

Les lymphocytes T dans la GVH après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques: implications pour de nouvelles stratégies de prévention

Louise Vrancken^{1*}, Loïc Delens^{2*}, Yves Beguin^{1,2}, Frédéric Baron^{1,2}, Sophie Servais^{1,2}

1. Département de Médecine, Service d'Hématologie, CHU de Liège, ULg

2. Giga-Research, Section Hématologie, Université de Liège

*LV et LD sont co-premiers auteurs

Malgré les stratégies de prévention actuelles, la maladie du greffon contre l'hôte (greffe-versus-hôte, GVH) aiguë (GVHa) reste une complication sévère et fréquente de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Bien que sa physiopathologie ne reste que partiellement élucidée à ce jour, il est classiquement admis que les lymphocytes T (LT) jouent un rôle important dans son processus biologique. Les progrès récents de l'immunologie des LT dans la GVHa ont permis de diversifier les pistes visant à prévenir la survenue de cette complication post-greffe. Plusieurs approches sont en cours d'exploration dans des essais cliniques, avec des résultats encourageants. Outre la prévention de la GVHa, le défi des nouvelles stratégies consiste également à ne pas compromettre l'effet bénéfique de la greffe contre la tumeur ni la reconstitution des défenses anti-infectieuses.

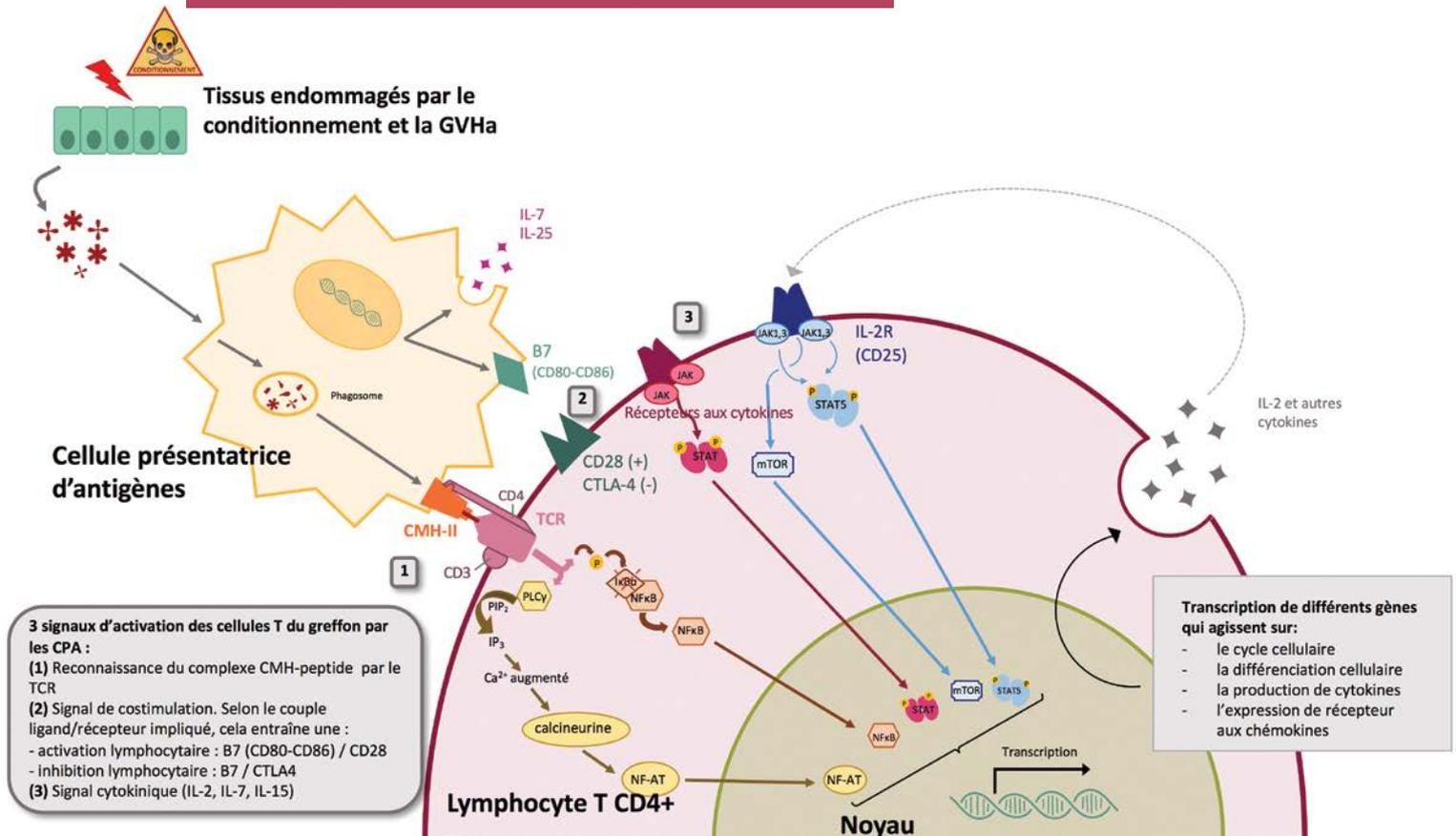
Introduction

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) est un traitement efficace pour un grand nombre de pathologies hématologiques. Cette procédure thérapeutique repose sur 2 étapes essentielles: tout d'abord, le conditionnement pré-greffe qui consiste en l'administration de (radio-)chimiothérapie dans le but d'éradiquer le système hématopoïétique tumoral ou anormal du patient et de fragiliser ses défenses immunitaires afin de favoriser

l'acceptation du greffon; ensuite, l'injection du greffon. Celui-ci contient classiquement non seulement des CSH mais également des cellules immunitaires du donneur qui vont, d'une part, participer à la reconstitution immunitaire dans le décours de la greffe et, d'autre part, être capables de médier des réactions allo-immunes. Celles-ci peuvent être bénéfiques lorsqu'elles sont dirigées contre les cellules hématopoïétiques résiduelles du receveur, participant ainsi