

RECHERCHE ET GREFFES 2003

THEME 1 : Prélèvement, greffe et sciences humaines

THEME 2 : Amélioration des prélèvements

THEME 3 : Evaluation et amélioration de la sécurité et de la qualité des greffons

THEME 4 : Immunologie des greffes, xéno greffes, xénoassistance

THEME 5 : Recherche clinique, épidémiologie, santé publique

AZOULAY Daniel – AERCHB

« Anastomose bilio-biliaire versus anse en Y pour la reconstruction biliaire dans la transplantation hépatique de l'adulte (foie droit) avec donneur familial. Essai thérapeutique prospectif randomisé »

Résumé :

La transplantation hépatique avec donneur vivant chez l'adulte par l'intermédiaire du foie droit est devenue un moyen de répondre au manque de greffons cadavériques. Dernière étape de la transplantation hépatique, la reconstruction biliaire fait appel à deux techniques principales : l'anastomose hépato-jéjunale et l'anastomose bio-biliaire. Jusqu'à maintenant seules des séries rétrospectives comparent les deux types d'anastomose. Le but de cette étude est de comparer les résultats entre les deux types d'anastomoses de reconstruction biliaire : bilio-biliaire ou anse en Y dans la transplantation hépatique de l'adulte (foie droit) avec donneur vivant. L'objectif principal est l'incidence des complications biliaires quelles qu'elles soient, et en particulier la fuite anastomotique ou la sténose. Les objectifs secondaires sont la durée de l'intervention, la survie comparée des deux groupes, la biologie hépatique, l'existence d'un reflux biliaire et la cholangite post-opératoire. Le nombre de malades : avec les données de la littérature et l'expérience du Service, on considère que pour valider une différence de 35 % entre les deux techniques, il faut 30 malades par groupe soit 60 malades en tout. Deux années d'inclusions seront nécessaires pour atteindre ce chiffre.

CAILLAT-ZUCMAN Sophie – INSERM Paris V Financement : 20 000 €

« Les molécules de classe I non classiques MICA et MICB sont-elles des antigènes mineurs à l'origine de réactions allogéniques ? »

Résumé :

Les protéines MICA et MICB, codées par des gènes proches du gène HLA-B, sont des molécules de classe I non classiques qui ne présentent pas de peptides antigéniques aux lymphocytes T, mais fonctionnent comme signal d'alarme pour stimuler une réponse immunitaire innée ou adaptative. En effet, les molécules MIC fonctionnent comme ligands du récepteur activateur NKG2D exprimé à la surface de lymphocytes T CD8 $\alpha\beta$ et $\gamma\delta$, et des cellules NK, et stimulent ainsi des mécanismes effecteurs de cytotoxicité et production de cytokines. Leur expression, normalement restreinte à l'épithélium digestif, est induite à la surface de différents types cellulaires lors d'infection virale, de transformation tumorale, ou de rejet d'allogreffe. Enfin, les molécules MIC sont très polymorphes, ce qui nous conduit à penser qu'elles peuvent représenter des antigènes mineurs. Nos objectifs sont donc : 1/ déterminer si les cellules TCD8 peuvent reconnaître directement les molécules MIC allogéniques via le TCR, de manière indépendante des molécules HLA de classe I (expériences de culture mixte lymphocytaire), 2/ ou si des peptides dérivés de molécules MIC peuvent servir de ligands pour les molécules HLA classe I et induire ainsi une réponse CD8 spécifique (détectée à l'aide de tétramères HLA/MIC spécifiques), 3/ rechercher la présence d'alloanticorps anti-MIC chez les receveurs d'allogreffe pré-immunisés et déterminer leur corrélation éventuelle avec la survenue de rejet vasculaire (ELISA à l'aide de protéines MIC recombinantes solubles), 4/ rechercher la présence de molécules MIC solubles dans le sérum de patients en cours de rejet d'allogreffe (ELISA à l'aide d'anticorps monoclonaux anti-MIC), et déterminer leur corrélation avec l'expression de MIC dans les greffons (immunohistochimie). La recherche systématique de cellules T alloréactives anti-MIC et/ou d'alloanticorps anti-MIC pourrait être envisagée au vu de nos résultats.

Monique Gannage, Agnès Buzyn, Sofia I. Bogiatzi, Marion Lambert, Vassili Soumelis, Liliane Dal Cortivo, Marina Cavazzana-Calvo, Nicole Brousse, and Sophie Caillat-Zucman

Induction of NKG2D Ligands by Gamma Radiation and Tumor Necrosis Factor- α May Participate in the Tissue Damage during Acute Graft-Versus-Host Disease

Transplantation • Volume 85, Number 6, March 27, 2008

CAMBON-THOMSEN Anne – INSERM Toulouse

« *Analyse du registre de donneurs volontaires potentiels de cellules souches hématopoïétiques en vue d'optimisation par bioinformatique, statistique et économie : prototype de modèle théorique d'optimisation des performances (ARDOISE)* »

Résumé :

Objectifs généraux : Produire et tester un modèle théorique d'optimisation des performances du Registre National de Donneurs Volontaires Potentiels de Cellules Souches Hématopoïétiques sur le plan 1) de la stratégie des groupages HLA selon diverses techniques moléculaires lors du recrutement des donneurs, 2) de la taille du Registre et de l'efficacité de son utilisation (service rendu au patient).

Objectifs spécifiques : 1) Préciser les paramètres génétiques HLA à prendre en compte au niveau de la population dans ce modèle et la méthode statistique de leur estimation ; 2) Produire les algorithmes bioinformatiques nécessaires à l'optimisation du choix des paramètres moléculaires (sondes, marqueurs) et de leur ordre d'utilisation selon les techniques dans le cadre de ce modèle ; 3) Produire un algorithme d'analyse décisionnelle globale ; 4) Concevoir un prototype logiciel permettant une prise en compte dynamique de l'évolution du contenu du Registre. Ceci permettra de modéliser une étape importante de l'organisation de cette filière de santé et le modèle d'analyse décisionnelle éclairera les possibilités de développement.

