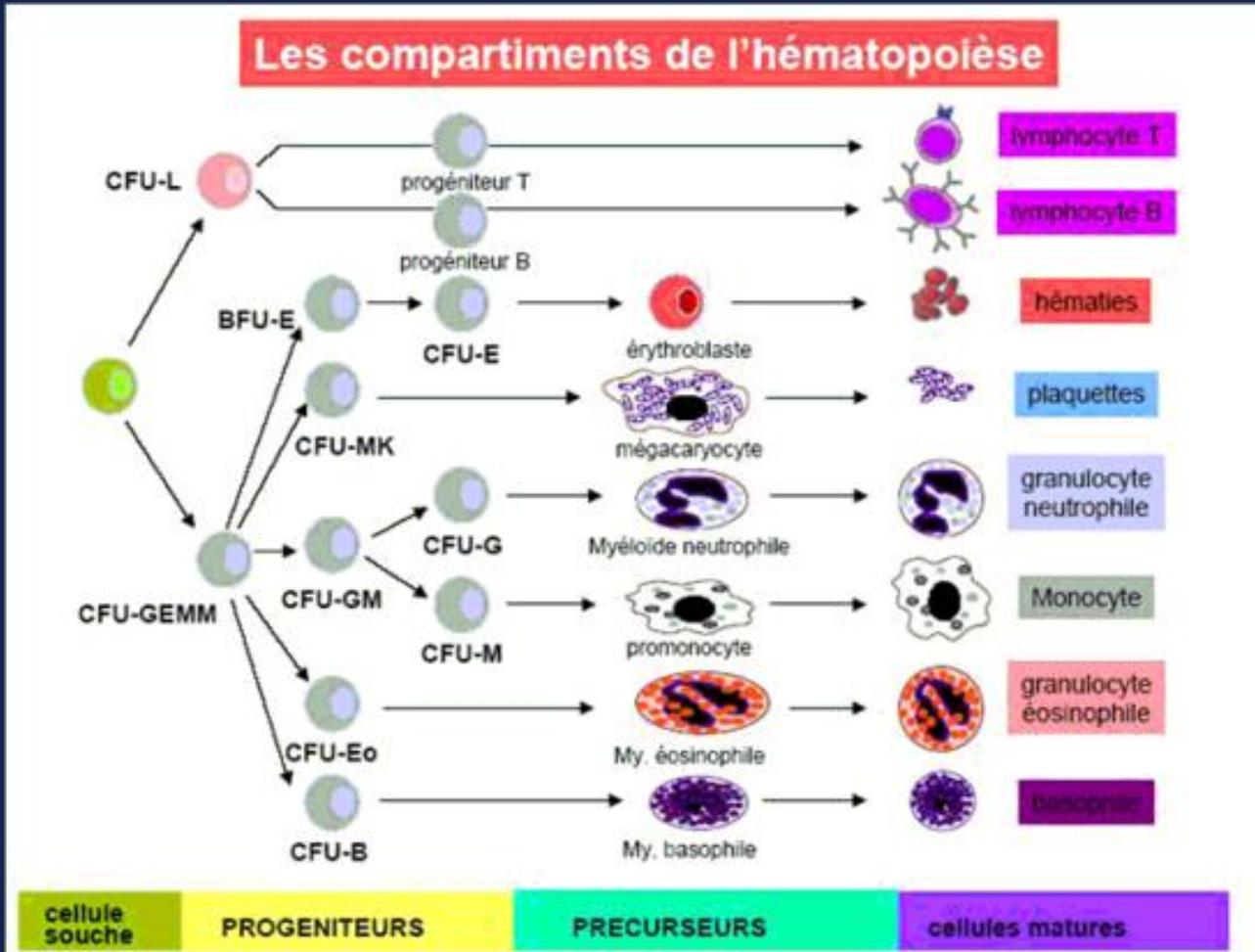


L'Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH)

**Pr Patrice Chevallier, MD, PhD
Hématologie Clinique
Université de Nantes - INSERM U892
Nantes**

CSH et Hématopoïèse

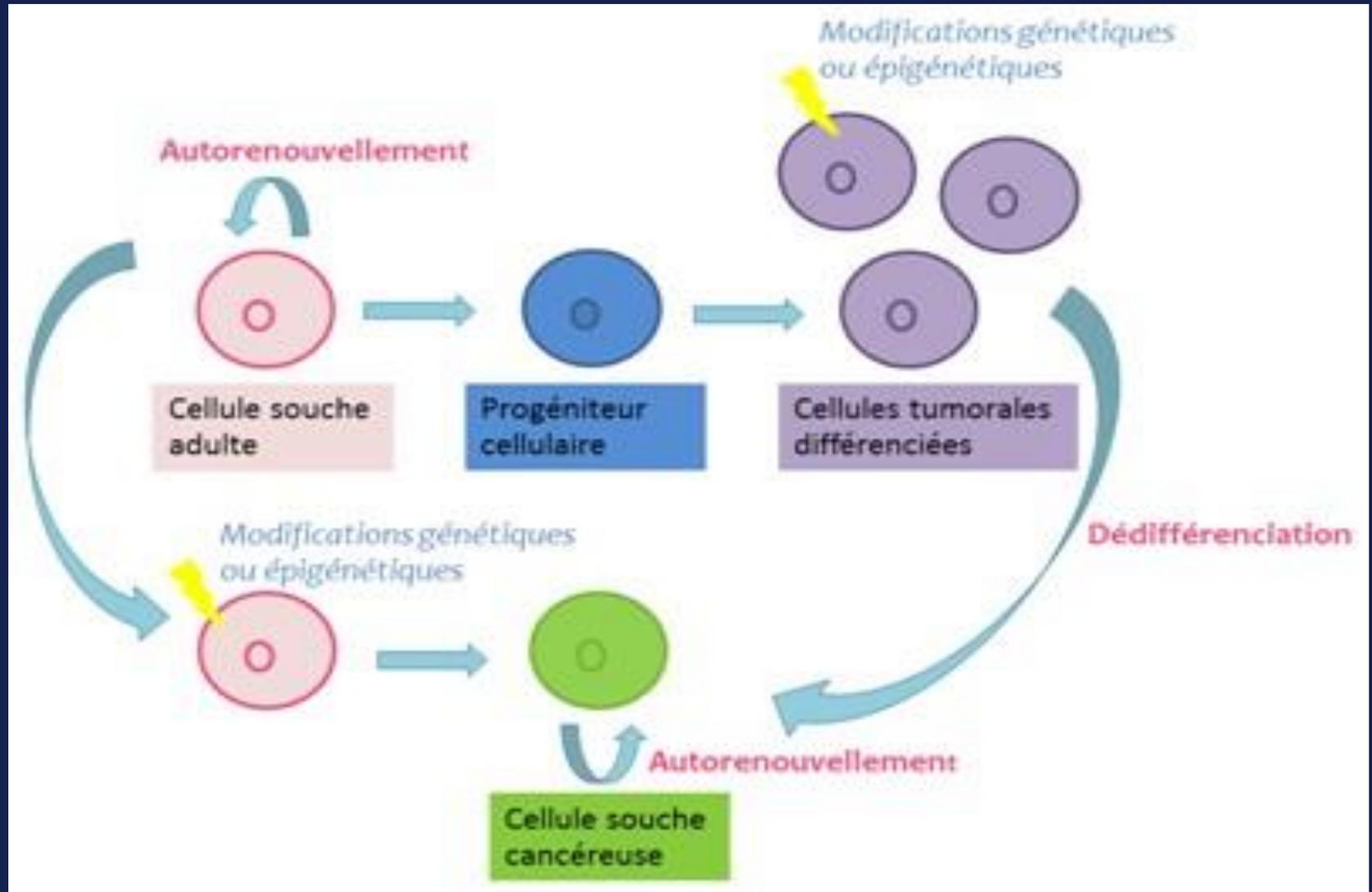


BFU: burst-forming unit

CFU: colony-forming unit

GEMM: granulocyte, erythrocyte, monocyte, megakaryocyte

La grande majorité des Maladies du Sang sont des maladies de la CSH



Les principales Indications

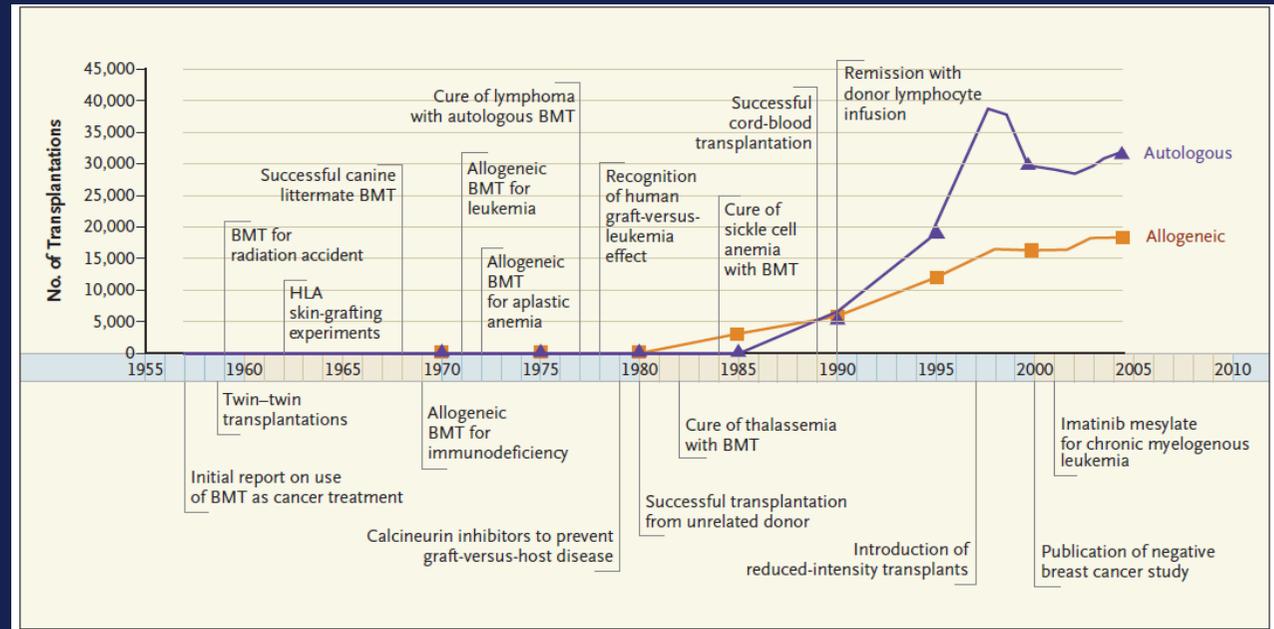
- Les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) et lymphoblastiques (LAL)
- Les myélodysplasies
- Les syndromes myéloprolifératifs évolués
- Les lymphomes en rechute

Allogreffe de CSH: 60 ans déjà!