à la prise de greffe. En cas de pathologies hématologiques malignes, elles peuvent également se diriger contre les cellules cancéreuses et induire un effet antitumoral favorable dit «de la greffe contre la tumeur». Malheureusement, les cellules immunitaires du donneur réagissent parfois contre des tissus sains du patient et peuvent les léser. Il s'agit d'une complication possible de l'allogreffe de CSH, appelée «maladie du greffon contre l'hôte» (greffe-versus-hôte, GVH).

Il existe deux formes de GVH – la GVH aiguë (GVHa) et la GVH chronique (GVHc) –, qui sont associées à des présentations cliniques spécifiques, en rapport avec des mécanismes physiopathologiques propres (1). Dans cet article, nous nous concentrons sur la GVHa. Cliniquement, elle se caractérise par des lésions inflammatoires touchant essentiellement 3 organes: la peau (rash cutané infiltré érythémateux et prurigineux), les intestins (entérocite exsudative) et le foie (hépatite cholestatique). On lui

Figure 1: Principaux signaux activateurs de la réponse allo-immune des LT.



CMH: complexe majeur d'histocompatibilité; CTLA-4: cytotoxic T lymphocyte antigen 4; GVHa: maladie du greffon contre l'hôte aiguë; IκB: nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor alpha; IL-2: interleukine 2; IL-7: interleukine 7; IL-15: interleukine 15; IL-25: interleukine 25; IP3: inositol triphosphate; JAK: janus kinases; mTOR: mammalian target of rapamycin; NF-AT: nuclear factor of activated T-cells; NF-κB: nuclear factor-kappa B; PIP2: phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate; PLCγ: phospholipase Cγ; STAT: signal transducers and activators of transcription; TCR: T cell receptor; CPA: cellule présentatrice d'antigènes

attribue un grade de I à IV, selon la sévérité de l'atteinte de ces organes (2). La GVHa de grades II-IV est une complication sévère de l'allogreffe de CSH et l'une des principales causes de mortalité précoce post-greffe. Aujourd'hui, elle touche encore environ 40-60% des patients greffés, malgré l'utilisation systématique d'une prophylaxie par traitements immunosuppresseurs. Ceci souligne l'importance de mieux comprendre la physiopathologie de ce syndrome et la nécessité de développer de nouvelles stratégies de prévention plus efficaces.

