

Mieux comprendre les mécanismes de l'alloréactivité responsables de complications au décours d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Initié en 2017 par Alice Aarnink et Marie-Thérèse Rubio, respectivement Responsable du laboratoire HLA et Cheffe de l'Unité de greffe du Service d'Hématologie au sein du Centre Hospitalier Universitaire de Nancy¹, ce projet a bénéficié du soutien financier de CRYOSTEM² pour l'accès aux ressources biologiques et aux consentements de 50 paires donneur/receveur génoïdétiques. Il est actuellement porté au sein de l'équipe "Cell engineering and immunomodulation of Inflammatory and Neoplastic Disorders (CImIND³)" d'IMoPA⁴ avec la contribution d'Adèle Dhuyser, assistante hospitalo-universitaire et doctorante, et bénéficie notamment du soutien de Laurent Mesnard, Chef du Service de Soins Intensifs Néphrologique et Rein Aigu (SINRA)⁵ et de Hugues Richard, chercheur en bioinformatique au Robert Koch Institut de Berlin⁶.

¹ [Lien sur le CHRU de Nancy](#)

² Dans le cadre de ses missions, CRYOSTEM met à la disposition des scientifiques du monde entier, une collection de ressources biologiques unique en Europe pour accélérer le développement de projets de recherche et d'innovation médicale sur la greffe de moelle osseuse et ses complications.

³ [L'Equipe CImIND](#) (Cell engineering and immunomodulation of Inflammatory and Neoplastic Disorders) développe, dans des modèles précliniques et avec une démarche translationnelle, des stratégies d'immuno-modulation basées sur l'utilisation de cellules souches mésenchymateuses ou immunitaires (iNKT, cellules myéloïdes suppressives CD34+) dans le contexte du choc septique et de la réaction du greffon contre l'hôte (GVHD).

⁴ Lien sur l'[Unité Mixte de Recherche 7365 Ingénierie moléculaire, cellulaire et physiopathologie \(IMoPA\)](#)

⁵ [Lien sur l'Unité SINRA](#)

⁶ [Lien sur le Robert Koch Institut de Berlin](#)

Le système du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH), spécifiquement appelé système HLA (Human Leukocyte Antigen) chez l'Homme, est un système de compatibilité tissulaire. En effet, les transplantations de tissus – organes solides ou tissu sanguin - nécessitent un certain niveau de compatibilité entre le donneur et le receveur pour être tolérées par ce dernier, et ce, quel que soit le niveau d'immunosuppression prescrit.

Dans l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, la compatibilité d'un potentiel couple donneur-receveur s'évalue grâce à la compatibilité HLA. En pratique clinique, sont prises en compte les molécules HLA de classe I classiques - HLA-A, -B et -C - et de classe II classiques - HLA-DR, -DQ -, soit un total de cinq molécules, qui sont apportées chacune par le père et par la mère. Ainsi, on établit une compatibilité sur 10 molécules HLA, éventuellement sur 12 si la molécule de classe II classique HLA-DP est également prise en compte.

Cependant, même en cas de compatibilité parfaite sur l'ensemble de ces molécules, comme c'est le cas avec un donneur génoidentique, la probabilité de survenue d'une réaction du greffon contre l'hôte (Graft-versus-Host disease, GvHD) reste significative. Il doit donc exister d'autres polymorphismes responsables de ce mécanisme immunologique, en plus de celui déjà bien connu des molécules HLA.

“D’où peut émerger l’alloréactivité dans un couple donneur-receveur génoidentique pour lequel l’ensemble des molécules HLA sont identiques ?”

Les molécules HLA sont présentes à la surface de toutes les cellules nucléées et les plaquettes. Elles présentent en permanence des peptides⁷ aux lymphocytes T. Ces derniers sont les effecteurs de l'immunité cellulaire et participent à l'homéostasie de l'organisme en éliminant

⁷ Un peptide est une petite fraction de protéine, issue de la dégradation de cette dernière.

systématiquement les cellules anormales, c'est-à-dire différentes du « soi ».

