

# L'allogreffe de Cellules Souches Hématopoïétiques

DES PH IPR – Mars 2019  
Dr Loïc REPPEL, MCU-PH  
UTCT – CHRU Nancy



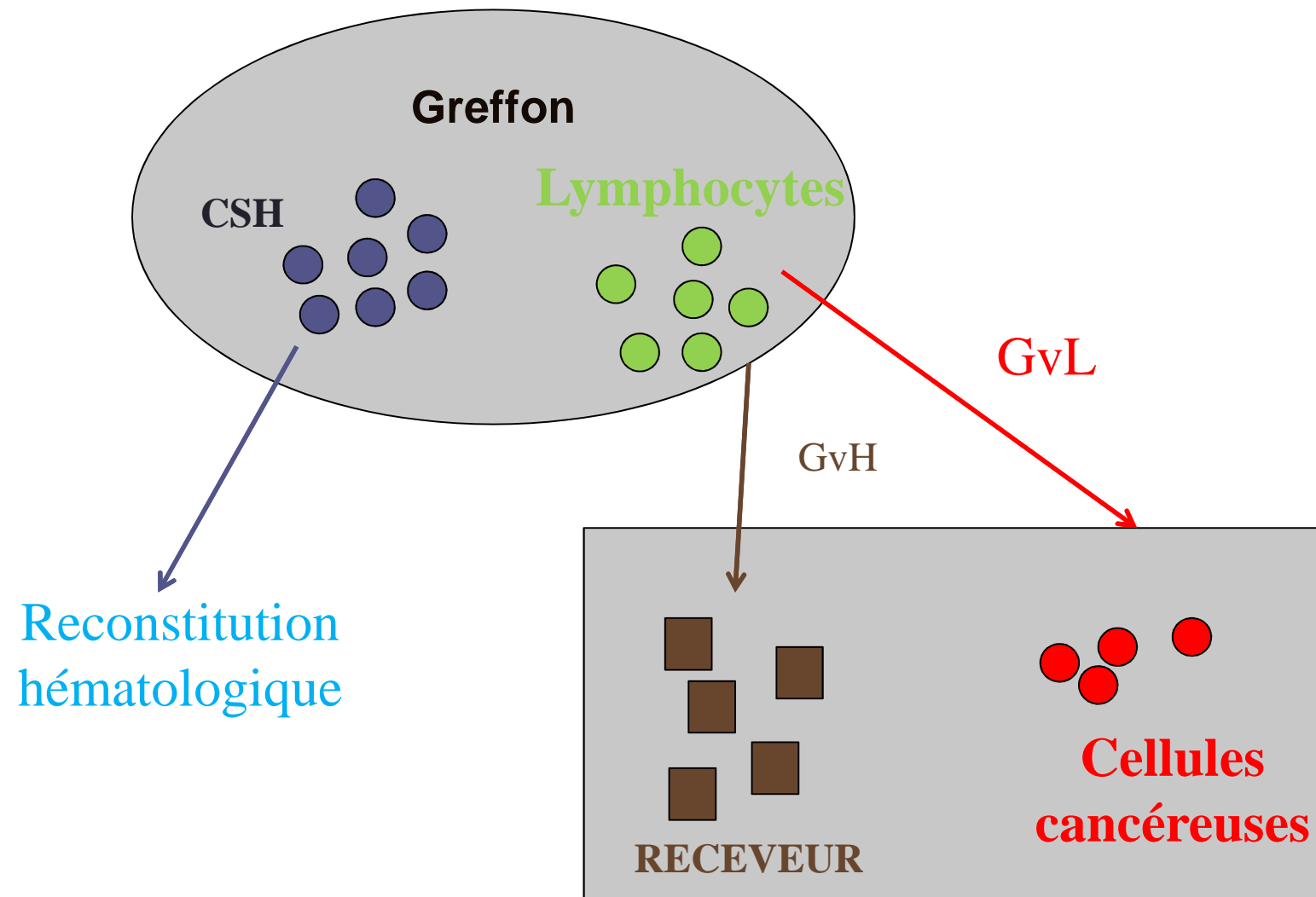
# Plan

- L'allogreffe
  - **Définition**
  - Indications
  - Sources de CSH allogéniques
  - Système HLA
  - Donneurs de CSH
  - Alloréactivité
    - Du receveur vers le greffon: Le rejet
    - Du greffon vers le receveur: GvH et GvL
  - Complications infectieuses

# Définition

- Définition ancienne de l'allogreffe
  - La greffe de CSH allogéniques permet de **remplacer** par des cellules hématopoïétiques normales (provenant d'un donneur sain) un tissu hématopoïétique déficient (DI) ou envahi par des cellules malignes (Hémopathies malignes)
- Aujourd'hui
  - **Immunothérapie** anti-tumorale
- Donneur ≠ Receveur
  - Apparentés
  - Non apparentés

# Définition



# Définition

## Autogreffe de CSH

- Donneur et receveur : **même patient**
- Conditionnement : intensification thérapeutique
- **Aplasie profonde non prolongée**
- **Peu de complication infectieuse**
- Pas d'alloréactivité : **pas de GVH**

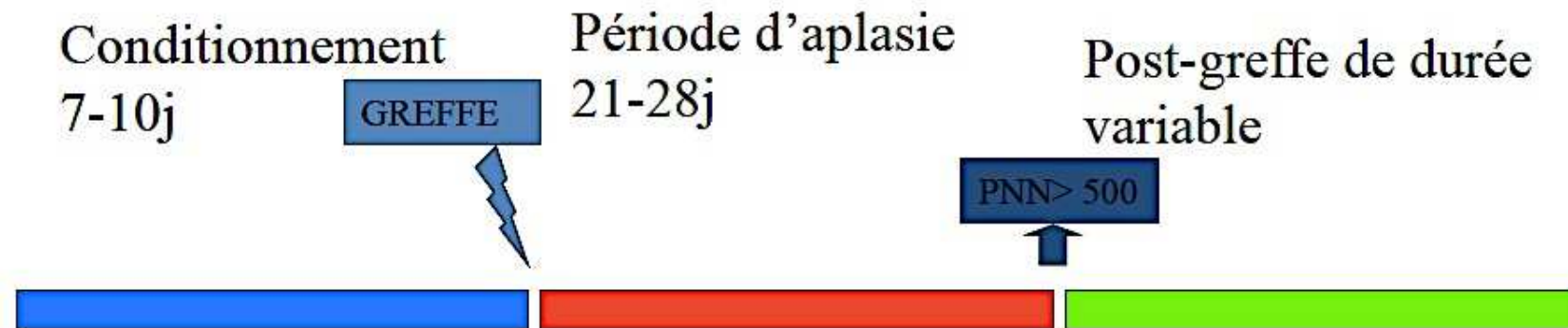
**Le greffon est un support de traitement**

## Allogreffe de CSH

- Donneur et receveur **différents**
- Donneur sain
- Conditionnement myélo-ablatif ou d'intensité réduite
- **Aplasie profonde et prolongée**
- **Complications infectieuses**
- Allo-réactivité: **maladie du greffon contre l'hôte (GVH)**

**Le greffon est le traitement**

# Définition



## EII:

Nausées-  
vomissements

Fièvre/ allergies  
(SAL)

