



Aspects immunologiques de la transplantation rénale

Immunological aspects of the kidney transplantation

الجوانب المناعية لزراعة الكلية

C. Brick, O. Atouf, N. Bennani, N. Benseffaj, S. Oudghiri, M. Essakalli

الملخص : الرفض المناعي لا يزال، في الوقت الحاضر، مجازفة كبيرة في زرع الكلى. التقييم الدقيق للحالة المناعية لجميع المرضى المنتظرين الزرع أو هؤلاء الذين تلقوا الكلية، يمكننا من التعرف على هذه المخاطر وبالتالي التحكم فيها في إطار زرع الكلية المأخوذة من عند مانح حي، يهدف هذا العمل إلى توضيح دور مختبر علم المناعة في رعاية ومتابعة المرضى : حيث يقوم بعناية ما قبل الزرع وتقييم الأداة التقنية المتاحة، ومعايير المطابقة بين المانح والملقي، ثم متابعة مرحلة ما بعد الزرع. الجزء الأخير من هذه الدراسة سيخصص لتجربة وحدة المناعة لمصلحة خدمات تحاقن الدم بمستشفى ابن سينا بالرباط.

الكلمات الأساسية : زرع الكلى – الرفض المناعي.

Résumé : Le rejet immunologique représente encore, à l'heure actuelle, un risque majeur en transplantation rénale. L'évaluation précise du statut immunologique de tout patient en attente de greffe ou greffé, permet d'apprécier ce risque. Ce travail se propose de décrire, dans le cadre de la transplantation rénale à partir de donneur vivant, le rôle du laboratoire d'histocompatibilité dans la prise en charge et le suivi immunologique des patients : bilan pré-greffe, limites et performances des techniques d'analyses disponibles, critères d'appariement des couples donneur/receveur, suivi immunologique post greffe. La dernière partie sera consacrée à l'expérience de l'unité d'immunologie du service de transfusion sanguine et d'hémovigilance de l'hôpital Ibn Sina de Rabat.

Mots clés : transplantation rénale, rejet immunologique

Abstract : The immunological rejection is still, at the present time, a major risk in kidney transplantation. Accurate assessment of the immunological status of all patients awaiting transplantation or grafted, can assessing this risk. this work is intended to describe, in the framework of kidney transplant from living donor, the role of the laboratory of histocompatibility in the immunological care and monitoring of patients : pre-transplant analysis, limitations and performance of available analysis techniques, criteria for matching pairs donor/recipient, follow-up of immunological post transplant. The last part will be devoted to the experience of the immunology unite at the blood transfusion service of ibn Sina Hospital in Rabat.

Key Words : kidney transplantation, immunological rejection

Tiré à part : C. Brick : Unité d'Immunologie, service de transfusion sanguine et d'hémovigilance, hôpital Ibn Sina, Rabat -Maroc-

Introduction

Le système immunitaire est un des obstacles majeurs en transplantation rénale. Malgré les progrès considérables réalisés, aussi bien dans les techniques chirurgicales que dans l'utilisation de thérapeutiques immunosuppressives, le rejet immunologique reste un réel problème. Il est le reflet de l'expression de la réponse immune du receveur vis à vis d'un greffon génétiquement non identique. Cette réponse est essentiellement dirigée contre les antigènes (Ag) de groupes sanguins érythrocytaires ABO et les Ag d'histocompatibilité portés par les cellules du greffon. Les Ag d'histocompatibilité sont codés par les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité, appelé HLA (Human Leucocytes Antigens) chez l'homme. On distingue essentiellement les gènes de classe I (locus A, B, C) et les gènes de classe II (locus DR, DP, DQ). En transplantation rénale, seules les molécules A, B et DR sont prises en compte pour l'appariement des donneurs et des receveurs. Ces gènes sont caractérisés par un très grand polymorphisme et par une transmission en bloc (haplotype) du chromosome. Chaque individu hérite de deux haplotypes provenant chacun d'un parent. Il existe également des Ag d'histocompatibilité dits mineurs qui peuvent intervenir mais, en général, ils ne sont pas pris en compte en transplantation.

