

RECHERCHE ET GREFFES 2004

THEME 1 : Prélèvement, greffe et sciences humaines

VIDAL-TRECAN Gwenaëlle - Service de santé publique, Cochin Port Royal, Paris
« Cirrhose alcoolique, "maladie auto-infligée", et accès à la transplantation hépatique »

Résumé :

La transplantation hépatique est le seul traitement de la maladie alcoolique du foie au stade terminal, première cause de mortalité par maladie du foie. Le nombre de donneurs est inférieur au nombre de candidats à la greffe. Dans ce contexte de ressources rares, l'allocation des greffons devrait se fonder sur des critères indiscutables. L'absence d'inscription d'un patient sur la liste d'attente est une décision de rationnement de soins qui requiert une réflexion sur sa justification. Bien que l'inscription des patients atteints de cirrhose alcoolique sur la liste d'attente de transplantation hépatique ait augmenté, elle reste moins fréquente que la répartition des maladies hépatiques ne permettrait de l'attendre. Les critères médicaux de sélection n'incluent pas les notions de faute ou de responsabilité. Le seul critère recevable pour classer un patient alcoolique aux derniers rangs de priorité serait d'ordre pronostique. Or, une survie similaire dans les cirrhoses alcooliques à celle des transplantations pour cirrhose biliaire a été trouvée. Les inscriptions sur liste d'attente sont contrôlées par un nombre limité de médecins. On peut faire l'hypothèse que ceux-ci appliquent des critères pronostiques mal connus d'autres médecins qui pourtant interviennent en amont de cette étape. Au Royaume-Uni, gastro-entérologues et généralistes classent comme le public les sujets atteints de cirrhose alcoolique dans les derniers pour l'allocation de greffons hépatiques. D'autres enquêtes ont montré la réserve du public à financer les soins aux sujets alcooliques. Les explications suggérées sont que ceux-ci pourraient être à l'origine de leur maladie, avoir un mauvais pronostic ou en être « indignes ». Nous faisons l'hypothèse qu'en France certains médecins impliqués dans le processus aboutissant à l'inscription sur liste d'attente pourraient raisonner de façon similaire. Nous étudions la fréquence d'inscription sur liste d'attente des patients atteints de cirrhose alcoolique et les déterminants provenant du patient de cette décision. L'objectif de ce projet est d'explorer l'impact sur les décisions médicales à différents niveaux de soins du concept de maladie « auto-infligée », du pronostic et de leur « valeur sociale ». Nous ferons une enquête auprès de médecins d'Ile de France (médecins du travail, généralistes, gastro-entérologues libéraux ou hospitaliers, transplantateurs) par auto-questionnaire adressé par voie postale. Le questionnaire décrira des scénarios hypothétiques concernant des groupes de patients en compétition pour une transplantation hépatique et portera sur l'allocation d'un nombre limité de greffons à ces groupes selon les relations entre la condition des patients et leur responsabilité personnelle et entre celles de leur décision et le pronostic.

MILANOVIC Fabien - Inserm U558, Faculté de médecine, Toulouse
« Accompagner les donneurs de cellules souches hématopoïétiques. Investigations sociologiques d'un travail d'organisation »

Résumé :

Ce projet de recherche vise à explorer la chaîne du don de cellules souches hématopoïétiques (CSH) appréhendée à chacune de ses étapes. Le plan greffe 2000-2003 du ministère de la Santé (destiné à financer le recrutement de 10 donneurs par an), la persistance d'un nombre de personnes « effacées » du registre après avoir été « perdus de vue » et le développement des dons de cellules souches périphériques au regard de ceux de moelle osseuse incitent, en effet, à interroger les trajectoires de donneurs qui se déploient dans cette chaîne. Ce sont les processus de configuration des trajectoires des donneurs adultes de cellules souches pour greffe en situation non apparentée qui constituent l'objet des enquêtes à réaliser. Cette notion sociologique de trajectoire renvoie à la fois à la succession des étapes du parcours d'un donneur et aux activités accomplies par un certain nombre d'acteurs afin d'en organiser le cours. Elle permet de questionner les manières par lesquelles des balises, des repères, et plus généralement, des dispositifs sont mis en place afin d'accompagner les donneurs. Or, un tel accompagnement ne va pas de soi et n'est jamais effectué définitivement. Il suppose un véritable travail d'organisation relatif à la coopération des personnes investies tout le long de la chaîne du don et à l'articulation des tâches qui y sont rencontrées. Pour en rendre compte, les investigations empiriques, à la fois qualitatives (enquêtes documentaires, par entretien et par observation) et quantitatives (enquête par questionnaire), déploieront aux niveaux des centres donneurs (présents sur l'ensemble du territoire métropolitain), des modalités d'encadrement de la trajectoire des donneurs et des associations impliquées dans la sensibilisation, le recrutement et le suivi de ces derniers. Ainsi, les éclairages apportées viseront tant à optimiser les modes

