

# RECHERCHE et GREFFE (2000)

## THÈME 1 : RECHERCHES ET ENQUÊTES EN SCIENCES HUMAINES

1 - **FELLOUS Michèle** - *CNRS Paris*

« *L'acceptabilité de la xénotransplantation : approche psychosociologique* »

## THEME 2 : AUGMENTATION DES PRELEVEMENTS

## THÈME 3 : EVALUATION ET AMÉLIORATION DE LA QUALITÉ DES GREFFONS

1 - **CHEVALIER Xavier, CORVOL Maïté** - *Hôpital H. Mondor, APHP*

« *Thérapie cellulaire par cellules progénitrices et chondrocytes dans un biogel de chitosane/chitine : application aux pathologies du cartilage* »

### Résumé :

La greffe de cellules progénitrices et de chondrocytes est une alternative d'avenir dans le traitement des pathologies du cartilage. Le but de ce projet est de mettre au point un greffon cellulaire comprenant soit des cellules souches de la moelle osseuse différenciées en chondrocytes soit des chondrocytes au sein d'un biogel de chitosane/chitine. Ce gel biocompatible et résorbable est implantable au cours des lésions du cartilage. La deuxième étape du projet comprend l'implantation in vivo chez l'animal de ce greffon cellulaire. L'intérêt du projet est la mise au point d'un greffon ayant des capacités cicatrisantes supérieures à la seule greffe de chondrocytes tout en facilitant grandement les gestes d'implantation in vivo sans arthroscopie. Il ouvre des perspectives d'avenir dans le traitement chez l'homme des lésions du cartilage.

2 - **MONTERO-MENEI Claudia** - *Université d'Angers*

« *Implantation de cellules adhérentes sur des microsphères biodégradables libérant des facteurs de croissance : effets sur la survie, la différenciation et l'intégration du greffon* »

### Résumé :

Le développement clinique des transplantations de cellules reste actuellement limité, entre autres, par le faible taux de survie des cellules greffées, qui peut être lié à une mortalité non spécifique ou à un rejet immunologique. Une des stratégies développées pour réduire cette mortalité cellulaire repose sur l'utilisation de microparticules sur lesquelles adhèrent les cellules (« microcarriers »). Une autre stratégie repose sur l'utilisation de facteurs de croissance, capables d'augmenter la survie des cellules greffées, de promouvoir leur différenciation et d'aider leur intégration dans le tissu hôte. L'expérience de notre groupe nous permet de proposer le développement de « microcarriers » pharmacologiquement actifs, qui libèrent des facteurs de croissance de façon prolongée. Ces microparticules de quelques dizaines de microns de diamètre sont constituées de polymères biodégradables et biocompatibles et permettent de ne pas interférer avec l'intégration des cellules greffées. Cette approche va dans un premier temps être développée dans les neurotransplantations. Le modèle classique de greffes neuronales dans l'hippocampe de rat, après dénervation cholinergique, va être utilisé. Les cellules greffées seront soit des neurones cholinergiques embryonnaires dépendant du « nerve growth factor » (NGF) pour leur survie et leur différenciation, soit des cellules de la lignée PC12 capables de se différencier en neurone sous l'action du NGF. Nous disposons dans le laboratoire de différentes formulations de microsphères libérant du NGF, ce qui va nous permettre d'évaluer les paramètres permettant une adhésion et une survie/différenciation optimales des cellules greffées : type de polymère, surfacage bioadhésif, conditions de cultures, cinétique de libération du NGF. Outre leur utilisation dans la neurotransplantation, ces « microcarriers » pharmacologiquement actifs présentent un intérêt potentiel important pour la greffe d'autres types cellulaires.