Mise en œuvre de l'état de l'art : Ce Registre, géré par France Greffe de Moelle, a été mis en œuvre depuis 1987 pour faire face au manque de donneur familial histocompatible dans 70 % des indications de greffe de moelle osseuse, permettant ainsi à la greffe en situation non apparentée de se développer. Celle-ci représente actuellement dans le monde 25% des 15000 greffes allogéniques annuelles. L'interrogation du Registre est faite pour un patient donné sur la base du groupage HLA de celui-ci. Le Registre français comprend en 2002, 112000 donneurs potentiels dont le groupe HLA a été fait au moins partiellement à l'inscription dans l'un des 32 laboratoires habilités (tarif forfaitaire de 152 € par typage) et est utilisé au niveau national et international en connexion avec les 8 millions de donneurs enregistrés dans les Registres existant dans le monde. Cependant 1/3 seulement des patients ayant une indication de greffe non apparentée sont transplantés et plusieurs approches existent pour améliorer cette situation. Le plan greffe triennal français proposé par M. Aubry en 2000 s'est fixé d'augmenter le Registre de 10000 nouveaux donneurs/an. Compte tenu du très grand polymorphisme HLA et du fait que certains groupes HLA sont fréquents et d'autres rares, l'amélioration de la performance des Registres sur le plan immunogénétique ne peut reposer que sur une augmentation quantitative du nombre de donneurs. Il faut trouver notamment des moyens d'améliorer la diversité immunogénétique du registre sans atteindre un coût prohibitif. Les techniques de biologie moléculaire actuelles permettent d'envisager plusieurs stratégies : soit repérage des donneurs ayant un groupage fréquent par un pré-test partiel permettant de flécher les donneurs qui seront groupés de façon complète pour HLA (filtre moléculaire), soit utilisation de méthodes de typage direct automatisé à grande échelle. Un programme européen coordonné par l'INSERM U558 (MADO, www.euromado.org) examine en particulier les techniques qui permettraient de mettre en place un filtre moléculaire, d'autres projets sont orientés sur les typages à haute résolution selon diverses techniques. Cependant quelle que soit l'approche aucune modélisation théorique du « Registre idéal » n'a été faite selon les différents cas de figure, afin d'asseoir une analyse medico-économique, base de la décision du développement futur et de la stratégie à adopter dans l'organisation de cette filière de santé. C'est cette lacune que se propose de combler ce projet.

Ruptures technologiques : L'originalité de la démarche, prévue sur 24 mois, est de partir d'une modélisation théorique des performances du Registre prenant en compte les caractéristiques technologiques selon plusieurs stratégies de développement et d'analyser les propriétés de divers modèles et les conséquences en termes de développement logiciel.

Organisation du projet : Trois partenaires directs participent à la réalisation du projet : une équipe Inserm d'épidémiologie et d'analyses en santé publique pour la partie statistique et l'analyse de génétique des populations HLA, une unité CNRS/Université Toulouse 1 d'économie et mathématique quantitative pour l'analyse économique et décisionnelle et un Centre national de technologie pour la partie bioinformatique et prototypage logiciel. Ces partenaires directs s'appuieront régulièrement sur le quatrième partenaire : France Greffe de Moelle, sur les autres partenaires du projet MADO et lors de réunions spécifiques sur l'expertise d'acteurs de la filière concernée, en relation avec le groupe de l'établissement français des greffes en charge de la réflexion sur le développement du registre, dont fait partie le demandeur.

Retombées du projet : Aide à la décision de la stratégie d'optimisation du registre français de donneurs volontaires de cellules souches hématopoïétiques pour greffe en situation non apparentée et développement des outils moléculaires et logiciels afférents.

CARTIER-LACAVE Nathalie – MITOVISION

« Essai thérapeutique de phase I/II dans l'adrénoleucodystrophie : Thérapie génique par autogreffe de cellules CD34+ transduites avec un vecteur lentiviral »

Résumé :

Notre objectif est la thérapie génique d'une maladie neurodégénérative, l'adrénoleucodystrophie (ALD) basée sur le transfert du gène dans les cellules CD34+ suivi d'une autogreffe de cellules corrigées. L'ALD est une maladie démyélinisante létale, dont le seul traitement actuellement efficace est la greffe de moelle allogénique. La gravité du pronostic des formes cérébrales de l'enfant, le grand nombre de patients ne pouvant pas bénéficier de la greffe de moelle allogénique faute de donneur compatible, et les complications sévères de la greffe allogénique nous ont conduit à proposer cette alternative. Nous avons démontré, *in vitro* et *in vivo* (chez la souris SCID/NOD et la souris ALD) la faisabilité de cette stratégie en utilisant un vecteur lentiviral et établi une collaboration (Cell Genesys Inc) pour la production d'un lot de vecteur recombinant HIV-ALD de grade clinique et sommes en train de soumettre un dossier auprès de l'AFSSAPS. Notre demande d'aide auprès de l'Etablissement Français des Greffes concerne les étapes critiques de la mise en place de cet essai : 1) Réalisation de la toxicologie chez la souris ; 2) Transfert de technologie vers l'utilisation clinique : - transduction des cellules dans les conditions cliniques – test de détection de Lentivirus compétent pour la Réplication (RCL) sur les cellules transduites ; 3) Mise au point des éléments de suivi des patients après greffe : évaluation des sites d'intégration potentiellement délétères.

COHEN José - CNRS

« Utilisation thérapeutique des lymphocytes T CD4+CD25+ immunorégulateurs pour le contrôle de la maladie du greffon contre l'hôte après greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques »

Résumé :

L'effet anti-leucémique des lymphocytes T (Ly T) du greffon est un paramètre essentiel de l'efficacité du traitement des hémopathies malignes lorsque l'on a recours à des greffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH) allogéniques. Toutefois, ce type de greffe se trouve confronté à des risques importants de développer une complication majeure due également la présence de Ly T du donneur : la maladie du greffon contre l'hôte ou GVH qui met en jeu le pronostic vital des patients. La nécessité de développer des stratégies thérapeutiques innovantes permettant de bénéficier de l'effet anti-leucémique des Ly T du donneur en limitant les risques de GVH représente donc un enjeu clinique majeur. Ces dernières années, une série de travaux est venue apporter la preuve de l'existence d'une population de lymphocytes T régulateurs (Ly Treg) CD4⁺CD25⁺, présentes chez les rongeurs et l'homme, qui jouent un rôle central dans la prévention des maladies auto-immunes. Plus récemment, deux groupes ont montré que ces mêmes cellules sont capables de contrôler un rejet de greffe d'îlots ou de peu non compatibles. L'ensemble de ces travaux montrent le rôle potentiel de cette population de Ly Treg dans des stratégies d'induction de tolérance à une allogreffe. Le projet que nous comptons développer repose sur l'utilisation des Ly Treg dans le champ de la greffe de CSH allogénique. Récemment, nous avons montré chez la souris que des Ly Treg cultivés en présence de cellules allogéniques irradiées peuvent être amplifiés en nombre et éduqués pour retarder l'apparition de la maladie du greffon contre l'hôte après greffe de CSH allogénique. Notre objectif est maintenant d'établir les conditions expérimentales permettant de sélectionner *in vitro*, par une méthode simple et transposable à l'homme, des Ly Treg capables de contrôler de façon définitive la GVH chez la souris, en limitant le recours à des agents immunosuppresseurs. Dans un deuxième temps, nous validerons cette approche thérapeutique en termes de reconstitution du système immunitaire et du maintien de l'effet anti-leucémique. A terme, cette nouvelle approche pourrait aboutir à la mise en place d'une thérapie cellulaire permettant de contrôler la GVH chez des patients recevant une greffe de CSH allogénique.

