

RECHERCHE et GREFFE (2001)

THÈME 1 : RECHERCHES ET ENQUÊTES EN SCIENCES HUMAINES

1 - **Dr Edouard FERRAND** - *Hôpital H. Mondor, Créteil*

« *Etude multicentrique européenne visant à évaluer le vécu du prélèvement d'organes en réanimation selon le type de prise en charge* »

2 - **Pr Marie Rose MORO** - *CHU AVICENNE, Bobigny*

« *Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques dans la drépanocytose : étude anthropologique et psychopathologique transculturelle des processus de guérison* »

THÈME 2 : AUGMENTATION DES PRELEVEMENTS

1 - **Pr Bruno RIOU** - *CHU Pitié Salpêtrière Paris*

« *Analyse psychologique, sociologique et anthropologique du rôle des soignants dans l'annonce de la mort encéphalique et la demande de don d'organes* »

Résumé :

Notre étude avait pour objectif de comprendre quelles étaient les difficultés rencontrées par les soignants lors de la procédure de don d'organe et quels pourraient être les moyens d'y remédier. Elle a reposé sur l'analyse des entretiens des soignants (coordinatrices, infirmières et aides soignantes).

THÈME 3 : EVALUATION ET AMELIORATION DE LA QUALITE DES GREFFONS

1 - **Dr Michel EUGENE** - *Labo de RMN Physiologie, Hop St Louis, Paris*

« *Création d'une barrière moléculaire pour améliorer la viabilité et la tolérance à la cryopréservation des allogreffons cutanées par l'utilisation de polyéthylenglycols.* »

2 - **Dominique MAHIEU-CAPUTO** - *INSERM EMI 00-20, Clamart*

« *Transplantation d'hépatocytes fœtaux : vers une approche de thérapie cellulaire des maladies hépatiques* »

Résumé :

Notre laboratoire travaille depuis plusieurs années sur des approches de thérapie génique *ex vivo* d'une maladie métabolique hépatique : l'hypercholestérolémie familiale. Une partie de ces travaux sont réalisés chez le primate, plus précisément chez le macaque adulte et fœtal comme modèle de gros animal. C'est en effet l'animal le plus proche de l'Homme, et en particulier son anatomie hépatique le distingue de celle des autres mammifères, porc, chien, mouton. Ce modèle nous a permis d'évaluer les problèmes inhérents à la transplantation d'hépatocytes matures qu'ils soient ou non génétiquement modifiés. Ils résident dans l'impossibilité d'amplifier ces cellules, la difficulté de les cryopréserver, ainsi qu'en leur faible capacité à pénétrer dans le parenchyme hépatique et à s'intégrer, probablement en partie en raison de leur grande taille. Enfin leur capacité de prolifération *in situ* est très faible. Dans l'idée d'apporter des solutions aux différents problèmes posés par la transplantation d'hépatocytes adultes chez l'adulte, nous avons développé un programme selon deux axes : (1) utilisation de cellules progénitrices fœtales (plus petites, plus pastiques, moins immunogènes, en pleine prolifération) ; 2) transplantation *in utero* (organes fœtaux en pleine croissance, immunotolérance relative). Nos projets visent à : 1) améliorer les conditions de purification des HHF ; 2) optimiser la prise de greffe en améliorant la capacité des HHF à pénétrer le parenchyme hépatique (induction des métalloprotéases) ; 3) démontrer la capacité des HHF à corriger un déficit métabolique dans un modèle de maladie métabolique (modèle murin de cholestase intra-hépatique familiale) ; 4) obtenir des taux de chimérisme potentiellement thérapeutique après transplantation *in utero* dans un modèle pré-clinique de gros animal (macaque cynomolgus).