d'organisation de la chaîne de don qu'à mieux comprendre les spécificités des logiques qui président aux dons de cellules souches périphériques.

FAGOT-LARGEAULT Anne - Service de chirurgie, Cochin, Paris

« *Ethique des transplantations hépatiques avec donneurs vivants : enquête sur les conceptions et les pratiques visant le don et la greffe dans les THDV* »

Résumé :

Les transplantations hépatiques avec donneurs vivants constituent une nouvelle pratique médicale dont la réalisation pose avec une grande acuité les problèmes classiques de l'éthique médicale, en particulier dans l'équilibre à déterminer entre les 4 principes fondateurs de la médecine (bienfaisance, non malfaisance, autonomie et justice)

Notre travail consiste en une enquête de terrain rétrospective au cours de laquelle les différents intervenants seront interrogés par entretiens. L'hypothèse centrale de notre travail est :

- 1) Que la connaissance des suites vécues par les acteurs de la greffe est utile à l'amélioration des dispositifs de prise de décision en matière de THDV autant qu'à la réflexion éthique sur le sujet.
- 2) Que la décision des acteurs (particulièrement des donneurs) est le fait d'acteurs rationnels capables de délibération éthique et dont les façons de juger présentent un intérêt pour la méthodologie de la réflexion éthique appliquée à la THDV.
- 3) Que les rationalités à l'œuvre dans les modes de délibération et de décision sont liés à des stratégies d'acteurs dont la coordination ne va pas de soi.
- 4) Que cette coordination est le produit de négociations implicites dont les termes restent à explorer.

THEME 2 : Amélioration des prélèvements

BUSY François - Centre hospitalier Sud Francilien, Evry

« *Analyse critique des critères angioscannographiques de mort encéphalique (ME)* »

Résumé :

A la suite du travail du Professeur Dupas du CHU de Nantes, le Conseil médical et scientifique de l'Etablissement français des Greffes a validé l'angio-scanner comme une technique d'imagerie permettant de confirmer la mort encéphalique chez un sujet présentant tous les signes cliniques de cette mort encéphalique. Cependant le score défini dans le travail précité, basé sur quatre critères artériels et trois critères veineux au niveau de la vascularisation cérébrale, est incomplet dans au moins un quart de cas de mort encéphalique lors du premier angio-scanner, ce qui induit des retards éventuels pour les prélèvements.

L'objectif de l'étude est de démontrer que la seule présence des critères veineux est suffisante pour affirmer la mort cérébrale or ces critères sont beaucoup plus précoces que les signes artériels. Une étude multicentrique sur cinq centres devrait permettre de répondre à ce problème en un an environ en comparant le devenir des patients présentant tous les critères de mort encéphalique cliniques et paracliniques et ceux présentant les critères cliniques et électroencéphalographiques, mais pas la totalité des critères artériels à l'angio-scanner. En parallèle de cette étude, une analyse plus fine de la perfusion cérébrale par une nouvelle technique d'analyse des angio-scanners devrait fournir des éléments physiopathologiques entre absence de retour veineux et absence de perfusion cérébrale.

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

GAIN Philippe - Faculté de Médecine de Saint-Etienne

« *Evaluation et amélioration de la qualité des greffons* »

Résumé :

Une cornée doit, au terme de sa conservation par la banque de cornée, répondre au minimum à 3 impératifs de qualité pour pouvoir être greffée au patient avec un résultat optique et une survie optimale : transparence centrale suffisante, épaisseur centrale située dans les limites de la normale afin d'assurer une puissance réfractive correcte, et nombre de cellules endothéliales suffisant pour assurer une survie prolongée chez le receveur. Actuellement, transparence et épaisseur des greffons ne sont estimées que par l'œil du technicien de la banque au travers du flacon de conservation sous le microscope destiné au comptage. La densité cellulaire est quant à elle mesurée le plus souvent manuellement, méthode entachée d'une très importante variabilité inter et intra-banque, d'apprentissage difficile et sujet à dérive. Ce comptage est pour certains amélioré par des outils d'analyse d'image mais leur utilisation reste encore limitée en raison de la difficulté d'observation du

tapis cellulaire endothélial lié à la convexité cornéenne et aux plis postérieurs causés par la conservation.