Convulsions

## EII: Toxicité ++

•Mucite

•Cystite hémorragique

•MVO

•Infections bactériennes  
et fongiques

## EII:

•GVH aigue et  
chronique

•Infections virales  
(CMV et EBV +++)

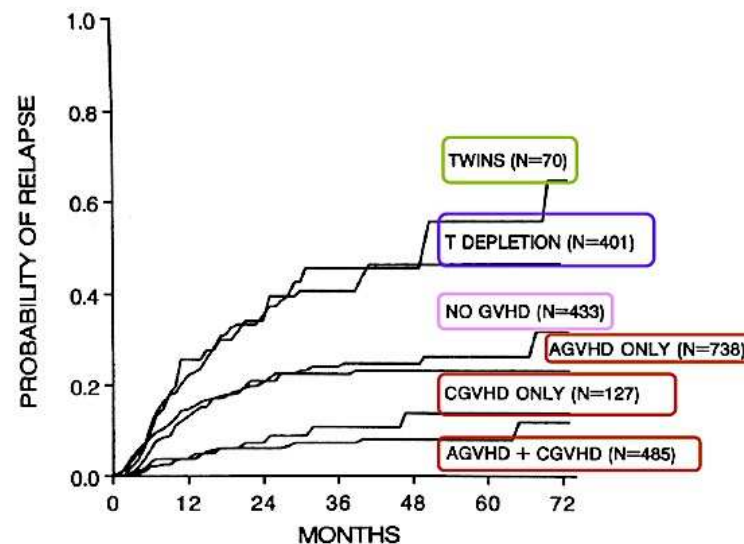
**Complications tardives ++**

**TRM: 20-30%**

# Définition

- **Immunothérapie**

- Risque de rechute réduit chez les patients ayant reçu des CSH allogéniques par rapport aux greffes de CSH syngéniques et autologues
- Risque de rechute diminué chez des patients ayant développés une GvH



- Effets bénéfiques des injections des lymphocytes du donneur (DLI) en cas de rechute (20 à 80% de réponse)

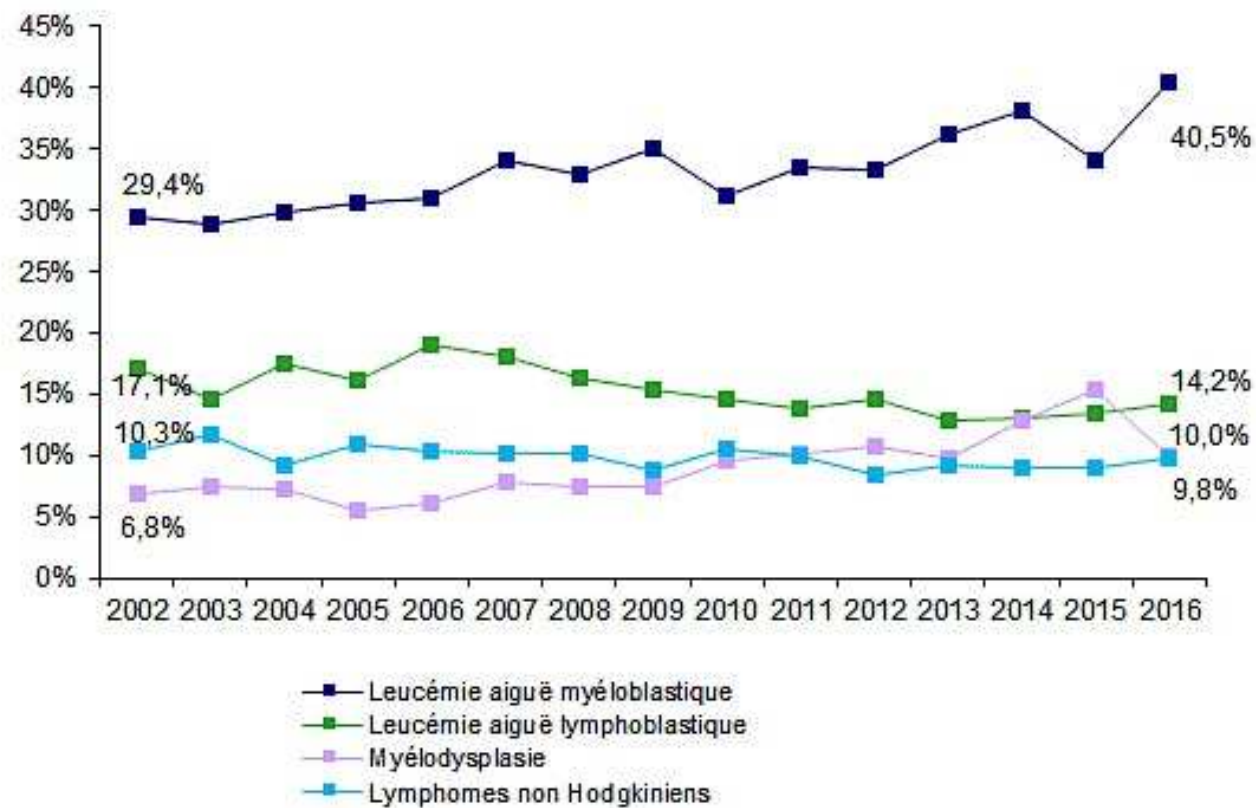
# Plan

- L'allogreffe
  - Définition
  - **Indications**
  - Sources de CSH allogéniques
  - Système HLA
  - Donneurs de CSH
  - Alloréactivité
    - Du receveur vers le greffon: Le rejet
    - Du greffon vers le receveur: GvH et GvL
  - Complications infectieuses



# Indications

Figure CSH G15. Evolution de la répartition des indications d'allogreffe\*



# Plan

- L'allogreffe
  - Définition
  - Indications
  - **Sources de CSH allogéniques**
  - Système HLA
  - Donneurs de CSH
  - Alloréactivité
    - Du receveur vers le greffon: Le rejet
    - Du greffon vers le receveur: GvH et GvL
  - Complications infectieuses

# Source de CSH allogéniques

- La Moelle Osseuse
- Les CSP
- Le Sang Placentaire

# Le Sang Placentaire

- = Sang de cordon/USP
- Contient des CSH
  - Première greffe de sang de cordon pour une anémie de Fanconi en 1989
- Utilisation **allogénique** exclusive
- Propriétés
  - CSH : nombre suffisant pour reconstituer les 3 lignées
  - Immaturité du système immunitaire
    - Réduction de l'incidence et de l'intensité de la GVHD.
  - Capacité de stimulation réduite (Ag HLA peu exprimés)
    - Diminution du risque de rejet
- Inconvénient
  - Quantité de cellules (CNT, CD34)

# Le Sang Placentaire

- Cordon ombilical clampé juste après la naissance puis ponction de la veine ombilicale.



