

Greffes et CMH (suite)

La réaction du greffon contre l'hôte = GvHD :

On en était resté la dernière fois à la description de ce qu'on appelle la **maladie** ou **réaction du greffon contre l'hôte**. On avait vu dans quel contexte ce type de réaction peut survenir : lorsqu'on greffe des c immunocompétentes à un individu immunodéprimé. Puisqu'on a un individu chez qui les c immunitaires ne sont pas activables, pas réactives, dans un 1^{er} temps, il n'y a pas de risque de rejet de ce tissu greffé (ou transfusé). On parle de greffe de moelle ou de greffe CS mais ce n'est pas une greffe telle qu'on l'entend pour un organe, mais en fait c'est simplement une transfusion qui a lieu dans le système veineux.

Donc les c du greffon, comparée à celles de l'hôte, sont des c qui sont actives et peuvent donc agir contre l'hôte = **maladie du greffon contre l'hôte**.

Pourquoi sont-elles réactives?

Sur toutes les c de l'organisme pratiquement, on a l'expression des molécules d'histocompatibilité (classe I ++ et classe II de façon un peu plus restreinte). Ça veut dire que dans tous les tissus, on a des c capables de montrer des Ag d'histocompatibilité. De plus en permanence, ces molécules vont présenter des peptides du soi. Donc quand on va greffer un organe : rein, foie, intestin (où il y a beaucoup de c immunocompétentes), tout de suite après la greffe, les c présentatrices d'Ag présentes dans ces tissus vont sortir et patrouiller dans l'organisme qui les reçoit. Elles vont présenter les Ag du greffon et ce sont elles qui vont conduire à la réaction de rejet contre ce greffon. (elle est passé de la réaction du greffon contre l'hôte à la réaction de l'hôte contre le greffon, je ne sais pas trop pourquoi mais je vous retranscrit ce qu'elle a dit)

Dans le cadre de la greffe de moelle osseuse, ce sont là aussi les molécules du CMH qui sont impliquées. D'ailleurs, la dernière fois, on a dit que l'intensité de la réaction du greffon contre l'hôte, son grade est tout à fait corrélée au nombre d'incompatibilités qu'il y a entre le donneur et le receveur au niveau des molécules HLA. Si on donne un greffon qui n'est pas totalement compatible avec le receveur, on peut attendre une réaction du greffon contre l'hôte qui peut être très puissante, voire même fatale au receveur. Donc on s'en méfie beaucoup, c'est pourquoi on a appris à voir quelles étaient les différences = les **mismatch** entre les types HLA d'un donneur et d'un receveur qui pouvaient être acceptables et ceux qui, au contraire, ne l'étaient pas du tout et entraînaient une réaction très importante du greffon.

Ce sont bien ces molécules qui sont responsables de la réaction, mais on sait cependant aujourd'hui, qu'il y a d'autres systèmes qui sont impliqués tels que le **système mineur d'histocompatibilité**. On ne va pas s'étendre dessus aujourd'hui, mais il faut savoir que ça existe. Ce que l'on appelle le système MINEUR d'histocompatibilité, ce sont en fait les Ag qui sont présentés par les molécules d'histocompatibilité et qui sont des petits morceaux eux-mêmes des molécules HLA (des peptides, des Ag de molécules HLA présentés par les molécules HLA).

Quand une c vit, il y a en permanence un turn-over des molécules de surface et donc en permanence, nos propres c expriment des peptides du soi (qui sont des déchets cellulaires par exemple), mais qui peuvent être aussi des petits morceaux des molécules d'histocompatibilité. On sait que cette forme de présentation des peptides HLA dans le contexte du CMH peut être très immunogène chez le receveur.

Donc on a :

- Les **molécules du complexe mineur d'histocompatibilité** (qui n'est pas aussi mineur que son nom l'indique)

- D'autres **molécules de l'organisme qui sont polymorphiques** (beaucoup moins évidemment que le système majeur d'histocompatibilité, dont le polymorphisme est extrêmement important) : ce sont les *protéines du complément* (facteur B de la properdin, le C4 ont des variants entre les individus, mais le nombre de variants, d'allèles différents est très restreint par rapport au nombre de molécules du CMH). Il y a également la *molécule CD31* = protéine présente sur les c de l'endothélium vasculaire et présente un polymorphisme qui peut également être important dans le cadre de la greffe de CSH.

Ces molécules peuvent être polymorphiques, mais aujourd'hui, on a déjà beaucoup de difficultés à trouver un donneur qui soit le plus compatible possible avec le receveur, au niveau du complexe majeur d'histocompatibilité. Si on doit s'intéresser en plus aux molécules du complexe mineur d'histocompatibilité (qui ne sont d'ailleurs présentes que dans certains contextes de CMH), aux molécules du complément, à CD31 ET à la compatibilité des Rc des c NK (on le verra), on ne pourra plus faire de greffe de CSH car on ne trouvera pas de donneur qui porte toutes ces identités.