Ce programme qui se décompose en 3 parties vise à développer et/ou améliorer ce triple contrôle de qualité par utilisation de techniques d'analyse d'image.

La partie 1 aura pour but de quantifier de manière objective la transparence du greffon par mesure de la lumière transmise. La partie 2 aura pour but de quantifier de manière non invasive l'épaisseur centrale du greffon au cours de la conservation par l'utilisation d'un microscope tridimensionnel (3D) et mesure du déplacement vertical (en Z) de la platine motorisée. Cette « pachymétrie 3D » sera comparée au gold standard constitué par la pachymétrie ultrasonique, non applicable en routine en raison de la nécessité d'un contact de la cornée avec une sonde non stérilisable. La partie 3 aura pour but d'améliorer le comptage endothélial manuel et par analyseur. Elle comprendra ainsi deux volets :

- La réalisation d'une série de lames microscopiques microlythographées reproduisant la mosaïque endothéliale humaine afin d'améliorer la procédure de comptage manuel existante et de permettre la mise en place de contrôles de qualité périodiques. Ces mosaïques seront reconstruites par le calcul (mosaïques-étalons) et réalisées d'après montage à plat de véritables endothéliums humains (mosaïques-test)

- La reconstitution, le traitement et l'analyse de l'image 3D de l'endothélium afin de faciliter et d'améliorer les performances des outils d'analyse existants.

Ce programme devrait permettre, outre l'amélioration considérable de contrôle qualité, d'harmoniser les procédures au sein de notre pays et de faciliter les échanges de cornées entre banques.

LONGROIS Dan - Département Anesthésie-Réanimation, CHU de Nancy

« Relation entre activation de l'inflammation chez le donneur et qualité du greffon (délai avant la survenue du premier rejet). Approche épidémiologique et mécanistique »

Résumé :

Etat de la question : Le nombre de transplantations est limité par le nombre de donneurs et la qualité des organes provenant des donneurs en état de mort encéphalique (EME). Il a récemment été montré qu'il existait une relation statistique entre la concentration plasmatique de procalcitonine (PCT) chez les donneurs en EME et le délai devant la survenue du premier rejet chez les transplantés cardiaques.

Hypothèses de travail : nous formulons l'hypothèse qu'il peut exister une relation statistiquement significative entre l'activation excessive de l'inflammation chez les donneurs en EME et le délai avant le premier rejet pour d'autres organes comme le rein.

Méthodes : Nous proposons une étude avec une approche épidémiologique (donneurs et receveurs) et mécanistique (donneurs) pour tester cette hypothèse. L'activation de l'inflammation chez les donneurs sera évaluée par le dosage de concentrations plasmatiques de protéine C-réactive (PCR), de PCT et d'autres marqueurs de l'inflammation. Nous avons des résultats préliminaires qui montrent que les valeurs de ces deux marqueurs ne sont pas corrélées, ce qui suggère l'existence de profils différents d'activation de l'inflammation. Nous proposons une stratégie d'étude des profils d'inflammation chez les donneurs à l'aide d'une puce de 40.000 oligonucléotides. Notre laboratoire maîtrise l'ensemble des techniques pour la réalisation de cette partie du projet. L'approche épidémiologique chez les receveurs de greffons rénaux et cardiaques déterminera la date de survenue du premier rejet et un ensemble de facteurs potentiellement responsables de moduler le rejet. La relation entre le délai de survenue du premier rejet et le niveau d'activation de l'inflammation chez les donneurs en EME sera établie par analyse de régression multiple.

Les résultats attendus sont : i) la mise en évidence d'une relation statistique entre activation de l'inflammation chez le donneur en EME et le risque de survenue du rejet chez le receveur ; ii) la mise en évidence de profils inflammatoires différents chez les donneurs en EME, ce qui pourrait permettre de formuler ces hypothèses mécanistiques quant aux causes de l'activation de l'inflammation et aux mécanismes par lesquels l'inflammation excessive altère la qualité des futurs greffons.