# Le Sang Placentaire

- Clampage du cordon
  - Au plus près de l'enfant avant de couper le cordon
  - Ponction de la veine ombilicale avant la délivrance du placenta (in utero)
  - (ponction ex utero possible aux USA)
- Volume minimum à collecter
  - 70ml : kit stérile
  - Anticoagulant
  - Volume médian : 80 +/- 20 ml
  - Durée : 10 minutes
- Acheminement à la Banque
  - Pour une congélation dans les 24 heures MAXI suivant le prélèvement



# Le Sang Placentaire

- Cordon ombilical clampé juste après la naissance puis ponction de la veine ombilicale
- Transfert dans une poche avec anticoagulant
- Cryopréservation sans purification préalable
- Banque de Sangs de Cordon ou cryoconservation comme don dirigé

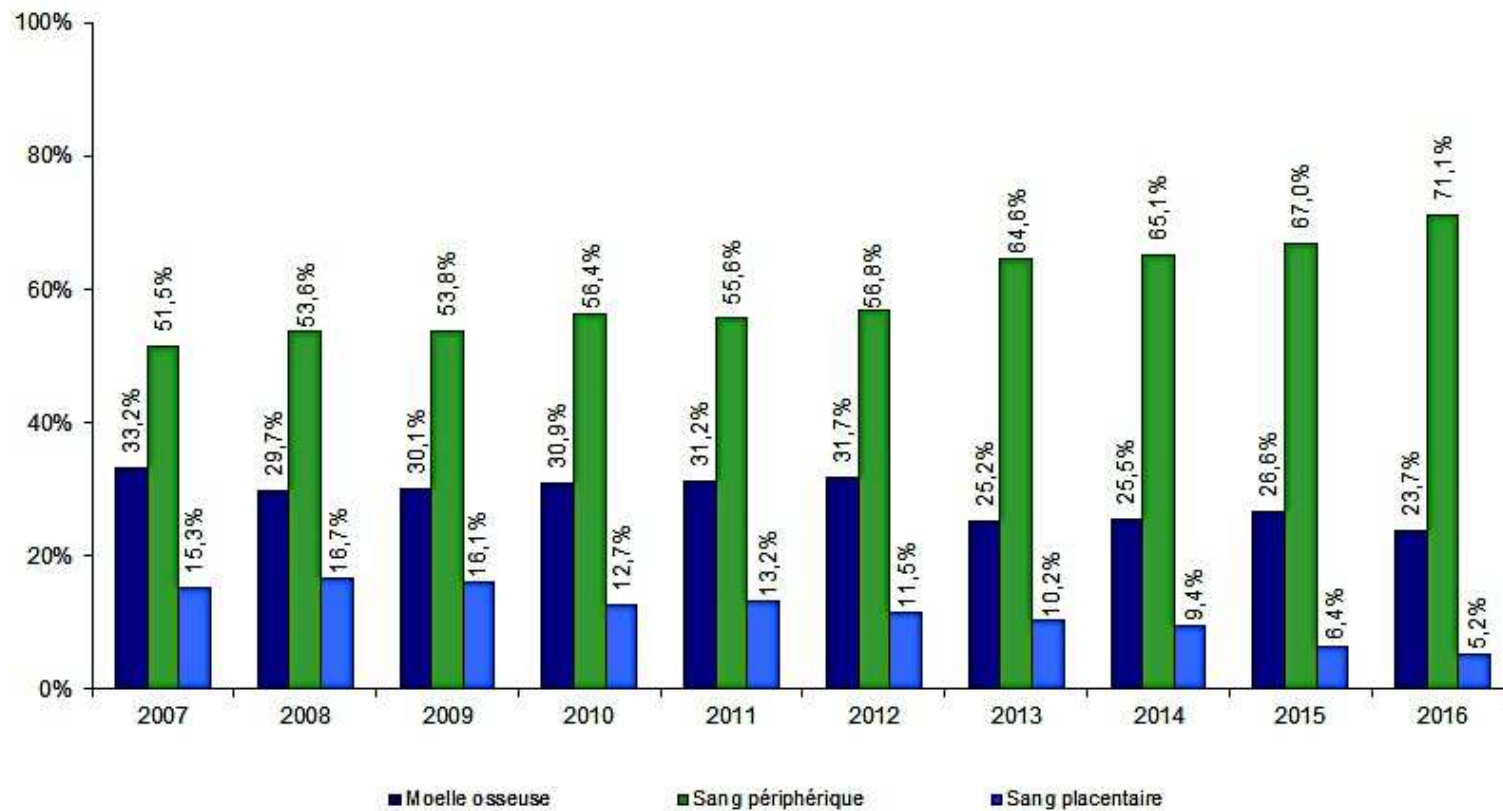
# Le Sang Placentaire

- Sang de cordon intra-familial
- Sang de cordon fichier
  - Non apparenté recensé sur un fichier de sang de cordons
  - Critères de sélection
    - Nbre de CNT :  $> 3 \times 10^7/\text{kg}$
    - HLA : identité 4/6
    - Groupes sanguins ABO identiques
    - CMV –
  - Doubles greffes de sangs placentaires



# Source de CSH allogéniques

Figure CSH G10. Evolution de la répartition des sources de greffon de CSH allogéniques



# CQ des CSH allogéniques

## Sécurité

- Marqueurs infectieux  
(*Donneurs/Receveurs*)
- Contrôle  
microbiologique

## Efficacité

- Numérations cellulaires:
  - Cellules Nucléées  
Totales (CNT)
  - Cellules CD34/CD45+
- Titrage des  
progéniteurs  
hématopoïétiques

## Sécurité virale:

Tests de dépistage des maladies infectieuses transmissibles

(Arrêté du 21/12/2005; Arrêté du 23/12/2010; Arrêté du 05/07/2013; Arrêté du 23/12/2015)

### ❖ Allogreffes de CSH (< 1 mois)

#### ❖ Tests réalisés chez le donneur

- HBV : Ag HBs, AC anti-HBs , AC anti-HBc, + DGV
- HCV : AC anti-HCV + DGV
- HIV : Ag P24 et AC anti-HIV1/2 (test combiné) + DGV
- HTLV : AC anti-HTLV1/2
- Syphilis (TPHA)

➤ Sérologies négatives  
➤ Sauf hépatite B guérie

- EBV : IgM et IgG
- CMV : IgM et IgG
- Toxoplasmose : IgM et IgG

Si IgM+:

➤ Peut être complété par une PCR  
➤ Evaluation du rapport bénéfice/risque

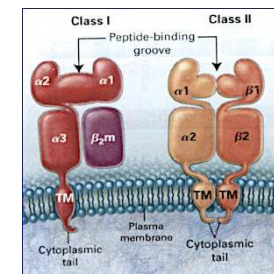
#### ❖ Idem chez le receveur sauf DGV

# Plan

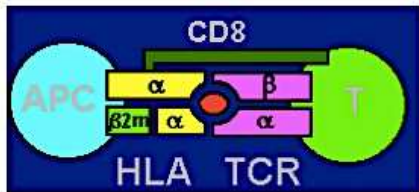
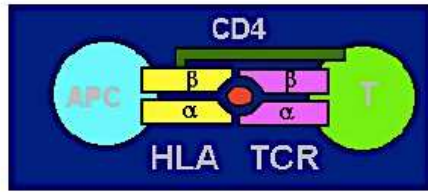
- L'allogreffe
  - Définition
  - Indications
  - Sources de CSH allogéniques
  - **Système HLA**
  - Donneurs de CSH
  - Alloréactivité
    - Du receveur vers le greffon: Le rejet
    - Du greffon vers le receveur: GvH et GvL
  - Complications infectieuses