Déjà, quand on veut trouver un donneur qui soit phénotypiquement HLA identique pour un patient niçois, allemand, américain ou autre, ça demande beaucoup de temps et le plus souvent, on va avoir 1 donneur dans le monde qui aura ces caractéristiques (du moins dans le fichier de donneurs que l'on a). Ce sont des événements extrêmement rares de trouver quelqu'un de complètement identique à ce niveau là si ce n'est pas de la même fratrie.

Aujourd'hui, on se contente (même si on modifie un peu et qu'on essaie de voir la compatibilité d'autres molécules) à faire des greffes de CSH qui soient compatibles pour le système majeur d'histocompatibilité (et compte tenu de sa grande variabilité, c'est déjà un travail conséquent).

On manque aujourd'hui de donneur de CSH, comme on manque de donneurs d'organes. La différence est que, quand on donne de la moelle osseuse, elle va se régénérer ; tandis que quand on donne un rein, ce n'est pas la même chose.

On va maintenant voir comment va se développer cette maladie du greffon contre l'hôte dans sa phase aiguë (celle qui va survenir dans les semaines qui suivent la greffe de CSH).

Les phases de la GvHD aiguë : Diapos 19 à 37

Il faut se souvenir que le receveur va subir un traitement lourd, très violent pour éliminer les c malignes dans le cadre d'une hémopathie maligne pex (chimiothérapie lourde, radiothérapie lourde) et beaucoup de tissus vont être lésés, abîmés, modifiés. Ces lésions induisent la **tempête cytokinique**.

(Schéma diapo 23) On a à gauche les tissus du receveur : ils subissent le **conditionnement** (= traitement appliqué avant de recevoir la greffe). C'est ce qui induit la tempête cytokinique (cytokine Storm) → de multiples cytokines sont produites et relarguées par les c lésées par le traitement.

On voit à du schéma le tissu lésé modifié avec des c qui meurent. On est bien content quand les c malignes meurent (on veut même toutes les éliminer par ce traitement lourd), mais il y a aussi des tissus sains qui meurent (tout le système hématopoïétique est à néant = immunodépression) et des tissus qui vont être modifiés : des muqueuses sont atteintes pex. Ce conditionnement entraîne un bouleversement très important dans l'organisme.

Les tissus lésés vont pouvoir être reconnus par des CT provenant du greffon (donneur) : on en revient à la **reconnaissance allogénique** entre 2 systèmes HLA qui n'ont pas été éduqués ensemble dans le thymus. On voit des c CD8 cytotoxiques du donneur qui sont capables de reconnaître des fragments de tissus lésés de l'hôte, produits par l'organisme en réponse au traitement de conditionnement. Ces CT du donneur ont été activées par les C dendritiques du receveur et vont répondre très fortement contre les tissus du receveur.

Elles vont évidemment répondre contre des tissus lésés, mais elles vont aussi répondre contre des tissus encore sains. Toute la réaction du greffon contre l'hôte vient du fait que ces c vont particulièrement reconnaître les c de la peau (petits motifs antigéniques qui sont sur la peau) et les c des muqueuses, ce qui explique les très fortes diarrhées chez ces patients et qui peuvent être léthales : perte hydrique tellement forte que le receveur peut en mourir.

On fait un traitement de conditionnement pour pouvoir traiter le patient et éviter que les c malignes ne réapparaissent et ça induit une maladie qui peut finalement être parfois tout aussi dramatique que la maladie initiale.

Ceci se passe avant que les c du greffon puissent vraiment donner un système hématopoïétique ou bien ça peut être de concert, et on va avoir une agression très important de l'épiderme et des muqueuses alors que le nouveau système hématopoïétique est en train de se développer.

Q : Est ce que les effets secondaires au traitement sont aléatoires ou il y a des facteurs de risques ?

R : C'est une grande question à l'heure actuelle. Il y a un relargage très important de cytokines et ce que l'on commence à savoir (mais les études ne donnent pas de réponses très franches), c'est qu'il y a aussi un polymorphisme des Rc de cytokines, mais aussi de certaines cytokines : on ne répond pas tous de la même façon, et on n'a pas tous les mêmes Rc aux cytokines. Ce n'est pas un polymorphisme très grand (parfois il peut être binaire). Il a été montré que ce type de polymorphisme est, dans certains cas, important pour la survenue de la GvH → la population qui avait une mutation donnant un Rc de faible affinité pour l'IL-2 ou l'IL-4 pex, développait des GvH moins graves que le groupe de patients qui avait un allèle différent.

