancer hallmarks analysis. *Cell Host Microbe.* 2014 Mar 12;15(3):266–82.
6. Henle W, Diehl V, Kohn G, Zur Hausen H, Henle G. Herpes-type virus and chromosome marker in normal leukocytes after growth with irradiated Burkitt cells. *Science.* 1967 Sep 1;157(3792):1064–5.
7. Khanna R, Moss DJ, Burrows SR. Vaccine strategies against Epstein-Barr virus-associated diseases: lessons from studies on cytotoxic T-cell-mediated immune regulation. *Immunol Rev.* 1999 Aug;170:49–64.
8. Miyashita EM, Yang B, Babcock GJ, Thorley-Lawson DA. Identification of the site of Epstein-Barr virus persistence in vivo as a resting B cell. *J Virol.* 1997 Jul;71(7):4882–91.
9. Babcock GJ, Decker LL, Volk M, Thorley-Lawson DA. EBV persistence in memory B cells in vivo. *Immunity.* 1998 Sep;9(3):395–404.
10. Caldwell RG, Wilson JB, Anderson SJ, Longnecker R. Epstein-Barr virus LMP2A drives B cell development and survival in the absence of normal B cell receptor signals. *Immunity.* 1998 Sep;9(3):405–11.
11. Thorley-Lawson DA, Hawkins JB, Tracy SI, Shapiro M. The pathogenesis of Epstein–Barr virus persistent infection. *Curr Opin Virol.* 2013 Jun;3(3):227–32.
12. Babcock GJ, Decker LL, Freeman RB, Thorley-Lawson DA. Epstein-Barr virus–infected resting memory B cells, not proliferating lymphoblasts, accumulate in the peripheral blood of immunosuppressed patients. *J Exp Med.* 1999;190(4):567–76.
13. Thorley-Lawson DA, Gross A. Persistence of the Epstein–Barr virus and the origins of associated lymphomas. *N Engl J Med.* 2004;350(13):1328–37.
14. Olgne J, Caillard S, Gaub MP, Chenard MP, Moulin B. Post-transplant Lymphoproliferative Disorders: Determination of Donor/Recipient Origin in a Large Cohort of Kidney Recipients: Origin of PTL. *Am J Transplant.* 2011 Jun;11(6):1260–9.
15. Haque T, Thomas JA, Falk KI, Parratt R, Hunt BJ, Yacoub M, et al. Transmission of donor Epstein–Barr virus (EBV) in transplanted organs causes lymphoproliferative disease in EBV-seronegative recipients. *J Gen Virol.* 1996;77(6):1169–72.