- Traitement à part entière des maladies du sang malignes et bénignes
- Principe : **remplacer la moelle osseuse du malade par une moelle saine (donneur)**
- Historique:

1950-1980

APPRENTISSAGE



Après 1980:

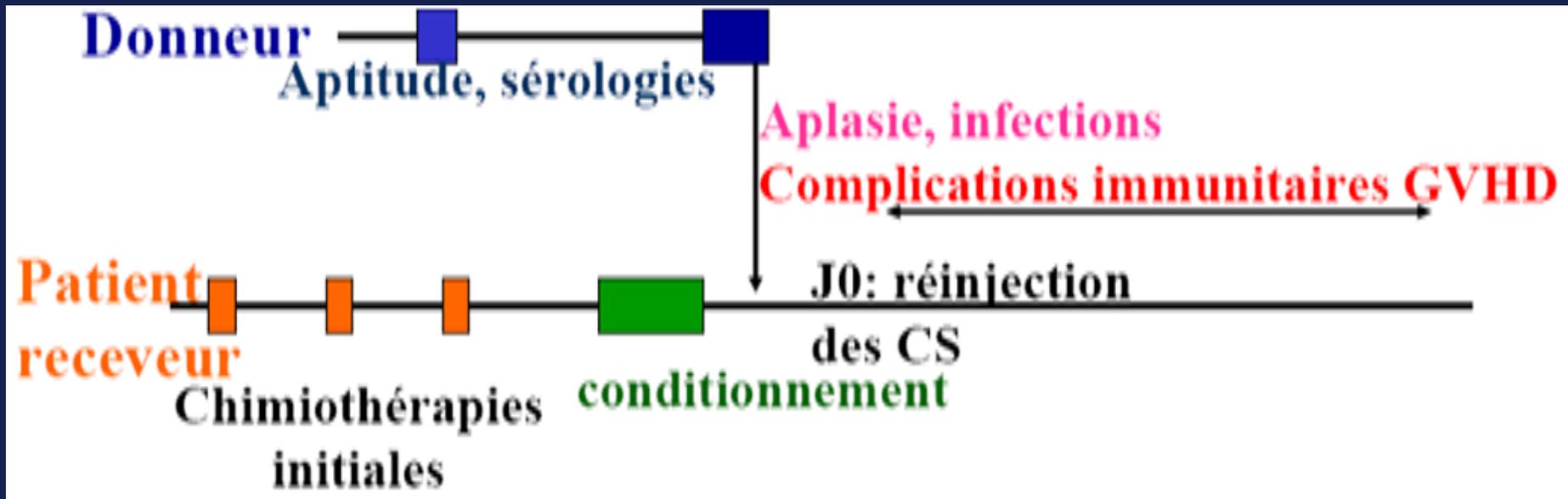
Maitrise de la procédure et gestion des complications

Expansion +++

Appelbaum, New Engl J Med 2007

Les étapes de l'allogreffe

- 1- **Le conditionnement** : préparation à la greffe qui permet la prise du greffon
chimiothérapie +/- radiothérapie
- 2- **Transfusion du greffon = Jour O**
- 3- **Reconstitution hématopoïétique**: 10 à 30 jours
- 4- **Reconstitution immunitaire** : vers le 4ème mois jusqu'à >1 an



Objectifs du conditionnement

1) Réaliser une myélo-ablation (destruction de la moelle)

Permet de faire de la place

Complete: **Conditionnement myéloablatif** (MA ou **MAC**)

Incomplete: **Conditionnements non myélo-ablatif** (NMA) ou à intensité réduite (**RIC**)

Agents: busulfan, thiotepa

2) Réaliser une immuno-suppression chez le patient

Permet la prise du greffon en évitant le rejet

Agents: endoxan, SAL ou ATG, thiotepa, fludarabine

3) Réaliser une action anti-tumorale:

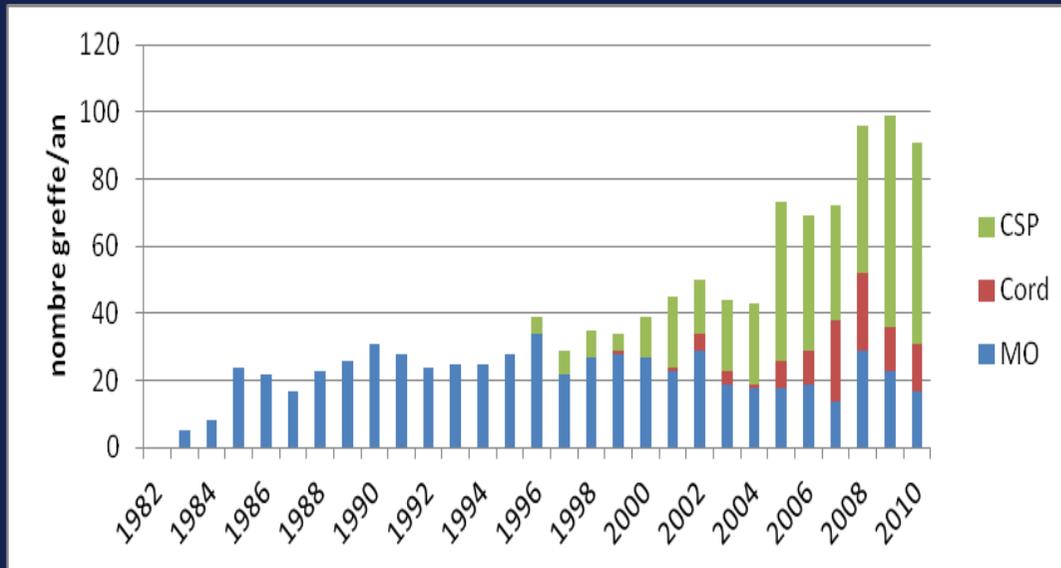
Permet d'éradiquer les cellules tumorales résiduelles

Agents: melphalan, VP16, busulfan

Sources de Greffon

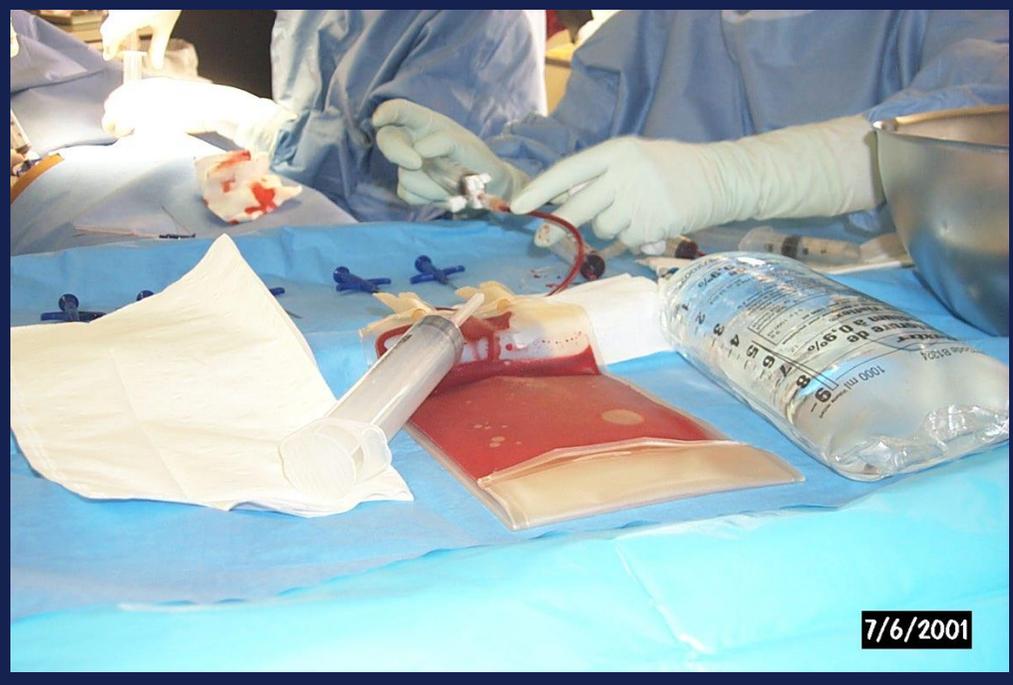
Trois sources disponibles:

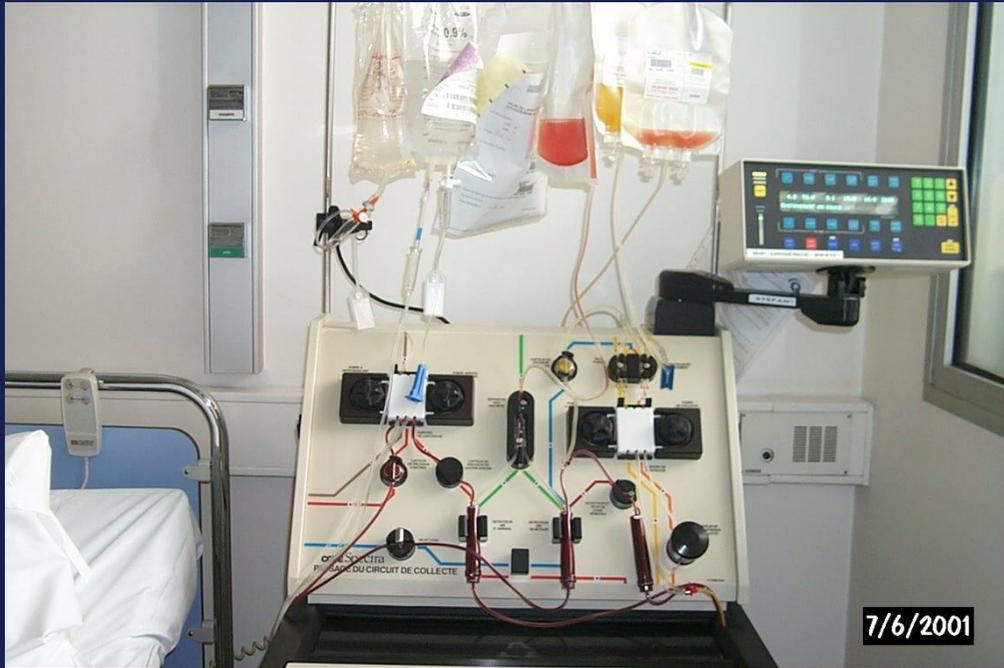
1. moelle osseuse (MO): enfants
2. cellules souches périphériques (CSP): adultes
3. sang placentaire (Cord Blood): si pas de MO ou de CSP