3 - **Pr Laurence BORDENAVE Dr Véronique CONRAD** - *U443-INSERM BORDEAUX 2*

« *Utilisation de progéniteurs endothéliaux pour l'élaboration de substituts vasculaires bioartificiels* »

Résumé :

Le remplacement des artères par des prothèses vasculaires purement synthétiques conduit souvent à l'échec de telles constructions quand de petits diamètres (inférieurs à 6 mm) sont concernés. La possibilité de recouvrir des prothèses vasculaires avec le propre endothélium du patient, selon une procédure en deux étapes après amplification cellulaire *in vitro*, est une approche très prometteuse chez l'Homme pour améliorer leur perméabilité à long terme. L'intérêt de notre projet, dans un tel contexte, est d'éviter le prélèvement de tissus (veine céphalique ou veine jugulaire), étape nécessaire pour l'obtention de cellules endothéliales (CE) autologues et actuellement utilisée dans les protocoles cliniques. Nous nous proposons d'évaluer d'autres sources de cellules endothéliales dans leur aptitude à coloniser les substituts vasculaires : la présence de cellules souches endothéliales dans la moelle osseuse, le sang périphérique chez l'adulte, et dans le sang de cordon ombilical, offrent des perspectives nouvelles de thérapie cellulaire. Notre projet consiste donc principalement en : 1) l'obtention reproductible, la caractérisation et la différenciation de cellules souches endothéliales à partir du sang périphérique et de la moelle osseuse, ainsi que du sang de cordon ; 2) l'étude de la biocompatibilité de prothèses vasculaires commerciales ; à l'aide des progéniteurs endothéliaux ou des cellules endothéliales issues des progéniteurs endothéliaux.

THÈME 4 : IMMUNOLOGIE DES GREFFES, XENOGREFFES, XENOASSISTANCE

1 - Pr Joost Van Meerwijk - INSERM U395, IFR 30 Toulouse

« Rôle potentiel des lymphocytes T régulateurs dans l'induction de tolérance aux greffes allogéniques »

Résumé :

Le haut degré de polymorphisme des gènes du CMH responsables de la présentation des antigènes aux lymphocytes T représente un obstacle de taille en médecine de transplantation. En effet, pour des raisons complexes probablement liées à la coévolution des gènes du récepteur des cellules T (TCR) et ceux du CMH (Zerrahn *et al.*, 1997), le répertoire T d'un individu réagit vigoureusement contre les molécules du CMH d'un autre individu (alloréactivité). Ainsi, tout organe allogénique greffé sera attaqué par les lymphocytes T de l'hôte provoquant son rejet. Seule une immunosuppression efficace peut empêcher le rejet aigu mais le rejet chronique demeure un problème important et les effets secondaires de l'immunosuppression sont importants. Par ailleurs, dans la plupart des cas de greffe de moelle, ce sont les lymphocytes T du greffon qui attaquent l'hôte provoquant la maladie du greffon contre l'hôte (Storb *et al.*, 1983). La purge *in vitro* de ces lymphocytes semblerait être une solution idéale (Korngold *et al.*, 1978), mais elle a souvent pour conséquence la rechute des lymphomes et diminue le taux de réussite des greffes (Gale *et al.*, 1986). Il s'avère donc que la spécificité de l'immunosuppression est d'une importance majeure. L'organisme dispose de mécanismes de tolérance périphériques qui inhibent l'immunopathologie et l'auto-immunité. L'utilisation de tels mécanismes pour l'induction de la tolérance vis-à-vis des greffes allogéniques résoudrait beaucoup des problèmes cités ci-dessus. Dans le cadre de l'appel d'offres « Recherche et greffes 2001 », nous avons obtenu un financement d'un projet visant à l'évaluation de l'utilisation des lymphocytes T régulateurs pour l'induction de la tolérance pour des greffes de moelle osseuse allogénique. Nos résultats montrent que l'injection des cellules T régulatrices pré-activées *in vitro* permet l'induction de la tolérance pour des greffes de moelle osseuse semi-allogénique.