16. Hocker B, Fickenscher H, Delecluse H-J, Bohm S, Kusters U, Schnitzler P, et al. Epidemiology and Morbidity of Epstein-Barr Virus Infection in Pediatric Renal Transplant Recipients: A Multicenter, Prospective Study. *Clin Infect Dis*. 2013 Jan 1;56(1):84–92.
17. Höcker B, Böhm S, Fickenscher H, Küsters U, Schnitzler P, Pohl M, et al. (Val-)Ganciclovir prophylaxis reduces Epstein-Barr virus primary infection in pediatric renal transplantation: (Val-)Ganciclovir reduces EBV primary infection. *Transpl Int*. 2012 Jul;25(7):723–31.
18. Hosseini-Moghaddam SM, Alhomayeed B, Soliman N, Weir MA, House AA. Primary Epstein-Barr virus infection, seroconversion, and post-transplant lymphoproliferative disorder in seronegative renal allograft recipients: a prospective cohort study. *Transpl Infect Dis*. 2016 Jun;18(3):423–30.
19. Qu L, Green M, Webber S, Reyes J, Ellis D, Rowe D. Epstein-Barr virus gene expression in the peripheral blood of transplant recipients with persistent circulating virus loads. *J Infect Dis*. 2000;182(4):1013–21.
20. Murray JE, Wilson RE, Tilney NL, Merrill JP, Cooper WC, Birtch AG, et al. Five years' experience in renal transplantation with immunosuppressive drugs: survival, function, complications, and the role of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula. *Ann Surg*. 1968 Sep;168(3):416–35.
21. Starzl TE, Nalesnik MA, Porter KA, Ho M, Iwatsuki S, Griffith BP, et al. Reversibility of lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporin-steroid therapy. *Lancet Lond Engl*. 1984 Mar 17;1(8377):583–7.
22. Nalesnik MA. The diverse pathology of post-transplant lymphoproliferative disorders: the importance of a standardized approach. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc*. 2001 Jun;3(2):88–96.
23. Weiss LM, Movahed LA. In situ demonstration of Epstein-Barr viral genomes in viral-associated B cell lymphoproliferations. *Am J Pathol*. 1989 Mar;134(3):651–9.
24. Mucha K, Foroncewicz B, Ziarkiewicz-Wroblewska B, Krawczyk M, Lerut J, Paczek L. Post-transplant lymphoproliferative disorder in view of the new WHO classification: a more rational approach to a protean disease? *Nephrol Dial Transplant*. 2010 Jul 1;25(7):2089–98.
25. Engels EA, Pfeiffer RM, Fraumeni JF, Kasiske BL, Israni AK, Snyder JJ, et al. Spectrum of cancer risk among US solid organ transplant recipients. *Jama*. 2011;306(17):1891–901.
26. Vajdic CM, McDonald SP, McCredie MR, van Leeuwen MT, Stewart JH, Law M, et al. Cancer incidence before and after kidney transplantation. *Jama*. 2006;296(23):2823–31.
27. Green M, Michaels MG. Epstein-Barr Virus Infection and Posttransplant Lymphoproliferative Disorder: EBV and PTL. *Am J Transplant*. 2013 Feb;13(s3):41–54.
28. Opelz G, Döhler B. Lymphomas After Solid Organ Transplantation: A Collaborative Transplant Study Report: **Lymphomas After Solid Organ Transplantation**. *Am J Transplant*. 2004 Feb;4(2):222–30.
29. Michonneau D, Suarez F, Lambert J, Adam J, Brousse N, Canioni D, et al. Late-onset post-transplantation lymphoproliferative disorders after kidney transplantation: a monocentric study over three decades. *Nephrol Dial Transplant*. 2013 Feb 1;28(2):471–8.

30. Caillard S, Lelong C, Pessione F, Moulin B, French PTLD Working Group. Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders Occurring After Renal Transplantation in Adults: Report of 230 Cases From the French Registry. *Am J Transplant*. 2006 Nov;6(11):2735–42.
31. Caillard S, Lamy FX, Quelen C, Dantal J, Lebranchu Y, Lang P, et al. Epidemiology of Posttransplant Lymphoproliferative Disorders in Adult Kidney and Kidney Pancreas Recipients: Report of the French Registry and Analysis of Subgroups of Lymphomas: PTLD French Registry. *Am J Transplant*. 2012 Mar;12(3):682–93.
32. Swinnen LJ, Costanzo-Nordin MR, Fisher SG, O’Sullivan EJ, Johnson MR, Heroux AL, et al. Increased incidence of lymphoproliferative disorder after immunosuppression with the monoclonal antibody OKT3 in cardiac-transplant recipients. *N Engl J Med*. 1990 Dec 20;323(25):1723–8.
33. Kirk AD, Cherikh WS, Ring M, Burke G, Kaufman D, Knechtle SJ, et al. Dissociation of depletion induction and posttransplant lymphoproliferative disease in kidney recipients treated with alemtuzumab. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2007 Nov;7(11):2619–25.
34. Dharnidharka VR, Sullivan EK, Stablein DM, Tejani AH, Harmon WE, North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS). Risk factors for posttransplant lymphoproliferative disorder (PTLD) in pediatric kidney transplantation: a report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS). *Transplantation*. 2001 Apr 27;71(8):1065–8.
35. McDonald RA, Smith JM, Ho M, Lindblad R, Ikle D, Grimm P, et al. Incidence of PTLD in pediatric renal transplant recipients receiving basiliximab, calcineurin inhibitor, sirolimus and steroids. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2008 May;8(5):984–9.
36. Robson R, Cecka JM, Opelz G, Budde M, Sacks S. Prospective registry-based observational cohort study of the long-term risk of malignancies in renal transplant patients treated with mycophenolate mofetil. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2005 Dec;5(12):2954–60.
37. Funch DP, Ko HH, Travasso J, Brady J, Kew CE, Nalesnik MA, et al. Posttransplant lymphoproliferative disorder among renal transplant patients in relation to the use of mycophenolate mofetil. *Transplantation*. 2005 Nov 15;80(9):1174–80.
38. Vincenti F, Charpentier B, Vanrenterghem Y, Rostaing L, Bresnahan B, Darji P, et al. A Phase III Study of Belatacept-based Immunosuppression Regimens versus Cyclosporine in Renal Transplant Recipients (BENEFIT Study). *Am J Transplant*. 2010 Mar;10(3):535–46.
39. Durrbach A, Pestana JM, Pearson T, Vincenti F, Garcia VD, Campistol J, et al. A Phase III Study of Belatacept Versus Cyclosporine in Kidney Transplants from Extended Criteria Donors (BENEFIT-EXT Study). *Am J Transplant*. 2010 Mar;10(3):547–57.
40. Caillard S, Porcher R, Provot F, Dantal J, Choquet S, Durrbach A, et al. Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder After Kidney Transplantation: Report of a Nationwide French Registry and the Development of a New Prognostic Score. *J Clin Oncol*. 2013 Apr 1;31(10):1302–9.