Les perspectives de ce projet sont : i) la confirmation des résultats par un PHRC pour lequel les profils inflammatoires des donneurs en EME seront analysés par des techniques de PCR quantitative qui analyseront l'expression d'un faible nombre de gènes identifiés par le présent projet avec les puces d'oligonucléotides ; ii) la mise en route de stratégies thérapeutiques pour atténuer/moduler la réaction inflammatoire chez les donneurs en EME afin d'améliorer la qualité des futurs greffons et les résultats de la transplantation. Ces stratégies de modulation de l'inflammation ont montré leur efficacité chez d'autres patients de réanimation dans des contextes physiopathologiques autres que la mort encéphalique.

THEME 4 : Immunologie des greffes, xénogreffes, xéno-assistance

BROUARD Sophie - Inserm U643, Nantes

« Reconnaissance de l'état de tolérance immune chez le receveur d'allogreffe de rein à fonction stable à l'aide d'une analyse transcriptionnelle par puce »

Résumé :

Induire la tolérance aux allogreffes est le « Graal » de l'immunologie de greffe. Habituellement, quand les immunosuppresseurs sont interrompus (particulièrement après interruption précoce et/ou abrupte) un rejet aigu ou chronique survient. Cependant, certains malades peuvent indéfiniment accepter leur greffe sans aucun traitement immunosuppresseur démontrant que l'état de tolérance peut exister chez l'homme.

Le rationnel de notre projet est issu à la fois de considérations cliniques et de résultats préliminaires obtenus au laboratoire. Notre objectif est donc de tester l'hypothèse que certains receveurs de rein, bien que sous traitements immunosuppresseurs chroniques des années après la greffe, puissent présenter un état de tolérance détectable sur des profils d'expression génique (puces à ADN) à partir du sang périphérique. L'existence de tels profils suggère que ces malades sont effectivement tolérants et ne requièrent plus de traitement immunosuppresseur à long terme.

Ainsi, grâce aux puces à ADN, nous souhaitons déterminer les gènes spécifiques du type « tolérant » ; construire un algorithme permettant de distinguer les patients tolérants des patients en rejet chronique et appliquer cet algorithme à une cohorte de 200 receveurs à fonctions rénale stable greffés depuis 5 à 8 ans. Cette étude poserait pour la première fois les bases rationnelles d'un essai randomisé d'un sevrage progressif programmé de l'immunosuppression chez des sujets ayant le phénotype tolérant à partir d'une base expérimentale forte et éthiquement acceptable.

Braud Christophe, Baeten Dominique, Giral Magali, Pallier Annaick, Ashton-Chess Joanna, Braudeau, Cecile, Chevalier Catherine, Lebars Alice, Léger Jean, Moreau Anne, Pechkova Eugenia, Nicolini Claudio, Soullillou Jean-Paul, Brouard Sophie

Immunosuppressive Drug-Free Operational Immune Tolerance In Human Kidney Transplants Recipients: I. Blood Gene Expression Statistical Analysis
Journal of Cellular Biochemistry

Sophie Brouard, Elaine Mansfield, Christophe Braud, Li Li, Magali Giral, Szu-chuan Hsieh, Dominique Baeten, Meixia Zhang, Joanna Ashton-Chess, Cécile Braudeau, Frank Hsieh, Alexandre Dupont, Annaick Pallier, Anne Moreau, Stéphanie Louis, Catherine Ruiz, Oscar Salvatierra, Jean-Paul Soullillou, and Minnie Sarwal

Identification of a peripheral blood transcriptional biomarker panel associated with operational renal allograft tolerance

15448-15453 _ PNAS _ September 25, 2007 _ vol. 104 _ no. 39

GUERY Jean-Charles - INSERM U563, CHU de Purpan, Toulouse

« Contrôle de l'accumulation des DC dérivées du greffon par les lymphocytes T CD8 et les cellules NK de l'hôte : implication dans le rejet de greffe allogénique et dans l'induction de tolérance »

Résumé :