3 - **MAUREL Patrick** - *INSERM U 128 Montpellier*

« *Mise au point d'un foie bioartificiel : Développement d'un bioréacteur utilisant des hépatocytes humains en culture de long terme* »

### Résumé :

L'INSERM U128 et l'Institut des Maladies de l'Appareil Digestif désirent développer un foie bioartificiel dans le cadre du CHU de Montpellier. Le but du présent projet est de réaliser la première étape de ce programme : la mise au point d'un bioréacteur utilisant des hépatocytes humains en culture primaire de long-terme. Par rapport aux nombreux travaux déjà publiés dans ce domaine, nous voulons mettre l'accent sur trois éléments : hépatocytes humains, bioréacteur en structure de mille-feuille et interactions plasma-hépatocytes. Pour cela nous allons utiliser notre expérience sur la culture primaire des hépatocytes humains. Deux types différents de bioréacteurs seront réalisés et analysés en parallèle de façon comparative : un bioréacteur en structure « mille-feuille » et un bioréacteur à fibres capillaires. Ces bioréacteurs seront ensemencés avec des hépatocytes humains isolées à partir de foie de donneur d'organe (une procédure d'appel des prélèvements à visée scientifique vient d'être mise en place entre l'INSERM et l'EFG), ou avec des hépatocytes humains immortalisés de façon réversible (collaboration avec les Dr. P. Leboulch et I. Fox). Les bioréacteurs seront perfusés avec le milieu de culture de long terme dans lequel nous avons montré que les hépatocytes restent hautement différenciés pendant au moins un mois. Nous évaluerons de façon comparative les performances des deux types de bioréacteurs en termes de survie des cellules, de production des protéines plasmatiques, de production d'urée et de capacité de

détoxification (cytochromes P450). Nous évaluerons également l'influence du plasma de malades nécessitant une plasmaphérèse sur le phénotype des cellules après perfusion des bioréacteurs. Enfin, les deux bioréacteurs seront testés sur le modèle de porc en anhépatie.

#### 4 - **PARADIS Valérie** - *Hôpital Bicêtre AP-HP*

« *Étude de la sénescence répliquative en transplantation rénale* ».

#### 5 - **HARDOUIN Pierre** - *Université du Littoral Dunkerque*

« *Caractérisation moléculaire et étude de la différenciation de cellules de moelle osseuse humaine destinées à des applications thérapeutiques* ».

##### **Résumé :**

La greffe d'os autologue est nécessaire dans de nombreux cas. Mais les quantités d'os autologues peuvent s'avérer insuffisantes, notamment pour les comblements osseux de volume important. L'idée d'utiliser des cellules souches mésenchymateuses (CSM) pour restaurer l'os endommagé en le régénérant localement semble donc attrayante. En effet, les CSM sont capables de se différencier en ostéoblaste, qui joue un rôle central dans le remodelage osseux. L'objectif de ce projet est de cultiver les cellules capables de former de tels ostéoblastes puis de suivre et d'améliorer *in vitro* leur capacité à se différencier. En effet, les mécanismes régulateurs impliqués dans l'initiation et le contrôle de la différenciation ostéoblastique semblent être nombreux et commencent seulement à être connus. Or le principe d'utilisation de cellules cultivées *in vitro* pour une ré-implantation chez l'homme implique qu'il faut pouvoir contrôler avec précision les étapes de prolifération et de différenciation des cellules utilisées. Pour ce faire, notre projet s'articule principalement autour des points suivants : (1) définir avec précision l'état des cellules prélevées chez les patients avant la mise en culture ; (2) évaluer le potentiel ostéogénique de différents effecteurs *in vitro* ; (3) implanter chez des rats immunodéprimés des biomatériaux hybrides contenant les ostéoblastes humains traités *in vitro*. La détermination fine des phénotypes à chaque étape sera réalisée par RT-PCR sur plus de 20 gènes. Ceci fournira une évaluation fonctionnelle des cellules dans les différentes conditions précitées. Ces données seront alors utilisées pour adapter les conditions de culture qui seront appliquées en vue d'améliorer la prolifération et la différenciation des ostéoblastes. La principale retombée de ce travail serait la possibilité d'utiliser ces cellules lors de greffes osseuses chez l'homme, afin qu'elles puissent aider au processus naturel de régénération *in situ*. Outre la meilleure connaissance et la maîtrise du matériel biologique et des conditions de cultures requises, ces travaux aboutiront aussi à une progression dans la recherche sur les biomatériaux hybrides, domaine dans lequel le laboratoire travaille depuis plus de dix ans.