41. Mañez R, Breinig MC, Linden P, Wilson J, Torre-Cisneros J, Kusne S, et al. Posttransplant lymphoproliferative disease in primary Epstein-Barr virus infection after liver transplantation: the role of cytomegalovirus disease. *J Infect Dis.* 1997 Dec;176(6):1462–7.
42. Opelz G, Daniel V, Naujokat C, Döhler B. Epidemiology of Pretransplant EBV and CMV Serostatus in Relation to Posttransplant Non-Hodgkin Lymphoma: Transplantation. 2009 Oct;88(8):962–7.
43. Ho M, Miller G, Atchison RW, Breinig MK, Dummer JS, Andiman W, et al. Epstein-Barr virus infections and DNA hybridization studies in posttransplantation lymphoma and lymphoproliferative lesions: the role of primary infection. *J Infect Dis.* 1985;152(5):876–86.
44. Luskin MR, Heil DS, Tan KS, Choi S, Stadtmauer EA, Schuster SJ, et al. The Impact of EBV Status on Characteristics and Outcomes of Posttransplantation Lymphoproliferative Disorder: EBV Status in PTL. *Am J Transplant.* 2015 Oct;15(10):2665–73.
45. Aris RM, Maia DM, Neuringer IP, Gott K, Kiley S, Gertis K, et al. Post-transplantation lymphoproliferative disorder in the Epstein-Barr virus-naïve lung transplant recipient. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154(6):1712–7.
46. Swinnen LJ, LeBlanc M, Grogan TM, Gordon LI, Stiff PJ, Miller AM, et al. Prospective Study of Sequential Reduction in Immunosuppression, Interferon Alpha-2B, and Chemotherapy for Posttransplantation Lymphoproliferative Disorder: Transplantation. 2008 Jul;86(2):215–22.
47. Reshef R, Vardhanabhuti S, Luskin MR, Heitjan DF, Hadjiliadis D, Goral S, et al. Reduction of immunosuppression as initial therapy for posttransplantation lymphoproliferative disorder(★). *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2011 Feb;11(2):336–47.
48. Hanto DW, Frizzera G, Gajl-Peczalska KJ, Sakamoto K, Purtilo DT, Balfour HH, et al. Epstein-Barr virus-induced B-cell lymphoma after renal transplantation: acyclovir therapy and transition from polyclonal to monoclonal B-cell proliferation. *N Engl J Med.* 1982 Apr 15;306(15):913–8.
49. Perrine SP, Hermine O, Small T, Suarez F, O'Reilly R, Boulad F, et al. A phase 1/2 trial of arginine butyrate and ganciclovir in patients with Epstein-Barr virus-associated lymphoid malignancies. *Blood.* 2007 Mar 15;109(6):2571–8.
50. Evens AM, David KA, Helenowski I, Nelson B, Kaufman D, Kircher SM, et al. Multicenter Analysis of 80 Solid Organ Transplantation Recipients With Post-Transplantation Lymphoproliferative Disease: Outcomes and Prognostic Factors in the Modern Era. *J Clin Oncol.* 2010 Feb 20;28(6):1038–46.
51. Choquet S. Efficacy and safety of rituximab in B-cell post-transplantation lymphoproliferative disorders: results of a prospective multicenter phase 2 study. *Blood.* 2006 Apr 15;107(8):3053–7.
52. Oertel SHK, Verschuuren E, Reinke P, Zeidler K, Papp-Váry M, Babel N, et al. Effect of Anti-CD 20 Antibody Rituximab in Patients with Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder (PTLD): Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder (PTLD). *Am J Transplant.* 2005 Sep 28;5(12):2901–6.
53. Trappe R, Oertel S, Leblond V, Mollee P, Sender M, Reinke P, et al. Sequential treatment with rituximab followed by CHOP chemotherapy in adult B-cell post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD): the prospective international multicentre phase 2 PTL-1 trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(2):196–206.