Pour l'instant, on fait des études pour tous ces systèmes qui peuvent engendrer un polymorphisme (car il y a d'autres polymorphismes que celui du système HLA). Ça peut être des *polymorphismes fonctionnels* : réponse différentielle d'une même cytokine si elle se fixe sur un Rc un peu différent chez 2 sujets. Il y a beaucoup de paramètres qui conditionnent la GvH et on essaie de chercher tout ce qui nous permettrait de prédire la GvH. Si on avait des groupes de patients chez qui on est sûr qu'il y aura une GvH beaucoup moins importante que chez un autre groupe d'individus, on pourrait tolérer chez ces patients une petite différence HLA (il y aura une GvH moins importante que si on fait la même chose avec d'autres individus chez qui on ne va pas s'amuser à prendre le risque de développer une GvH qui sera alors très grave).

Il est donc clair qu'il y a d'autres polymorphismes, dans d'autres systèmes, qui vont conditionner le niveau de réponse de la GvH.

(Retour à la diapo 19) Ce schéma est un peu plus détaillé, et surtout il montre les différentes phases de la progression de cette réaction du greffon contre l'hôte.

1^{ère} phase = Conditionnement du patient : Traitement de conditionnement qui est le responsable de tout ce qui va se passer ensuite.

2^{ème} phase = Activation des c T du donneur par les CPA du receveur : jusqu'à la production des c CD8 qui sont capables de reconnaître les tissus du receveur et de les léser.

3^{ème} phase = Phase cellulaire et inflammatoire, phase effectrice de la maladie : il faut quelques temps pour que la réaction se produise, la réponse cellulaire se mette en place (plusieurs jours). Quand cette réponse est effective et effectrice, on a la destruction des tissus du receveur

On reprend les phases en détails :

1^{ère} phase : effet du conditionnement : il faut garder en mémoire que c'est avant même que les c du greffon soient en place que sa passe la phase qui conditionne tout le déroulement de la GvH. Aujourd'hui, ont été

mis au point de nouveaux traitements pour le conditionnement = des **mini conditionnements**. On fait un traitement un peu moins fort, moins puissant (chimio un peu moins lourde pex). On le fait en fonction de l'âge des patients : ça a permis d'autoriser les greffes de CSH chez des patients un peu plus âgés (il y a quelques années, à 45 ans on ne faisait plus de greffes de CSH, aujourd'hui on peut facilement aller au delà de 60 ans). On maîtrise mieux les conséquences du conditionnement.

On peut faire ces traitements allégés seulement dans certaines pathologies : on essaie de choisir les patients qui ont les pathologies les moins agressives. De plus, en faisant un traitement un peu plus léger, on risque de laisser des c éventuellement malignes chez le receveur. Mais on s'est rendu compte que dans ces cas-là, il y avait une réponse très positive liée à l'intensité de la réaction du greffon contre l'hôte. Cette réponse positive, bénéfique au receveur *in fine* est ce que l'on appelle la **réaction du greffon contre la leucémie** (en fait contre le cancer en général) = **GvL (Graft versus Leukemia)**. C'est un point extrêmement important car, aujourd'hui, on essaie de guider la réponse immune du patient et du greffon, en essayant de doser beaucoup mieux le conditionnement (on prend le risque de laisser quelques c malignes qui risquent de faire rechuter le patient) et en provoquant une réaction du greffon contre l'hôte (que l'on essaie de maîtriser). A ce moment-là, on va faire que la réponse cytotoxique qui serait là pour léser les tissu sains du patient, va servir à agresser les c malignes qui pourraient rester chez le patients.

Ce sont les c T du donneur qui sont à l'origine du démarrage de la réponse immune. Evidemment, le receveur n'a pas beaucoup de c T actives quand on le greffe puisqu'on les a éliminées. Ce sont donc les c T du donneur, avec des CPA du receveur qui engendre la GvH.

On a prouvé que quand on élimine les c T d'un greffon (on faisait ça il y a 25 ans), la réaction du greffon contre l'hôte était minime, la plus faible possible. On s'est cependant rendu compte que chez ces patients greffés avec des greffons purgés, déplétés en c T, on avait un nombre de rechutes extrêmement important. Les patients n'avaient, certes, pas de GvH, mais il rechutaient tellement fort de leur maladie qu'on pouvait les perdre à cause de ça. Donc on sait que le responsable de la maladie est la c T, mais on ne peut pas s'en passer, du moins pas totalement (car rechutes).

Ex : Quand on a une greffe un peu trop "compatible", dans une fratrie par exemple avec 2 individus qui sont vraiment compatibles, et que l'on s'expose à une réaction contre l'autre minime, très faible, on voit parfois ré-émerger des c malignes du receveur. On va alors réinfuser des c T du donneur, de façon à provoquer une petite réaction du greffon contre l'hôte, afin qu'elle se dirige non pas sur les tissus sains, mais qu'elle aille éliminer les c malignes.