A la suite d'une greffe, les DC du greffon migrent vers les organes lymphoïdes secondaires où elles seront susceptibles d'induire une réponse T alloréactive. Les lymphocytes T peuvent reconnaître les alloantigènes directement sur les DC du donneur ou de façon indirecte sous forme de peptide dérivés des molécules allogéniques et présentés par les DC du receveur. Alors que ces deux voies de présentation des alloantigènes sont impliquées non seulement dans les phénomènes de rejet aigu et chronique, des données récentes indiquent que la voie indirecte de reconnaissance des alloantigènes est préférentiellement impliquée dans les mécanismes de tolérance aux allogreffes. L'ensemble des travaux que nous avons réalisés montre qu'en l'absence de l'activation des lymphocytes T CD8 et des cellules NK, une réponse T CD4 allospécifique de plus forte amplitude, associée au développement de cellules Th2 se développe (Foucras et al., *J. Immunol.* 2000 ; Coudert et al., *J. Immunol.* 2002). Ces cellules Th2 seraient impliquées dans des formes de rejet de greffe d'organe impliquant les éosinophiles, et non à des phénomènes de tolérance. Nous avons montré que dans ces deux situations, aussi bien les cellules T CD8 que les cellules NK contrôleraient la réponse T CD4 alloréactive en limitant l'accumulation des DC du donneur dans les ganglions drainant le site d'immunisation (Coudert et al., en préparation ; Laffont et al., en préparation).

L'objectif de notre travail consistera à déterminer les conséquences de l'interaction des lymphocytes T CD8 et/ou de cellules NK avec les DC du donneur, d'une part sur la prévention du rejet aigu du à la

reconnaissance directe des alloantigènes par les lymphocytes T CD4 et d'autre part sur l'induction de tolérance induite par le transfert adoptif de lymphocytes T régulateurs (Treg) générés *in vitro*.

SEGUIN Agathe - Labo d'étude des greffes et prothèses cardiaques, Hôpital Broussais, Paris
« *Etude des mécanismes biologiques de la transformation tissulaire d'une allogreffe aortique en position trachéale* »

Résumé :

La trachée est l'un des rares organes que l'on ne sache pas transplanter. De nombreuses études expérimentales ont tenté de trouver un substitut synthétique ou biologique de la trachée sans succès. Nous avons proposé, l'utilisation d'une autogreffe puis d'une allogreffe aortique placée en position trachéale et supportée par une endoprothèse temporaire. Nous avons constaté une régénération trachéale à partir du greffon aortique jusqu'alors inexplicée. Nos travaux ont pour but d'étudier ces mécanismes de transformation tissulaire, lors de la mise en place d'une allogreffe aortique en position trachéale avec trois hypothèses de travail : régénération à partir : a) de cellules déjà présentes dans la paroi aortique du donneur, b) de cellules issues de la trachée native, c) de cellules souches circulantes du receveur.

Méthodes : 12 brebis seront opérées d'un remplacement trachéal, le greffon provenant d'un donneur mâle. Les mécanismes de régénération tissulaire seront suivis par : 1) une étude histologique permettant de caractériser la transformation progressive du greffon, 2) une étude de l'origine des structures néo-formées par la recherche du chromosome Y selon la technique FISH, 3) des études en immunomarquage pour suivre le devenir des cellules de l'allogreffe ; pour évaluer la réaction inflammatoire et lymphocytaire lié au greffon allogénique ; pour rechercher la présence de cellules souches issues de la moelle osseuse.

Les résultats de ces travaux ouvriront d'importantes perspectives dans la compréhension des mécanismes de régénération tissulaire et dans le domaine du remplacement trachéal chez l'homme.

Emmanuel Martinod, Agathe Seguin, Muriel Holder-Espinasse, Marianne Kambouchner, Martine Duterque-Coquillaud, Jacques F. Azorin, and Alain F. Carpentier

Tracheal Regeneration Following Tracheal Replacement With an Allogenic Aorta
The Society of Thoracic Surgeons. 2005;79:942–9

Agathe Seguin, Emmanuel Martinod, Marianne Kambouchner, Gabriella O. Campo, Pascale Dhote, Patrick Bruneval, Jacques F. Azorin, and Alain Carpentier

Carinal Replacement With an Aortic Allograft
The Society of Thoracic Surgeons. 2006;81:1068–75

E Martinod, A Seguin, R Jancovici, J Azorin, A Carpentier

Chirurgie trachéale d'aujourd'hui et de demain
e-mémoires de l'Académie Nationale de Chirurgie, 2005, 4 (1) : 33-37