La stratégie de prévention du rejet de greffe repose essentiellement sur la recherche de la meilleure compatibilité entre le donneur et le receveur, sur le suivi immunologique pré et post greffe et sur l'utilisation d'immunosuppresseurs. Nous décrirons ici, les moyens mis en œuvre par les laboratoires d'histocompatibilité pour préparer les patients en attente de transplantation rénale, à partir de donneur vivant, les critères d'appariements des couples donneurs/receveurs, le suivi immunologique pré et post greffe avant de présenter l'expérience du service de transfusion sanguine et d'hémovigilance (STSH) de l'hôpital Ibn Sina de Rabat.

Bilan immunologique pré-greffe

Afin d'établir la meilleure compatibilité possible entre

le donneur et le receveur un bilan immunologique pré-greffe est réalisé systématiquement. Il comprend: le groupage ABO, le typage HLA, la recherche d'anticorps (Ac) anti-HLA et le cross match (CM).

Le groupage ABO est réalisé chez le donneur et le receveur car les Ag de groupes sanguins ABO sont exprimés, non seulement sur les globules rouges, mais également sur les cellules épithéliales et les cellules endothéliales. Ainsi, les Ac naturels anti-A et anti-B du receveur peuvent attaquer les vaisseaux sanguins du greffon incompatible sur le plan ABO et entraîner un rejet [1,2]. Le groupage ABO se fait selon des techniques d'agglutination classiques, sur deux prélèvements différents, selon deux techniques, avec deux lots de réactifs différents.

Le typage HLA se fait chez le donneur et le receveur afin d'établir ou non une compatibilité tissulaire. Il peut être réalisé soit par une méthode sérologique, qui permet d'identifier les Ag exprimés à la surface des cellules, soit par une méthode de biologie moléculaire, qui recherche les allèles. La méthode sérologique utilise la réaction de lymphocytotoxicité dépendante du complément (LCT) qui consiste à mettre en présence les lymphocytes du sujet avec un panel d'Ac spécifiques et du complément. La lyse des cellules est visualisée par adjonction d'un colorant vital ou fluorescent et évaluée au microscope inversé. Les méthodes de biologie moléculaire disponibles sont nombreuses. Les plus utilisées sont :

- la PCR-SSO (Polymerase Chain Reaction-Specific Sequence Oligonucleotide) qui consiste à amplifier toute la région HLA avec un couple d'amorces et à l'hybrider avec un panel de sondes oligonucléotidiques spécifiques,
- la PCR-SSP (PCR-Specific Sequence Primer) qui permet d'amplifier directement les allèles HLA en utilisant un panel d'amorces spécifiques,
- la technologie Luminex, récemment développée qui associe la PCR-SSO et la cytométrie de flux. En pratique, les laboratoires utilisent généralement la sérologie pour déterminer les Ag HLA de classe I, avec un complément d'examen par biologie moléculaire en cas d'ambiguïté, et la biologie moléculaire pour la classe II.