On a toujours considéré la greffe de CSH comme une thérapie cellulaire, c'est la première thérapie cellulaire que l'on a à notre disposition ; et à partir du moment où l'on essaie de diriger cette thérapie cellulaire (en modifiant soit le greffon, soit le receveur), on dirige la réponse cellulaire et c'est donc une vraie thérapie cellulaire au sens où on l'entend lors d'une thérapie cellulaire avec des c dendritiques, des c T et tout ce dont on dispose aujourd'hui pour faire une thérapie cellulaire.

Donc la greffe de CSH est importante pour restaurer le système immunitaire et le système hématopoïétique, mais elle est aussi fondamentale dans le sens où elle va être un outil anti-tumoral, pour lutter contre les c leucémiques, les c cancéreuses.

Il y a quelques années, des études expérimentales ont été faites pour essayer de provoquer des réactions contre l'hôte pour traiter une tumeur du sein pex. On s'était dit que si on arrive à doper une réponse immunitaire très efficace contre les Ag du soi d'un patient avec des c ayant un conditionnement assez allégé, on pourra peut-être développer des c anti-tumorales qui seront efficaces. La complexité de la chose et le peu de résultats à fait que les études ont été arrêtées. En fait, il aurait fallu être beaucoup plus agressif dans la

stimulation de la GvH, mais à ce moment-là on faisait prendre beaucoup de risques aux patients, peut être plus que le bénéfice que l'on pouvait attendre.

Donc, la 1^{ère} phase est bien celle du conditionnement (je crois qu'on commence à le comprendre).

On produit, en réponse à ce conditionnement, des cytokines, des chémokines ; mais on va également modifier (parce qu'il y a cette production de cytokines) le phénotype des cellules, et notamment les molécules d'adhérence de certaines cellules. Ça donne un signal très puissant de démarrage d'une réponse immunitaire. Cette **tempête cytokinique** est un vrai chamboulement. Pour ne citer que quelques cytokines : **TNF α , IL-1** (très importantes car sont au démarrage de la réponse immunitaire), **toutes les molécules qui participent aux signaux d'activation des LT, surexpression des CMH I et II**. On a tous les éléments pour entraîner un emballement de la réponse immunitaire qui sera extrêmement puissant.

La réaction du greffon contre l'hôte, pour les immunologistes est quelque chose d'intéressant car on a une réponse immunitaire, mais on se rend compte que, en fonction de ce qu'on laisse dans un greffon (enlever les c T, les c NK), on pourra la juguler plus ou moins, mais il ne faut pas trop la juguler quand même pour conserver l'effet anti-leucémique très important.

Dans le cadre du conditionnement, on peut faire une décontamination intestinale car si la flore intestinale est trop importante, on va avoir une décharge de lipopolysaccharides bactériens qui vont activer les c dendritiques. Quand on a un c dendritique immature (pas tout à fait prête pour présenter des Ag de façon active), si on lui donne un peu de lipopolysaccharides, elle va se mettre à exprimer toutes les molécules et à modifier son apparence de façon à présenter très efficacement les Ag aux CT.

(Diapo 22) La prof a noté les paramètres conditionnant la GvH (ce n'est pas quelque chose de facile avec seulement 2 paramètres malheureusement...). Il y a énormément de facteurs qui entrent en jeu pour conditionner sa sévérité. Une étude a montré que le niveau de lipopolysaccharides sanguins était corrélé avec l'intensité des dommages intestinaux (réponse inflammatoire délétère).

2^{ème} phase : Activation des LT du donneur :

On a les c T du donneur qui vont reconnaître les Ag étrangers présentés par les c dendritiques du receveur. Les c dendritiques qui se trouvent dans les tissus peuvent être activées par les cytokines relarguées (TNF α , IL-1, lipopolysaccharides...) et on se retrouve avec des c vraiment prêtes à présenter les Ag. Ce qui paraît clair, grâce aux études est que : les c dendritiques des OLs et celles présentes dans les organes (il y a des c immunitaires dans tous nos organes) sont cruciales pour le recrutement et l'activation des LT.

Question de la prof : Que dirait-on si on devait comparer le rejet d'un greffe d'organe et la réaction du greffon contre l'hôte ? Question très importante, qu'elle répète plusieurs fois pendant le cours ET à la fin du cours et qui ferait un très bon sujet de partiel =)

R : Dans un cas, c'est le receveur qui réagit contre le greffon alors que dans l'autre cas, c'est le greffon qui réagit contre le receveur.

Mais en terme de mécanique, pensez-vous que la réponse immunitaire est très différente ? Quelles sont les c responsables d'un rejet et celles responsables de la GvH ?