Un greffon est composé de CSH
mais pas seulement: cellules
immunitaires T, NK, ect

Nombre d'allogreffes/année réalisées à Nantes
en fonction du type de greffon





Prelevement de sang de cordon

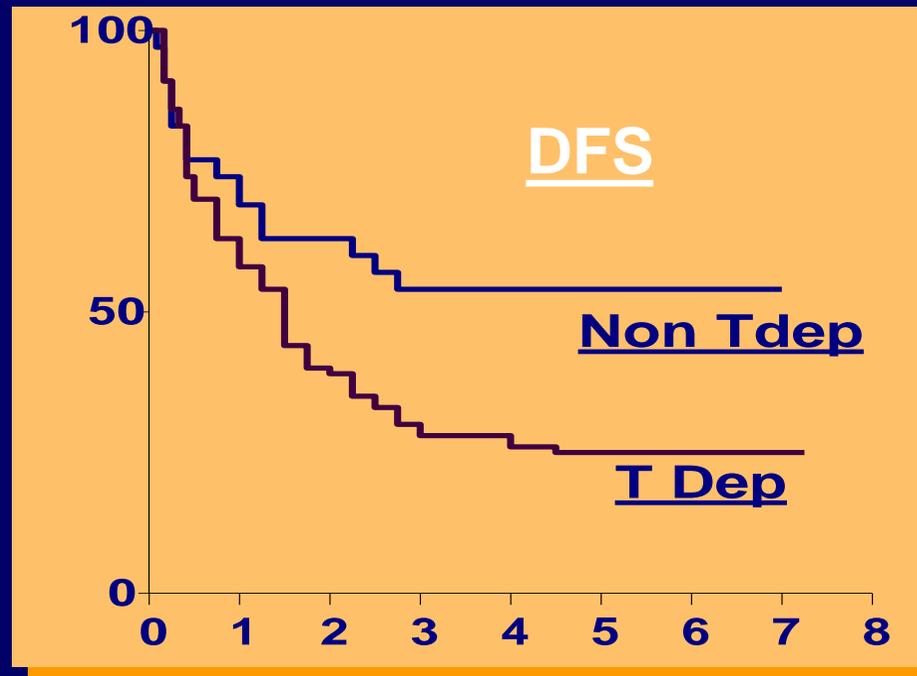


Effacité de l'Allogreffe: Effet GVL

- Effacité : effet direct des cellules immunitaires du greffon contre la maladie/leucémie (effet GVM/GVL)

L'effet GVL est liée principalement aux lymphocytes T du donneur

- Greffes T déplétée= augmentation des rechutes



Maraninchi et al., Lancet 1987

L'injection de Lym T du donneur peut permettre une rémission chez les patients en rechute

Graft-Versus-Leukemia Effect of Donor Lymphocyte Transfusions in Marrow Grafted Patients

By Hans-Jochem Kolb, Anton Schattenberg, John M. Goldman, Bernd Hertenstein, Niels Jacobsen, William Arcese, Per Ljungman, Augustin Ferrant, Leo Verdonck, Dietger Niederwieser, Frits van Rhee, Johann Mittermueller, Theo de Witte, Ernst Holler, and Hassan Ansari for the European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party Chronic Leukemia

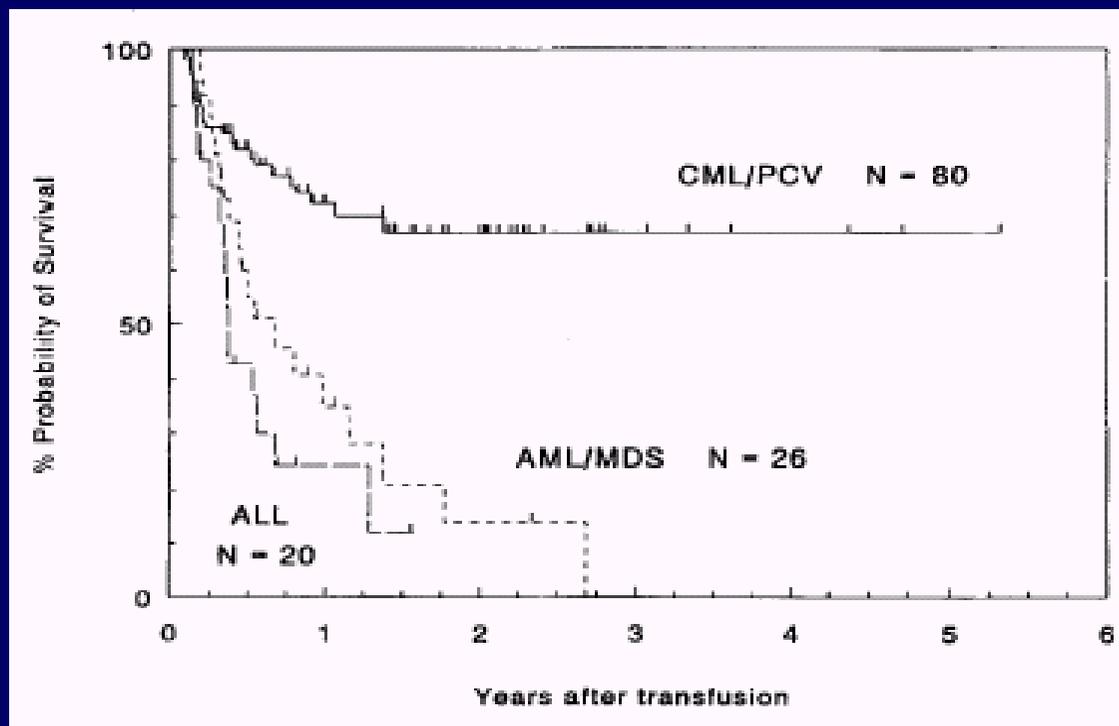


Fig 3. Kaplan-Meier estimate of survival in patients with recurrent leukemia after bone marrow transplantation and treatment with transfusion of donor lymphocytes. CML denotes chronic myelogenous leukemia; PCV, polycythemia vera; AML, acute myelogenous leukemia; MDS, myelodysplastic syndrome; and ALL, acute lymphoblastic leukemia. Tick marks indicate censored patients.

Les Complications post-greffe

1 - L'aplasie : période sans GB, GR et plaquettes

- Risque hémorragique (très faible)
- Risque infectieux (5 % de décès en aplasie)

2 - La toxicité du conditionnement :

- Cutanée et muqueuse: mucite
- Hépatique : la Maladie Veino Occlusive du foie
- Pulmonaire : la pneumopathie interstitielle
- A long terme, cancers secondaires, stérilité, cataracte etc...

3 - Les conflits immunologiques :

- Rejet (5 % si greffe HLA compatible)
- Maladie du greffon contre l'hôte ou graft-versus-host disease (GVHD)

Conflits Immunologiques: 3 situations après allogreffe

CHIMERE COMPLETE

Patient/receveur \rightleftharpoons Donneur

REJET

Patient/receveur
↓ Destruction
Greffon

GVHD

Greffon
↓ Destruction
Patient/receveur

Maladie du greffon contre l'hôte (GVH)

- C'est une des complications majeures de la greffe de CSH et qui repose sur une « attaque » du greffon vis à vis du patient.
- Cause majeure de morbidité (altération de la qualité de vie+++) et de mortalité après greffe.
- 70% des patients
- 30% de mortalité (80-90% pour les formes sévères)
- On distingue GVH aiguë/chronique
- Effet bénéfique (effet GVM= greffe versus maladie)

Physiopathologie GVH

- Les critères pour la survenue d'une GVH ont été définis par Billingham en 1966 :
 - 1) le **greffon** doit contenir des cellules immunocompétentes : **lymphocytes T**, cellules Naturel Killer (NK) principalement.
 - 2) le **receveur** doit posséder des antigènes absents chez le donneur (**allo-antigènes**) qui apparaissent donc comme étrangers au greffon et engendrent ainsi une réponse immunitaire du greffon vis à vis de l'hôte.
 - 3) le **receveur** doit être **incapable de** produire lui-même une **réponse immunitaire contre le greffon** (rôle du conditionnement+++).

Physiopathologie

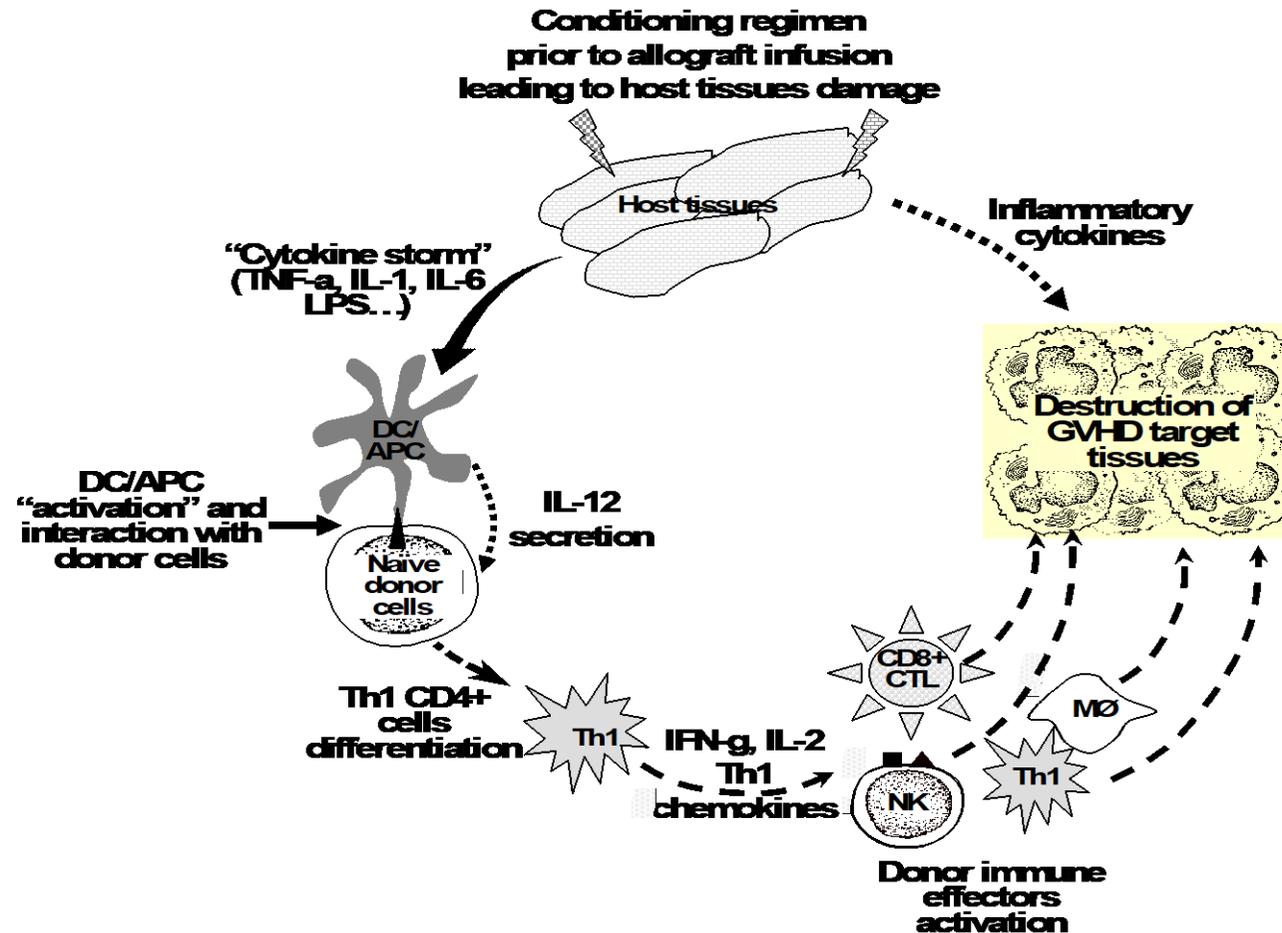
- Quatrième critère de survenue (R Sackstein, 2006)
- Nécessité pour les cellules effectrices de la GVH (lymphocytes, NK) de migrer au niveau des tissus cibles (rôle des chimiokines).