TAUPIN Jean-Luc - CNRS UMR 5164, Université de Bordeaux

« *Mise au point d'un test de quantification de l'activité immunosuppressive des anti-calcineurines par la mesure de la translocation nucléaire du facteur de transcription NF-AT par cytométrie en flux* »

Résumé :

Le Syndrome Néphrotique Idiopathique (SNI) se caractérise par la fuite massive d'albumine dans les urines due à une altération de la barrière de filtration. Deux types histologiques sont principalement associés au SNI : la forme avec lésions minimales (SNLGM) et la forme avec Hyalinose Segmentaire et Focale (HSF). Certains patients vont présenter une corticorésistance qui va les conduire vers l'insuffisance rénale terminale, nécessitant la prise en charge par exuration extra-rénale et/ou transplantation. Parmi les patients transplantés, 30 % en moyenne vont récidiver immédiatement leur maladie initiale sur le greffon. La physiopathologie du SNI reste encore inconnue bien que la présence d'un facteur plasmatique circulant soit fortement suspectée. Une étude de clonage soustractif et différentiel réalisée par l'unité INSERM 581 à partir de PBMC de patients SNLGM en poussée et en rémission a montré l'implication de plusieurs gènes d'activation lymphocytaire dont c-maf. Un autre gène sur-régulé dans les poussés mais dont la fonction est mal connue a également été rapporté : le gène ST2. Une étude préliminaire comparative de l'expression de l'ARN de ST2 a été effectuée entre les patients « SNLGM » et « HSF ». Les patients « HSF » notamment ceux présentant une récurrence, présentant une forte expression du gène ST2 en comparaison avec des patients « SNLGM » ou atteints d'une autre maladie rénale. Ceci suggère une implication de la protéine ST2 dans le phénomène de récurrence.

Afin de confirmer cette hypothèse et de mieux comprendre le rôle de ST2, nous proposons en collaboration avec l'unité INSERM 581 une étude chez l'homme et chez le rat : d'une part, grâce aux divers prélèvements biologiques collectés chez des patients « HSF » avant et après la transplantation rénale, nous souhaitons mettre en évidence un rôle prédictif de ST2 dans la récurrence. Une étude sera également réalisée en parallèle sur le rein (biopsie, transplantectomie) afin de déterminer la présence de ST2, sa localisation et son rôle comme facteur intervenant dans la perméabilité glomérulaire.

D'autre part, chez l'animal, deux orientations plus fonctionnelles seront suivies. Tout d'abord l'expression continue de ST2 sera induite par un vecteur adénoviral codant pour la protéine dans une souche de rats LEW 1W. Si une protéinurie apparaît, une analyse plus approfondie au niveau des tissus et des populations circulantes sera effectuée. Puis une autre étude sera réalisée chez le rat Buffalo, modèle spontané de SNI, afin de vérifier l'implication éventuelle de ST2 dans l'apparition et/ou l'aggravation de ses lésions rénales.

Nous espérons que cette étude pourra aboutir à la validation des tests prédictifs de récurrence, mais surtout, à contribuer à la caractérisation du rôle de ST2 dans le SNI.

LE MAUFF Brigitte - Inserm U643, Nantes

« Prévention du rejet de greffe d'îlots de Langerhans par modification génétique du greffon »

Résumé :

Le traitement actuel du diabète insulino-dépendant repose sur un traitement substitutif par l'insuline qui ne met pas de prévenir parfaitement les complications dégénératives de la maladie et peut s'accompagner d'hypoglycémies majeures. La greffe d'îlots de Langerhans est une stratégie thérapeutique dont l'efficacité a maintenant été démontrée mais qui reste limitée par le nombre d'îlots et par le rejet de greffe qui impose un traitement immunosuppresseur chronique. Il est envisageable de prévenir ce rejet par modification génétique des îlots après transfert de gènes codants pour des molécules immunosuppressives grâce à des vecteurs recombinants. Nous avons testé cette stratégie et montré qu'un adénovirus codant pour le CTLA4lg pouvait retarder la greffe. Néanmoins ce type de vecteur présente de nombreux inconvénients (inflammation et/ou toxicité) qui empêchent l'expression du transgène de façon optimale. Notre objectif est de tester de nouveaux vecteurs (divers sérotypes d'AAV et lentivirus) de façon à optimiser l'expression du transgène. Ces vecteurs pourraient ainsi nous permettre de faire exprimer plusieurs molécules capables de bloquer les signaux de costimulation du lymphocyte T, dont les effets devraient être synergiques (CTLA4lg et CD40lg). Il s'agit ainsi d'évaluer si la transduction limitée aux îlots est suffisante ou bien si une production importante voire systémique est nécessaire. La stratégie de protection du greffon contre le rejet sera aussi évaluée par expression par le greffon de molécules capables d'induire l'apoptose des lymphocytes T activés comme PD1 ouIDO de façon à bloquer les mécanismes effecteurs du rejet. Ces stratégies de protection pourraient d'ailleurs participer aussi à la protection du greffon contre la récurrence de la maladie diabétique.