DI MARTINO Vincent - ARMHV

« Evaluation de marqueurs non invasifs d'activité histologique et de fibrose (Actitest, Fibrotest) au cours de la récurrence C après transplantation hépatique : étude prospective multicentrique nationale »

Résumé :

L'objectif de cette étude multicentrique est d'évaluer dans des conditions pragmatiques, chez des patients transplantés hépatiques atteints de récurrence d'hépatite C post transplantation, la performance diagnostique de marqueurs non invasifs d'activité histologique et de fibrose (Actitest, Fibrotest), combinant 6 variables biochimiques standard mesurés dans le sérum : l'activité de l'ALAT, de la GGT, la bilirubinémie, l'apolipoprotéine A1, l'haptoglobine, et l'alpha2-macroglobuline. Ces marqueurs seront comparés aux données histologiques (activité et fibrose dans la classification METAVIR) fournies par l'examen d'une biopsie hépatique servant classiquement de référence. La biopsie et les

marqueurs auront été prélevés dans le même temps. Pour chaque patient, la biopsie aura été indiquée par l'équipe de transplantation, non pas pour les besoins de l'étude, mais dans le cadre de la surveillance habituelle des patients. En cas de validation dans cette population, le fibrotest pourrait s'avérer être un outil précieux pour 1) modéliser l'histoire naturelle de la récurrence C après transplantation hépatique, 2) évaluer la réponse histologique aux traitements, 3) mesurer l'impact sur l'histologie hépatique des différents traitements immunosuppresseurs. Ces marqueurs pourraient être testés à d'autres populations de patients transplantés hépatiques exposés à une affection fibrosante du greffon. Enfin, ils permettraient d'améliorer la prise en charge et la qualité de vie des patients, en leur évitant certaines biopsies systématiques.

FARGE Dominique - Association Naturalia et Biologia

« Etude de la réponse observée après autogreffe de moelle au cours de la sclérodémie systémique sévère »

Résumé :

Afin de contribuer à l'étude de la réponse observée après autogreffe de moelle au cours de la sclérodémie systémique sévère, nous proposons l'étude suivante :

1) Inclure 20 malades en 3 ans dans le cadre de l'essai européen ASTIS www.astitrial.com, étude contrôlée de phase III prospective randomisée et multicentrique européenne qui devra inclure 100 patients dans chaque bras pour :

- Comparer l'efficacité et la toxicité :

* d'une intensification thérapeutique (bras étudié) à forte dose après mobilisation des cellules souches hématopoïétiques périphériques (CSHP) par du Cyclophosphamide intraveineux (2 g X 2/ M²) et du Filgrastim 10µg/kg/jour suivi d'une sélection positive (CD34+ puis d'un conditionnement 6 semaines plus tard par Cyclophosphamide i.v. (200mg/kg dose totale) et Globulines antithymocytaires de lapin (7.5mg/kg) suivi de l'autogreffe des CSHP prélevées.

* au traitement de référence (bras contrôle) reposant sur 12 bolus mensuels de Cyclophosphamide i.v. (750mg/m²)

- et dont le critère principal de jugement est la durée de survie sans événement, défini comme le temps entre le jour de la randomisation et le décès ou l'apparition d'une défaillance viscérale : cardiaque, pulmonaire, ou rénale majeure persistante, sur une période d'étude de deux ans.

2) Analyser les déterminants immunologiques de la réponse observée sur les 10 patients autogreffés : étude de la reconstitution immunitaire par immunomarquage, analyse du répertoire et de la fonction thymique.

3) Analyser si l'amélioration clinique observée chez les 20 patients (greffés et contrôle) est corrélée à des modifications des signaux profibrosants liés au TGF β au niveau des lésions cutanées, par étude des biopsies cutanées prélevées dans les zones cliniquement atteintes avant le début du traitement et 6 mois après la période où l'amélioration clinique devient appréciable.

FERRAND Edouard - Hôpital Henri Mondor AP-HP

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

Résumé :

Le prélèvement d'organes est considéré depuis toujours comme accepté sans restriction de la part de la communauté médicale et paramédicale, ce qui est illustré par un discours officiel utilitariste, où le prélèvement d'organes apparaît comme une nécessité et une mission, où les bénéfices s'expriment en termes économiques ou de qualité de vie pour les patients greffés. Cependant ce consensus n'a jamais vraiment été évalué. La question d'un désaccord non exprimé d'un certain nombre de soignants peut être soulevée. Le manque de formation, le manque de pratique, le manque de gratification, la souffrance morale due à la violence ressentie, même si consentie, de la demande aux familles, déjà meurtries par l'annonce du décès, comme aux convictions philosophiques ou religieuses contraires, concernant la mort ou le prélèvement d'organes, ne sont pas des éléments actuellement pris en compte chez les acteurs du prélèvement. Pourtant, ils demandent à être évalués et en particulier, il paraît intéressant de déterminer leur influence sur les conditions et les procédures de prélèvement. L'hypothèse peut donc être soulevée d'un manque d'acceptation et d'une souffrance non exprimés des acteurs même du prélèvement pouvant influencer sur un moindre recensement des sujets en mort encéphalique. La professionnalisation médicale comme paramédicale pourrait être une des solutions à cette hypothèse. En effet, en France, seuls 3 médecins et 60 équivalents temps plein infirmiers sont dédiés officiellement à cette activité. Pour tenter de démontrer cette hypothèse, nous menons actuellement une étude comparant le ressenti des acteurs du prélèvement en France – Etude DOREA – soutenue dans sa partie française par un premier appel d'offres en 2001. Nous souhaitons

étendre l'étude à différents pays européens (Italie, Espagne, Allemagne, Suisse, Portugal). L'objectif principal du projet est d'évaluer le vécu des équipes médicales et paramédicales en charge des sujets en mort cérébrale. **Les objectifs spécifiques** sont : 1) d'évaluer l'acceptation du prélèvement d'organes sur sujet décédé à cœur battant de la part des équipes médicales et paramédicales en charge des sujets en mort cérébrale ; 2) d'évaluer la satisfaction des procédures de prise en charge des sujets en mort cérébrale en fonction des caractéristiques organisationnelles

Les objectifs secondaires sont : 1) de rechercher une différence de perception de la prise en charge des sujets en mort cérébrale en fonction de la nationalité ; 2) d'évaluer la satisfaction des procédures de prise en charge des sujets en mort cérébrale en fonction de l'expérience d'une professionnalisation de cette activité ; 3) amener une nouvelle réflexion sur la procédure de prise en charge en France.