GVH aigue: 3 étapes

1-Activation tissulaire et des cellules présentatrices d'antigènes du patient

2-Activation des lymphocytes T du donneur

3-Activation des cellules effectrices de la réponse immunitaire et production intense de cytokines (tempête) conduisant à l'apoptose des cellules du patient.



Facteurs de Risques de la GVH

-disparité HLA majeur entre le patient et le donneur:

-type de donneur:

Non Familial > Familial > sang Placentaire

-type de Greffon:

CSP > MO > sang Placentaire

Autres Facteurs de Risques

Les Alloantigènes

- *1) les antigènes du complexe mineur d'histocompatibilité (MiHA): HY, HA-1, HA-2, HA-3 (non pris en compte dans le choix du donneur)*
- *2) Certains antigènes non HLA: virus (cytomégalovirus).*

Autres Facteurs de Risques

- mis-match sexuel (femme donneur pour un homme)
- allo-immunisation avec anticorps anti-HLA chez le patient (post-transfusion)
- âge du receveur (+ de risque pour le sujet âgé)
- statut CMV (+ de risque si CMV+)
- intensité du conditionnement (myélo-ablatif>atténué)
- intensité du traitement immunosuppresseur
- le statut avant greffe (avancé > première ligne)

Signes cliniques de la GVH aiguë

1 - Atteinte **cutanée** :

- Erythème maculopapuleux
- Prurit des paumes et des plantes
- Décollement bulleux

2 - Atteinte **digestive** :

- Diarrhée aqueuse
- Oesophagite, gastrite

3 - Atteinte **hépatique** :

- Ictère cholestatique
- nécrose hépatocytaire et insuffisance hépatocellulaire

4 - Fièvre

5 - Pancytopénie

6 - Capillary Leak Syndrome (critère de gravité)

Exanthème morbiliforme de la GVH cutanée aigue





La GvH chronique

- **Incidence: 30 à 60% des greffés survivants au 3ème mois**
- **Physiopathologie mal connue mais différente de celle de la GvH aiguë**
- **Deux hypothèses:**
 1. **Fin de la réponse alloréactive et orientation vers type Th-2**
 2. **Réaction auto-immune par absence de sélection négative des lymphocytes T auto-réactifs thymiques**
 - atrophie thymique,
 - altération des fonctions sécrétrices des cellules épithéliales thymiques
 - déplétion lymphocytaire chez les patients atteints de GvH chronique

La GVH chronique clinique

- **Organes cibles:**
 - peau : sclérodermie, lichen, peau tigrée
 - foie : cholestase ictérique
 - glandes lacrymales et/ou salivaires
 - muqueuse buccale : lichen
 - poumon : BOOP
 - tube digestif : malabsorption
 - muscles
 - Système immunitaire
- **Lésions inflammatoires chroniques avec une forte composante fibreuse.**
- **2 formes : limitée ou extensive**
- **Plus de 50% de mortalité chez les patients développant une forme extensive**
- **Risque de cancers secondaires +++**

Lichen buccal de la GVH chronique

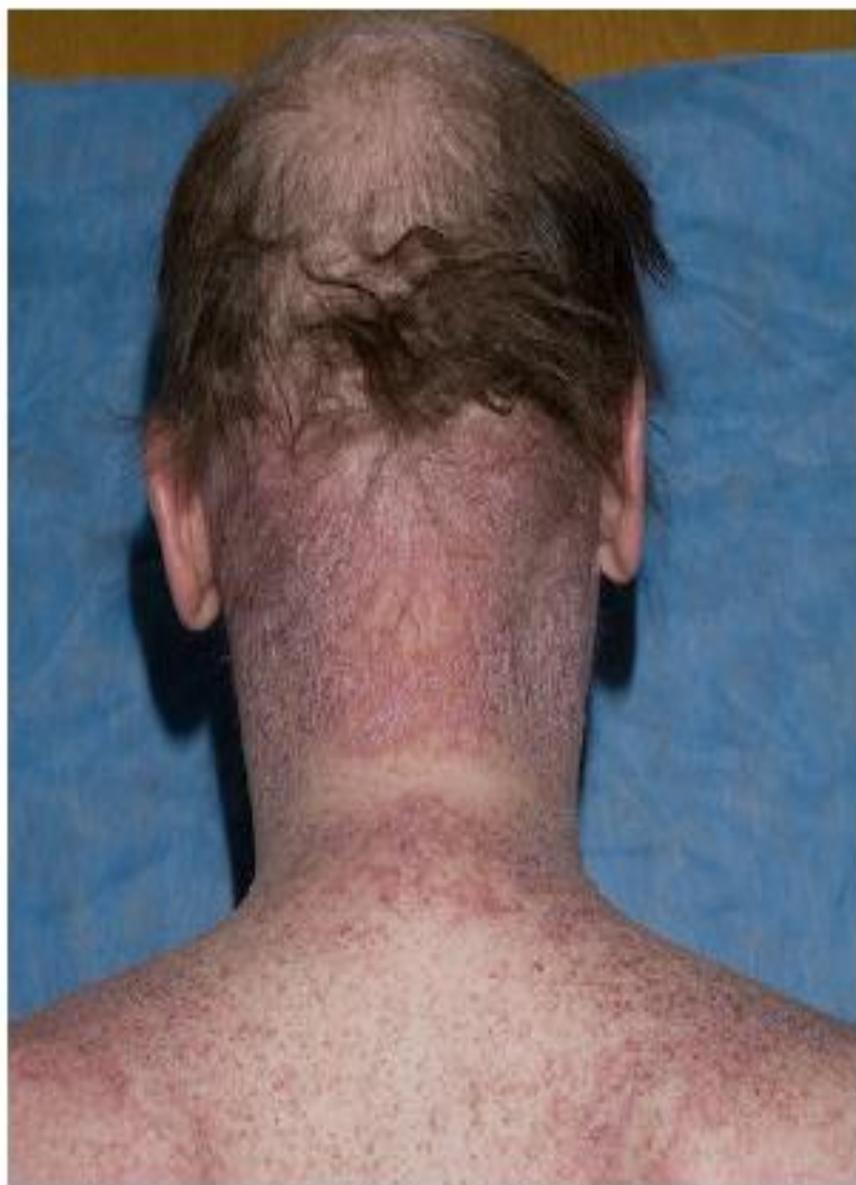
Figure 1





Aspect lichénoïde et irrégularité de pigmentation
de la GVH chronique cutanée







**Il peut exister un effet bénéfique de
la GVH**

**car associé à l'effet $Gv_{Leukemia}$ ou
 $GV_{Disease}$**

La GVH = moins de rechute après greffe

Experimental Hematology 31 (2003) 1–10

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation—Yesterday, today, and tomorrow

Rainer Storb

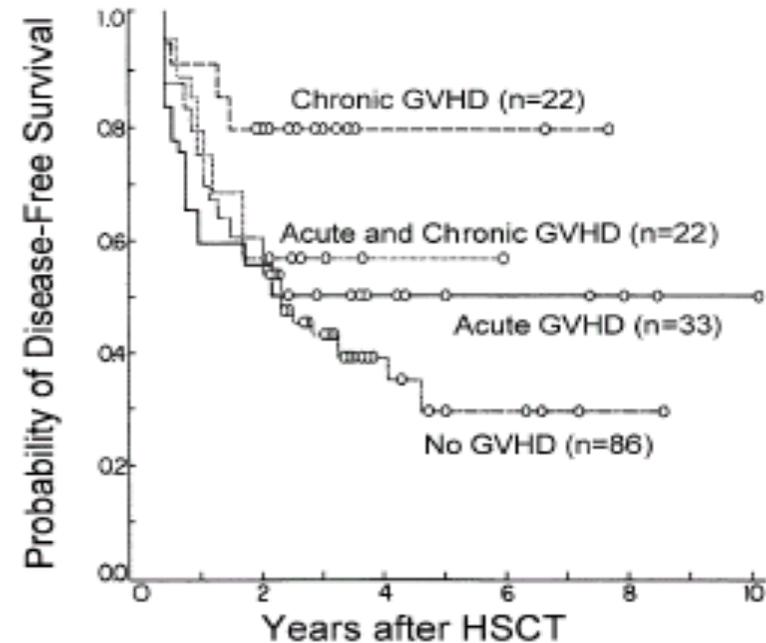


Figure 4. Disease-free survivals of patients with hematological malignancies given cyclophosphamide and TBI, HLA-matched related HSCT, and MTX for GVHD prevention. Shown are data in patients with and without acute and chronic GVHD [62]. Figure modified from Weiden PL, Sullivan KM, Flournoy N, Storb R, Thomas ED. Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med.* 1981;304:1529–1533. Copyright 1981 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