Dans le contexte de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, le tissu sanguin du receveur est remplacé par celui de son donneur. Les lymphocytes T du donneur vont être capables de reconnaître en premier lieu les molécules HLA du receveur. Si elles sont différentes, alors ils exerceront leur activité cytotoxique, d'où la nécessité d'avoir des molécules HLA identiques dans le cadre de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques ! Dans le cas où les molécules HLA sont identiques, il existe un deuxième niveau de reconnaissance du « soi », via les peptides présentés par les molécules HLA aux lymphocytes T. Si ces peptides ne sont pas reconnus comme du « soi » par les lymphocytes T, alors ils exercent là encore leur activité cytotoxique.

Les peptides présentés par les molécules HLA sont le reflet de la diversité génétique inter-individuelle, puisqu'ils proviennent des protéines synthétisées par nos cellules. Etant donné la diversité génétique inter-individuelle, y compris au sein de la même famille où les chromosomes sont distribués aléatoirement par les parents à leur descendance, l'allogreffe est toujours un conflit immunologique quelle que soit la compatibilité HLA.

“Où se situent les polymorphismes responsables de l'alloréactivité ?”

À la recherche de nouveaux polymorphismes avec l'étude de l'exome

L'exome désigne l'ensemble des exons, c'est-à-dire les parties des gènes qui sont effectivement exprimées sous forme de protéines. Il ne représente que 2% du génome, mais l'effort de séquençage nécessaire à son étude reste extrêmement important et génère une grande quantité d'informations qu'il est nécessaire de trier, d'organiser et de traiter pour les comprendre.

Pour cette étude d'envergure, nous avons bénéficié de l'expertise du Professeur Laurent Mesnard, médecin néphrologue et spécialiste de la

transplantation rénale, et du Docteur Hugues Richard, chercheur en bioinformatique affilié à l'université de la Sorbonne et au Robert Koch Institut. Ils ont développé ensemble un outil de bioinformatique permettant de comparer deux exomes, en l'occurrence ici des paires de donneur-receveur. L'outil a d'abord été appliqué à la transplantation rénale permettant de mettre en évidence la corrélation entre la quantité de variants génétiques dans la paire et le rejet chronique du greffon⁸.

Nos travaux consistent en la translation de cet outil dans le domaine de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques et son optimisation en introduisant de nouveaux filtres, permettant notamment l'analyse de l'immunopeptidome, c'est-à-dire l'ensemble des peptides présentés par les molécules HLA aux lymphocytes T.

Les résultats préliminaires obtenus grâce à la cohorte de patients mise à disposition par CRYOSTEM, nous ont permis de bénéficier de nouveaux financements pour appliquer notre stratégie de recherche à des paires donneur-receveur haploidentiques. Dans ce type de greffe qui a émergé récemment, le couple donneur-receveur n'a que la moitié des molécules HLA en commun ; ceci est rendu possible par l'utilisation de conditionnements novateurs. L'utilisation de donneurs haploidentiques change le paradigme auquel nous étions confrontés depuis de nombreuses années, car il existe souvent plusieurs donneurs haploidentiques possibles pour un receveur, alors que la probabilité de trouver un donneur HLA-identique est seulement d'environ 60%, en fonction de la taille de la fratrie et des origines ethniques du receveur.

L'objectif est donc de définir des indicateurs qui permettent d'estimer l'alloréactivité attendue pour chaque donneur haploidentique, afin de déterminer celui qui aurait « la meilleure alloréactivité », c'est-à-dire pourvoyeuse d'un effet Graft-versus-Leukemia (GVL) maximal et d'un effet GvHD minimal.

⁸ [Lien sur la publication](#)

Explorer d'autres systèmes immunologiques en dehors du système HLA

Nous nous intéressons également à d'autres systèmes immunologiques comme celui représenté par la famille de gènes des Killer-cell immunoglobulin-like receptors (KIRs). Leur polymorphisme est plus complexe que celui du système HLA en raison du grand nombre de gènes impliqués. Les KIRs sont exprimés par les cellules natural killer (NK) dont la cytotoxicité est également impliquée dans l'alloréactivité. Cette alloréactivité repose notamment sur la présence d'un mismatch entre les récepteurs KIR d'un donneur et les molécules HLA de classe I du receveur.

En résumé, nos travaux visent à mieux comprendre les polymorphismes génétiques responsables de l'alloréactivité au décours de la transplantation. Nos approches scientifiques des KIRs et la comparaison des exomes, ouvrent de nouvelles perspectives pour permettre de mieux anticiper le risque immunologique, notamment en terme de GvHD.