La recherche d'Ac anti-HLA est capitale car la majorité des rejets hyperaigus de rein transplanté est due à la présence d'Ac anti HLA préformés [3-6]. Ces Ac peuvent apparaître dans le sérum des patients après divers événements immunisants : transfusion, grossesse, avortement, transplantation, rejet de greffe. Lorsqu'un Ac est détecté, il faut déterminer l'Ag contre lequel il est dirigé (HLA ou non HLA), sa spécificité (HLA classe I et/ou II), son isotype (IgG ou IgM). Il est indispensable de pouvoir différencier les Ac anti HLA, délétères pour la greffe, des Ac non HLA et des autoAc qui eux, n'ont pas d'incidence sur la survie du greffon. La technique de référence est la LCT. La réactivité du sérum est testée par rapport à un panel d'au moins 30 cellules lymphocytaires porteuses d'Ag HLA connus et en proportion représentative de la population. Afin d'analyser l'isotype IgG ou IgM, la recherche d'Ac est réalisée en présence ou en absence de dithiothréitol (DTT) qui détruit les IgM. Le test se fait en deux étapes : le dépistage qui permet de détecter la présence ou l'absence d'Ac, l'isotype et le pourcentage de réactivité par rapport au panel (PRA : Panel Reactive Antibody) et l'identification qui permet d'établir la spécificité. Il est parfois nécessaire d'utiliser un panel plus important pour déterminer la spécificité d'un sérum. Un patient ayant des Ac réagissant avec au moins 80% des cellules d'un panel équilibré, sur deux sérums prélevés à six mois d'intervalle sont dits hyperimmunisés. Dans ce cas il est souvent très difficile d'établir la liste des Ag HLA contre lesquels ils sont immunisés. Le raisonnement, pour une transplantation, se fait alors sur les Ag acceptables, c'est-à-dire contre lesquels ils ne sont pas immunisés. La LCT est de moins en moins utilisée pour la recherche d'Ac essentiellement en raison de la difficulté à entretenir un panel de cellules vivantes mais aussi pour ses limites : ne détecte pas les Ac qui ne fixent pas le complément (IgA, IgG₂ +/-, IgG₄), détecte les autoAc lymphocytotoxiques non délétères, nécessité d'adsorber les Ac anti HLA de classe I sur un pool de plaquettes pour détecter les Ac anti classe II, lecture finale subjective. De plus, certains rejets ont été expliqués par la présence d'Ac anti HLA non détectables par cette technique classique.

Il existe actuellement des techniques plus performantes : l'Elisa et la cytométrie de flux. L'Elisa est une méthode immuno-enzymatique indirecte : les sérums sont déposés sur une microplaque dans laquelle des Ag HLA purifiés et de spécificité connue ont été fixés au préalable. La fixation de l'Ac (contenu dans le sérum) à son Ag est mise en évidence par adjonction d'un Ac anti immunoglobuline humaine couplé à un enzyme. L'addition du substrat de l'enzyme provoque une réaction colorimétrique lisible en spectrométrie. Cette technique est très utilisée car elle est rapide, reproductible, très sensible et permet également la détection d'Ac ne fixant pas le complément et qui peuvent également provoquer des rejets. Cependant elle ne détecte que les Ac de type IgG. La cytométrie de flux utilise soit un panel de cellules [7], soit des billes recouvertes d'Ag HLA purifiés [6,8]. La révélation par un Ac couplé à un fluorochrome est lisible en cytofluorométrie.

Le CM ou compatibilité lymphocytaire est le test ultime qui va permettre de contrôler la compatibilité entre le donneur et le receveur avant la greffe. Plusieurs sérums sont testés : le sérum du jour, les plus récents ainsi que tous les sérums historiques connus positifs. Le taux d'Ac étant fluctuant dans le temps, une immunisation peut ne pas être détectée par le CM pré greffe. Cependant, comme la mémoire immunitaire persiste, la transplantation peut réactiver l'immunisation et provoquer ainsi le rejet suraigu. Dans certaines équipes, tous les sérums sont testés, même les négatifs.

La technique la plus utilisée est la LCT. Les lymphocytes du donneur sont séparés en T et B, puis incubés avec les sérums du receveur, à différentes dilutions (pour éliminer un faux positif par effet dose) et le complément. La lyse des lymphocytes T révèle la présence dans le sérum du receveur d'Ac anti HLA de classe I et celle des lymphocytes B la présence d'Ac anti HLA de classe I et II dirigés contre les Ag HLA du donneur. Le test se fait en présence et en absence de DTT pour identifier l'isotype de l'Ac. Enfin un CM en présence d'antiglobuline humaine (CM sensibilisé), réalisé en parallèle, permet d'augmenter la sensibilité du test. Le CM peut également être réalisé par cytométrie de

flux. Les lymphocytes du donneur sont incubés avec les sérums du receveur. Après lavage, une incubation est réalisée avec une anti immunoglobuline marquée à la fluorescéine et des Ac anti CD3 (sélection des lymphocytes T) ou des Ac anti CD19 (sélection des lymphocytes B) marqués à la phycoérythrine. La fluorescence est analysée au cytofluorimètre. Cette technique est actuellement la plus sensible.