Etude prospective multicentrique d'une durée d'1 an. L'étude sera proposée à tous les centres des pays concernés, référents pour la prise en charge de patients potentiels donneurs d'organes, habilités ou non à la transplantation, par l'intermédiaire d'un coordinateur de l'étude par pays. **Méthodologie** : étude prospective par questionnaire. Après acceptation, un questionnaire sera remis aux médecins réanimateurs et infirmières des services ayant pour mission la prise en charge des sujets en mort cérébrale. Le questionnaire comporte plusieurs thèmes : caractéristiques du service, du répondeur (fonction, expérience, investissement, motivation, charge émotionnelle), de la prise en charge, de l'approche des familles, du ressenti de l'action des professionnels du prélèvement, perspectives et propositions suggérées.

FOURNIE GILBERT - INSERM Toulouse

“Etude de la réaction du greffon contre l'hôte chez le rat. Approche génétique à l'aide de lignées congéniques pour les chromosomes 9 et 10 »

Résumé :

La réaction du « greffon contre l'hôte » (GVH), médiée par des lymphocytes T du greffon, reste un obstacle à la réalisation des greffes de moelle. Notre but est d'identifier les gènes qui contrôlent la GVH. Pour cela nous disposons, (1) de deux souches de rats, qui diffèrent dans l'orientation Th2 (BN) ou th1 (LEW) de leurs réponses immunes, (2) de travaux qui montrent, en dehors du CMH, le rôle majeur des chromosomes (c) 9 et 10 dans le contrôle des réponses immunes et de la susceptibilité des souches BN ou LEW, aux maladies autoimmunes, allergiques et infectieuses, (3) de lignées BN et LEW congéniques pour les c9 et c10 qui permettent la « dissection génétique » de ces chromosomes, (4) d'un modèle original de VH induite par T CD4* de rat BN ou LEW à des rats f1 (BN x LEW). Notre projet repose sur l'hypothèse que des gènes localisés sur les chromosomes 9 et 10 dans les régions de contrôle des réponses immunes, jouent un rôle dans le contrôle de la GVH. Les études réalisées grâce à la subvention de l'EFG en 2001, ont localisé sur le c10, deux loci de contrôle de la GVH, confirmant cette hypothèse. Le travail qui sera réalisé (1) devra préciser dans un premier temps la localisation des deux loci identifiés sur le c10, (2) cherchera des loci de contrôle sur le c9 à l'aide des lignées congéniques maintenant disponibles, (3) cherchera à localiser par dissection génétique à l'aide de lignées recombinantes les régions de contrôle dans des intervalles de l'ordre de 1 centiMorgan, (4) analysera les effets des loci identifiés, sur le phénotype et la fonction des lymphocytes T CD4. Ce travail devra être poursuivi pour identifier les gènes impliqués et étudier les mécanismes qu'ils mettent en jeu, ouvrant la voie à de nouvelles possibilités d'immuno-intervention applicables au domaine de la greffe de moelle osseuse.

Magali Mas, Pierre Cavallès, Céline Colacios, Jean-François Subra, Dominique Lagrange, Maryline Calise, Marie-Odile Christen, Philippe Druet, Lucette Pelletier, Dominique Gauguier, and Gilbert J. Fournié

Studies of Congenic Lines in the Brown Norway Rat Model of Th2-Mediated Immunopathological disorders Show That the Aurothiopropanol Sulfonate-Induced Immunological Disorder (Aiid3) Locus on Chromosome 9 Plays a Major Role Compared to Aiid2 on Chromosome 101

The Journal of Immunology. 0022-1767/04/\$02.00

Emmanuel Xystrakis, Pierre Cavailles, Anne S. Dejean, Bastien Cautain, Céline Colacios, Dominique Lagrange, Marie-Jose van de Gaar, Isabelle Bernard, Daniel Gonzalez-Dunia, Jan Damoiseaux, Gilbert J. Fournié and Abdelhadi Saoudi

Functional and Genetic Analysis of Two CD8 T Cell Subsets Defined by the Level of CD45RC Expression in the Rat

The Journal of Immunology. 0022-1767/04/\$02.00

KAPITZ Christiane - ENS Lettres et sciences humaines

« *Greffes et dons d'organes : éthique, médias et société* »

Résumé :

La proposition de recherche consiste à prendre en compte le discours médiatique et à analyser la manière dont il peut intervenir dans le débat concernant les greffes d'organes. Les différents outils conceptuels des Sciences de l'Information et de la Communication permettront d'observer les relations entre science (médecine, chirurgie), techniques (transplantations), médias et société en répondant aux questions suivantes :

Dans quelles formes discursives le discours incarne-t-il la réflexion sur l'éthique ? L'éthique s'inscrit-elle dans un champ d'expertise ou dans une réflexion sur le rapport science-société par le biais d'un réel questionnement ? Quelle place l'éthique occupe-t-elle dans l'information sur les greffes (notamment par rapport à la vulgarisation) ? Quelle est la représentativité du public (associations de malades, conférences de consensus ...) dans le discours médiatique sur les greffes ?

Ce travail de recherche s'articule autour de plusieurs axes : une étude diachronique des discours de presse ; une mise en relation de ce corpus avec certains éléments des fonctionnements sociaux qui le sous-tendent (structure et fonctionnement des comités d'éthique, du dispositif législatif, événements scientifiques marquants, représentations sociales, modalités du don, modalités de débat social de la science en France) ; une analyse historique de la transplantation d'organes ; une étude anthropologique des débats au sein de comités d'éthique ; une analyse des modes d'information sur les greffes.

LANG François – Université de Nantes

« *Evaluation de nouveaux immunosuppresseurs en prévention du rejet de greffe allogénique* »

Résumé :

La recherche de nouvelles substances immunosuppressives dans le domaine de la transplantation reste d'actualité. En effet, les produits actuels inhibent principalement l'activation lymphocytaire T et l'immunosuppression large qui en résulte est responsable d'une augmentation importante de syndromes lympho-prolifératifs chez les transplantés, qui viennent s'ajouter aux effets secondaires propres des produits. Une alternative thérapeutique originale consisterait à cibler non plus le lymphocyte T mais la cellule réparatrice d'antigène qui joue un rôle essentiel dans l'initiation de la réaction immunitaire contre le greffon par présentation directe ou indirecte des MHC allogéniques. Il est donc envisageable qu'en altérant exclusivement les capacités de présentation des CPA sans affecter les voies d'activation T, on puisse inhiber significativement l'initiation du rejet sans inhiber massivement les réponses immunes mémoires du receveur. Dans cette optique, nous avons caractérisé au sein de notre laboratoire une série de molécules dont le chef de file, JM34, inhibe *in vitro* la maturation des cellules dendritiques sans affecter la réponse spécifique de clones lymphocytaires T mémoires. De plus, ce produit a montré une activité immunosuppressive significative *in vivo* dans un modèle d'hypersensibilité retardée chez la souris. Notre projet consiste donc à mettre en place un modèle de greffe de cœur allogénique chez le rat et tester différents protocoles d'administration de notre JM34 dans le but d'induire une tolérance à la greffe. En cas de succès, nous envisageons dans un deuxième temps des essais de transfert de tolérance pour identifier les éventuels lymphocytes T tolérogènes. Parallèlement, nous testerons l'intégrité de la réponse lymphocytaire T mémoire chez les rats traités pour valider notre hypothèse initiale d'un effet sélectif de nos produits sur la réponse immune primaire.