# Système HLA

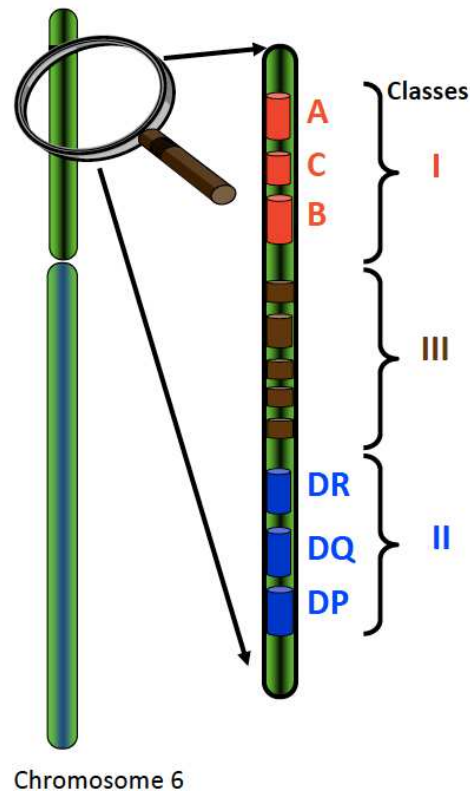
- Deux grandes familles d'Ag Majeurs HLA
  - Ag HLA de classe I : HLA A, B et C
    - s'expriment à la surface de toutes les cellules nucléées de l'organisme.
  - Ag HLA de classe II : HLA DR, DQ et DP
    - s'expriment à la surface des cellules présentatrices d'antigène (APC) : lymphocytes B, macrophages-monocytes, cellules dendritiques, lymphocytes T activés...
  
- Fonctions des molécules HLA
  - Eduquer dans le thymus (foetus) les lymphocytes T à reconnaître le soi du non-soi par l'intermédiaire de leur TCR (Les Lymphocytes T dont le TCR reconnaît fortement les Ag HLA du soi : apoptose)
  - Rôle fondamental de "présentoir" des peptides antigéniques au TCR des lymphocytes T
    - Ag HLA de classe I : peptides endogènes
    - Ag HLA de classe II : peptides exogènes.



# Systeme HLA

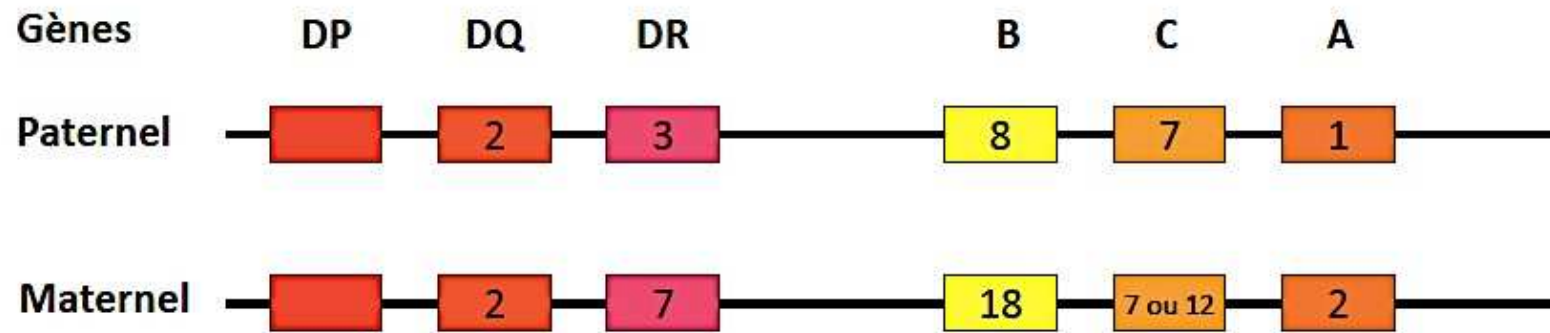
HLA	Classe I	Classe II
Loci	A, B, C	DR, DQ, DP
Structure	1 chaîne $\alpha$ + $\beta$ 2-microglobuline	1 chaîne $\alpha$ et une chaîne $\beta$
Répartition	Presque toutes les cellules nucléées (absent des GR)	Cellules présentatrices d'antigènes (LyB, macrophages, etc...)
Expression	Chaque cellule exprime 3 à 6 Ag de classe I différents (origine maternelle et paternelle)	Chaque cellule exprime plusieurs dizaines d'Ag de classe II différents (combinaisons entre les différentes chaînes d'origine maternelle et paternelle)  Taux d'expression <u>inductible</u> selon les types cellulaires
Antigène présenté	Origine endogène 8 – 9 aa	Origine exogène 15 – 18 aa
Cibles	Lymphocytes T CD8 (cytotoxique) 	Lymphocytes T CD4 (helper) 
Résultat	Lyse cellulaire	Activation cellulaire

# Système HLA



- Système polygénique
- Notion d'haplotype: gènes portés sur un chromosome
- **Polymorphisme:** nombreux variants pour un gène (allèles) >11000