#### 6 - **ESCHWEGE Pascal** - *Hôpital Bicêtre AP-HP*

« *Amélioration de la préservation rénale et évaluation de la qualité du greffon à l'aide d'une machine de perfusion pulsatile* »

##### **Résumé :**

La préservation et l'évaluation de la qualité des greffons rénaux sont effectuées dans de nombreuses équipes outre-Atlantique à l'aide d'une machine de perfusion pulsatile. Cette procédure biotechnologique permettrait d'abaisser le taux de nécrose tubulaire aigüe de 30 % à 10%, de diminuer le nombre de dialyse post-greffe, de diminuer la durée d'hospitalisation des receveurs. Ce procédé devrait nous encourager à étendre nos critères de prélèvements et de transplantation par une évaluation plus objective des greffons. Nous souhaitons évaluer cette technique et rechercher d'autres marqueurs de qualité de greffon, en étudiant en particulier la voie biochimique de synthèse des prostaglandines, la peroxydation lipidique et la voie du NO. Ce travail multidisciplinaire clinique devrait déboucher sur de nouvelles techniques de conservation et de détection de greffons transplantables.

#### 7 - **DOUAY Luc** - *INSERM U 417 Paris*

« *Production in vitro d'érythrocytes à visée transfusionnelle par induction de différenciation des CSH de sang de cordon* »

##### **Résumé :**

Les problèmes liés aux contraintes de l'approvisionnement en produits sanguins labiles (PSL) ou aux risques de transmission d'agents infectieux par transfusion, conduisent à la nécessité de trouver d'autres sources de cellules sanguines, afin de subvenir aux besoins transfusionnels en particulier dans le cadre de la chirurgie, des hémopathies et des cancers. Dans ce projet, nous proposons une nouvelle approche pour suppléer les besoins en globules rouges : l'expansion *in vivo* de populations de cellules de la lignée érythroïde, à partir de cellules hématopoïétiques immatures issues de sang de cordon (SC). L'utilisation de sang de cordon comme source de progéniteurs pour l'expansion présente plusieurs intérêts : abondance, facilité de prélèvement, sécurisation possible pour les infections virales, congélation possible, richesse en progéniteurs, capacité de prolifération érythroïde connue. Nous avons développé un protocole d'amplification *in vitro* à grande échelle de précurseurs d'érythrocytes à partir de cellules CD34+ de SC. Les cellules peuvent être cultivées en milieu sans sérum, selon un protocole d'amplification en trois étapes. Nous atteignons, de manière reproductible, à J21 une amplification de cellules de plus de 150000 fois par rapport à J0 dont 90% sont des précurseurs érythroblastiques majoritairement aux stades d'érythroblastes polychromatophiles et acidophiles et 15% de réticulocytes. L'hémoglobine (Hb) contenue dans ces cellules est majoritairement de type foetal et peut fixer et relarguer de l'O<sub>2</sub> de façon similaire à l'Hb adulte. Le dosage de l'Hb totale suggère que dans ces conditions on peut, à ce stade des travaux, produire approximativement 12 g d'Hb/10<sup>6</sup> cellules CD34+ de SC utilisées au démarrage de la culture. Afin d'évaluer la faisabilité de la transfusion de précurseurs immédiats des érythrocytes, nous injecterons les cellules produites à la souris NOD-SCID. Ces résultats préliminaires montrent qu'il est raisonnablement envisageable de produire des précurseurs érythroblastiques à grande échelle. Ils constituent la première étape vers un nouveau PSL possible : les

érythrocytes produits *in vitro*. La pertinence de cette demande dans le contexte de la greffe se justifie par son application à tous les types de greffe nécessitant un support en produits sanguins labiles (greffes hépatiques, cardiaques, hématopoïétiques...)

**8 - PATTOU François - Université Lille 2**

« Mise à disposition de cellules pancréatiques humaines pour la recherche sur la thérapie cellulaire du diabète »

**9 - VASTEL Laurent - GH COCHIN - SVP AP-HP**

« Evaluation comparative *in vitro* de la cytotoxicité de différents traitements inactivateurs appliqués à l'os spongieux humain dans un but de sécurisation des greffes »