LE BOUTELLER Philippe – INSERM Toulouse

« *Fonctions effectrices du récepteur NK activateur CD 160* »

Résumé :

Lors du processus tumoral, on observe fréquemment une perte d'expression des molécules du CMH de Classe I. Ce phénomène qui permet un échappement de la tumeur à la réponse lymphocytaire T devrait rendre les cellules sensibles à la lyse par les cellules « natural killer » (NK). Cependant, les tumeurs qui ont perdu totalement l'expression des molécules de classe I ne sont pas éliminées par les cellules NK. Les mécanismes précis d'échappement tumoral à la cytotoxicité des lymphocytes tueurs naturels sont mal connus. Les cellules NK participent à l'immunité innée à la fois en lysant les cellules tumorales et en produisant des cytokines qui influencent le type de réponse immunitaire adaptative. Elles participent donc au contrôle de la croissance tumorale et préviennent la dissémination rapide des tumeurs métastatiques. Les deux types de fonctions effectrices exercées par les cellules NK sont régulées par de multiples couples récepteurs ligands qui induisant des signaux inhibiteurs ou activateurs. Nos recherches actuelles, en collaboration avec A. Bensussan (INSERM U448, Créteil), portent sur le récepteur CD160/BY55, lié à la membrane par une liaison phosphatidyl inositol glycane

(PIG), et présent à la surface des lymphocytes NK CD56⁺ et CD16⁺. Nous avons récemment démontré que CD160 est un récepteur activateur de la fonction cytotoxique des cellules NK et dont le ligand sur la cellule cible est le modèle HLA-C (Le Bouteiller et al., PNAS, 2002). Ce projet comporte 4 objectifs principaux : 1) Etudier la *spécificité fine des ligands HLA-C impliqués*, par l'utilisation de molécules solubles recombinantes CD160-Flag dont la fixation sera évaluée en cytométrie de flux sur un ensemble de transfectants cellulaires JAR (lignées HLA négative) exprimant un seul allèle HLA-C (HLA-Cw1, Cw2...Cw8). Si des différences de fixation sont observées, une comparaison de séquences permettra de cibler les acides aminés potentiellement impliqués et de construire des molécules chimères ou délétées de ces acides aminés. Des transfectants chimériques pour ces molécules HLA-C seront utilisés pour évaluer la fixation des molécules solubles recombinantes CD160-Flag. Nous définirons ainsi les sites d'interaction cruciaux entre récepteur CD160 et HLA-C ; 2) *Analyser si l'activité du récepteur CD160 est régulée par d'autres récepteurs activateurs de type NKG2D et NCR, NKp46* en particulier. Ces analyses se feront en utilisant la technique de cytotoxicité au chrome avec des couples de cellules NK effectrices exprimant CD160 et l'un de ces récepteurs activateurs et de cellules cibles exprimant les ligands respectifs de ces récepteurs. L'utilisation d'anticorps monoclonaux bloquant ces récepteurs et/ou leurs ligands permettra de démontrer la spécificité de ces interactions ; 3) *Rechercher les molécules associées et les voies de signalisation* induites par l'engagement de CD160 avec son ligand HLA-C. la structure GPI de CD160 implique que la signalisation induite par son engagement diffère de celle des autres récepteurs NK qui ont un domaine transmembranaire et utilisant des protéines adaptatrices. Nous comparerons des cellules NK cross-linkées par un anticorps anti-CD160 ou par un anticorps contrôle irrelevante de même isotype. Nous purifierons les micro-domaines glycosphingolipidiques (formés par l'interaction de plusieurs protéines GPI), à la surface de cellules NK CD160+ isolées du sang périphérique et rechercherons une association de CD160 avec les récepteurs membranaires exprimés à la surface des cellules NK par immunoprécipitation de CD160 de surface et Western Blot à l'aide d'anticorps spécifiques. Nous rechercherons une activité tyrosine kinase (TK) associée à CD160 après immunoprécipitation spécifique et radiomarquage des immunoprécipités *in vitro*. Une fois la présence d'activité TK établie, nous tenterons de l'identifier par des expériences de co-immunoprécipitation où la présence de PTKs (par exemple, Lck, et Fyn dont l'association avec des PIG récepteurs a été démontrée) sera recherchée par Western Blot. Des expériences parallèles de co-localisation en microscopie confocale seront effectuées. Seront également recherchés les seconds messagers lipidiques de type phosphatidylinositol triphosphate présents dans les cellules NK cross-linkées par anti-CD160 ; 4) *Analyser la sécrétion de cytokines (en particulier TNF- α , IFN- γ , IL-10) par les cellules NK après engagement du récepteur CD160 par un anticorps cross-linké ou par son ligand physiologique* : utilisation de RT-PCR, de la cytométrie de flux intracellulaire sur cellules perméabilisées et/ou ELISA spécifiques à partir de surnageants de culture. Il a été montré qu'au cours des allogreffes de moelle osseuse, les cellules NK du donneur pouvaient exercer à la fois un effet GvL contre des cellules leucémiques myéloïdes résiduelles, empêchant la rechute, et un effet anti-GvH. Ces effets sont fonction des allèles HLA et des récepteurs NK exprimés par le receveur et le donneur. La connaissance des mécanismes régulant l'expression et la fonction des récepteurs NK activateurs est donc primordiale dans l'optique d'une approche thérapeutique basée sur l'utilisation de cellules NK allogéniques lors de greffes de moelle osseuse.