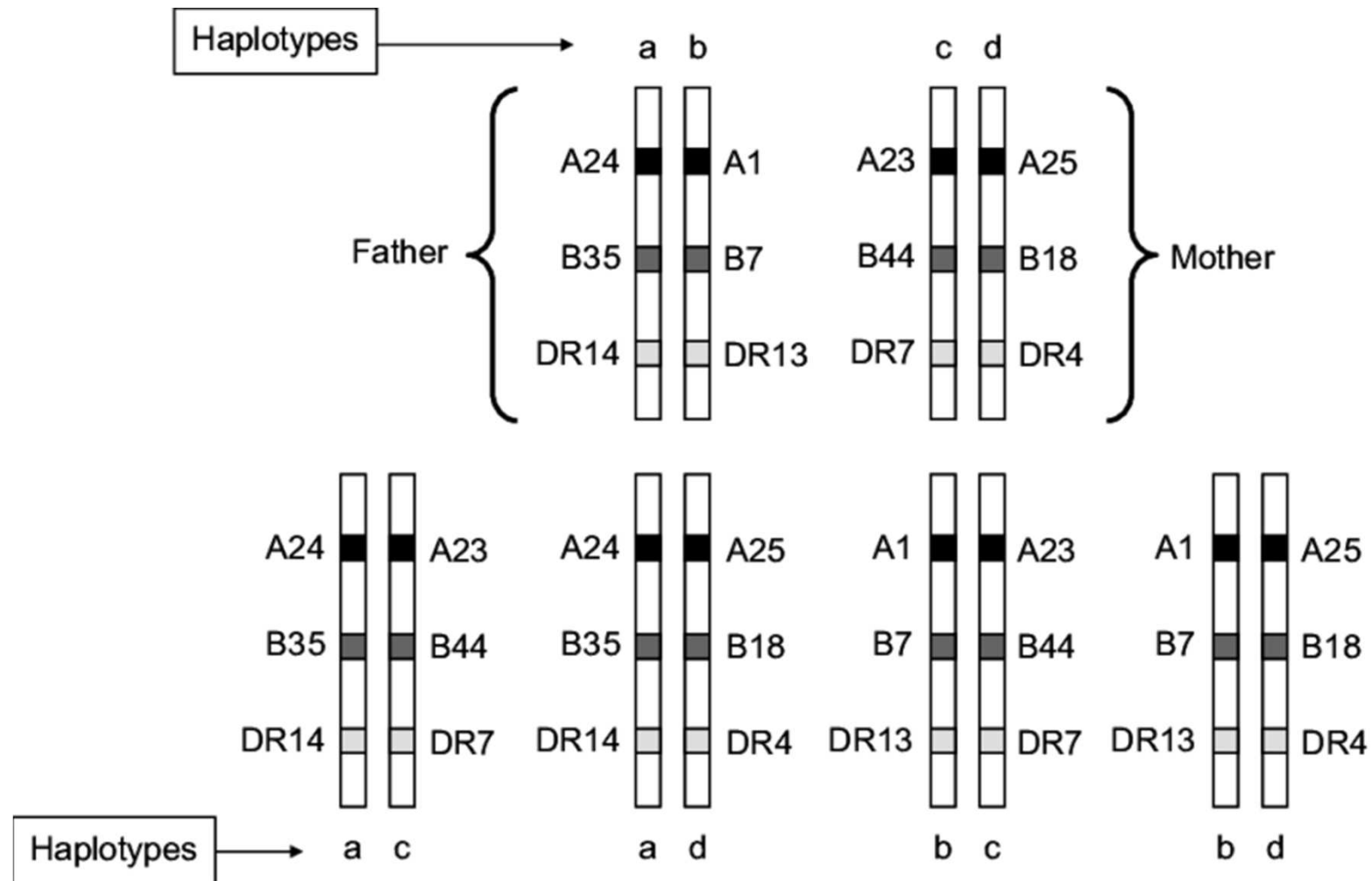
# Systeme HLA



- Transmission en bloc: 1 haplotype maternel et 1 haplotype paternel
- Conséquence: diversité intra familiale limitée
- HLA-DP: pas considéré en routine pour la sélection des donneurs: incompatibilité permissive
- Au total: 5 gènes x 2 = 10 gènes
- USP: compatibilité HLA moins stricte: HLA-A, -B et -DR: 3 gènes x 2 = 6 gènes



# Systeme HLA



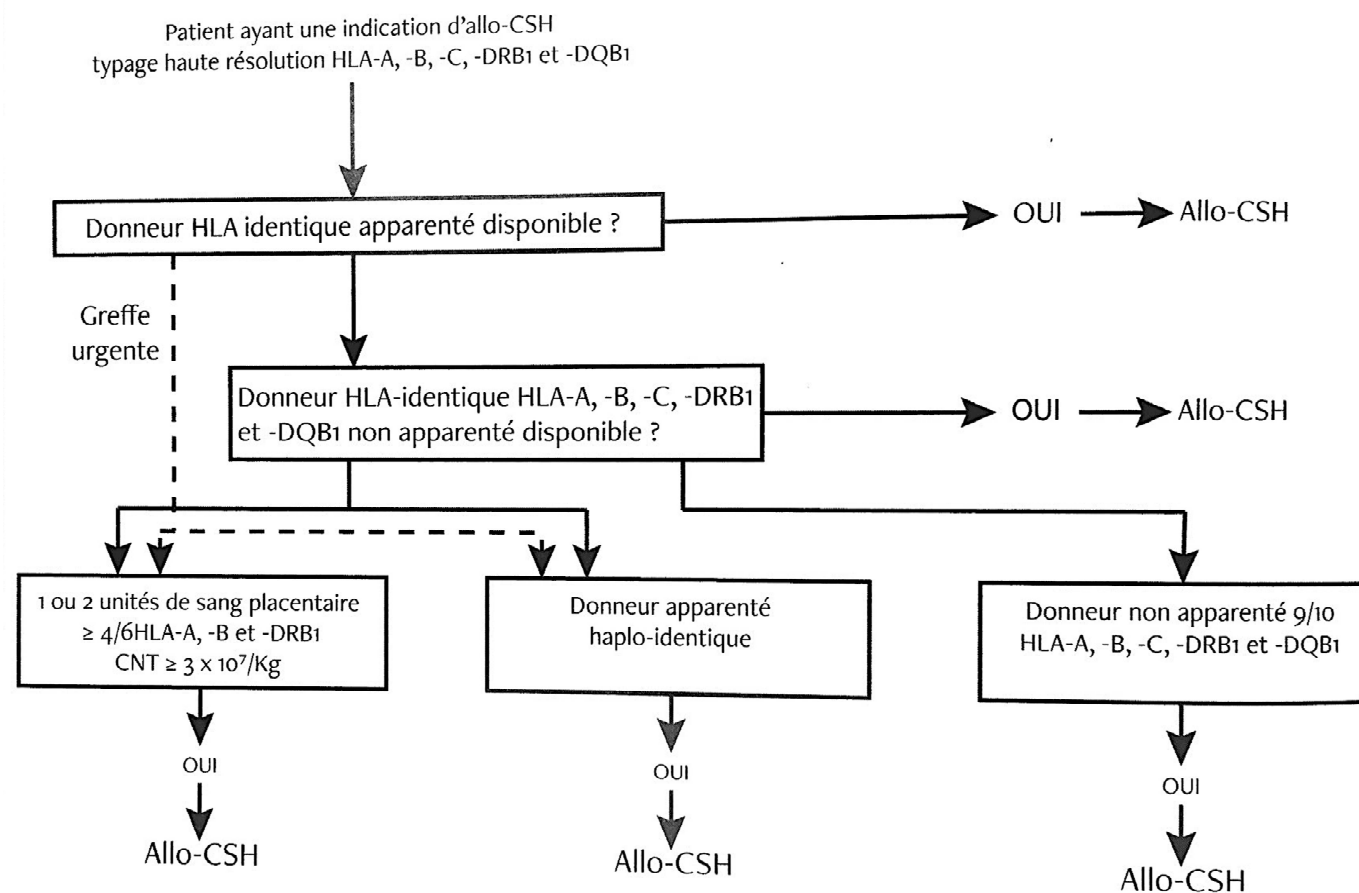
# Plan

- L'allogreffe
  - Définition
  - Indications
  - Sources de CSH allogéniques
  - Système HLA
  - **Donneurs de CSH**
  - Alloréactivité
    - Du receveur vers le greffon: Le rejet
    - Du greffon vers le receveur: GvH et GvL

# Donneurs de CSH

- **Donneur Géno-identique**
  - Donneur intra-familial identique du point de vue des Ag HLA
  - 30 % des patients nécessitant une greffe de CSH.
- **Donneur Non Apparenté**
  - Donneur non apparenté recensé sur un fichier de DVMO ou Fichier de Sang de cordon
  - On recherche le donneur dont les Ag HLA sont les plus proches de ceux du malade. Critères de compatibilité différents pour MO ou CSP (10/10 ou 9/10) et le Sang de Cordon
  - Au mieux 75% de chance de trouver un donneur
- **Donneur Haplo-identique ou semi compatible**
  - Donneur intra-familial (père ou mère)
  - Priorité : différence HLA la plus faible possible