Critères d'appariement des donneurs et des receveurs

La sélection des donneurs vivants se fait sur la base de critères légaux, cliniques, immunologiques et psychologiques. La loi marocaine (Article 9, Loi n°16-98) autorise les dons familiaux provenant des : ascendants, descendants, frères, sœurs, oncles, tantes ou leurs enfants et conjoint si le mariage est contracté depuis au moins un an. Les critères cliniques requis sont : un état général satisfaisant (après un bilan clinique et paraclinique), une fonction rénale normale, une anatomie de l'appareil urinaire normale, pas de maladie transmissible.

Les critères immunologiques de sélection des donneurs sont :

- **Le 1^{er} critère est la compatibilité ABO** car il est clairement établi qu'une incompatibilité dans ce système augmente de 10 à 20% le risque de rejet du greffon. Toutefois, en raison des nouvelles stratégies thérapeutiques, la possibilité de greffer en ABO incompatible commence à être envisagée par certaines équipes [9,10].

- **Le 2nd critère est la compatibilité HLA** car elle conditionne le succès de la greffe à 5-15 ans [11,12]. Le meilleur donneur est un germain identique. Cependant, dans une fratrie, il existe 25% de chance d'avoir des frères identiques, 25% différents et 50% semi identiques. L'identité ou la semi identité n'étant pas toujours possible, l'appariement sera réalisé avec la personne ayant le moins de disparités (mismatch) au locus DR, puis B puis A [13].

- **Le 3^{ème} critère est le statut immunitaire du receveur.** La présence d'un Ac ne contre indique pas systéma-

tiquement la greffe, sauf s'il est dirigé contre un Ag HLA du donneur. Il faut donc déceler les Ac anti donneur ayant une réaction délétère sur le greffon (anti HLA IgG ou IgM spécifiques) tout en évitant d'écarter des receveurs sans risque de rejet.

- **Le 4^{ème} critère se base sur les résultats du CM** puisqu'il permet de mettre en évidence les Ac représentants un risque de perte du greffon. Il peut être difficile à interpréter car il faut tenir compte de plusieurs paramètres. D'une manière générale :

- un CM négatif chez un receveur ayant un suivi immunologique régulier autorise la greffe.

- un CM positif avec des Ac anti HLA de classe I contre indique la greffe.

- en dehors de ses deux situations, la décision de greffer dépend de plusieurs paramètres :

- la spécificité de l'Ac détecté : Ac HLA (délétère) ou non HLA (Ac anti idiotype) qui se fixent sur les lymphocytes créant ainsi des faux positifs. Il peut aussi s'agir d'auto Ac (non délétères) et dans ce cas, l'auto CM permet de trancher.

- l'isotype de l'Ac : les IgG sont dangereux alors que les IgM sont souvent dirigés contre des molécules non HLA et ne sont pas délétères. Mais il faut rester vigilant car il existe des Ac anti HLA de type IgM. En effet, lors d'une immunisation primaire, les Ac sont de type IgM puis IgG. Cependant, certains patients gardent des IgM sans commutation isotypique alors que d'autres ont des IgG dès la première positivité. Seul un suivi régulier permet de résoudre la question.

- la sensibilité de la technique utilisée.