Les lymphocytes T (LT) semblent jouer un rôle important dans la GVHa. Au cours des dernières années, les connaissances en immunobiologie se sont considérablement précisées et ont permis d'identifier différentes sous-populations de LT et de mieux comprendre les mécanismes qui régissent leur activation, leur prolifération, leur différenciation, leurs fonctions et leur circulation. Dans cette revue, nous présentons un bref aperçu des stratégies de prévention de la GVHa actuellement utilisées en pratique quotidienne ainsi que quelques nouvelles approches en cours d'exploration dans des études cliniques, en orientant notre regard plus spécifiquement sur leur mode d'action sur les LT.

Physiopathologie de la GVHa

La physiopathologie de la GVHa n'est que partiellement élucidée à ce jour. Il s'agit d'un processus complexe impliquant de nombreuses populations de cellules immunitaires (3). Parmi celles-ci, les LT du donneur semblent jouer un rôle primordial, comme en témoigne l'efficacité de la déplétion des LT du greffon pour diminuer l'incidence de la GVHa (4). Tant les LT cytotoxiques CD8+ que les LT auxiliaires CD4+ semblent être impliqués.

Il est communément admis que la GVHa résulte de la détection d'allo-antigènes par les LT du donneur. Plusieurs allo-antigènes ont été identifiés, dont les plus critiques pour le déclenchement de la GVHa sont les disparités entre le donneur et le receveur pour les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH, désigné chez l'homme par l'appellation «HLA» pour *human leukocyte antigen*). Cependant, des antigènes polymorphiques mineurs peuvent aussi constituer des déterminants immunogéniques de l'activation T. Classiquement, 3 signaux sont nécessaires à l'activation et à l'entretien d'une réponse T:

- l'activation du récepteur T (TCR) par le complexe formé par le peptide antigénique et le CMH;

- des signaux de costimulation positifs;
- des signaux cytokiniques tels que ceux induits par l'interleukine (IL-)2, l'IL-7 et l'IL-15, indispensables à la prolifération des LT activés (**Figure 1**).

La stimulation du TCR entraîne l'activation de différentes voies de transduction du signal. La première est la voie des calcineurines, qui conduit à la translocation nucléaire du facteur de transcription NFAT (*nuclear factor of activated T cell*) menant à l'expression de différents gènes impliqués dans la prolifération cellulaire, dont le gène de l'IL-2. Un autre facteur de transcription qui est également activé par la stimulation du TCR est NF- κ B (*nuclear factor-kappa B*). L'activation du TCR résulte en la dégradation par le protéasome de son inhibiteur cytosolique I κ B α et autorise ainsi la translocation de NF- κ B vers le noyau où il induit, entre autres, l'expression des gènes de l'IL-2, de son récepteur et de molécules de costimulation.

Dans la plupart des cas, la stimulation du TCR en l'absence de signaux de costimulation positifs (deuxième signal) conduit à l'anergie du LT. Plusieurs couples ligand-récepteur de costimulation ont été identifiés. Parmi ceux-ci, l'un des plus étudiés concerne l'interaction entre le CD28 exprimé à la surface du LT CD4+ avec les molécules B7 (CD86 ou CD80) exprimées par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Il existe également des molécules de costimulation négatives à la surface des LT, comme CTLA4 (*cytotoxic T lymphocyte antigen 4*), qui est également activé par les molécules B7.

Enfin, le troisième signal d'activation des LT est apporté par les cytokines. Certaines sont produites par les LT eux-même (par ex. l'IL-2) ou par d'autres cellules, telles que les CPA ou les cellules des tissus lésés. L'IL-2 est l'une des principales cytokines impliquées dans la prolifération et la survie des LT. La fixation à son récepteur à la surface des LT conventionnels active diverses voies de signalisation qui régulent le cycle cellulaire, dont la voie de mTOR (*mammalian target of rapamycin*) et certaines voies JAK (janus kinases)/ STAT (*signal transducers and activators of transcription*) (plus précisément JAK1/STAT5 et JAK3/ STAT5). Les voies JAK/ STAT interviennent également dans la différenciation des LT.