# Algorithme d'identification d'un donneur



# Plan

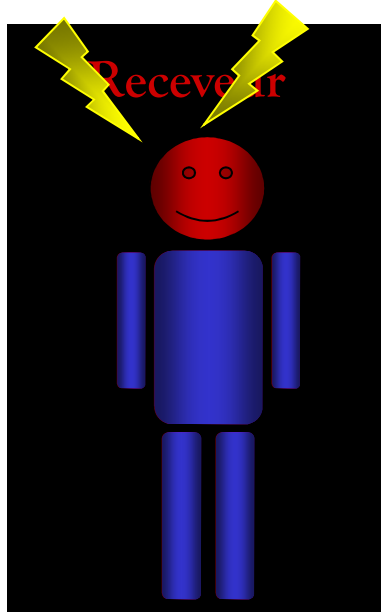
- L'allogreffe
  - Définition
  - Indications
  - Sources de CSH allogéniques
  - Système HLA
  - Donneurs de CSH
  - **Alloréactivité**
    - Du receveur vers le greffon: Le rejet
    - Du greffon vers le receveur: GvH et GvL
  - Complications infectieuses

# Alloréactivité

- Evolution du concept de l'allogreffe de CSH
- Initialement :
  - Objectif : éliminer la moelle du Receveur afin d'éliminer la maladie.
  - = Conditionnements MYELOABLATIFS
  - CSH = support hématopoïétique sain
  - Complications :

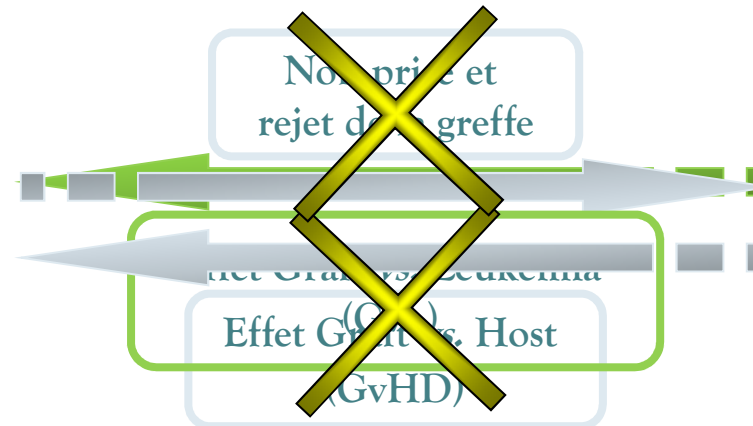
**Toxicité du conditionnement myéloablatif +++**

*Traitement IS*  
*+/- déplétion T invivo*  
**Conditionnement**



*Reconstitution*  
*hématopoïétique à partir des*  
*cellules souches du greffon*

## Allogreffe de CSH

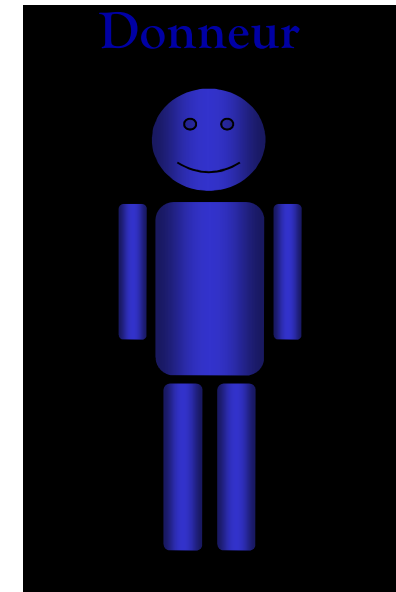


Lenteur  
de la RI

Immunodéficience

Complications  
(Infections)

*Déplétion T du greffon*  
*(ex vivo)*



**Compatibilité HLA**

# Alloréactivité

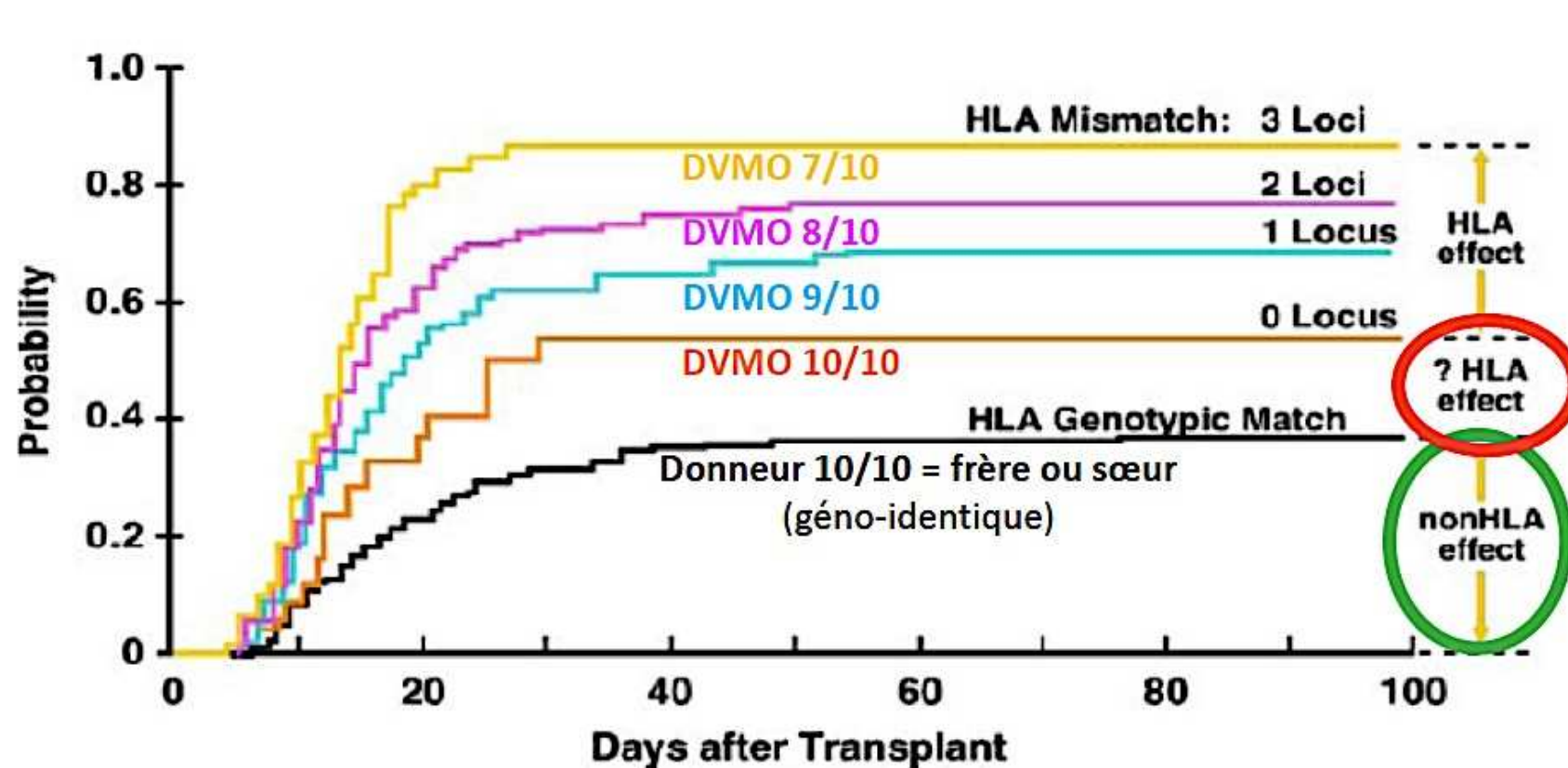
- A partir de 1998 :
  - Objectifs : Favoriser l'effet thérapeutique du greffon (effet GvL)
  - Et diminuer la toxicité du conditionnement.
  - = Conditionnements NON MYELOABLATIFS
  - Le conditionnement devient immuno-modulateur afin d'instaurer une tolérance vis à vis du greffon