Suivi immunologique

Le suivi immunologique du patient avant et après transplantation est capital car il permet de mettre en évidence une allo-immunisation. L'identification, chez un futur receveur, d'un Ac anti HLA interdit la greffe avec un donneur ayant l'Ag correspondant. La présence d'un Ac anti HLA

après transplantation, conditionne la survie du greffon. L'identification d'un Ac anti donneur indique la réalisation d'une biopsie rénale, à la recherche de dépôts de la fraction C4d du complément [14,15] et une surveillance stricte du patient [16]. En fonction des résultats, le clinicien peut être amené à modifier le traitement immunosuppresseur [17,18]. Ce suivi est également important pour l'avenir du patient en cas de transplantations ultérieures : il faudra éviter les donneurs ayant des Ag HLA correspondants aux Ac anti HLA du premier greffon.

Selon les recommandations de l'Agence de la Biomédecine Française, les patients en attente de greffe doivent être prélevés au minimum à J15 et J30 après un événement immunisant et tous les 3 mois en dehors d'événements immunisants. Pour les patients qui n'ont pas de suivi immunologique régulier, il est recommandé de réaliser avant la greffe, deux CM sur des sérums prélevés à 10 jours d'intervalle. Après la transplantation, les sérums sont prélevés à J15 et J30 après la greffe, à 6 mois et un an puis après chaque événement immunisant. En cas d'échec de greffe les prélèvements seront fait à J14 et J21 après la détransplantation, tous les mois pendant 6 mois, tous les 3 mois jusqu'à 1 an. Tous ces sérums sont conservés à -30°C et testés pour la recherche d'Ac et/ou le CM.

Expérience au STSH de l'hôpital ibn sina

La prise en charge totale des examens immunologiques pré et post transplantation rénale a débuté en 2001 au STSH de l'hôpital Ibn Sina de Rabat. Les patients proviennent essentiellement de son service de néphrologie (93,4%) mais aussi de l'hôpital d'Enfants (Rabat), de l'hôpital Cheikh Zaïd (Rabat), de l'hôpital militaire Mohamed V (Rabat) et de l'hôpital Ibn Rochd (Casablanca). Le service gère actuellement les dossiers de 331 patients (candidats à une transplantation rénale ou transplantés) et 146 donneurs vivants familiaux (tableau 1). Les examens immunologiques disponibles au STSH sont : le groupage ABO, le typage HLA (classe I et II) par LCT et par biologie moléculaire

Tableau 1 : Bilan des examens immunologiques réalisés au STSH dans le cadre de la transplantation rénale

Caractéristiques	Receveurs (n=331)	Donneurs (n=146)
Groupages ABO	146	88
Typages HLA classe I et II	166	128
Stockages de sérums	1301	-
Recherches d'anticorps anti HLA	1301	-
Identifications d'anticorps anti HLA	20	-
Cross match	118	-

(PCR-SSP, Luminex), la recherche et l'identification d'Ac anti HLA (classe I et II) par ELISA et par Luminex, le CM par LCT, en technique standard et sensibilisée, en présence ou en absence de DTT. Ces analyses se font à la demande des néphrologues, selon la stratégie suivante :

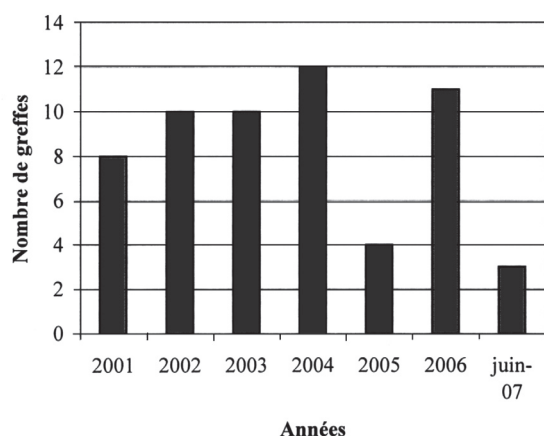
- **pour les receveurs** : sont pratiqués le groupage sanguin ABO, le typage HLA de classe I et II, la conservation (à -30°C) régulière de sérums informatifs, la recherche d'Ac anti HLA de classe I et II sur tous les sérums conservés en sérothèque et l'identification de(s) Ac anti HLA (si la recherche est positive).