R : Ici, on n'a pas d'activation des LB et des plasmocytes ? Il y a aura en fait probablement des Ac, mais la GvH est vraiment une réponse cellulaire, celle qui est toxique ; alors que dans la greffe d'organes, les 2 vont se développer. Quand on a une GvH puissante qui se développe, la réponse cellulaire fait beaucoup de mal et c'est ça que l'on essaie de juguler. La réponse anticorps ne sera pas très puissante dans ce cas car souvent, on a des individus avec une compatibilité HLA assez bonne. Mais bien sûr, il y a une réponse anticorps même dans des spécificités alléliques très proches. Ce qu'elle voulait nous faire dire, c'est que

dans la greffe de moelle osseuse, ce sont les c T qui vont être très agressives et, contrairement à la greffe d'organe où on a le temps de voir apparaître les Ac, quand on va traiter la GvH d'un patient, ce n'est pas en éliminer les c B qu'on va réussir. Dans la GvH, c'est vraiment en essayant de jouer sur les c T qu'on aura un résultat. Mais du fait que c'est une réponse immunitaire très puissante qui est générée, il est très difficile de freiner une réaction du greffon contre l'hôte quand elle est très puissante. C'est pour ça qu'il faut se débrouiller pour ne pas générer de réaction contre l'hôte trop puissante : on veut qu'il y en ait un peu (réaction anti-leucémique), mais s'il y en a trop, on sait que ce n'est pas bon du tout.

On n'est pas du tout dans le même contexte entre une greffe de rein et une greffe de moelle osseuse car dans le cas d'une réaction du greffon contre l'hôte, il peut y avoir décès du patient alors que (bien que ça ne soit pas marrant), lors du rejet de greffe de rein, on a un système de secours et le patient peut retourner en dialyse.

(Diapos 25/26) Activation des LT

Il faut donc dans un premier temps qu'il y ait un *engagement du Rc T*, il faut que le Rc reconnaisse un peptide étranger dans le contexte du CMH du receveur pour qu'il y ait un démarrage de la réponse T.

Il est également nécessaire d'avoir le 2nd *signal d'activation* : s'il y a seulement l'engagement du Rc T, ça ne suffit pas. Ce 2nd signal est donné par les *co-récepteurs*. Toutes les étapes d'activation du LT sont fondamentales.

On a parlé tout à l'heure des cytokines produites au moment du conditionnement. Mais quand on va activer les c T par reconnaissance des Ag présentés par les CPA, on va avoir également des *cytokines produites par les LT activés* (IL-2, IFN γ). Ces cytokines permettent la différenciation en LT cytotoxiques, mais aussi des c NK. Donc on voit que le démarrage de la réponse immune donne tous les outils pour que la réaction du greffon contre l'hôte puisse avoir lieu (avec notamment l'apparition des c cytotoxiques).

Les c NK peuvent donc aussi jouer un rôle, et ce qui est embêtant c'est que ce sont les premières cellules qui apparaissent après la greffe de CSH : on voit toujours apparaître un pool de c NK très rapidement (quelques semaines, quelques dizaines de jours après la greffe). On n'est pas encore persuadé aujourd'hui de leur rôle délétère dans la réaction du greffon contre l'hôte. Néanmoins, le fait qu'elles apparaissent en 1^{er} et qu'elles soient aussi agressives (c'est en fait leur vocation) posent quelques questions.

L'**IL-18** est une interleukine qui joue un rôle complexe qui n'est pas clair aujourd'hui. Elle aurait un rôle complexe en fonction de la quantité qui serait produite. Suivant le niveau de production, elle pourrait avoir un effet bénéfique ou un effet délétère. (pas à retenir, c'est pour montrer la complexité du système).

D'autre part, il y a des éléments externes au greffon, qui peuvent jouer un rôle aussi. On a vu l'autre jour que quand on veut fabriquer des CSH obtenues à partir du sang périphérique, on traite le donneur avec du **G-CSF** qui permet de mobiliser les CSH. Ce facteur de croissance ne serait pas tout à fait anodin sur les capacités de différenciation et de polarisation des c T du greffon. C'est quelque chose qu'il faut prendre avec des pincettes, mais ça pourrait orienter une réponse particulière du greffon.

Donc on voit qu'on a affaire à un hôte complexe qui a été conditionné et produit beaucoup de cytokines, mais on a en face un greffon qui a lui aussi été conditionné et qui est modifié par rapport à la réponse qu'il pourrait avoir naturellement → niveau de complexité très important !

Quand on veut faire des études rétrospectives, on essaie de regarder ce qu'il se passe dans les greffes de CS en totalité. Seulement, il est clair qu'on ne peut absolument pas comparer les effets de la réaction du greffon contre l'hôte de greffons de type moelle osseuse, à ceux de type CSH et à ceux de sang de cordon. Le greffon que l'on donne n'a pas du tout les mêmes capacités à générer la réaction du greffon contre l'hôte car les c T qui sont dans le greffon n'ont pas toutes les mêmes capacités : dans un sang de cordon, on a beaucoup de c T naïves et on espérait avoir des réactions du greffon contre l'hôte moins importantes.