Traitement de la GVHD

Traitement préventif: les immunosuppresseurs

Traitement curatif: les corticoïdes

Immunosuppressive drugs and sites of action in the three-signal model

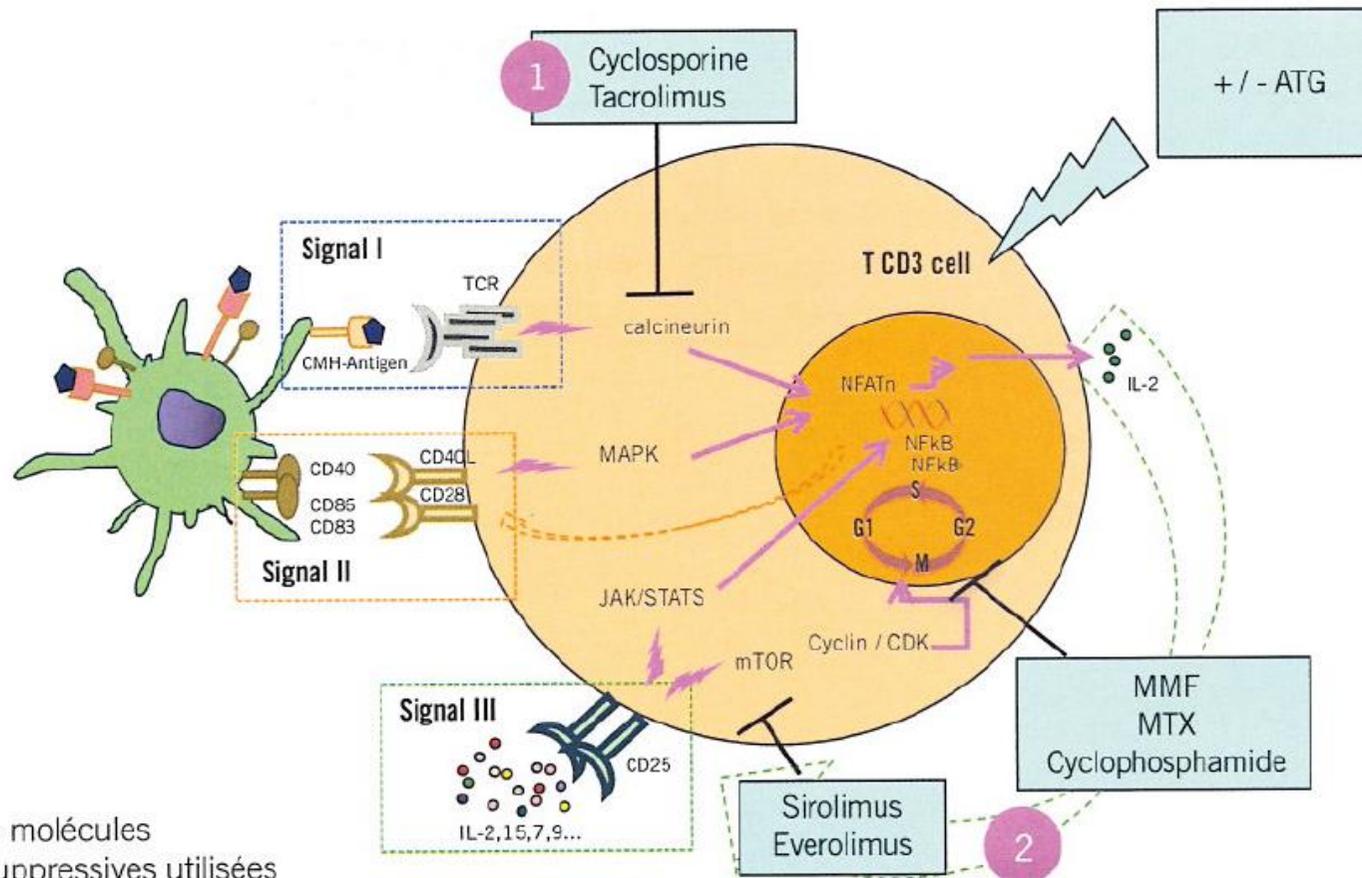


Figure 1 :
cibles des molécules immunosuppressives utilisées en prévention de la GVH.
adapté de Rubio et al. *Reference Module in Biomedical Sciences*; 2014.

ATG (Anti-T cell globulins) ou SAL = Polyclonal IgG

Table 1
ATG Formulations

| | ATGAM (Pfizer) | Thymoglobulin* (Sanofi) | ATG-F* (Fresenius/Neovii) |
|--|----------------|-------------------------|---|
| Animal immunized | Horse | Rabbit | Rabbit |
| Human cells for the immunization of the animal | Thymocytes | Thymocytes | Jurkat cells (T lymphoblastoid cell line) |
| Lymphodepletion in vivo | ± | + | + |

TABLE 1. ATG IS REVIEWED FURTHER.

Thymoglobulin contains antibodies against multiple antigens, including CD1a, CD2, CD3/T cell receptor, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD11a/CD18 (LFA1), CD11b, CD16, CD19, CD20, CD25, CD28, CD29, CD30, CD32, CD38, CD40, CD44, CD45, CD49, CD50 (ICAM3), CD54 (ICAM1), CD56, CD58, CD61, CD81, CD82, CD95, CD98, CD99, CD102 (ICAM2), CD126, CD138, CD147, CD152 (CTLA4), CD184 (CXCR4), CD195 (CCR5), CD197 (CCR7), HLA class I, beta-2-microglobulin, and HLA class II

J. Storek et al. / Biol Blood Marrow Transplant 21 (2015) 959–970

LES MOLECULES HLA:

Classe 1 : A, B, Cw

Classe 2: DR, DQ, DP

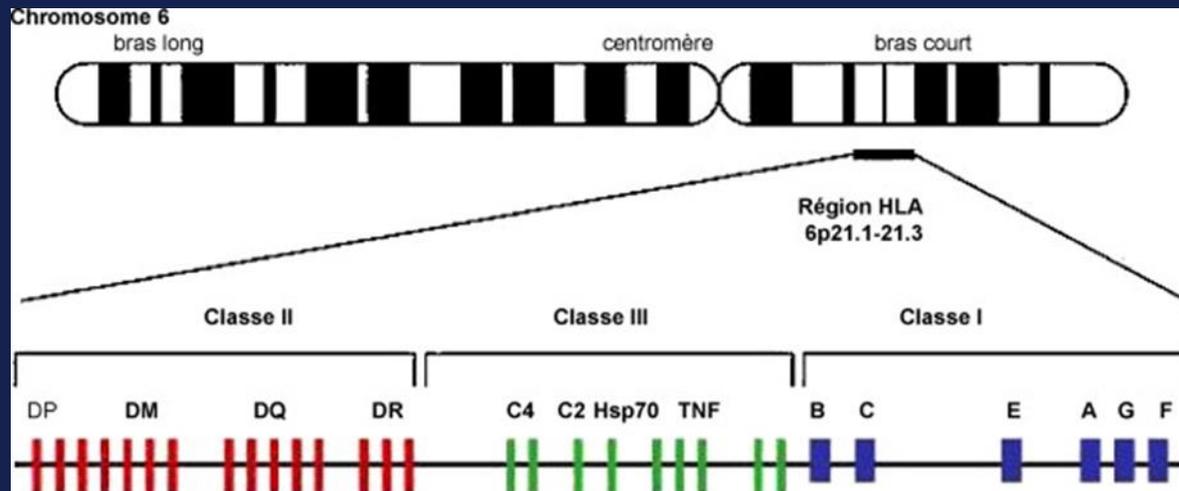
Classe 3: C2, C4

Au niveau du chromosome 6: la séquence A, B, C, DR, (DQ) = haplotype

Pour un individu donné:

1 chromosome 6 provient du père: haplotype paternel A, B, C, DR, (DQ)

1 chromosome 6 provient de la mère: haplotype maternel A, B, C, DR, (DQ)



Compatibilité:

Donneur est 10/10 ou

8/8 (anglo-saxons)

- *AUTRES CRITERES DE SELECTION*

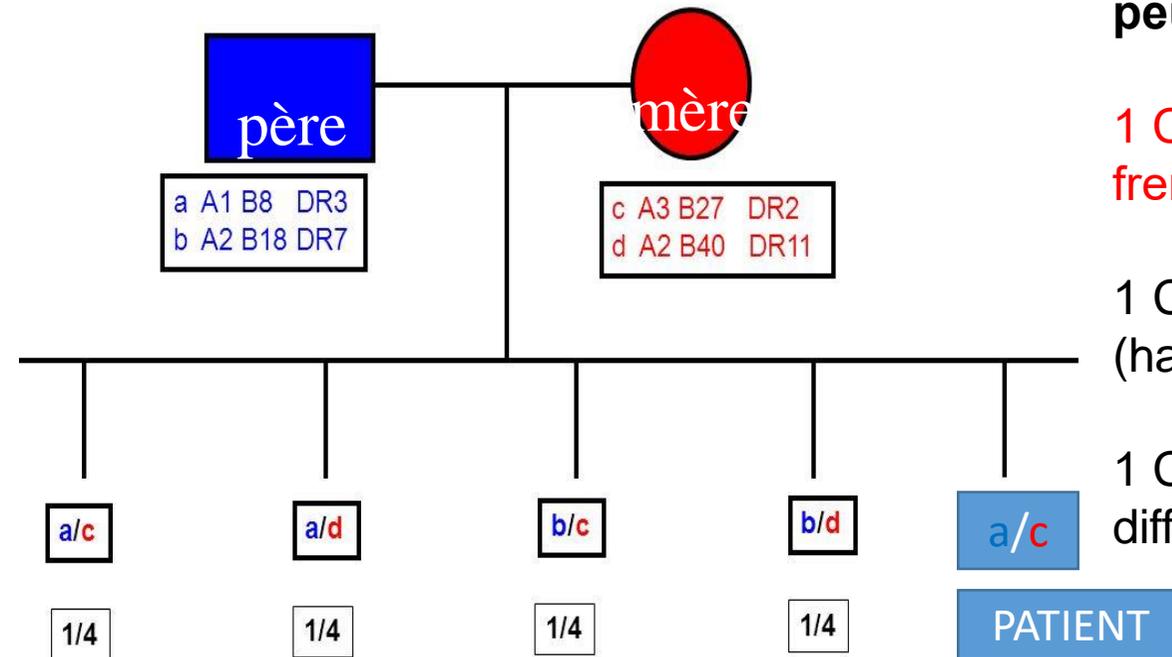
- *le sexe*

- *le statut CMV (cytomégalovirus)*

- *le groupe sanguin ABO*

Un donneur HLA se cherche d'abord dans la fratrie

Transmission des gènes HLA



Un donneur compatible dans la famille ne peut être qu'un frère ou une sœur

1 Chance sur 4 (25%) d'être compatible avec un frère ou une sœur

1 Chance sur 2 (50%) d'être à moitié compatible (haplo-identique)

1 Chance sur 4 (25%) d'être complètement différent

Si un individu a n frères et sœurs, la probabilité qu'il ait au moins l'un d'entre eux HLA identique est de $p=1-0,75^n$.