Aliz Barakonyi, Magali Rabot, Anne Marie-Cardine, Maryse Aguerre-Girr, Beata Polgar, Valérie Schiavon, Armand Bensussan, and Philippe Le Bouteiller

Cutting Edge: Engagement of CD160 by its HLA-C Physiological Ligand Triggers a Unique Cytokine Profile Secretion in the Cytotoxic Peripheral Blood NK Cell Subset

The Journal of Immunology. 2004, 173: 5349–5354

Pierre Fons, Sophie Chabot, Judith E. Cartwright, Françoise Lenfant, Fatima LFaqihi, Jerome Giustiniani, Jean-Pascal Herault, Geneviève Gueguen, Françoise Bono, Pierre Savi, Maryse Aguerre-Girr, Sylvie Fournel, François Malecaze, Armand Bensussan, Jean Plouët, and Philippe Le Bouteiller

Soluble HLA-G1 inhibits angiogenesis through an apoptotic pathway and by direct binding to CD160 receptor expressed by endothelial cells

Blood, 15 October 2006 _ Volume 108, Number 8

LILA Nermine – Association Naturalia et Biologia

« Expression de HLA-G et transplantation cardiaque et pulmonaire »

Résumé :

HLA-G est un antigène de classe I non classique du complexe majeur d'histocompatibilité exprimé par le cytotrophoblaste à l'interface foëto-maternelle. Il participe à la tolérance de la greffe physiologique semi-allogénique foëtale. Nos travaux sur la recherche d'une expression de la molécule HLA-G chez les transplantés cardiaques ont permis de montrer pour la première fois que certains malades transplantés exprimaient la molécule de tolérance HLA-G au niveau du greffon et dans leur sérum et que cette expression était associée à une meilleure acceptation de la greffe. Nous avons montré de plus, par réaction lymphocytaire mixte in vitro, que la forme soluble HLA-G5 était sécrétée par les lymphocytes TCD4+ activés et que cette expression était associée à une prolifération significativement réduite. Nous allons poursuivre notre étude chez les transplantés cardiaques et pulmonaires avec pour objectif de préciser : 1) la corrélation entre l'expression de HLA-G et la tolérance de la greffe à long terme ; 2) la corrélation avec le traitement immunosuppresseur utilisé ; 3) le type de cellules impliquées dans cette expression chez les patients ; 4) les mécanismes activateurs de l'expression de HLA-G (IL-2, IL-10, INF- β et INF- γ) ; 5) le rôle de l'expression de HLA-G dans la compatibilité entre donneur et receveur ; 6) la mise au point d'un test ELISA de quantification des formes solubles dans le sérum de patients transplantés. Les conséquences pratiques de ces recherches sont de permettre d'alléger les contraintes de surveillance et de réduire le traitement immunosuppresseur chez les malades exprimant HLA-G. Elles devaient permettre également d'expliquer pourquoi HLA-G est exprimé chez certains malades et non pas chez d'autres, et d'une manière plus générale de préciser le rôle de HLA-G dans la tolérance immunitaire d'une greffe.

MARTI Hans-Peter & RONDEAU Eric – INSERM Paris VI

« Analyse du profil d'expression des gènes au cours de la néphropathie chronique d'allogreffe par la technique du microarray : une nouvelle approche diagnostique, pronostique et thérapeutique »

Résumé :

La néphropathie chronique d'allogreffe (NCA) est, avec la mort des patients dont le greffon était fonctionnel, la principale cause de perte du greffon (3-5% par an). C'est pourquoi il est prioritaire de définir de nouvelles stratégies en transplantation rénale, pour mieux comprendre et traiter la NCA. Nous faisons l'hypothèse que l'analyse des prélèvements issus de biopsies de greffon, par la méthode des puces Affymetrix® HG-U133A GeneChip® microarrays, permettra d'identifier des gènes candidats impliqués dans son développement. En particulier, cette technique pourrait aider à identifier des gènes ayant valeur de marqueur diagnostique ou pronostic, ainsi que de nouveaux gènes « cible » pour une prise en charge thérapeutique plus précoce de la NCA. Seront inclus dans l'étude tous les patients transplantés suivis à l'hôpital Tenon (Paris) pour lesquels une biopsie du greffon est réalisée – soit en moyenne 5 patients par mois. Nous réaliserons en parallèle, à titre de contrôle, des biopsies rénales en zone saine sur des pièces de néphrectomie pour cancer. Les prélèvements seront classés en trois groupes : 1/ fragments de reins propres (n=6), 2/ fragments de greffons pour lesquels un diagnostic différent de NCA est porté (rein normal, n=6, lésions d'origine non immunologique, n=6, rejet aigu, n=6), et 3/ fragments de greffons présentant des lésions de NCA (n=16). Nous estimons que la durée de l'étude sera d'environ 18 mois : 10 mois seront nécessaires pour la collection des prélèvements et l'isolement des ARNs, 1 mois pour la réalisation des microarrays, et 7 mois pour l'analyse informatique (externe) des données. A plus long terme, nous envisageons une validation de nos résultats par la réalisation d'une étude multicentrique et prospective, au moyen de la même méthode.

MOHTY Mohamad – Institut Paoli Calmettes

« Caractérisation des fonctions immunorégulatrices des effecteurs immuns et des cellules dendritiques issues de greffon de moelle osseuse et de cellules souches périphériques hématopoïétiques »

Résumé :

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (allo-CSH) est une thérapeutique approuvée pour les hémopathies malignes. Le pouvoir curatif de l'allo-CSH repose essentiellement sur le contrôle de la maladie par certains effecteurs issus du greffon (effet GVT). Initialement, la moelle osseuse (MO) représentait la source principale de greffon. Plus récemment, les cellules souches hématopoïétiques périphériques (CSP) recueillies après mobilisation par G-CSF sont apparues comme une modalité attractive pour l'allo-CSH. Ainsi, l'utilisation des CSP au lieu de la MO est associée à un bénéfice net en termes de récupération hématopoïétique, avec toutefois une différence significative en termes de réaction chronique de greffon contre l'hôte (GVH). Ceci soulève la question de l'impact de la source

du greffon sur le développement des phénomènes d'allo-réactivité observés post allo-SCH. Plusieurs observations suggèrent que les différences des phénomènes cliniques observés *in vivo* sont en rapport avec les différences en contenu des greffons (MO ou CSP) en termes d'effecteurs lymphocytaires et de cellules dendritiques (DC). En effet, le G-CSF joue un rôle majeur dans la modulation des capacités fonctionnelles des sous-populations lymphocytaires et DC. Ainsi, en raison, (i) du rôle prédominant de l'effet GVT dans le pouvoir curatif de l'allo-CSH, et donc sur le devenir des patients, (ii) de la grande variabilité clinico-biologique en rapport avec la source du greffon, (iii) du rôle clef des DC dans le contrôle des réactions immunes, (iv) et de l'identification de différentes sous-populations lymphocytaires T fonctionnellement différentes, nous proposons une étude comparative des différents effecteurs immuns (MO versus CSP), tout en focalisant sur l'analyse quantitative et qualitative des différentes sous-populations DC et lymphocytaires T. Notre objectif consiste à décliner les différences biologiques pouvant expliquer la variabilité clinique observée post allo-CSH. Les DC participant à la régulation des réponses immunes, leur rôle en immunologie anti-tumorale apparaît critique. La caractérisation de leurs interactions avec les autres sous-populations effectrices pourrait rendre compte de certains aspects de leur physiologie et de leur plasticité, notamment des mécanismes impliqués dans l'allo-réactivité observés post allo-CSH, mais aussi dans l'inhibition des réponses immunitaires anti-tumorales.