- **pour les donneurs** : sont réalisés le groupage sanguin ABO et le typage HLA classe I et II.

- lorsque les compatibilités ABO et HLA sont établies entre le donneur et le receveur, le CM est réalisé avec tous les sérums disponibles. Enfin, quelques jours avant la date prévue de la transplantation, un dernier CM est réalisé avec le ou les sérums les plus récents.

- un suivi immunologique régulier est également assuré après transplantation rénale. Le patient est prélevé à J1, J7, J14, J21, 6 mois et 1 an et après chaque événement immunisant. Une recherche d'Ac anti HLA est réalisée sur tous les sérums. L'apparition d'Ac chez le patient indique une biopsie rénale, à la recherche de dépôts de C4d.

Parmi les patients suivis de janvier 2001 à juin 2007, 58 transplantations rénales à partir de donneurs vivants (53 à l'hôpital Ibn Sina, 3 à l'hôpital Cheikh Zaïd et 2 à l'hôpital Ibn Rochd) ont été réalisées (figure 1). L'analyse des caractéristiques des couples receveurs/donneurs révèle que l'âge des receveurs se situe en majorité dans la tranche des 21 à 40 ans alors que les donneurs ont entre 51 et 60

Figure 1 : Nombre de greffes rénales réalisées depuis 2001

ans (tableau 2). La population des donneurs est à 72,4% féminine avec 41,4% de mères et 31% de sœurs (tableau 3). Les donneurs sont en majorité les parents et les collatéraux, le conjoint reste exceptionnel. Le nombre d'identités HLA entre donneurs et receveurs varie de 1 (3,6%) à 6 (12,5%) avec un maximum de 3 (66,1%) correspondant aux donneurs semi identiques. Parmi les 58 transplantations réalisées, 54 CM étaient négatifs, 3 étaient positifs IgM et un avec Ac non HLA.

Tableau 2 : Caractéristiques des couples receveurs greffés

	Receveurs		Donneurs	
	Nombre	%	Nombre	%
Age				
<10 ans	1	1,7	0	0
10-20 ans	5	8,6	1	1,7
21-30 ans	24	41,4	3	5,2
31-40 ans	16	27,6	10	17,2
41-50 ans	7	12	11	19
51-60 ans	5	8,6	30	51,7
61-70 ans	0	0	3	5,2
Sexe				
Femmes	21	36,2	42	72,4
Hommes	37	63,8	16	27,6
Groupe sanguin				
A	16	29,6	15	27,8
AB	1	1,8	1	1,8
B	7	13	7	13
O	30	55,6	31	57,4

Chez les malades transplantés, le suivi immunologique post greffe immédiat a été réalisé seulement dans 24 cas

Tableau 3 : Liens de parenté des donneurs

	Donneurs	
	Nombre	%
Ascendants		
Mères	24	41,4
Pères	4	6,9
Total	28	48,3
Collatéraux		
Sœurs	18	31
Frères	11	19
Total	29	50
Conjoints		
Epoux	1	1,7
Total	1	1,7

(41,4%) et le suivi après événement immunisant dans 9 cas (15,5%).

Parmi les 271 patients suivis et non greffés, 80 ont un donneur vivant. 65 couples ont bénéficié d'un typage HLA complet. Le CM était négatif chez 36 couples, positif chez 11 couples et non fait chez 18 couples. 2 patients sont décédés avant la greffe et 4 ne présentaient aucune identité avec le receveur. Ainsi, sur les 80 couples 30 seulement sont prêts à être greffés. Ces résultats montrent les difficultés que rencontrent les laboratoires d'histocompatibilité et l'importance du bilan et du suivi immunologique en matière de transplantation rénale.