Au cours des dernières années, on a montré que les LT pouvaient exprimer des phénotypes différents (dont les plus connues sont les LT de types 1, 2 et 17), notamment sous l'influence de certaines cytokines (telles que l'IL-1, l'IL-4 et l'IL-6, respectivement). En ce qui concerne la GVHa, des données récentes suggèrent que ces différentes sous-populations de LT pourraient être impliquées dans l'atteinte d'organes spécifiques. Ainsi, les LT de type 1 seraient préférentiellement impliqués dans la GVHa gastro-

intestinale, les LT de type 2 dans la GVHa cutanée et hépatique et les LT de type 17 dans la GVHa cutanée et certaines atteintes pulmonaires (5). Ceci pourrait être en rapport avec un profil d'expression de récepteurs aux chémokines différent entre ces sous-populations (guidant les sous-types de LT vers des organes cibles spécifiques) et/ou à une sensibilité différente des tissus cibles aux cytokines produites par ces sous-populations de LT.

L'activation des LT auxiliaires initie et coordonne l'intervention de différents effecteurs cellulaires (tels que les LT cytotoxiques, les *natural killers*, les polynucléaires neutrophiles, ...) au niveau tissulaire, capables de détruire les cellules cibles (tissus sains de l'hôte lors de la GVHa). Enfin, les cellules immunitaires activées et les tissus lésés libèrent à leur tour différentes molécules et cytokines qui vont entretenir et amplifier ces réponses immunitaires.

Outre les LT conventionnels, il existe également une population de LT CD4+ spécialisée dans la tolérance immunitaire et capable d'atténuer les réactions immunitaires destructrices. Il s'agit des LT régulateurs (Treg). Des études expérimentales menées chez la souris ont montré que la perfusion de hautes doses de Treg prévenait le développement d'une GVH (6). Ces observations sont en cours de vérification clinique mais les résultats préliminaires tendent à montrer une diminution de l'incidence de GVHa par rapport aux taux observés habituellement dans certains types de greffe comme les greffes HLA-haplo-identiques ou les allogreffes de sang de cordon ombilical (7, 8).

Stratégies de prévention de la GVHa après allogreffe de CSH ciblant les LT

Sur base des notions d'immunobiologie résumées ci-dessus, il existe conceptuellement 3 pistes de prévention de la GVHa ciblant les LT:

- la déplétion;
- l'inhibition fonctionnelle des LT conventionnels alloréactifs;
- la promotion des Treg (**Figure 2**).

Les approches standard ainsi que les nouvelles stratégies de prévention ciblent un ou plusieurs de ces axes (**Tableau 1**).

Signalons cependant que plusieurs d'entre elles peuvent également avoir un impact sur d'autres populations cellulaires (par exemple sur les cellules de l'immunité innée, sur les lymphocytes B, ...). Comme signalé ci-dessus, nous nous concentrerons uniquement sur leur(s) action(s) sur les LT dans le cadre de cette revue.

Tableau 1: Approches standard et nouvelles stratégies de prévention de la GVHa: principaux mécanismes ciblés au sein des LT.

	Déplétion des LT	Prolifération des LT	Activation des LT	Migration des LT	Promotion des Treg
Stratégies standard	SAL	Méthotrexate	Ciclosporine/ tacrolimus (signal 1: TCR)		SAL
	Alemtuzumab	Mycophénolate mofétil			
	Déplétion <i>ex vivo</i> (par ex. sélection CD34)				
Nouvelles approches (niveau d'évidence clinique)	Gènes suicide [phase I-II (15)]	Cyclophosphamide post-greffe [phase II (16)]	Inhibiteurs du protéasome, par ex. bortézomib (signal 1: TCR) [phase II, (18)]	Antagonistes du CCR5, par ex. maraviroc [phase I-II, (24)]	Perfusion de Treg [phase I-II (7, 8)]
			CTLA-4-Ig, par ex. abatacept (signal 2: costimulation) [phase II (19)]		Faibles doses d'IL-2 [phase I (28)]
			Inhibiteurs de mTOR, par ex. sirolimus (signal 3: cytokines) [phase III (21)]		
			Inhibiteurs de JAK/STAT, par ex. ruxolitinib (signal 3: cytokines) [préclinique (22, 33)]		
		← ?*	← ?*	← ?*	Agents déméthylants, par ex. 5-azacitidine et décitabine [phase I-II (30)]
		← ?*	← ?*	← ?*	Inhibiteurs d'HDAC, par ex. vorinostat [phase I-II (32)]