**Le Rejet, la GvH et l'effet GvL relèvent des mécanismes d'alloréactivité**



# Alloréactivité

## Incidence GvH



# Alloréactivité: Receveur vers greffon = Le Rejet

- Définition: Les CSH injectées ne parviennent pas à s'établir de façon permanente chez le receveur
- Prévention : conditionnement du receveur avant allogreffe

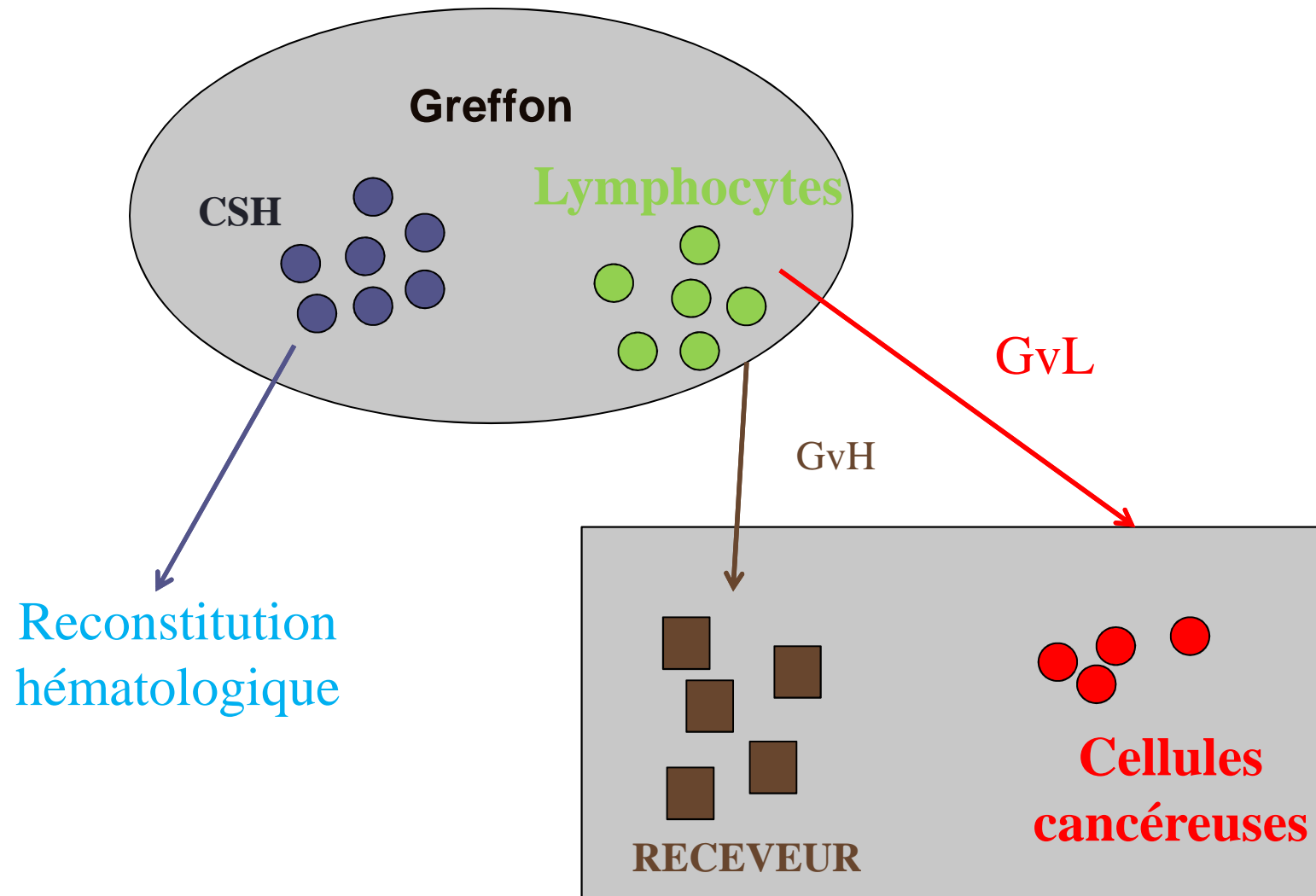
	CONDITIONNEMENTS MYELOABLATIFS (MA)	CONDITIONNEMENTS NON MYELOABLATIFS (NMA)
OBJECTIFS	Détruire cellules malignes résiduelles Immunosuppression R (Rejet) Créer un Espace libre	Induction d'une <b>TOLERANCE</b> <b>immunologique</b> du R vis-à-vis du Greffon Favoriser effet GvL Prophylaxie allégée de la GvH
STRATEGIES	ICT (TBI) Chimiothérapie Immunosuppresseurs (SAL, Campath..)	Fludarabine SAL ICT ou Busulfan faible dose
CRITERES DE CHOIX	Pathologie Age : <b>&lt; 50 ans</b> Traitement des cellules	Grefe à tout âge Moindre toxicité immédiate et à long terme
INCONVENIENTS	TOXICITE : <b>Destruction cellulaire</b> , Perte de cheveux, Risques pour Fertilité, Retard de croissance, risque de cancers secondaires....	Chimérisme post greffe pouvant être partiel

# Chimérisme



- Coexistence de deux populations de cellules
- Étudiée dès J30
- Idéalement : chimère 100% donneur

# Alloréactivité: Greffon vers le receveur = La GvH



# Alloréactivité: Greffon vers le receveur = La GvH

- Définition
  - La réaction des lymphocytes T immunocompétents du greffon contre les tissus du receveur (alloréactivité).
  - = réaction « miroir » du rejet
- GvH aiguë
  - survient dans les 3 premiers mois qui suivent l'allogreffe et atteint principalement la peau, le tube digestif et le foie
  - Classification de Glucksberg
  - Gradation de la GVH en fonction du nombre d'organes atteints et de la gravité d'atteinte de chaque organe