54. Trappe RU, Choquet S, Dierickx D, Mollee P, Zaucha JM, Dreyling MH, et al. International Prognostic Index, Type of Transplant and Response to Rituximab Are Key Parameters to Tailor Treatment in Adults With CD20-Positive B Cell PTLD: Clues From the PTLD-1 Trial: Prognostic Factors in the PTLD-1 Trial. *Am J Transplant*. 2015 Apr;15(4):1091–100.
55. Trappe R, Hinrichs C, Appel U, Babel N, Reinke P, Neumayer H-H, et al. Treatment of PTLD with Rituximab and CHOP Reduces the Risk of Renal Graft Impairment after Reduction of Immunosuppression. *Am J Transplant*. 2009 Oct;9(10):2331–7.
56. Savoldo B, Goss JA, Hammer MM, Zhang L, Lopez T, Gee AP, et al. Treatment of solid organ transplant recipients with autologous Epstein Barr virus-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs). *Blood*. 2006 Nov 1;108(9):2942–9.
57. Haque T, Wilkie GM, Jones MM, Higgins CD, Urquhart G, Wingate P, et al. Allogeneic cytotoxic T-cell therapy for EBV-positive posttransplantation lymphoproliferative disease: results of a phase 2 multicenter clinical trial. *Blood*. 2007 Aug 15;110(4):1123–31.
58. Boyle TJ, Tamburini M, Berend KR, Kizilbash AM, Borowitz MJ, Lyerly HK. Human B-cell lymphoma in severe combined immunodeficient mice after active infection with Epstein-Barr virus. *Surgery*. 1992 Aug;112(2):378–86.
59. Green M, Reyes J, Webber S, Rowe D. The role of antiviral and immunoglobulin therapy in the prevention of Epstein–Barr virus infection and post-transplant lymphoproliferative disease following solid organ transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2001;3(2):97–103.
60. Davis CL, Harrison KL, McVicar JP, Forg PJ, Bronner MP, Marsh CL. Antiviral prophylaxis and the Epstein Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder. *Clin Transplant*. 1995 Feb;9(1):53–9.
61. Darenkov IA, Marcarelli MA, Basadonna GP, Friedman AL, Lorber KM, Howe JG, et al. Reduced incidence of Epstein-Barr virus-associated posttransplant lymphoproliferative disorder using preemptive antiviral therapy. *Transplantation*. 1997 Sep 27;64(6):848–52.
62. Green M, Kaufmann M, Wilson J, Reyes J. Comparison of intravenous ganciclovir followed by oral acyclovir with intravenous ganciclovir alone for prevention of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus disease after liver transplantation in children. *Clin Infect Dis*. 1997;25(6):1344–9.
63. Funch DP, Walker AM, Schneider G, Ziyadeh NJ, Pescovitz MD. Ganciclovir and Acyclovir Reduce the Risk of Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder in Renal Transplant Recipients: Anti-Virals Reduce Risk of PTLD. *Am J Transplant*. 2005 Sep 28;5(12):2894–900.
64. Opelz G, Daniel V, Naujokat C, Fickenscher H, Döhler B. Effect of cytomegalovirus prophylaxis with immunoglobulin or with antiviral drugs on post-transplant non-Hodgkin lymphoma: a multicentre retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2007;8(3):212–8.
65. McDiarmid SV, Jordan S, Kim GS, Toyoda M, Goss JA, Vargas JH, et al. Prevention and preemptive therapy of postransplant lymphoproliferative disease in pediatric liver recipients. *Transplantation*. 1998 Dec 27;66(12):1604–11.
66. Malouf MA, Chhajed PN, Hopkins P, Plit M, Turner J, Glanville AR. Anti-viral prophylaxis reduces the incidence of lymphoproliferative disease in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2002;21(5):547–54.