HDAC: histone désacétylase; LT: lymphocytes T; SAL: sérum anti-lymphocytaire; Treg: lymphocytes T régulateurs

* Flèches: de par leur action pléiotrope, il est possible que les modulateurs épigénétiques, tels que les agents déméthylants et les inhibiteurs d'HDAC, agissent sur plusieurs mécanismes en plus de la promotion des Treg

Prophylaxies standard de la GVHa

Les approches actuelles de prévention de la GVHa combinent classiquement une stratégie visant à bloquer la prolifération des LT conventionnels par l'utilisation d'un anti-métabolite (le méthotrexate – un inhibiteur de la synthèse des folates – ou le mycophénolate mofétil, un inhibiteur de la biosynthèse des purines) et d'un agent bloquant le signal 1 de l'activation lymphocytaire (un inhibiteur de la calcineurine: la ciclosporine A ou le tacrolimus). Le choix des molécules employées dans chaque classe s'effectue selon différents paramètres, dont l'intensité du conditionnement, la source de CSH et les habitudes propres à chaque centre.

De plus en plus, en particulier dans les situations où le donneur de CSH n'est pas un donneur familial HLA-identique, s'y ajoute une déplétion *in vivo* des LT via le recours au sérum anti-lymphocytaire (SAL, ou *anti-T cell globulin*) ou à l'alemtuzumab. Le SAL est une préparation d'immunoglobulines G polyclonales isolées à partir de sérum d'animaux (lapins ou chevaux, essentiellement) immunisée avec des LT humains (thymocytes humains ou lignée de LT Jurkat). Administré au patient quelques jours avant la greffe, il induit la déplétion *in vivo* des LT conventionnels du donneur infusés avec le greffon via différents mécanismes de mort cellulaire (lyse médiée par le complément et activation de l'apoptose). Il exercerait

également d'autres effets avantageux sur d'autres populations cellulaires, comme la promotion de la génération de Treg (9). Son efficacité dans la prévention de la GVH après allogreffe de CSH, en particulier avec un conditionnement myéloablateur, a été démontrée dans plusieurs larges études cliniques de phase III (10-12).

L'alemtuzumab est un anticorps monoclonal humanisé anti-CD52, un antigène exprimé par les lymphocytes (LT et lymphocytes B). Plusieurs études ont démontré son efficacité dans la prévention de la GVH, notamment après greffe avec un conditionnement réduit (13). Basées sur le même concept, des stratégies de déplétion *ex vivo* du greffon en LT (par ex. par la sélection positive des cellules souches CD34+ du greffon) ont également été explorées, en particulier dans le cadre d'une greffe avec un donneur HLA-haplo-identique (c'est-à-dire n'ayant qu'un seul des deux haplotypes HLA identique avec le receveur) (4).

Nouvelles stratégies de prévention de la GVHa ciblant les LT

Une présentation exhaustive de l'ensemble des stratégies de prévention de la GVHa en cours de développement est évidemment illusoire. Ne sont citées dans cet article que celles qui nous paraissent les plus prometteuses (opinion personnelle des auteurs).

Déplétion des LT du donneur uniquement en cas de survenue de GVH: expression de «gènes suicide»

Les stratégies de déplétion *ex vivo* ou *in vivo* du greffon en LT citées ci-dessus induisent une déplétion globale et profonde des LT du donneur. Outre leur impact préventif sur la survenue de la GVHa, elles réduisent le pool de LT du donneur pouvant théoriquement aussi participer aux effets de la greffe contre la tumeur, de la greffe contre l'hématopoïèse de l'hôte (prise de greffe) et aux défenses anti-infectieuses après la greffe (bien que l'impact clinique réel de ces approches sur le risque de rechute, de rejet et de complications infectieuses reste controversé dans la littérature actuelle). Ainsi, plusieurs groupes se sont penchés sur l'élaboration de stratégies visant à éliminer les LT du donneur uniquement en cas de survenue de GVHa chez le patient. L'une d'entre elles consiste à modifier génétiquement les LT du greffon avant de les transplanter au receveur afin d'induire l'expression de molécules spécifiques, les rendant alors sensibles à l'action de médicaments ciblés (expression de «gènes suicide»). La stratégie pionnière dans ce domaine consiste en l'induction de l'expression de la thymidine kinase du virus *Herpes simplex* de type 1 (HSV1-TK). De cette façon, si le patient développe une GVHa, il devient possible de détruire sélectivement les LT du donneur exprimant le HSV1-TK par l'administration de ganciclovir et ainsi de contrôler la GVHa (14).