**Résumé :**

Le but de ce projet est de réaliser une étude comparative de la cytotoxicité éventuelle des traitements inactivateurs appliqués à l'os spongieux dans le cadre des bilans de sécurisation. L'effet d'éventuels agents toxiques générés ou relargués sera étudié sur des cultures de fibroblastes de souris (3T3) mis en présence d'échantillons d'os traités. Seront réalisés des tests de viabilité et de cytotoxicité sur cellules confluentes (étude morphologique microscopique, tests au bleu trypan, dosage de la LDH dans le surnageant de cultures, tests au MTS d'activité mitochondriale), et une mesure de l'effet cytotoxique sur la prolifération cellulaire. Les tests seront réalisés de façon appairée pour chaque échantillon traité avec un témoin de la même région de la même tête fémorale. Une analyse de variance puis un T de Student permettront de rechercher la significativité des différences observées. Les résultats permettront d'orienter nos choix de sécurisation ultérieurs pour les greffons fournis par la banque. Cette étude sera complétée par une étude de colonisation d'échantillons traités par des ostéoblastes humains puis une étude comparative *in vivo* de l'ostéointégration des os traités, sur un modèle animal.

#### THÈME 4 : IMMUNOLOGIE DES GREFFES, XENOGREFFES, XENOASSISTANCE

**1 - HOUEBINE Louis Marie - INRA Jouy-en-Josas**

« Production de lapins transgéniques exprimant l'hypodermine A »

**2 - GUERY Jean-Charles - INSERM Toulouse**

« Modulation des interactions allogéniques chroniques médiées par des lymphocytes CD4 TH2 spécifiques des alloantigènes de transplantation *in vivo* ».

**3 - GAUTREAU Chantal - Hôpital Saint-Louis AP-HP**

« Etude multicentrique d'évaluation et comparaison des techniques usuelles de crossmatch pour les greffes d'organes. »

**Résumé :**

Actuellement en France, les techniques habituellement utilisées par les laboratoires HLA impliqués dans la greffe d'organes sont la lymphocytotoxicité standard (LCT) et la lymphocytotoxicité sensibilisée à l'antiglobuline humaine (LCT-AGH) avec leurs variantes méthodologiques, très rarement le CM au FACS. La constatation de techniques plus ou moins sensibles a amené l'Etablissement français des Greffes à demander à l'ensemble des laboratoires HLA par l'intermédiaire du Laboratoire National d'Histocompatibilité (LNH), chargé du Contrôle National de Qualité pour le HLA, de conduire un travail de concertation en vue d'harmoniser les techniques afin d'améliorer le niveau d'égalité d'accès à la greffe, sachant qu'une hétérogénéité de techniques est source d'inégalité. Le but de ce travail est d'évaluer et comparer ces techniques usuelles de CM par une étude multicentrique. La fiabilité des techniques sera évaluée par la mesure de la reproductibilité inter-laboratoire par rapport à des CM de référence. En effet, pour la première fois, les mêmes couples cellule/sérum seront envoyés et analysés par tous les laboratoires. Les cellules seront prélevées sur séparateur de cellules chez des donneurs dont le typage est connu (typage réalisé par le LNH par séquençage). Les sérums contenant des anticorps anti-HLA seront analysés à l'aide des techniques les plus sensibles (FACS, ELISA) pour l'identification des anticorps. Les résultats seront traités de façon anonyme. Deux envois de 2 cellules et 2 sérums sont prévus soit au total 8 CM dont 2 CM négatifs et 6 CM positifs. Les résultats seront exprimés en pourcentage de « manques » par rapport à un CM attendu positif. Ces « manques » seront comptés pour chaque technique et pour les variantes d'une même technique.

**4 - PLUMAS Joël - EFS Rhône-Alpes Isère-Savoie**

« Etude des mécanismes d'action de la photochimiothérapie extracorporelle chez l'homme »

**5 - JOSIEN Régis - INSERM U 437 CHU Nantes**

« Mécanismes d'action et rôle *in vivo* d'une sous population de cellules dendritiques cytotoxiques »

**6 - CHARPENTIER Bernard - Hôpital Bicêtre AP-HP**

« Prévention des rejets aigus d'allogreffe par HLA-G chez la souris SCID-NOD et rôle de HLA-G et de CD40L au cours de l'allogreffe rénale, hépatique et combinée rein-foie. »