# Alloréactivité: Greffon vers le receveur = La GvH



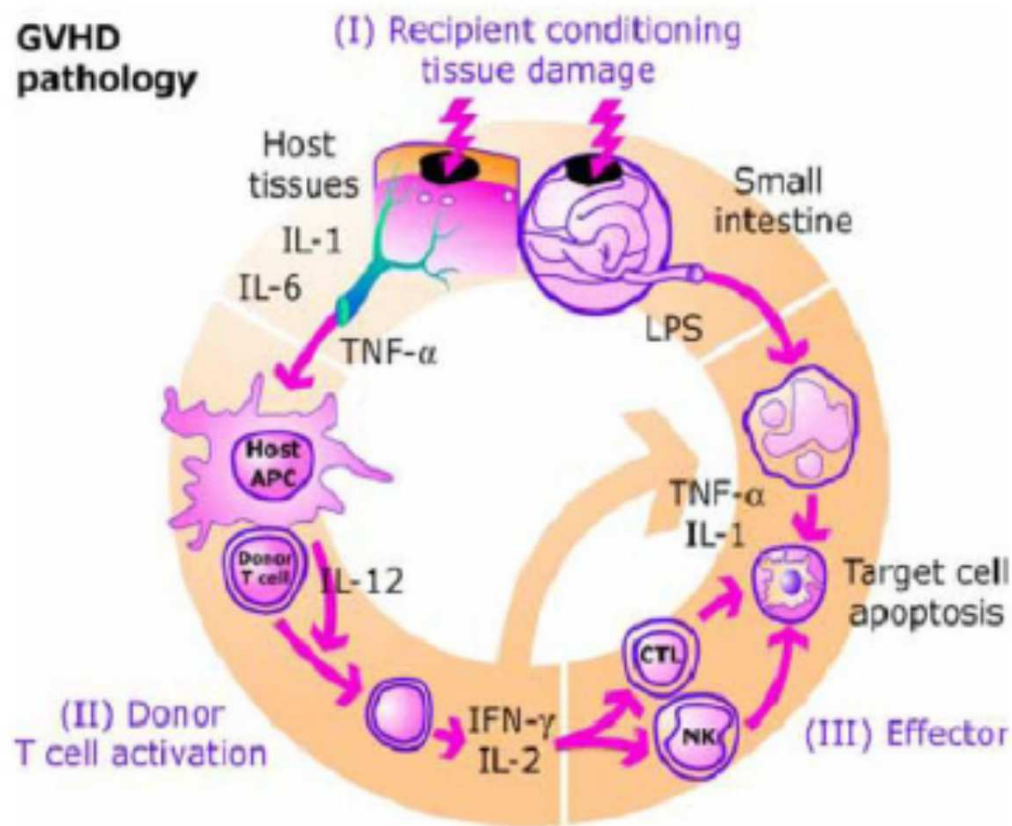
Stade	Peau (90%) Erythème	Foie (<30%) Bilirubine	Intestin (30 à 50%) Diarrhée
1	< 25 % de la surface corporelle	34 - 50 $\mu\text{mol/l}$	> 500 ml/jour ou nausée, anorexie ou vomissement avec confirmation histologique
2	25 % à 50 % de la surface corporelle	50 - 100 $\mu\text{mol/l}$	> 1000 ml/jour
3	> 50 % de la surface corporelle	100 - 250 $\mu\text{mol/l}$	> 1500 ml/jour
4	Erythrodermie généralisée avec formation de bulles et desquamation	> 250 $\mu\text{mol/l}$	> 1500 ml/jour + douleurs abdominales +/- iléus +/- AEG

# Alloréactivité: Greffon vers le receveur = La GvH

- Définition
  - La réaction des lymphocytes T immunocompétents du greffon contre les tissus du receveur (alloréactivité).
  - = réaction « miroir » du rejet
- GvH aiguë
  - survient dans les 3 premiers mois qui suivent l'allogreffe et atteint principalement la peau, le tube digestif et le foie
  - Classification de Glucksberg
  - Gradation de la GVH en fonction du nombre d'organes atteints et de la gravité d'atteinte de chaque organe
  - Peut être persistance ou de survenue tardive > 100 jours
- GVH chronique
  - Pas de limite de temps et est multisystémique.
- Conditions de développement
  - Le greffon contient des cellules immunocompétentes
  - Le R exprime des antigènes tissulaires absents chez le D
  - Le R est incapable de déclencher une RI pour rejeter les cellules du D



# Alloréactivité: Greffon vers le receveur = La GvH



## 2 Facteurs favorisants :

- Incompatibilité HLA
- Cytokines sécrétées

## Prévention et Traitements :

- Immunosuppresseurs (ciclosporine, SAL, corticoïdes, etc...)



# Alloréactivité: Greffon vers le receveur = L'effet GvL

- Définition
  - La réaction des lymphocytes T immunocompétents du greffon contre des antigènes portés par les cellules leucémiques ou tumorales (alloréactivité)
  - = réaction pas toujours dissociable de la GvH
- Découverte
  - Greffes syngéniques, T-déplétées, DLI
- Antigènes concernés :
  - Ag exprimés uniquement par les cellules leucémiques peptides issus de
    - protéines de fusion (ex : LMC)
    - protéines codées par des gènes mutés
    - protéines issues de gènes surexprimés
  - Ag mineurs d'Histocompatibilité
    - ces antigènes sont dérivés des protéines intra-cellulaires, c'est à dire des protéines du soi qui sont dégradées et présentées par les antigènes HLA de classe I et II.

# Alloréactivité: Greffon vers le receveur = L'effet GvL

- Ag mineurs d'histocompatibilité

HA1	exp par tissus hématopoïétiques
HA2	exp par tissus hématopoïétiques
HA3	distribution étendue
HA4	distribution étendue
HA5	exp par tissus hématopoïétiques
H-Y	chez l'homme uniquement

- HA1 et HA2 = très bons candidats
  - Particulièrement exprimés par les cellules leucémiques
  - Non exprimés sur les tissus

# Alloréactivité: Greffon vers le receveur = L'effet GvL

- Suivi de l'effet GvL
  - Maladie résiduelle
  - Chimérisme (sang et MO)
- Approches thérapeutiques non spécifiques
  - Arrêt du traitement IS chez les malades à haut risque de rechute et qui n'ont pas fait de GvH
  - Injection de lymphocytes du Donneur (DLI)
- Approches thérapeutiques spécifiques innovantes
  - CTL anti-peptides issus de HA1 ou HA2
  - CTL anti-peptide de fusion Bcr/Abl

# Plan

- L'allogreffe
  - Définition
  - Indications
  - Sources de CSH allogéniques
  - Système HLA
  - Donneurs de CSH
  - Alloréactivité
    - Du receveur vers le greffon: Le rejet
    - Du greffon vers le receveur: GvH et GvL
  - **Complications infectieuses**

# Complications infectieuses

- Déficit immunitaire cellulaire et humorale
  - Reconstitution lymphocytaire T CD8, CD4 et B lente
  - Bactériennes
  - Virales
  - Fongiques et parasitaires
- 
- Prophylaxies anti-infectieuses
  - Vaccination post greffe à partir de J90

# Conclusion

- Effet bénéfique GvL
  - Allogreffe de CSH = Immunothérapie
  - Pas toujours dissociable de l'effet GvH
  - Sensibilité à l'effet GvL différente selon le type de leucémie (LMC >> LAM >> LAL)
- Immunodépression profonde
  - Causes : conditionnement, GvH, traitement de la GvH
  - Attente de la reconstitution immunitaire
  - Propice au développement d'infections, cause mortalité
- Deux problèmes majeurs
  - GvH
  - Infections liées au déficit immunitaire profond