THEME 5 : Recherche clinique, épidémiologie, santé publique

DANTAL Jacques – CHU Nantes

« Etude du rôle de ST2 dans le Syndrome Néphrotique Idiopathique »

Résumé :

L'analyse des banques soustraites issues de lymphocytes de patients en poussée et en rémission de syndrome néphrotique (SN) cortico-sensible a permis d'isoler des gènes surexprimés en cas de poussée. Plusieurs de ces gènes sont retrouvés en cas de SN cortico-résistant (HSF) et des résultats préliminaires suggèrent que certains restent surexprimés en cas de récurrence de SN après transplantation (Tx). Parmi ceux-ci, nous avons choisi de nous intéresser à ST2. Ce gène code pour une molécule proche du R-IL1 spécifiquement exprimée par les lymphocytes T Th2 et surtout produite sous forme soluble. Nous chercherons ici à établir sa relation et son rôle dans la récurrence du SN après Tx. Nous envisageons deux approches. La première est clinique, recherchant (analyse rétrospectivement) une surexpression de ST2 et une induction de facteur ST2 soluble pour les patients ayant présenté une récurrence de SN après Tx. Ces anomalies seront recherchées avant Tx (test de prédictibilité) et au moment de la récurrence (rôle physiopathologique direct ou indirect). Nous essaierons de caractériser, après tri cellulaire, la population lymphocytaire responsable de la production chez ces patients de ST2 (analyse prospective). Finalement, nous rechercherons la présence de ce facteur au niveau du greffon (biopsies et transplantectomies). La deuxième approche sera chez l'animal avec un double objectif. Tout d'abord, essayer de reproduire des altérations de perméabilité glomérulaire après induction d'une surexpression de ST2 (les injections de ST2 solubles sont insuffisantes pour induire une protéinurie significative). Puis de rechercher si cette molécule est retrouvée dans un modèle de SN spontanée pour lequel nous avons mis en évidence une

participation d'un facteur extra-rénal dans la genèse des lésions glomérulaires (récidive après Tx, rat Buffalo/Mna). Nous espérons donc parvenir à fournir un test de prédictibilité de récidive et de mettre un lien entre lymphocyte T et glomérulonéphrite et de proposer enfin un facteur circulant tant recherché.

PARADIS Valérie - Service d'anatomie pathologique, Hôpital Beaujon, Clichy

« Impact de l'origine du greffon et de la régénération hépatocytaire sur l'évolution des récurrences virales C chez les transplantés hépatiques »

Résumé :

La récurrence de l'infection par le VHC sur le greffon hépatique est un problème majeur en raison de la rapidité de la progression des lésions fibrosantes. Une récurrence virale précoce et plus sévère a été rapportée chez des patients recevant un greffon partiel de donneur vivant. Les mécanismes potentiellement impliqués dans cette évolution péjorative ne sont pas clairement identifiés. Il est possible que l'intensité de la régénération hépatocytaire, induite par la résection hépatique, joue un rôle important en amplifiant le mécanisme de « sénescence répliquative », concept postulant que le nombre de divisions qu'une cellule somatique peut accomplir est limité. De plus, l'hépatite chronique liée à l'infection par le VHC, se traduisant par des épisodes successifs de nécrose hépatocytaires suivis de régénération, remplit également les conditions d'un modèle de « sénescence répliquative accélérée » et favorise le développement de la fibrose hépatique. Pour évaluer l'impact de la régénération hépatocytaire sur la sénescence répliquative et l'évolution de la récurrence virale C sur le greffon hépatique, nous allons étudier et comparer des marqueurs phénotypiques et génotypiques de sénescence répliquative dans un groupe de patients transplantés pour cirrhose virale C avec un greffon partiel (provenant soit d'un donneur cadavérique (split) soit d'un donneur vivant (dans le cadre d'un don intrafamilial)) à un groupe de patients transplantés avec un greffon entier cadavérique. Cette étude devrait permettre d'évaluer l'impact de la régénération hépatocytaire sur la récurrence virale C et d'élaborer des recommandations quant au mode de transplantation à proposer aux patients nécessitant une greffe pour cirrhose virale C.