**7 - ZITVOGEL Laurence - IGR Villejuif**

« Etude du dialogue cellulaire et moléculaire entre cellules dendritiques bcr/abl (CDbcr/abl) et cellules NK : vers la dissociation des phénomènes de GVH et de GVL dans la thérapie cellulaire dendritique »

**Résumé :**

L'immunothérapie allogénique adoptive (allogreffes et transfusion de lymphocytes du donneur (DLI)) après chimérisme représente le traitement électif de la leucémie myéloïde chronique (LMC) mais il reste à réellement dissocier les réactions délétères de greffons contre hôte (GVH) de celles, bénéfiques, de GVL qui pourraient procéder de mécanismes moléculaires et/ou cellulaires différents. **Données expérimentales rapportées** : Certaines preuves expérimentales 1) démontrent que les cellules dendritiques (CD) du receveur sont clonales Ph1+ dans la LMC et qu'elles peuvent être différenciées à partir des CD34+ ou des monocytes de ces patients, 2) soutiennent la théorie que les cellules NK activées pourraient induire un effet GVL en réduisant l'effet GVH (modèle de tumeur solide murin). Nous avons rapporté (Fernandez et al. *Nature et Med.* Avril 1999) que les CD pouvaient activer les cellules NK de façon dépendante d'un contact cellulaire CD/NK, conduisant à des effets antitumoraux majeurs après transfert adoptif passif de CD intratumorales ou Flt3L. **Données préliminaires non publiées** : Dans un modèle de LMC murin, nous avons montré, *in vitro*, que les cellules dendritiques dérivées de moelle de LMC (CD<sub>bcr/abl</sub>) avait une capacité très augmentée - par rapport aux CD sauvages - à activer les NK autologues et surtout allogéniques. Les cellules NK après contact avec des CD<sub>bcr/abl</sub> ont une activité cytotoxique contre des cibles tumorales NK sensibles mais aussi contre des lignées leucémiques (Ba/F3p210) et sécrètent fortement l'IFN. Alors que les cellules NK murines de ces souris LMC ne répondent pas à l'IL-2, elles sécrètent l'IFN en réponse à des Cd<sub>bcr/abl</sub>. Ces données laissent supposer que le dialogue entre CD<sub>bcr/abl</sub> / NK allogénique pourraient rendre compte des succès thérapeutiques engendrés avec les DLI dans le modèle électif de la LMC et pourraient permettre de tenter de dissocier les phénomènes de GVH et de GVL, les NK étant peu ou pas impliqués directement dans la GVH. **Objectifs de la recherche** : Dans le double but de vérifier la validité de ces résultats dans un système cellulaire humain (activation des NK allogéniques par des CD de patients porteurs de LMC) et d'envisager d'élucider les mécanismes moléculaires de l'interaction CD<sub>bcr/abl</sub> / NK, nous souhaitons entreprendre l'étude du dialogue cellulaire entre CD dérivés de patients porteurs de LMC et cellules NK allogéniques *in vitro*. Ces résultats pourraient déboucher sur une immunothérapie allogénique NK sans risque de GVH pour la LMC mais aussi pour d'autres transplantations d'organes lorsque les mécanismes moléculaires seront clarifiés.

#### 8 - ROUAS-FREISS Nathalie - CEA Paris

« HLA-G et immunotolérance de la greffe : implications dans la définition de nouvelles stratégies de thérapie limitant le rejet de greffe »

##### Résumé :

L'objectif de projet s'inscrit dans la définition de nouvelles molécules impliquées dans l'acceptation du greffon afin de proposer de nouvelles approches d'immunomodulation limitant le rejet de greffe. Pour cela, nous étudions la molécule HLA-G dont les propriétés immunotolérantes présentent un intérêt particulier en transplantation. Deux axes de recherche ont été suivis : 1) l'étude de l'expression « ectopique » de HLA-G au cours de transplantations et sa corrélation avec le devenir de l'organe greffé chez le receveur et 2) la caractérisation des effecteurs cellulaires et des mécanismes impliqués dans l'expression de HLA-G au cours de réactions allogéniques *in vitro* et l'implication fonctionnelle d'une telle expression sur la réponse lymphocytaire T allogénique. Nos résultats confirment le rôle fondamental de HLA-G en tant que molécule d'immunotolérance et montrent pour la première fois une expression ectopique de HLA-G chez des patients transplantés (cœur, rein et foie) présentant une meilleure acceptation de la greffe. De plus, les études *in vitro* de réponses lymphocytaires mixtes démontrent que des populations lymphocytaires T CD4+ et CD8+ alloréactives peuvent exprimer HLA-G et assure une fonction immunosuppressive. Nous poursuivons actuellement la caractérisation phénotypique et fonctionnelle de ces populations lymphocytaires HLA-G+ *in vitro* et *in vivo* afin de préciser leur implication dans les mécanismes de tolérance périphérique chez les patients transplantés.