67. Green M, Michaels MG, Katz BZ, Burroughs M, Gerber D, Shneider BL, et al. CMV-IVIG for Prevention of Epstein Barr Virus Disease and Posttransplant Lymphoproliferative Disease in Pediatric Liver Transplant Recipients. *Am J Transplant*. 2006 Aug;6(8):1906–12.
68. Riddler SA, Breinig MC, McKnight JL. Increased levels of circulating Epstein-Barr virus (EBV)-infected lymphocytes and decreased EBV nuclear antigen antibody responses are associated with the development of posttransplant lymphoproliferative disease in solid-organ transplant recipients. *Blood*. 1994;84(3):972–84.
69. Bamoulid J, Courivaud C, Coaquette A, Chalopin J-M, Gaiffe E, Saas P, et al. Subclinical Epstein-Barr virus viremia among adult renal transplant recipients: incidence and consequences. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2013 Mar;13(3):656–62.
70. San-Juan R, De Dios B, Navarro D, García-Reyne A, Lumbreras C, Bravo D, et al. Epstein-Barr virus DNAemia is an early surrogate marker of the net state of immunosuppression in solid organ transplant recipients. *Transplantation*. 2013 Mar 15;95(5):688–93.
71. Bakker NA, Verschuuren EAM, Erasmus ME, Hepkema BG, Veeger NJGM, Kallenberg CGM, et al. Epstein-Barr virus-DNA load monitoring late after lung transplantation: a surrogate marker of the degree of immunosuppression and a safe guide to reduce immunosuppression. *Transplantation*. 2007 Feb 27;83(4):433–8.
72. Savoie A, Perpète C, Carpentier L, Joncas J, Alfieri C. Direct correlation between the load of Epstein-Barr virus-infected lymphocytes in the peripheral blood of pediatric transplant patients and risk of lymphoproliferative disease. *Blood*. 1994 May 1;83(9):2715–22.
73. Morton M, Coupes B, Roberts SA, Johnson SL, Klapper PE, Vallely PJ, et al. Epstein-Barr Virus Infection in Adult Renal Transplant Recipients: EBV in Renal Transplantation. *Am J Transplant*. 2014 Jul;14(7):1619–29.
74. San-Juan R, Manuel O, Hirsch HH, Fernández-Ruiz M, López-Medrano F, Comoli P, et al. Current preventive strategies and management of Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease in solid organ transplantation in Europe. Results of the ESGICH Questionnaire-based Cross-sectional Survey. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2015 Jun;21(6):604.e1–9.
75. Van Esser JWJ, Niesters HGM, van der Holt B, Meijer E, Osterhaus ADME, Gratama JW, et al. Prevention of Epstein-Barr virus-lymphoproliferative disease by molecular monitoring and preemptive rituximab in high-risk patients after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2002 Jun 15;99(12):4364–9.
76. Comoli P, Basso S, Zecca M, Pagliara D, Baldanti F, Bernardo ME, et al. Preemptive therapy of EBV-related lymphoproliferative disease after pediatric haploidentical stem cell transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2007 Jun;7(6):1648–55.
77. Martin SI, Dodson B, Wheeler C, Davis J, Pesavento T, Bumgardner GL. Monitoring Infection with Epstein-Barr Virus among Seromismatch Adult Renal Transplant Recipients: Preventing PTLN in EBV Mismatch Transplants. *Am J Transplant*. 2011 May;11(5):1058–63.
78. Choquet S, Varnous S, Deback C, Golmard JL, Leblond V. Adapted treatment of Epstein-Barr virus infection to prevent posttransplant lymphoproliferative disorder after heart transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2014 Apr;14(4):857–66.