ROBINET Eric - Inserm U645, EFS Bourgogne/Franche-Comté, Besançon

« Etude à moyen et long terme des effets immunologiques de la mobilisation par facteur de croissance (G-CSF) du donneur sain de cellules hématopoïétiques »

Résumé :

Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) provenant du sang après mobilisation par le facteur de croissance des granuleux (G-CSF), sont devenues une alternative à l'utilisation d'un greffon médullaire. De nombreux effets immunomodulateurs dus au G-CSF ont été décrits au sein des cellules sanguines circulantes ou des cellules composant le greffon de CSH. Ces effets immunomodulateurs pourraient potentiellement avoir des conséquences pour le donneur. Or, si les effets à court terme du G-CSF (c'est-à-dire lors de la mobilisation) sur le compartiment lymphocytaire ont été largement étudiés, les conséquences à moyen ou à long terme d'une mobilisation par G-CSF sont moins connues. L'objectif du présent projet est donc d'évaluer à moyen et long terme 1/ la nature et la durée des altérations fonctionnelles immunologiques induites chez le donneur sain par une mobilisation par le G-CSF, entre autres inhibition de la synthèse de cytokines de type 1 et de la prolifération de lymphocytes T, mobilisation de cellules dendritiques de type 2, activation des lymphocytes B et 2/ les effets du G-CSF sur l'activité télomerase et/ou une modulation du potentiel répliquatif des cellules immunitaires (longueur des télomères). Pour cela, une 1^{ère} cohorte de 30 donneurs sains mobilisés par G-CSF, et recrutée sur une période de deux ans, sera comparée à des cohortes appariées en âge et en sexe de donneurs de moelle et de donneurs de sang. Les analyses biologiques seront réalisées avant don et lors du don, ainsi que un, six et douze mois après don avec constitution de sérothèque et cytothèques.

LEGEAIS Jean-Marc - Service d'Ophtalmologie, Hôtel Dieu, Paris

« Greffes de cellules épithéliales autologues cornéennes par expansion cellulaire »

Résumé :

La greffe de cellules épithéliales autologues cornéennes par expansion cellulaire est actuellement développée dans plusieurs pays (USA, Japon, Italie, Grande Bretagne). Elle n'est pas encore développée en France. A ce jour, on peut évaluer à quelques centaines le nombre de patients traités par cette technique. Ces chiffres se basent sur les publications internationales dont les premières remontent à l'année 2000. Le recul pour cette technique innovante dans le domaine ophtalmologique est de plusieurs années (environ 3 ans). Le taux de succès dans le cas de greffe autologue est supérieur à 50%. Sa maîtrise est indispensable avant de passer à la greffe de cellule allogénique sur

un support comparable (membrane amniotique ou fibrine) dont la logistique est beaucoup plus lourde et les résultats plus incertains. Cette recherche comporte un bénéfice individuel direct.

Ce programme fait suite au programme « Progrès Médical 2000 et 2001 » de l'AP-HP que nous avons obtenu pour l'introduction et le développement de la greffe de membrane amniotique dont la première greffe en France a été réalisée dans le service d'ophtalmologie de l'Hôtel-Dieu de Paris en novembre 1999. Cette greffe de membrane amniotique permet d'améliorer la situation oculaire dans un syndrome de déficience limbique limité inférieur à 50% dans environ 2/3 des cas. Par contre, cette technique est insuffisante en cas de syndrome de déficience limbique sévère de plus de 180° soit deux quadrants ou complet.

Il est alors possible d'associer comme l'a proposé le 13 juillet 2000 le Professeur Ray Jui-Fang TSAI dans le numéro du *New England Journal of Medicine*, la reconstruction ex vivo de la surface cornéenne en utilisant comme support la greffe de membrane amniotique pour promouvoir l'expansion cellulaire (technique validée aujourd'hui en France). Cette technique permet d'améliorer et de traiter des pathologies plus graves comme des brûlures chimiques cornéennes non accessibles aux techniques de greffe de cornée classique.