65

Les chances de trouver un donneur sont globalement de 15 à 30%.

Puis un donneur HLA se cherche dans des fichiers de donneurs internationaux

27 millions de donneurs répertoriés

Les chances de trouver un donneur compatible sont de 30 à 40 %.



QUI PEUT DONNER?

TOUT LE MONDE A CONDITION:

- être en parfaite santé (pas de contre-indications: HTA, diabète, Hépatites, ect)
- depuis 2021: homme <35 ans à l'inscription
- accepter de répondre à un questionnaire de santé et faire une prise de sang.
- les antécédents de transfusion ne sont pas une contre-indication

Si donneur familial: pas de restriction d'âge!

Comment donner?

Le don est un engagement personnel fort! On s'engage pour longtemps!
On doit être disponible a tout moment! On doit y reflechir!

L'inscription se fait sur le registre France Greffe de Moelle
géré par l'Agence de Biomédecine (preinscription sur internet
ou dans les Etablissements Français du Sang (EFS)),

Le don est anonyme et gratuit
(la prise en charge du don est gratuite aussi pour le donneur)

Il faut donner son consentement au tribunal d'instance
quelques semaines avant le don (rétractable a tout moment)

La recherche d'un Donneur Compatible

**Et donc 30/40% de patients sans
donneur HLA compatible**

Si pas de Donneur compatible dans la fratrie ou dans le fichier: Que faire?

Une greffe alternative!

DEUX OPTIONS AUJOURD'HUI:

Greffe de sg placentaire:

depuis 1988 chez les enfants (1 sang placentaire)

a partir de 2004/2005 chez les adultes (2 sangs placentaires)

Greffe haplo-identique

depuis les années 80 mais abandonnée car trop toxique

Renaissance depuis 2014!

Greffe de Sang Placentaire

Avantages:

- Source facilement disponible (banques)
-
- Pas de risque pour le donneur
-
- Système immunitaire néonatal naif:
D'où
- Niveaux de compatibilités HLA moins drastiques:
- GREFFE 4 à 6/6 (HLA A B DR)
Incidence de la GvH plus faible

Désavantages:

- Pauvreté relative en cellules souches
- d'où risque de rejet
-
- Reconstitutions hématologique et immunitaire plus lentes
-
- Plus d'infections post-greffe
-
- Pas de possibilité d'immunothérapie (DLI) post-greffe

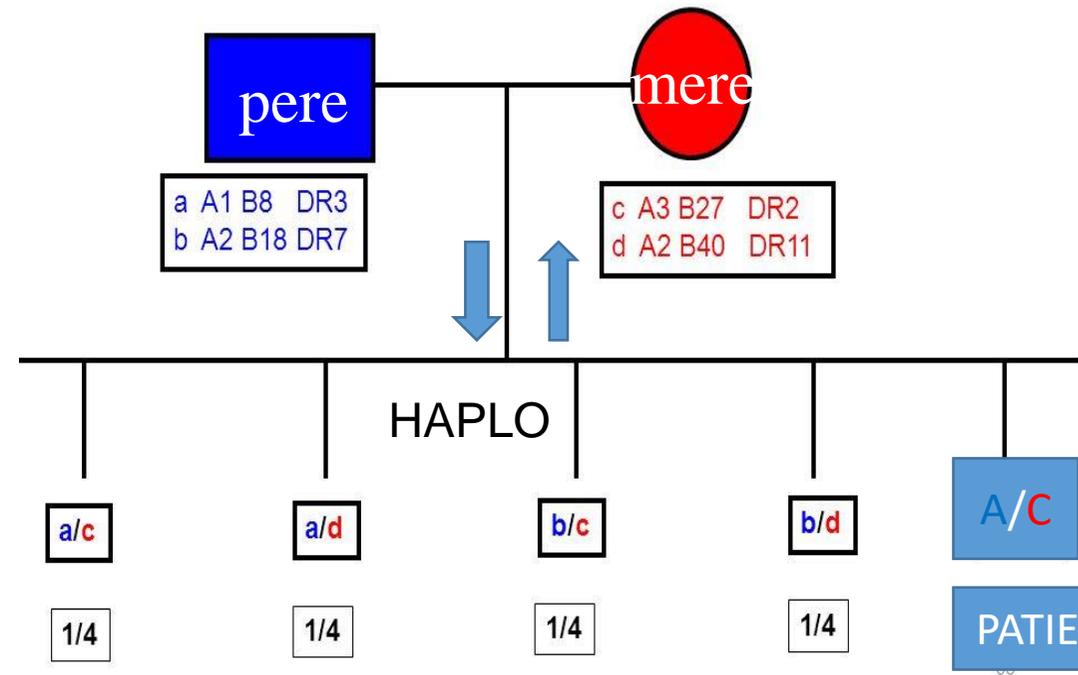
GREFFE HAPLO-IDENTIQUE

Donneurs Haplo-identiques:

c'est un donneur a moitié compatible avec le patient

=parents, enfants, frères et sœurs, éventuellement neveux, nièces, oncles, tantes

Transmission des gènes HLA



Si on considère un patient vis-a vis de ses parents:

~100% d'être à moitié identique avec son père ou sa mère

Si on considère un patient avec ses enfants:

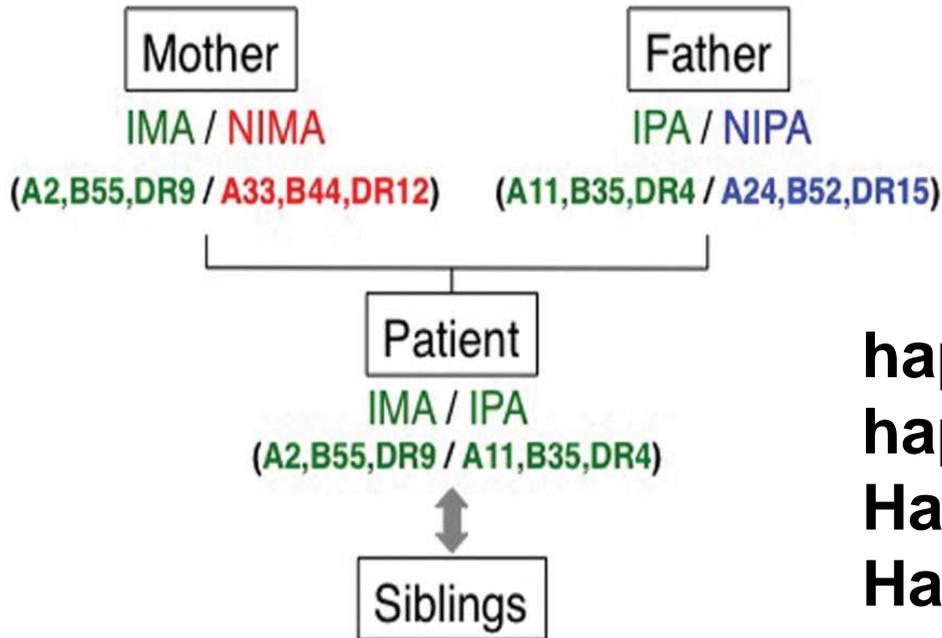
~100% sur d'être à moitié identique avec son fils ou sa fille

Si on considère un patient avec ses frères et sœurs:

1 Chance sur 2 (50%) d'être à moitié compatible (haplo-identique)

Si un individu a n frères et soeurs, la probabilité qu'il ait au moins l'un d'entre eux HLA identique est de $p=1-0,75^n$.

NOTION DE DONNEUR NIMA/NIPA, IMA/IPA DANS LA FRATRIE

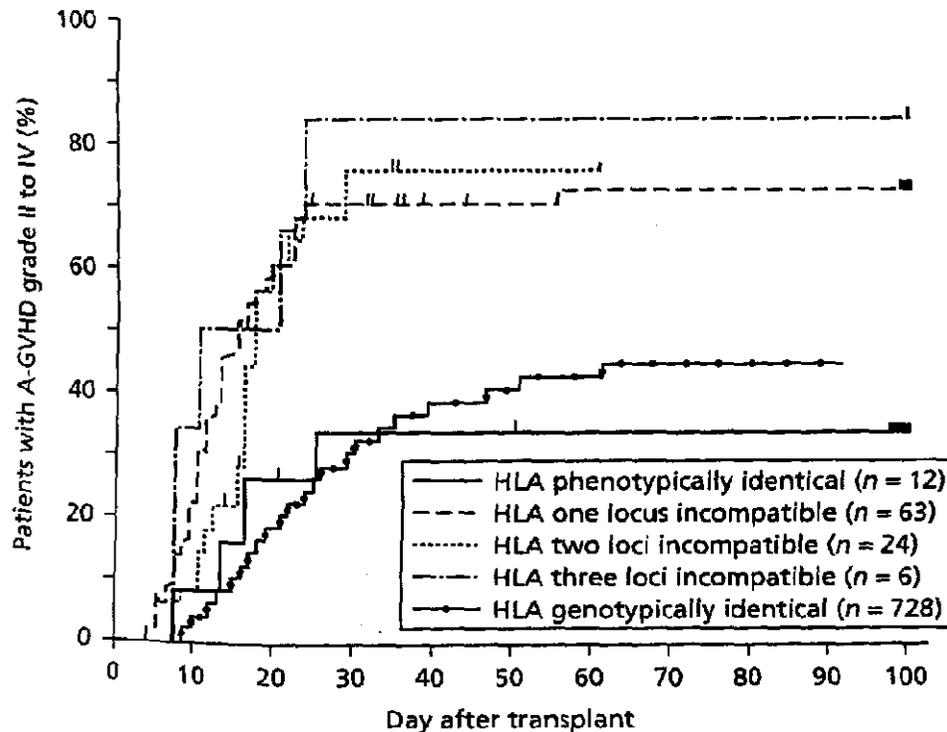


haplotype maternel non hérité (NIMA)
haplotype maternel non hérité (NIMA)
Haplotype maternel hérité (IMA)
Haplotype paternel hérité (IPA)

| Type | HLA compatibility | Donor eligibility |
|-----------|-------------------|-------------------|
| IMA/IPA | HLA-identical | Suitable |
| NIMA/IPA | NIMA-mismatched | ▼ |
| IMA/NIPA | NIPA-mismatched | ▼ |
| NIMA/NIPA | HLA-mismatched | Unsuitable |

Meilleur donneur?