ROUAS-FREISS Nathalie – CEA

« *HLA-G en transplantation : démonstration de son rôle tolérogène et potentiel thérapeutique* »

Résumé :

La participation de la molécule HLA-G aux mécanismes de la tolérance est étudiée depuis plusieurs années par notre groupe. Les résultats obtenus jusqu'à présent confirment le potentiel tolérogène de cette molécule. En effet, l'expression atypique de HLA-G a été démontrée au niveau de transplants tolérés cardiaques, pulmonaires, hépatiques et rénaux, ainsi qu'au niveau de cellules présentatrices d'antigène infiltrant les greffons. De plus, nos études portant sur des transplants cardiaques et des doubles transplants rein/foie ont permis d'établir une corrélation entre l'expression de HLA-G et une réduction de nombre des épisodes de rejet aigu et une absence de rejet chronique. Exprimée par les tissus transplantés, HLA-G inhiberait les effecteurs immuns et constituerait donc une protection contre la réaction de rejet. Poursuivant nos travaux sur l'implication de la molécule HLA-G, en transplantation, ce projet se divise en trois volets d'études : (1) l'analyse *ex vivo* de l'expression ectopique de HLA-G chez des patients mono- et bi-transplantés rein/foie *in situ* au niveau du greffon et du sang périphérique ; ceci afin de déterminer les cellules exprimant les molécules HLA-G membranaires et/ou solubles et préciser la corrélation avec l'acceptation de la greffe, (2) la caractérisation des effecteurs cellulaires et des mécanismes impliqués dans l'expression ectopique de HLA-G au cours de réactions allogéniques *in vitro* et l'implication fonctionnelle d'une telle expression sur le contrôle de la réponse lymphocytaire T allogénique, et (3) le rôle de la molécule HLA-G exprimée à la surface des cellules présentatrices d'antigène dans la modulation de réponses allogéniques *in vitro*.

SANQUER Sylvia – HEG Pompidou

« *Evaluation de l'activité calcineurine en tant que marqueur d'efficacité de la prophylaxie de la GVH aiguë* »

Résumé :

La réaction aiguë du greffon contre l'hôte (GVH) complique plus de la moitié des allogreffes de cellules souches hématopoïétiques (CSH) et reste, malgré l'instauration d'une prévention par ciclosporine et mathotrexate, la source de mortalité la plus importante après greffe. L'adaptation des posologies de ciclosporine se fait actuellement en fonction de sa concentration sanguine. Cette concentration est plus corrélée à la toxicité qu'à l'efficacité du médicament, et ne permet pas de prédire son rôle biologique apprécié par l'inhibition de l'activité calcineurine. Nous avons préalablement montré que les cellules mononuclées de patients présentant une GVH chronique résistante au traitement exprimaient une très forte activité calcineurine comparativement aux transplantés rénaux stables. De plus, nous avons montré, dans une étude pilote de 31 patients suivis pendant les 2 premiers mois post-greffe, que, l'activité de la calcineurine est inhibée chez les patients ne développant pas de GVH aiguë alors qu'elle est élevée chez les patients qui développent une GVH aiguë, cette élévation précédant la GVH pour au moins la moitié des patients (Article soumis présenté en Annexe). La surveillance de l'activité calcineurine devrait permettre de définir, à l'échelon individuel, la posologie de ciclosporine la mieux adaptée pour prévenir la survenue de GVH aiguë. L'objectif primaire de cette étude clinique est de réaliser un suivi prospectif de l'activité calcineurine pendant les 100 premiers jours suivant une allogreffe de CSH. Les objectifs secondaires sont

d'évaluer la faisabilité d'une adaptation posologique de la ciclosporine sur l'activité calcineurine, l'évolution du phénotype des cellules mononuclées et l'expression des gènes cibles de la cascade de signalisation calcineurine/NFAT, et la corrélation de l'activité calcineurine avec la survenue de GVH aigüe et sa gravité.

SARNACKI Sabine – INSERM Paris V

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

Résumé :

Les protocoles immunosuppresseurs chez l'homme associent des drogues de modes d'actions différents et il est souvent difficile d'appréhender *in vivo* l'effet immunologique résultant de ces associations souvent empiriques. Il serait souhaitable de disposer d'un modèle animal permettant de tester *in vivo* le mode d'action d'une drogue ou d'une association de drogues immunosuppressives.

Les modèles murins conventionnels ne permettent pas de répondre à ces impératifs car les clones spécifiques des alloantigènes du donneur représentent une proportion très faible des lymphocytes T du receveur (0.01%) qui ne peuvent être reconnus facilement et donc à fortiori étudiés. La seule façon de résoudre ce problème est de réaliser un modèle de transplantation d'organe chez des souris transgéniques pour un récepteur T spécifique d'un antigène donné. Nous avons mis au point un modèle de greffe cardiaque vascularisé chez des souris Rag2^{-/-} transgéniques pour un récepteur T spécifique d'un antigène mineur HY (TCR anti-HY), identifiable à l'aide d'un anticorps monoclonal. Pour valider ce modèle, nous avons choisi d'utiliser comme immunosuppresseur l'anticorps anti-LFA-1 dont nous avons déjà démontré l'efficacité dans un modèle de transplantation cardiaque vascularisé standard et pour lesquels les mécanismes d'action restent incomplètement élucidés. Cet anticorps sera associé ou non à d'autres immunosuppresseurs classiques (tacrolimus, rapamycine). Une analyse du phénotype et des propriétés fonctionnelles des lymphocytes T intervenant dans la réaction allogénique (lymphocytes T transgéniques), soit en situation de rejet, soit sous traitement immunosuppresseur sera ainsi réalisée. Ce modèle constitue ainsi un modèle préclinique visant à optimiser la composition des protocoles immunosuppresseurs chez l'homme.

Seitetsu Go, Audrey Fleischmann, Olivier Lantz, Célia Cretolle, Nicole Brousse, Nadine Cerf-Bensussan and Sabine Sarnacki

Anti-LFA-1 Antibody Postpones T-cell Receptor Triggering While Preserving Generation of Regulatory T Cells in T-cell Receptor Anti-HY Transgenic Mice

Transplantation • Volume 82, Number 1, July 15, 2006

SOULILLOU Jean-Paul – Association ITERT

« *Caractérisation de la tolérance chez des patients transplantés rénaux ayant arrêté tout traitement immunosuppresseur* »

Résumé :

Actuellement, la survie d'un greffon dépend de l'administration d'immunosuppresseurs puissants. Leur s'accompagne généralement d'un rejet. Cependant, une minorité de patients « tolère » leur greffe en l'absence de toute immunosuppression. Nous disposons d'une cohorte de patients transplantés rénaux ayant arrêté tout traitement immunosuppresseur et qui acceptent leur greffe. Notre objectif est de déterminer, dans le sang, un profil caractéristique de l'état de tolérance. Une première approche a permis de dégager, chez ces patients « tolérants », une « signature » transcriptionnelle de la tolérance avec un répertoire des lymphocytes T altéré et de forts ratios Vβ/HPRT. L'absence de cytokines Th1 et Th2 dans les familles Vβ présentant une altération suggèrent une anergie. La suite de ce travail a pour but de caractériser l'état de « tolérance » sur les plans phénotypique et fonctionnelle. D'éventuelles cellules décrites dans la littérature comme « régulatrices » seront recherchées (TCD4+CD25+, TCD8+CD28-, TCD4-CD8-). Le phénotype CD4 et/ou CD8 des familles Vβ présentant une altération sera aussi analysé. Nous étudierons la fonction de ces populations cellulaires en nous intéressant à leur éventuel caractère anergique et/ou suppressif. Parallèlement, la réponse allogénique de type direct sera regardée.