Aujourd'hui, on a fait beaucoup de greffes de sang de cordon, et on est un peu mitigé sur la réponse.

(Diapo 29) The 3 signals model for T cell functional polarization

On se retrouve ici avec la c dendritique, la c T avec le Rc T qui va reconnaître le peptide antigénique présenté sur une molécule HLA de classe II. On voit que ça va générer le **1^{er} signal d'activation du LT**. S'il n'y a que ce 1^{er} signal, ça ne suffira pas et il n'y aura pas activation pleine du LT. Ce 1^{er} signal va être soutenu par le **2^{ème} signal** grâce, notamment à l'activation de la molécule CD28 et ce que l'on peut appeler le **3^{ème} signal** est l'interaction avec d'autres molécules d'adhérence qui vont pouvoir générer la polarisation du LT (Th1 produit IFN γ et TNF, Th2 produit IL-4, IL-5, IL-13). Il y a encore aujourd'hui beaucoup de facteurs qui ne sont pas très clairs pour savoir ce qui conditionne réellement la polarisation de la réponse Th1 ou Th2. En fonction du greffon et de la mobilisation des CS, peut être que les signaux que l'on délivre sur le greffon (par le G-CSF qui baigne les c du donneur) pourraient orienter les c du greffon vers une réponse du type Th2. La question que l'on se pose aujourd'hui est de savoir si cette orientation ne favoriserait pas une réaction du greffon contre l'hôte qui devient chronique (qui peut être aussi très ennuyeuse). Mais quand on a une réaction contre l'hôte chronique, on sait aussi qu'on a une réponse anti-tumorale qui est assez solide.

(Diapos 31)

Il y a d'autres paramètres qu'il ne faut pas oublier : les **chemokines**, d'autres facteurs solubles importants dans la réponse immunitaire et qui vont être exprimés par des tissus endommagés. Ça permet hélas de recruter des c effectrices lorsque ces chémokines commencent à être exprimées. On est ici dans le fonctionnement classique d'une réponse immunitaire.

Ce qui est également intéressant avec les chémokines, c'est qu'elles ont été proposées comme marqueurs de diagnostic précoce de la réaction du greffon contre l'hôte.

On a vu tout à l'heure qu'on essaie de faire des profils pour prédire la réaction du greffon contre l'hôte, mais on aimerait aussi avoir des marqueurs du diagnostic très précoce, des indicateurs à surveiller chez le patient nous permettant de savoir s'il est en train de démarrer une réponse immunitaire grave car s'il est en train de la démarrer, il est sûrement plus facile de l'arrêter au début plutôt que quand elle est dans sa phase où tous les acteurs font leur travail et commencent à détruire les tissus du patient.

Il est crucial de savoir comment ça fonctionne afin de traiter cette pathologie.

(Diapo 32) Les C NK

On a vu qu'elles apparaissent très tôt après la greffe et elles vont produire de l'IFN γ , du TNF α .

Ce qui est important c'est qu'on a un répertoire de c NK stable pour un individu donné : il n'y a pas beaucoup de variations chez un individu quant à la capacité des c NK à répondre contre des cibles. Ce qui est ennuyeux, c'est que chaque c NK n'exprime pas tous les mêmes Rc (Rc activateurs ou inhibiteurs en fonction de ce qui est en face d'eux et notamment de la molécule du CMH qui peut générer une réponse activatrice ou inhibitrice).

Ce qui est aujourd'hui assez compliqué est que, quand on a un individu complètement HLA identique à un autre, il ne sera pas nécessaire compatible au niveau des Rc NK. Mais encore une fois, si on s'occupe de tous les polymorphismes qui existent, on ne trouvera pas de donneur. Donc aujourd'hui, on ne peut pas sélectionner les donneurs sur les Rc NK car il nous faudrait beaucoup plus de donneurs et beaucoup plus de moyens financiers.

(Diapo 35) Les C régulatrices

Elles sont aussi importantes car on essaie de les utiliser aujourd'hui un peu à toutes les sauces dès qu'il y a un problème au niveau de la réponse immunitaire. Ces c régulatrices n'ont pas de marqueurs de surface

spécifiques (peuvent être CD4+, CD25+), il y a de multiples phénotypes et on ne peut les identifier que fonctionnellement : si elles produisent beaucoup d'IL-10, on sait qu'on a de grandes chances d'avoir des c T régulatrices.

En revanche, ce qui est intéressant pour la greffe de CSH, on a montré dans les modèles animaux que quand on n'a pas beaucoup de c T régulatrices, on a une accélération de la GvH. Donc, il a été proposé d'injecter des c T régulatrices activées préalablement.