Conclusion

La transplantation rénale est le traitement de choix pour la plupart des cas d'insuffisance rénale chronique au stade terminal. Bien que pratiquée en routine, cette méthode comporte des risques et impose le respect d'une rigueur extrême. La collaboration entre les équipes de greffe et le laboratoire d'histocompatibilité est indispensable pour le choix du meilleur donneur pour chaque receveur. La connaissance du passé immunologique du patient, l'obtention de sérums informatifs (grâce à un suivi sérologique régulier) et l'utilisation de techniques d'histocompatibilité adaptées à chaque cas sont des éléments indispensables pour toute décision de transplantation.

Références

1. Berthoux F, Wolf Ph, Cinqualbre J. Greffe rénale. In: Cinqualbre J, Abrégés Greffe d'organe, éd. Masson; 2004. p.141-184.
2. Malassagne B, Quelvennec E, Sémana G, Weill B. Immunité de greffe. In : Genetet N. Immunologie, éd médicales internationales, 4^{ème} édition ; 2002. p.581-612.
3. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med* 1969; 280 : 735-9.
4. Terasaki PI. Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant* 2003; 3:665-73.
5. Terasaki PI, Cai J. Humoral theory of transplantation: further evidence. *Cur Op Immunol* 2005; 17: 541-5.
6. Quanzong M, Terasaki PI, Cai J, El-Awar N, Rebella L. Analysis of HLA class I specific antibodies in patients with failed allografts. *Transplantation* 2007; 83:54-61.
7. Piazza A, Poggi E, Ozzella G, Borrelli L, Monaco PI, Scornajenghi A et al. Public epitope specificity of HLA class I antibodies induced by failed kidney transplant: alloantibody characterization by flow cytometric techniques. *Transplantation* 2006; 81: 1298-1305.
8. El-Awar N, Lee J, Terazaki PI. HLA antibody identification with single antigen beads compared to conventional methods. *Hum Immunol* 2005; 66: 989-97.
9. Futagawa Y, Terasaki PI. ABO incompatible kidney transplantation-an analysis of UNOS Registry data. *Clin Transplant* 2005; 20: 122-6.
10. Beimler J, Zeier M. ABO-incompatible transplantation-a save way to perform renal transplantation? *Neph Dial Transplant* 2007; 22: 25-7.
11. Aydingoz SE, Takemoto SK, Pinsky BW, Salvalaggio PR, Lentine KL, Willoughby L, et al. The impact of human leukocyte antigen matching on transplant complications and immunosuppression dosage. *Hum Immunol* 2007; 68: 491-9.
12. Takemoto S, Port FK, Claas FH, Duquesnoy RJ. HLA matching for kidney transplantation. *Hum Immunol* 2004; 65: 1489-1505.
13. Roberts JP, Wolfe RA, Bragg-Gresham JL, Rush SH, Wynn JJ, Distant DA et al. Effect of changing the priority for HLA matching on the rates and outcomes of kidney transplantation in minority groups. *N Engl J Med* 2004; 350: 545-51.
14. Jianghua C, Wenqing X, Huiping W, Juan J, Jianyong W, Qiang H. C4d as a significant predictor for humoral rejection in renal allografts. *Clin Transplant* 2005; 19: 785-91.
15. Poduval RD, Kadambi PV, Josephson MA, Cohn RA, Harland RC, Javaid B et al. Implications of immunohistochemical detection of C4d along peritubular capillaries in late acute renal allograft rejection. *Transplantation* 2005; 79: 228-35.
16. Tinckam KJ, Chandraker A. Mechanisms and role of HLA and non-HLA alloantibodies. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006, 1: 404-14.
17. Cai J, Terazaki PI. Humoral theory of transplantation: Mechanism, prevention and treatment. *Hum Immunol* 2005; 66: 334-42.
18. Cai J, Terasaki PI, Mao Q, Pham T, El-Awar N, Lee JH et al. Development of nondonor-specific HLA-DR antibodies in allograft recipients is associated with shared epitopes with mismatched donor DR antigens. *Am J Transplant* 2006; 25: 2947-54.