Premières tentatives dans les années 80



ECHEC DE PRISE

REACTION IMMUNE DU
GREFFON CONTRE L'HOTE
(GVH) SEVERE MORTELLE

DEFICIT IMMUNITAIRE
PROLONGE
(infections++)

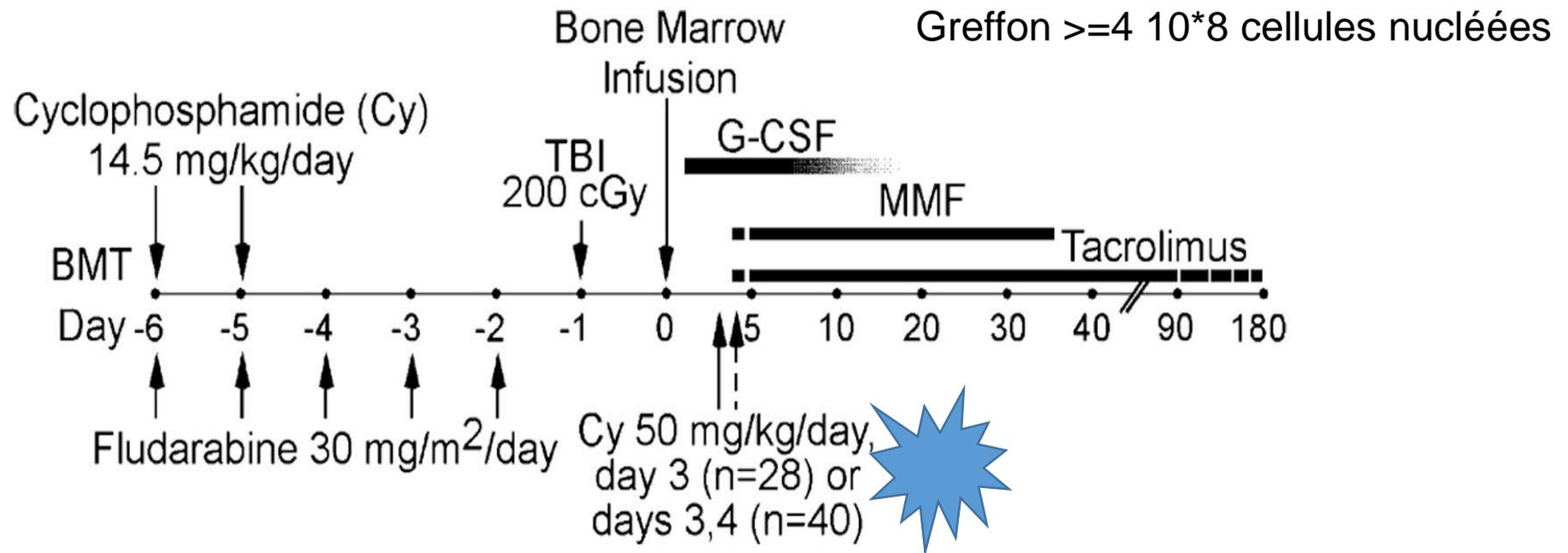
MORTALITE++++

Fig. 50.2 Cumulative probability of grade II-IV acute graft-vs.-host disease (GVHD) after allogeneic bone marrow transplantation (BMT) from a genotypically human leukocyte antigen (HLA) identical sibling or other family members mismatched for 0-3 loci on the nonshared haplotype. (Adapted from [58].)

Beatty, *New Engl J Med* 1985
Anasetti, *New Engl J Med* 1989

Et abandon progressif

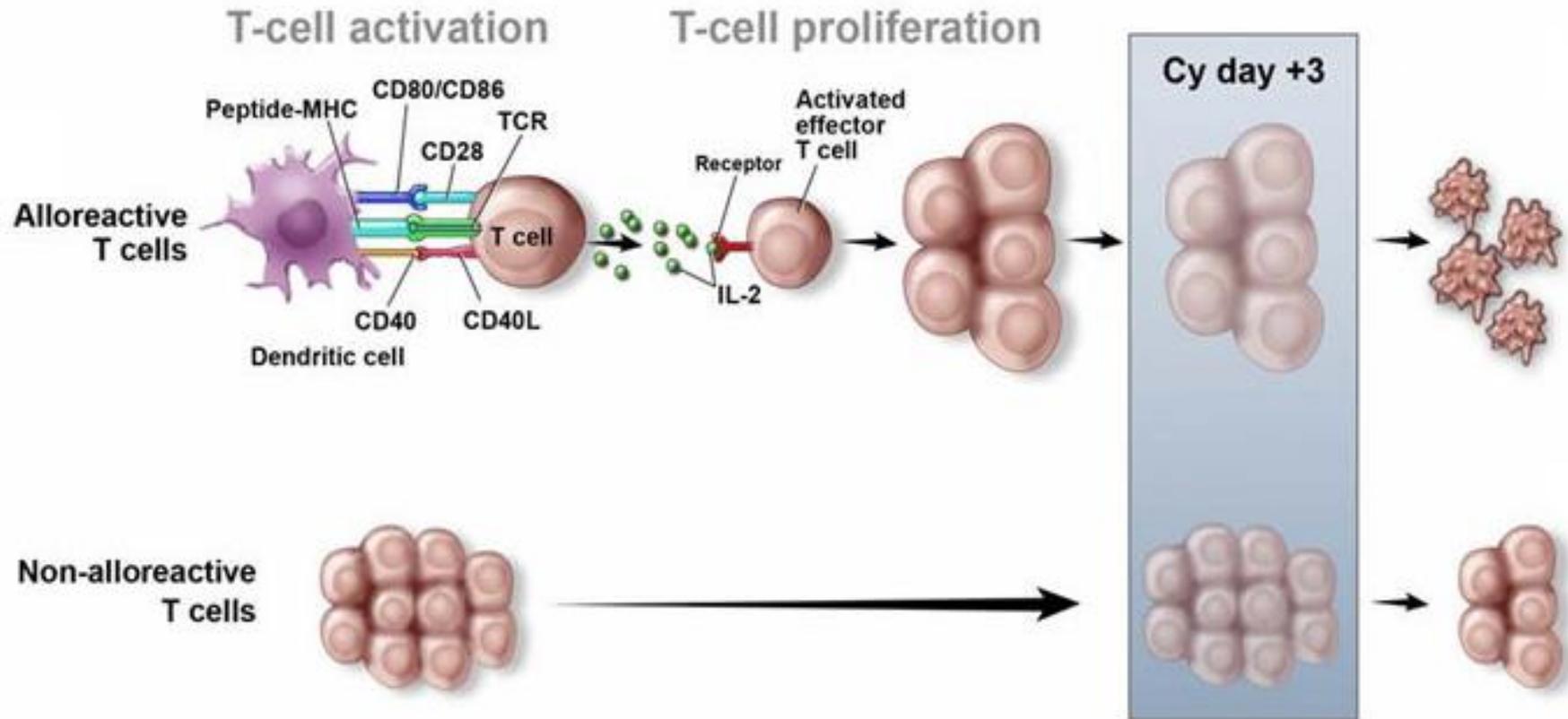
La greffe haplo-identique est de nouveau possible car on fait de la Chimiothérapie après la greffe!



HIGH DOSES of POST-TRANSPLANT
CYCLOPHOSPHAMIDE (Endoxan) (PTCY)

Comment ça marche?

Destruction des Lym T alloréactifs par l'endoxan post-greffe
(cyclophosphamide)



Comment ça marche?

Destruction des Lym T alloréactifs par l'endoxan post-greffe
(cyclophosphamide)

Endoxan= pro-drogue inactive



Principe actif=moutarde phosphoramide (MP,agent alkylant)



Faible taux aldehyde
déhydrogénase IC:
Fort taux de MP



Lymphocytes activés
(alloréactifs)
DESTRUCTION CAR
sensibilité a l'endoxan



Fort taux aldehyde
déhydrogénase IC:
Faible taux de MP



Cellules hématopoïétiques
Epithelium hépatique et intestinal
Tregs
PERSISTANCE CAR cellules
résistantes a l'endoxan

Avantages de la greffe HAPLO-identique

Faisabilité, reproductibilité, faible toxicité

Donneur immédiatement disponible

Quasiment un donneur possible pour chaque patient

Plusieurs donneurs possibles

Faible cout

Avantages de la greffe HAPLO-identique:

Vers une disparition de la barrière HLA?

Les collatéraux: donneur du 2eme degré, neveux, nieces oncles, tantes

ORIGINAL ARTICLE

HLA-haploidentical hematopoietic SCT from collateral related donors without *in vitro* T-cell depletion for hematological malignancies

Y-y Zhang, D-h Liu, K-y Liu, L-p Xu, H Chen, W Han, Y Wang and X-j Huang



Bone Marrow Transplantation (2014) 49, 496–501
© 2014 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 0268-3369/14

www.nature.com/bmt

Table 1. Characteristics of patients and donors

| Characters | Patients (n = 30) | Control (n = 120) | P-value |
|--------------------|----------------------|----------------------|---------|
| Mean age (years) | 28.0 ± 11.9 | 27.8 ± 11.9 | 0.678 |
| Age 0–20, no. (%) | 11 (36.7) | 44 (36.5%) | |
| 21–35, no. (%) | 10 (33.3) | 44 (36.4) | |
| > 35, no. (%) | 9 (30) | 32 (27.1) | |
| Gender, no. (%) | | | 0.322 |
| Male | 16 (53.3) | 75 (62.6) | |
| Female | 14 (46.7) | 45 (37.4) | |
| Diagnosis, no. (%) | | | 0.079 |
| AML | 12 (40) | 30 (24.6) | |
| ALL | 14 (46.7) | 44 (36.9) | |
| CML | 2 (6.67) | 35 (29.5) | |
| MDS | 2 (6.67) | 11 (8.89) | |

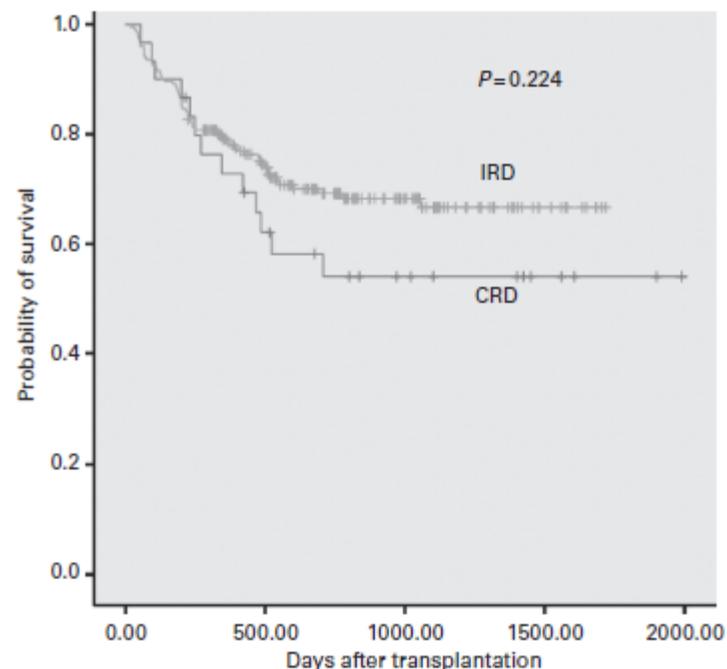


Figure 6. Cumulative incidence of OS after CRD or IRD HLA-haploidentical HSCT.