On en est là car on n'a pas beaucoup d'outils pharmacologiques pour traiter la GvH, donc on se tourne vers les outils de thérapie cellulaire avec les c T du donneur pour l'effet anti-tumoral et si la GvH est beaucoup trop importante, on essaie avec les c T régulatrices de faire jouer la réponse immunitaire pour diminuer cette réponse qui est délétère pour le patient.

(Diapo 36)

3^{ème} phase : effecteurs cellulaires et inflammation : là, on a vraiment les c cytotoxiques qui sont présentes et qui lysent les c du receveur (cibles très précises). Quand on suspecte une réaction du greffon contre l'hôte, on peut faire une biopsie intestinale, et on verra un infiltrat lymphocytaire de type CD8 qui va être massif.

On va avoir une mise en jeu d'effecteurs multiples pour cette 3^{ème} phase :

- système perforine / granzyme : mort cellulaire et destruction des tissus qui ne sont plus capables de faire leur travail
- système FAS / FAS-L : molécules qui augmentent beaucoup sur les c CD4 et CD8 du donneur
- lésions dépendantes des cytokines telles que TNF et une nécrose tissulaire liée à l'IL-1

C'est un système extrêmement complexe.

(Diapo 38)

Ici, on a figuré la lyse cellulaire en %. Le donneur porte un allèle HLA B4403. Les c de ce donneur ont été greffées chez un patient qui avait l'allèle HLA B4402. Entre ces 2 spécificités HLA, il y a en fait un seul AA qui diffère et qui se trouve à un endroit stratégique : au niveau de la poche peptidique.

Et on voit qu'un patient 4402 va très facilement produire des Ac contre le 4403.

Il y a quelques années de ça, avant que l'on connaisse tous les allèles représentés par les 2 derniers chiffres, on pensait que les 2 B44 étaient totalement identiques.

En fait dans cette étude, on avait 2 patients B44 et on ne savait pas encore regarder les différences plus fines qu'il y avait entre ces molécules HLA et le receveur a fait une réaction du greffon contre l'hôte extrêmement puissante. L'équipe qui avait fait cette greffe avait gardé beaucoup de matériel du donneur et du receveur, ce qui a permis de faire des cultures cellulaires, des typages HLA beaucoup plus performants et on a montré que ces 2 individus que l'on croyait totalement identiques au niveau des molécules HLA présentaient 1 différence sur cette molécule B44 et qui n'était que d'un allèle.

De plus, si on regarde le taux de lyse cellulaire :

- c du patient contre ses propres c : 0%
- c du donneur contre les c du receveur (pas le même typage HLA) : 80% de lyse cellulaire, 60% ... (% différents car c'est une étude de dose-réponse)

On a compris pour la 1^{ère} fois que l'on pouvait développer des c cytotoxiques quand on a une différence portée par une seule spécificité et en plus par un seul AA. Ça a fait peur à beaucoup et on a commencé à faire énormément de typage HLA au niveau allélique (on tient compte de tous les chiffres qui sont après la spécificité générique) car on s'est rendu compte qu'on pouvait avoir des catastrophes, notamment avec les greffes non apparentées si on ne regardait pas tous les allèles possibles. C'est pour ça qu'il est aujourd'hui très difficile de trouver des donneurs et des receveurs qui soient parfaitement identiques.

Ce qu'on ne dit pas dans cette étude est qu'il y avait peut être d'autres différences sur d'autres systèmes (pas pris en compte). Malgré tout, il est clair que si on utilise des c de même spécificité HLA, il n'y a pas de lyse alors que quand il y a une différence HLA, on a une lyse cellulaire.

(Diapo 39)

Le même type de chose est arrivé. On a longtemps cru que les molécules HLA de classe II de **type DP** (3^{ème} type de molécules HLA de classe II) n'étaient pas très immunogènes car on n'a jamais réussi à avoir des Ac contre ces molécules DP. On pensait aussi qu'il n'y avait sans doute pas de réponse cellulaire contre ces molécules DP et en fait, on s'est rendu compte dans cette étude que ce n'était pas le cas. On a ici un frère et une sœur qui portaient une seule différence DP due à un crossing over.

A l'époque, on faisait encore des cultures cellulaires pour évaluer s'il y avait un risque de réaction du greffon contre l'hôte. On a été très surpris en voyant qu'il y avait une réponse très importante dans le sens de la réaction du greffon contre l'hôte. A ce moment-là, on a prévenu les cliniciens de l'incompatibilité DP et de la réaction très importante dans le sens de la GvH. Après discussion, vu qu'il n'y avait pas d'autre donneur, les cliniciens ont décidé de faire la greffe. Le patient a fait une GvH terrible. Avec beaucoup de chance, elle a été jugulée mais le patient, au bout de quelques mois, a arrêté de prendre son traitement et est décédé.