2 - Sabine SARNACKI - INSERM E-9925, Necker Paris

« Etude *in vivo* des mécanismes d'action des drogues immunosuppressives dans un modèle de souris transgéniques »

Résumé :

Les protocoles immunosuppresseurs en transplantation d'organe, en particulier dans les premiers mois après la greffe, associent deux à quatre drogues de modes d'actions différents (cyclosporine/tacrolimus, corticoïdes, sirolimus, anti-récepteur à l'IL-2, SAL, OKT3), dont on analyse difficilement les interactions, non seulement sur le plan pharmacologique mais également sur le plan immunologique. Il est en particulier difficile de connaître l'effet de ces drogues sur la génération de cellules régulatrices endogènes ou induites par d'autres molécules. Les modèles murins conventionnels ne permettent pas une telle étude, car il s'agit d'une réaction polyclonale, où les différents clones spécifiques des alloantigènes du donneur représentent une proportion très faible des lymphocytes T du receveur (0,01%). Cette population polyclonale est de surcroît difficilement identifiable. Afin d'analyser plus précisément *in vivo* les mécanismes d'action des immunosuppresseurs, nous avons mis au point un modèle animal permettant d'étudier les lymphocytes T spécifiquement impliqués dans la réaction allogénique.

3 - Pr Jean-Paul SOULILLOU - INSERM U437, Nantes

« Etude de la tolérance aux antigènes du donneur chez des transplantés rénaux »

Résumé :

La transplantation est le traitement de choix pour remplacer un organe ou un tissu dont le fonctionnement est définitivement altéré. Toutefois elle représente l'implantation d'éléments étrangers au système immunitaire de l'hôte et génère donc une réponse immune, appelée rejet de greffe (hyperaigu, aigu, chronique). Cette réponse contre le greffon peut être en partie contrôlée par l'administration d'immunosuppresseurs puissants donnés tout au long de la vie du patient. Cependant, ces traitements immunosuppresseurs sont associés à des effets secondaires indésirables (néphrotoxicité, susceptibilité aux infections opportunistes, pathologies tumorales) et sont inefficaces contre le développement d'un rejet chronique. Par conséquent, l'induction d'une tolérance spécifique des antigènes du donneur est un des principaux objectifs de l'immunologie de la transplantation. En clinique, la tolérance est définie comme l'acceptation à long terme d'un greffon sans immunosuppression ou sous une dose minimale d'immunosuppresseurs. « Tolérance opérationnelle », « partielle », « métastable » ou « quasi » tolérance sont autant de termes utilisés pour désigner de tels patients. Si la « tolérance opérationnelle » concerne plus fréquemment la transplantation hépatique (environ 30% des greffés hépatiques), il existe quelques rares cas (une vingtaine) de patients « opérationnellement tolérants » en transplantation rénale. Des protocoles d'arrêt total ou de minimisation du traitement immunosuppresseur ont été mis en place. Mais à cause du manque de critères de la tolérance, il est difficile de connaître les patients chez qui la réduction du traitement ne représenterait aucun risque à ce sujet. L'objectif de cette étude est de trouver une signature de la tolérance dans le sang de patients transplantés rénaux tolérant spontanément leur greffon et de tenter de comprendre les mécanismes qui pourraient expliquer cet état (anergie, régulation délétion clonale).

4 - Emmanuel MORELON - Hôpital Necker, Paris

« Cibles moléculaires du blocage de l'activation lymphocytaire par les anticorps anti CD3 »

5 - **Véronique THOMAS-VASLIN** - ESA 7087 UPMC, Paris 13ème

« Immunosuppression génétique des lymphocytes T par gène suicide conditionnel pour l'induction de tolérance spécifique »

6 - **Ana Lucia SALIM ROUSSOULIERES** - INSERM U 331 Lyon

« Etude de la transcription de gènes candidats impliqués au cours d'un rejet chronique dans un modèle de transplantation orthotopique de l'aorte chez le rat »

7 - **Philippe LE BOUTEILLER** - INSERM U395, Toulouse

« HLA-G : immunité innée et fonctions non immunologiques »