79. Hong GK, Kumar P, Wang L, Damania B, Gulley ML, Delecluse H-J, et al. Epstein-Barr Virus Lytic Infection Is Required for Efficient Production of the Angiogenesis Factor Vascular Endothelial Growth Factor in Lymphoblastoid Cell Lines. *J Virol*. 2005 Nov 15;79(22):13984–92.
80. Ma S-D, Hegde S, Young KH, Sullivan R, Rajesh D, Zhou Y, et al. A New Model of Epstein-Barr Virus Infection Reveals an Important Role for Early Lytic Viral Protein Expression in the Development of Lymphomas. *J Virol*. 2011 Jan 1;85(1):165–77.
81. Fujiwara S, Imadome K-I, Takei M. Modeling EBV infection and pathogenesis in new-generation humanized mice. *Exp Mol Med*. 2015;47:e135.
82. Traggiai E, Chicha L, Mazzucchelli L, Bronz L, Piffaretti J-C, Lanzavecchia A, et al. Development of a human adaptive immune system in cord blood cell-transplanted mice. *Science*. 2004 Apr 2;304(5667):104–7.
83. Yajima M, Imadome K-I, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, et al. A new humanized mouse model of Epstein-Barr virus infection that reproduces persistent infection, lymphoproliferative disorder, and cell-mediated and humoral immune responses. *J Infect Dis*. 2008 Sep 1;198(5):673–82.
84. Lee EK, Joo EH, Song K-A, Choi B, Kim M, Kim S-H, et al. Effects of lymphocyte profile on development of EBV-induced lymphoma subtypes in humanized mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Oct 20;112(42):13081–6.

NOM : VILLE

PRENOM : Simon

**Titre de Thèse : ETUDE DE L'IMPACT DE LA PROPHYLAXIE ANTI-VIRALE SUR L'INCIDENCE DES LYMPHOPROLIFERATIONS EBV INDUITES CHEZ LES GREFFES RENALES ADULTES SERONEGATIFS**

---

**RESUME**

Les lymphoproliférations post transplantations (LPT) sont une complication grave après une greffe rénale. Elles sont fréquemment liées au virus d'Epstein Barr (EBV). La séronégativité pour l'EBV du receveur bien que rare (autour de 5% de la population) est le principal facteur de risque de survenue d'une LPT, qu'elle soit précoce (< 1an) ou tardive (> 1an). Le rôle de la prophylaxie antivirale chez les patients EBV séronégatifs demeure controversé. Dans la pratique de nombreux patients reçoivent des antiviraux dans le cadre de la prophylaxie du CMV.

Nous avons étudié l'impact de ces traitements sur l'incidence des LPT en réalisant une étude de cohorte rétrospective mono-centrique, concernant l'ensemble des transplantés rénaux adultes, EBV séronégatifs, greffés entre janvier 2000 et 2016.

73 patients étaient EBV séronégatifs, 50.7% d'entre eux (groupe prophylaxie) avaient reçu un traitement antiviral par valaciclovir ou valganciclovir pour une durée de 3 à 6 mois alors que 49.3% (groupe contrôle) n'avaient reçu aucun traitement. La prophylaxie anti-virale retardait la primo-infection EBV à 100 jours (26% contre 59% ( $p = 0.02$ )). Les 13 LPT observées étaient induites par l'EBV, 8 étaient précoces (uniquement des lymphomes B diffus à grandes cellules) et 5 tardives (dont 1 lymphome de Burkitt et 2 maladie de Hodgkin), de plus une tumeur musculaire lisse liée à l'EBV a été observée. L'incidence des LPT précoces n'était pas différente entre les deux groupes (4/37 et 4/36 dans le groupe prophylaxie et le groupe contrôle respectivement). Cependant concernant les événements tardifs, l'incidence des néoplasies induites par l'EBV était significativement plus basse chez les patients dans le groupe prophylaxie dans lequel aucun cas n'était observé, à l'inverse du groupe contrôle ou 6 cas étaient rapportés ( $p=0.02$ ). Malgré un faible niveau de preuve, notre étude suggère que la prophylaxie antivirale pourrait prévenir la survenue des LPT tardives.

---

**MOTS-CLES**

GREFFE RENALE, LYMPHOPROLIFERATION POST TRANSPLANTATION, EBV, PROPHYLAXIE ANTI-VIRALE