• 3 greffes avec des neveux a Nantes!

LETTER TO THE EDITOR

Second-degree relative donors for T-replete haploidentical allogeneic stem cell transplantation with high-dose post-transplant cyclophosphamide: toward crossing the major HLA barrier

Bone Marrow Transplantation (2017) 00, 1–2

© 2017 Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature. All rights reserved 0268-3369/17

www.nature.com/bmt

A Garnier¹, T Guillaume¹, P Peterlin¹, MC Béné², Y Le Bris²,
V Dubruille¹, B Mahé¹, T Gastinne¹, C Touzeau¹, N Blin¹,
S Le Gouill¹, P Moreau¹ and P Chevallier¹

¹Department of Hematology, Nantes University Hospital, Nantes,
France and

²Department of Hematology/Biology, Nantes University Hospital,
Nantes, France

E-mail: patrice.chevallier@chu-nantes.fr

Les donneurs haplo non familiaux c'est possible aussi!

Prospective study of nonmyeloablative, HLA-mismatched unrelated BMT with high-dose posttransplantation cyclophosphamide

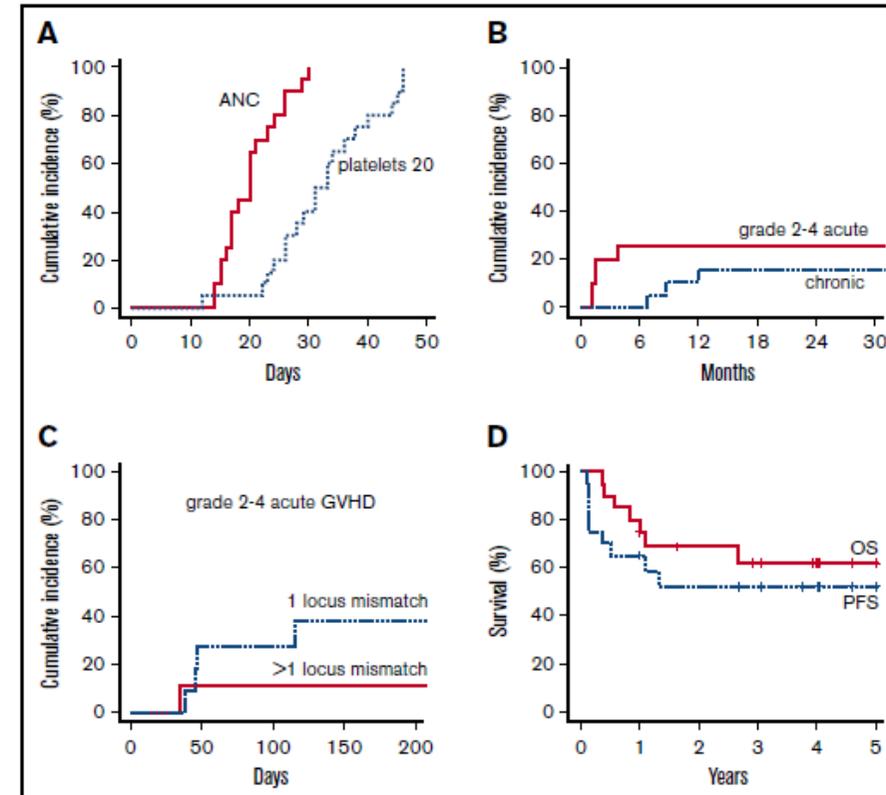
10 JANUARY 2017 • VOLUME 1, NUMBER 4

Yvette L. Kasamon, Richard F. Ambinder, Ephraim J. Fuchs, Marianna Zahurak, Gary L. Rosner, Javier Bolaños-Meade, Mark J. Levis, Douglas E. Gladstone, Carol Ann Huff, Lode J. Swinnen, William H. Matsui, Ivan Borrello, Robert A. Brodsky, Richard J. Jones, and Leo Luznik

Sidney Kimmel Comprehensive Cancer Center at Johns Hopkins, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD

Key Points

- Nonmyeloablative, HLA-mismatched unrelated BMT with high-dose posttransplantation cyclophosphamide carries an acceptable safety profile.
- This platform may expand the donor pool for patients who lack an HLA-matched or -haploidentical donor.



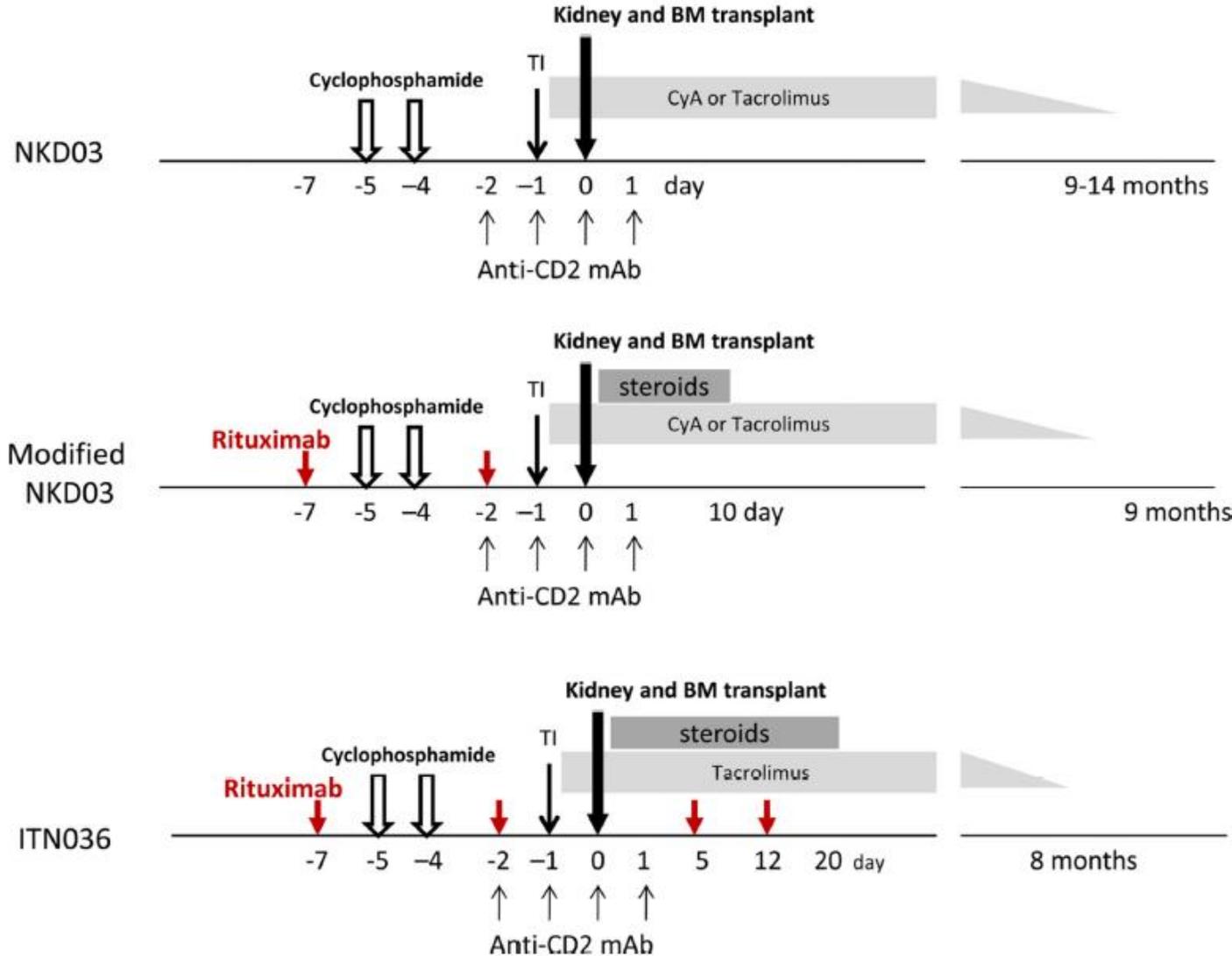
Long-Term Results in Recipients of Combined HLA-Mismatched Kidney and Bone Marrow Transplantation Without Maintenance Immunosuppression

T. Kawai^{1*}, D. H. Sachs², B. Sprangers³, T. R. Spitzer⁴, S. L. Saidman⁵, E. Zorn¹, N. Tolkof Rubin¹, F. Preffer⁵, K. Crisalli¹, B. Gao¹, W. Wong³, H. Morris³, S. A. LoCascio³, P. Sayre⁶, B. Shonts³, W. W. Williams Jr.¹, R.-N. Smith⁵, R. B. Colvin⁵, M. Sykes³, and A. B. Cosimi¹

Am J Transplant. 2014 July ; 14(7): 1599–1611. doi:10.1111/ajt.12731.

¹Transplant Center, Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital, Boston, MA

Les donneurs full mis-match 0/10 c'est possible aussi!



L'allogreffe

- Evolution constante depuis les années 80 et plusieurs révolutions:
- 1980: les immunosuppresseurs (ciclosporine)
- 1988 Greffe de cordons chez les enfants
- 1998: Greffe à conditionnement atténué
- 2004/5: Greffe de cordons chez les adultes
- 2014/5: Greffe haplo-identique