8 - **Jean-Charles GUERY** - INSERM U28, Toulouse

« Rôle des cellules NK dans le contrôle de l'activation et de la différenciation des lymphocytes T CD4 spécifiques d'alloantigènes de transplantation in vivo »

9 - **Assia ELJAAFARI** - Labo Jeune Equipe 2267, Lyon

« Détection par typage moléculaire d'une incompatibilité liée à des antigènes mineurs d'histocompatibilité au sein de couples de volontaires sains HLA-identiques, puis confirmation de l'alloréactivité grâce à l'utilisation de cellules dendritiques »

Résumé :

La maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) reste une complication encore trop fréquente de la greffe de moelle osseuse. Celle-ci n'épargne pas la greffe de moelle géno-identique, puisqu'elle apparaît dans environ 30% des cas. Dans cette situation, il a pu être démontré, que des disparités dans le système mineur d'histocompatibilité jouaient un grand rôle. Ainsi, quelques antigènes mineurs ont été identifiés dont l'antigène H-Y, les antigènes mineurs du système HA-1/HA-5, l'antigène HA-8, l'antigène HB-1, la molécule CD31 et les antigènes HPA du système plaquettaire. Ces antigènes mineurs semblent également être impliqués dans la greffe d'organe, comme le suggère une étude récente impliquant une incompatibilité HPA-5b dans le rejet aigu vasculaire des greffons de rein. Etant donné notre implication dans le typage HLA des donneurs/receveurs de moelle, et d'organe, nous souhaitons mettre au point dans notre laboratoire les techniques de typages des antigènes mineurs déjà identifiés. Ceci nous permettra dans l'avenir de typer systématiquement les couples donneurs/receveurs HLA-identiques. Par ailleurs, pour certains d'entre eux (CD31 et HPA), seule une corrélation a pu être établie entre l'existence d'une incompatibilité dans le système mineur et l'apparition d'une maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) ou d'un rejet de rein. C'est pourquoi, pour confirmer l'allo-réactivité induite par ces antigènes mineurs, nous prévoyons d'utiliser une technologie que nous avons développée récemment dans notre laboratoire. Celle-ci est basée sur la stimulation de lymphocytes T HLA-identiques par des cellules dendritiques allogéniques. Enfin, ce type d'étude nous permettra, si plusieurs incompatibilités étaient découvertes au sein des mêmes couples donneur/receveur, d'identifier les antigènes mineurs immunodominants.

10 - **Dr Philippe SAAS** - UPRES EA2284, INSERM EO119, Besançon

« Injection de cellules apoptotiques simultanément au greffon allogénique de cellules souches hématopoïétiques comme modèle d'induction de tolérance »

Résumé :

Objectifs principaux : 1) déterminer si notre approche utilisant l'injection de cellules apoptotiques conjointement aux cellules de moelle osseuse permet bien une induction de tolérance et quels étaient les mécanismes mis en jeu, 2) définir s'il existe la possibilité d'induire une réponse auto-immune indésirable qui empêcherait une utilisation de ce protocole d'induction de tolérance simple chez l'homme.

11 - **Gilles BLANCHO** - INSERM U437 Nantes

« Etude du rôle des cellules dendritiques et des cellules T régulatrices dans un modèle de tolérance à une allogreffe rénale chez le babouin »

Résumé :