#### 9 - FREYSSINET J-M, MAZZUCOTELLI J-P – Université Louis Pasteur, Faculté de Médecine de Strasbourg

Rejet cellulaire après transplantation cardiaque : intérêt du dosage des microparticules membranaires circulantes pour le diagnostic précoce.

#### 10 - TOUBERT Antoine - INSERM Paris

« Etude de la reconstitution immunitaire après greffe de CSH de sang de cordon ombilical »

##### Résumé :

Le sang de cordon ombilical constitue une source de cellules souches hématopoïétiques très prometteuse dans le traitement des hémopathies malignes par greffe, notamment chez l'enfant. Ces greffes s'accompagnent d'une moindre fréquence de réactions graves de maladie du greffon contre l'hôte en raison du caractère « naïf » des lymphocytes T de sang de cordon ombilical transférés avec le greffon. L'objectif du projet est d'étudier la cinétique et la qualité de la reconstitution immunitaire après greffe de cellules souches de sang de cordon, en particulier : les phénotypes des sous-populations lymphocytaires T ; la diversité des populations lymphocytaires T exprimant le récepteur  $\alpha\beta$  par une analyse de la taille de la région hypervariable CDR3 de la chaîne  $\beta$  (« Immunoscope ») ; la fonction thymique par l'analyse des cercles d'excision thymique ou TRECs, présents dans les cellules naïves récemment émigrées du thymus. Ces résultats seront comparés à ceux obtenus chez des sujets de même âge traités par greffe de moelle osseuse allogénique. Ces résultats pourraient avoir des débouchés pratiques. En effet, il est important de savoir si le caractère « naïf » des lymphocytes T du sang de cordon ne s'accompagne pas d'un retard dans la reconstitution immunitaire qui, associé à des complications infectieuses, justifierait des thérapeutiques appropriées d'immunothérapie adoptive anti-CMV ou anti-EBV par exemple.

**11 - REVERDIAU -MOALIC Pascale - Université de Tours**

« Expression et rôle du facteur tissulaire dans la migration transendothéliale et la différenciation des monocytes en cellules dendritiques »

**Résumé :**

Le facteur tissulaire (FT), initiateur cellulaire majeur de la coagulation sanguine, est impliqué dans les phénomènes de rejet vasculaire en allogreffe comme en xéngreffe. De plus, certains greffons peuvent être la cible d'un rejet cellulaire impliquant des réponses T par voie indirecte. En traversant l'endothélium du greffon, les monocytes du receveur se différencient en cellules dendritiques qui captent des antigènes du greffon puis gagnent la circulation sanguine par passage transendothélial inverse pour se domicilier dans les organes lymphoïdes secondaires. Le rôle du FT dans cette migration transendothéliale des monocytes paraît certain mais son origine cellulaire est mal connue. L'intérêt du modèle de culture mixte xénogénique (cellules endothéliales porcines / monocytes du sang périphérique humain) qui sera mis en œuvre nous permettra de distinguer le FT exprimé par les monocytes / cellules dendritiques du FT endothélial. Pour cela, nous développerons une technique de RT-PCR spécifique du FT porcin et évaluerons également l'activité du FT porcin à l'aide d'une technique chromogénique. Le rôle du FT sur la migration transendothéliale des monocytes sera ensuite évalué à l'aide d'anticorps monoclonaux bloquant le FT ou de cytokines augmentant son expression. De plus, la migration des monocytes / cellules dendritiques suppose la dégradation des matrices extracellulaires par des métalloprotéinases dont le MMP-9. L'activation de la MMP-9 peut être inhibée par le TFPI-2, qui pourrait à l'inverse réduire la migration des monocytes / cellules dendritiques. Nous étudierons donc l'expression et le rôle de la MMP-9, probablement d'origine monocyttaire, et du TFPI-2 endothélial au cours de la migration transendothéliale des monocytes / cellules dendritiques. La connaissance de ces mécanismes permettrait de mieux contrôler les réponses T par voie indirecte déclenchées lors des rejets de greffe.