On a donc observé une réponse très intense contre le DP. Cette étude a en fait montré qu'il y avait plusieurs types de réponses. Les chercheurs ont donc regardé où étaient les différences entre les groupes DP et ils ont pu montrer que : en fonction de l'appartenance du groupe DP, l'immunogénicité était plus ou moins importante.

(Diapo 40)

On voit ici que si on fait une greffe entre le groupe 1 et le groupe 3, on va avoir une réponse très importante. Quand on n'avait pas un donneur et un receveur complètement identiques, on essaie alors de rester à l'intérieur d'un même groupe DP et de ne pas mélanger les groupes. Pex, si on a un patient 1001, et qu'on n'a pas de donneur 1001, on peut aller chercher un donneur du même groupe de réactivité (1701) pour s'exposer à une immunogénicité minimale.

Si on mélange les groupes, on s'expose à des réponses antigéniques très importantes.

On hésite beaucoup à proposer des patients comme donneur s'ils sont dans des groupes différents car on sait qu'on s'expose à une GvH plus importante.

On a ce genre de groupes seulement pour DP. On avait commencé à faire des études sur les molécules B mais c'était trop difficile car les molécules sont plus polymorphiques. Donc il était trop difficile de les mettre dans des groupes d'immunogénicité. Ces études ont été faites à partir de cultures in vitro qui ont été très lourdes et ça a été corroboré avec les résultats observés chez les patients.

(Diapo 41)

On a aujourd'hui à notre disposition un logiciel qui nous permet de regarder, en fonction des épitopes présentés par les molécules HLA avec quel autre patient, il y a le plus de chances de réagir → si on a un patient qui a développé des Ac anti-A2 et que l'on regarde contre quoi il est immunisé, on va se rendre compte qu'il n'est pas immunisé seulement contre la molécule A2 (partie pas très claire, dsl, je retranscris ce qu'elle dit). En fait on va trouver d'autres molécules que le patient n'a peut être jamais rencontrées contre lesquelles il a été immunisé.

Aujourd'hui, ce logiciel permet de savoir contre quelles molécules les Ac sont dirigés. C'est une prédiction des épitopes qu'il ne faut surtout pas greffer à un patient. On sait donc quels Ag seraient trop semblables

aux Ag qui ont servis de base pour l'immunisation et qui pourraient déclencher une réponse cellulaire. C'est ce qu'on appelle un **matching structural** : on regarde à quoi ressemble les épitopes.

Ce qui est très important pour la réponse cellulaire et la réponse du greffon contre l'hôte, ce serait de pouvoir réaliser un matching fonctionnel, et de prévoir contre quel type de molécules HLA, on aura une réponse qui sera la plus forte. Mais encore une fois, cela est valable si on avait le choix sur beaucoup plus de donneurs. Il y a des solutions sur le papier qui ne sont pas tout à fait applicables.

(Diapo 43)

Cette diapo montre, sur une décennie l'évolution des greffes de CSH en France → en 1995, c'était essentiellement de la moelle osseuse, en 2004, les 3 sources de cellules souches ont tendance à se rejoindre et les CSH provenant du sang de cordon ont beaucoup augmenté. On fait de moins en moins de greffe à partir de la moelle osseuse, car les donneurs n'ont pas envie de se faire anesthésier, de se faire hospitaliser et on ne peut donc pas tout à fait comparer les études faites il y a quelques années avec des CSH issues de la moelle osseuse par rapport à ce que l'on fait aujourd'hui.

(Diapo 44)

Ca reprend ce qu'on a dit. Pour prévenir la GvH :

- bonne compatibilité au niveau du CMH, du complexe mineur, des NK (idéalement et non applicable)
- succès des greffes chez les jumeaux génétiquement identiques
- bonne compatibilité HLA importante pour tout le fonctionnement du SI, pour ne pas être en lutte permanente avec les tissus du donneur car toutes les c qui sont restées avec l'ancien système immunitaire doivent, dans l'idéal bien collaborer avec le nouveau système qui a été transfusé.

(Diapo 46)

L'effet bénéfique de la GvH est l'effet anti-leucémique. On considère réellement la greffe de CSH comme une thérapie cellulaire.

Dernier cours d'immuno (hallelujia !!)

Partiel : 4 questions rédactionnelles en 1h30. Possibilité de joindre les profs par mail, toussa toussa (valable aussi pour les gens qui vont pas en cours).

On a tout intérêt à être simple et à ne pas faire des réponses trop longues. Il faut réfléchir (sisi c'est ce qu'elle a dit) et faire un plan.

Et elle reparle de la comparaison entre greffe de moelle osseuse (et GvH) et greffe d'organe (avec le rejet de greffe) en nous conseillant de faire un tableau.