Les cellules dendritiques (CD) sont bien connues pour être les cellules présentatrices de l'antigène par excellence, responsables de réactions d'immunisation. Il apparaît depuis quelques travaux chez le rongeur, et même chez l'homme, qu'elles pourraient aussi jouer un rôle opposé d'induction de tolérance dans certaines circonstances. Cette fonction tolérogène semble fortement liée avec un état d'immaturité. En transplantation, leur implication dans la tolérance à une allogreffe est suggérée dans des modèles de rongeurs mais ni chez l'homme ni chez le primate. En tant que groupe plus spécialisé dans les grands modèles précliniques de transplantation (aussi bien allo que xénotransplantation), nous avons voulu étudier le rôle potentiel de ces cellules en allotransplantation rénale chez le babouin. Il nous est apparu rapidement qu'aucune littérature n'existait chez le babouin et que nous devons donc dans un premier temps poser les bases de notre recherche en caractérisant le plus précisément possibles les CD du babouin. Pour ce faire les CD seront dérivées in vitro, soit à partir de précurseurs Cd34 de la moelle osseuse soit à partir de précurseurs CD14+ du sang périphérique. Notre but est de déterminer quel type de CD serait le plus approprié à notre stratégie d'induction de tolérance exprimant un phénotype et des fonctions de cellules immatures.

12 - **Gilbert FOURNIE** - INSERM U28, Toulouse

« Etude du rôle des sous-populations lymphocytaires T dans la réaction du greffon contre l'hôte chez le rat. Approche génétique à l'aide de lignées congéniques »

1 - **Julie DECHANET-MERVILLE** - UMR CNRS 5540, Bordeaux

« Recherche des ligands reconnus par les lymphocytes T γ S qui sont impliqués dans la réponse immunitaire dirigée contre le cytomégalo virus chez les receveurs de greffes »

2 - **Marie-Edith LAFON** - Université Bordeaux 2

« Hépatite C sur greffon hépatique : analyse de paramètres virologiques conditionnant la récurrence »

Résumé :

L'hépatite C chronique compliquée représente une indication fréquente de transplantation hépatique (TH). Néanmoins, si la transplantation peut permettre au patient de récupérer une fonction hépatique normale, une qualité de vie et une espérance de vie correctes, une virémie à VHC survient presque systématiquement après l'intervention, à partir de réservoirs extra-hépatiques de virus. La récurrence sur le greffon sous la forme d'une hépatite aiguë et/ou chronique, plus grave que chez l'immunocompétent, est fréquente. Les facteurs prédictifs de la gravité de cette évolution clinique sont encore mal connus. Certains sont vraisemblablement liés au virus (génotype, charge sérique, complexité et diversité des quasi-espèces virales dans le foie et le sang) ; d'autres dépendent des capacités de réponse immunitaires intrinsèques du patient (réponses lymphocytaires T CD4 et T CD8), modifiées par le traitement immunosuppresseur. Les objectifs de l'étude sont doubles : 1) Pour quinze patients, décrire de façon prospective des paramètres virologiques et immunologiques non pris en compte dans le suivi habituel des transplantés hépatiques, mais susceptibles d'influencer la sévérité de la ré-infection du greffon hépatique par le VHC. Les paramètres virologiques concernés sont la composition des quasi-espèces de VHC pour la région HVR1 dans le foie et le sérum. La complexité génétique est étudiée par PCR niché puis analyse du polymorphisme de conformation de l'ADN amplifié dénaturé (Single Strand Confrontation Polymorphism ou SSCP). L'étude immunologique porte sur les réactions immunitaires cellulaires dirigées spécifiquement contre le VHC, en particulier CD4 (tests de prolifération vis-à-vis d'antigènes et peptides de différentes régions du VHC). 2) Chez cinq patients, préciser le compartiment d'origine du (ou des) variants viraux qui réinfectent le greffon, par clonage et séquençage dans le sérum et le foie.

3 - **Jean-Luc DAVIGNON** - INSERM U 395, Toulouse

« Analyse de la réponse lymphocytaire T CD4+ anti-protéine IE1 du cytomégalo virus au cours des greffes de moelle osseuse à l'aide de multimères HLA DR peptide »

4 - **Emmanuelle CORRUBLE** - Hôpital Paul BROUSSE, Villejuif

SOUTIEN : 300 000 F

« Pronostic médical des greffes de foie et de rein : impact des facteurs psychiatriques, addictologiques et psychologiques »

Résumé :