**12 - LE BOUTELLER Philippe - Hôpital Purpan CHU de Toulouse**

« Isoforme HLA-G1 soluble : analyse de son rôle immunomodulateur pendant la gestation par induction de l'apoptose des lymphocytes T CD8+ activés »

**13 - VAN MEERWIJK Joost - INSERM U 395 Toulouse**

« Mécanismes d'action des lymphocytes T régulateurs dans un modèle murin de transplantation de moelle osseuse »

## THÈME 5 : RECHERCHE CLINIQUE ET SANTE PUBLIQUE

**1 - TOPALL-RABANES Frédérique - Hôpital Saint-Louis AP-HP**

« Recherche de facteurs de risque psychique prédictifs de la survie au décours d'une greffe de moelle osseuse. »

**2 - CAMBON -THOMSEN Anne - INSERM U 518 Toulouse**

« Optimisation des stratégies de typage des volontaires au don de cellules hématopoïétiques : évaluation de l'apport des microsatellites de la région HLA »

**Résumé :**

Pour 70% des patients justifiant d'une indication de greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) allogéniques, il est fait appel à des donneurs non apparentés groupés HLA. Le fichier français contient au 31/12/99, 100 421 donneurs typés HLA-A, B dont 63% ont également un groupage DR ; l'ensemble des fichiers internationaux représente  $6,4 \times 10^6$  donneurs potentiels. En 1999, parmi les 195 greffes de CSH non apparentées en France, 32% ont eu un donneur à partir du fichier français. Le recours à un fichier étranger coûte 4 à 6 fois plus que l'utilisation du fichier français. Une approche, dont le but est d'augmenter dans le fichier la proportion de donneurs présentant des combinaisons HLA rares ou qui en sont actuellement absentes, vise à réduire l'inégalité des chances des patients de trouver un donneur selon qu'ils sont porteurs de combinaisons HLA fréquentes ou rares dans la population. En effet actuellement plus de 15% des nouveaux donneurs par an n'apportent rien de nouveau au fichier. L'une des possibilités serait la mise en place d'un filtre permettant de repérer de façon peu coûteuse les donneurs ayant une combinaison HLA fréquente déjà présente dans le fichier, permettant l'allocation des ressources pour typage plutôt vers des donneurs à combinaison rare. Sous cet angle l'utilisation de marqueurs microsatellites de la région HLA peut être utile. Ils sont facilement typables pour un coût modeste inférieur à celui des typages HLA ; une étude pilote comportant le génotypage de 6 microsatellites de la région HLA sur 840 ADN du fichier typé HLA-A, B, DR a montré que, grâce au phénomène de déséquilibre de liaison existant au sein de la région, certains microsatellites permettaient une prévision fiable des combinaisons HLA les plus fréquentes. Une évaluation génétique et économique à grande échelle est l'étape proposée, nécessaire avant implémentation. La stratégie envisagée est de typer ~ 8000 ADN du fichier pour une vingtaine de microsatellites préalablement choisis selon la connaissance actuelle de ces marqueurs dans la région HLA. Cet échantillon sera divisé en individus « au hasard » (~ 7000 correspondant aux nouveaux donneurs inscrits en 1999 et 2000) pour établir des fréquences de références et en individus porteurs de certaines combinaisons HLA parmi les 25 combinaisons HLA-A, B, DR les plus fréquentes en France [1250 ADN] pour une étude haplotypique. L'analyse du pouvoir prédictif de combinaisons HLA de tout ou partie de ce panel de microsatellites, la spécificité et la sensibilité de cette prédiction ainsi qu'une étude coût/efficacité seront menées. Ce travail permettra d'évaluer l'utilité et les limites de la méthodologie de typage des microsatellites pour optimiser la recherche d'un donneur et augmenter la diversité génétique des fichiers de donneurs.