S. Brouard, A. Dupont, Magalie Giral, S. Louis, D. Lair, C. Braudeau, N. Degauque, F. Moizant, F. Pallier, C. Ruiz, M. Guillet, D. Laplaud, JP Soullilou

Operationally tolerant and minimally immunosuppressed kidney recipients display strongly altered blood t-cell clonal regulation

American journal of Transplantation 2005; 5: 330-340. Blackwell Munksgard

UZAN Georges - INSERM Paris XI

“Modèles in vivo permettant de valider la greffe de cellules souches endothéliales humaines pour la thérapie cellulaire de l'ischémie »

Résumé :

Les précurseurs circulants humains des cellules endothéliales (PEC) ont une origine médullaire et ont la capacité de s'intégrer dans des structures vasculaires dans des sites de néoangiogenèse. Ils seraient naturellement impliqués dans la prévention de l'ischémie en participant directement à la revascularisation. Les PEC constituent donc un outil thérapeutique dans la prévention et/ou la régression de l'ischémie. L'utilité de la transplantation autologue de cellules d'origine médullaire a été confirmée par les premières études cliniques, qui montrent que les cellules mononuclées médullaires injectées à des patients souffrant d'ischémie des membres inférieurs ou cardiaques participent efficacement à la revascularisation. Ces essais ouvrent la voie à la thérapie cellulaire des maladies ischémiques. Dans ce contexte, nous avons mis au point un modèle d'ischémie des membres inférieurs chez la souris NOD/SCID, qui permet d'évaluer la capacité de différentes populations de cellules humaines à régénérer le membre ischémique. Nous avons montré que les cellules CD34+ du sang de cordon humain, injectées de façon systématique amélioreraient la vascularisation du site ischémique. La fréquence des PEC étant très faible, nous voudrions, à l'aide de ce modèle préclinique, établir jusqu'à quelle limite les PEC peuvent être amplifiées *in vitro* sans que leur capacité réparatrice soit affectée. Nous voudrions également utiliser ce modèle pour comparer l'efficacité de différentes populations cellulaires à potentiel vasculaire, circulantes ou médullaires. Par ailleurs, la participation des PEC à la progression de micro-tumeurs peut représenter un risque qui limiterait leur utilisation. Il est donc important de tester si l'injection de PEC à des souris portant des tumeurs humaines accélère la croissance et/ou la dissémination métastatique de ces tumeurs. En conclusion, ce projet a pour but d'évaluer dans un modèle préclinique, les avantages et les risques de l'utilisation de cellules à potentiel vasculaire, médullaires ou circulantes, dédiées à la thérapie cellulaire de l'ischémie.

VAN MEERWIJK Joost – INSERM Toulouse

« Développement d'une thérapie cellulaire visant à l'induction de tolérance aux greffes allogéniques »

Résumé :

La tolérance des lymphocytes T vis-à-vis des ligands CMh/peptide *du soi* dépend de mécanismes thymiques ainsi que périphériques. Dans « la périphérie » le mécanisme probablement majeur dépend des lymphocytes T régulateurs contrôlant l'activité de tout le système immunitaire. Cette tolérance dominante joue un rôle important dans l'auto-immunité, dans d'autres types d'immunopathologies comme la colite inflammatoire et dans l'immunité anti-tumorale, démontrant son rôle clé dans la régulation du système immunitaire. Il a été décrit que les lymphocytes T régulateurs expriment les molécules CD4 et CD25 et se développent dans le thymus. Les cellules T régulatrices ont récemment été identifiées chez l'homme.

La tolérance dominante pourrait s'avérer particulièrement utile dans l'induction de la tolérance aux allogreffes. Récemment, il a été démontré que le traitement avec des anticorps anti-CD154 (CD40-ligand, une molécule clé dans plusieurs fonctions effectrices des lymphocytes T auxiliaires) permet l'acceptation de greffes allogéniques pour le complexe majeur d'histocompatibilité chez des primates non-humains et que les lymphocytes T régulateurs CD4+ CD25+ sont responsables de cette tolérance. Nous proposons d'étudier la faisabilité d'une thérapie cellulaire avec des lymphocytes CD4+CD25+ dans des approches d'induction de tolérance aux allogreffes. Nos résultats récents montrent que les cellules T régulatrices cultivées *in vitro* inhibent le rejet d'une greffe de moelle osseuse semi-allogénique chez la souris. Afin d'évaluer le potentiel pratique de cette approche d'induction de tolérance nous proposons d'effectuer des expériences de greffes complètement allogéniques de moelle osseuse ainsi que de peau. Dans ces systèmes nous testerons si la tolérance induite est spécifique de l'allotype ciblé, un aspect potentiel et particulier des lymphocytes T régulateurs. Différentes stratégies seront en plus utilisées afin d'évaluer l'induction d'une tolérance durable. L'utilisation des lymphocytes T régulateurs purifiés pourrait s'avérer plus efficace que l'injection d'anticorps, cette dernière approche ayant donné des résultats très décevants chez l'homme dans des essais cliniques récents. L'exploitation du mécanisme de tolérance le plus efficace de l'organisme pour l'établissement de tolérance aux allogreffes devrait s'avérer très efficace et hautement spécifique.

Olivier Joffre, Nathalie Gorsse, Paola Romagnoli, Denis Hudrisier, and Joost P. M. van Meerwijk

Induction of antigen-specific tolerance to bone marrow allografts with CD4₊CD25₊ T lymphocytes

BLOOD, 1 JUNE 2004 _ VOLUME 103, NUMBER 11

Olivier Joffre, Thibault Santolaria, Denis Calise, Talal Al Saati, Denis Hudrisier, Paola Romagnoli & Joost P M van Meerwijk

Prevention of acute and chronic allograft rejection with CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T lymphocytes
VOLUME 14 [NUMBER 1 [JANUARY 2008 NATURE MEDICINE

Olivier Joffre, Joost P.M. van Meerwijk

CD4+CD25+ regulatory T lymphocytes in bone marrow transplantation
Seminars in Immunology 18 (2006) 128–135