Dans le domaine des greffes d'organes, les progrès techniques se sont accompagnés d'un élargissement des champs d'investigation : de purement médico-chirurgicaux, ces champs d'investigation sont aussi devenus psychosociaux. Même s'ils sont relativement bien documentés dans les domaines des greffes de cœur, les facteurs psychosociaux restent peu connus dans le domaine des greffes de foie et de rein, notamment l'influence des facteurs psychosociaux pré- et post-transplantation sur le pronostic médical de la greffe. Notre hypothèse est que, chez les candidats à la greffe de foie ou de rein, la psychopathologie (anxiété, dépression, conduites addictives, pathologies de la personnalité) en pré- et post-transplantation est un facteur de mauvais pronostic médico-chirurgical de la greffe. Nous faisons également l'hypothèse que, chez des patients candidats à la greffe de foie ou de rein, certains profils psychologiques, en termes de mécanismes de défense, d'attitudes par rapport au greffon et aux médicaments, seraient associés à un mauvais pronostic médical de la greffe de foie et de rein.

L'objectif principal est d'étudier chez des candidats à la greffe de foie ou de rein la valeur prédictive de la psychopathologie identifiée en pré-transplantation et en post-transplantation, dans le pronostic médico-chirurgical de la greffe. **Accessoires** : comparer le rôle de la psychopathologie dans le pronostic médical de la greffe : 1) en fonction de l'organe greffé : foie ou rein ; 2) en fonction de l'origine du greffon (cadavérique ou donneur vivant) ; 3) en fonction de la maladie initiale qui a motivé la greffe.

5 - **Hélène POIREL** - EA ATHSCO, Avicenne, Bobigny

« Caractérisation des anomalies génomiques des lymphoproliférations post-transplantation : signification clinique et corrélation avec la présence de l'EBV »

Résumé :

Les lymphoproliférations post-transplantations (PTLD) représentent une des complications les plus sérieuses après transplantation. Tout un spectre de proliférations lymphoïdes est décrit, allant de l'aspect polymorphe polyclonal au monomorphe monoclonal, le plus souvent de nature B associées à l'EBV. La fréquence élevée de détection de l'EBV (environ 92% des PTLD) est en faveur du rôle majeur de ce virus dans le développement des lymphoproliférations. Par contre, les anomalies géniques étudiées (*MYC*, *N-RAS*, *P53*) sont connues pour apparaître plus tardivement dans la progression des lymphoproliférations EBV-induites et sont supposées permettre l'émergence d'un vrai lymphome par un processus multi-étapes. Toutefois, ces événements géniques sont probablement plus précoces, mais vraisemblablement sous-estimés : les anomalies cytogénétiques sont peu caractérisées en raison de la difficulté d'obtention de métaphases analysables dans ces types de tumeur et les études moléculaires ne sont pas assez étendues pour répondre de façon

formelle sur la place des anomalies génétiques dans la physiopathologie de ces lésions par rapport au rôle de l'EBV. Par ailleurs, des proliférations EBV négatives connues pour leur mauvais pronostic, sont observées tardivement après la greffe, suggérant d'autres mécanismes de lymphomagenèse. Nous émettons l'hypothèse que ces proliférations autonomisées sont associées à des anomalies géniques complexes. L'étude des altérations génomiques de PTLD a un triple objectif :

i) identifier des remaniements génomiques récurrents afin de caractériser d'éventuels gènes candidats pouvant jouer un rôle dans l'autonomisation et/ou la progression de la prolifération lymphoïde ; ii) déterminer la place des anomalies génétiques dans la lymphomagenèse, par rapport au rôle de l'EBV ; iii) étudier l'instabilité génomique, ses mécanismes d'induction (notamment le rôle de l'EBV) et son rôle primaire ou secondaire dans le développement des proliférations lymphoïdes dans les différentes situations de déficits immunitaires acquis.

6 - François DURAND - INSERM U 481, Clichy

« Optimisation des indications de transplantation hépatique par donneur vivant : étude basée sur l'élaboration d'un modèle statistique »