Stratégies ciblant les LT en prolifération

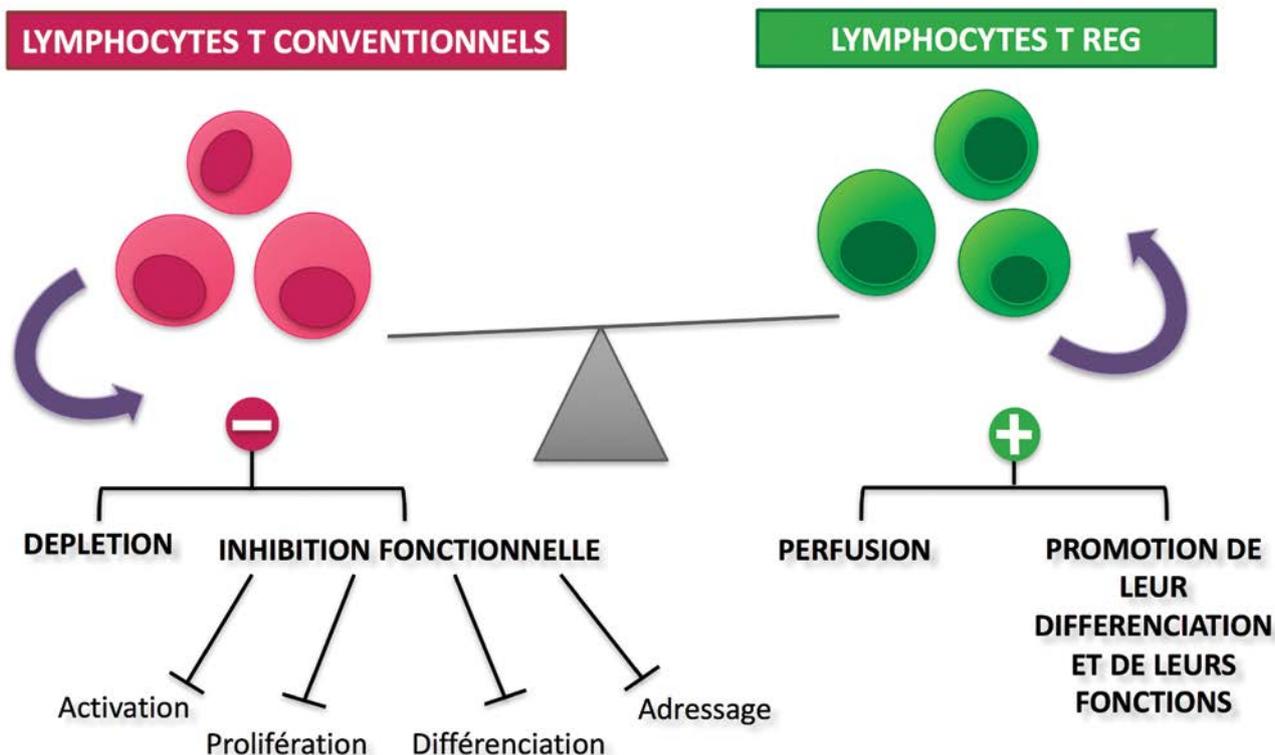
Des méthodes plus sélectives de déplétion des LT du donneur «proliférant» rapidement après la greffe, dans le but d'éliminer les clones alloréactifs «anti-receveur» tout en conservant les LT mémoire participant au transfert de l'immunité anti-infectieuse, sont en cours d'exploration. Parmi celles-ci, l'administration de bolus de cyclophosphamide à hautes doses quelques jours après la greffe (J+3 +/- J+4) s'avère très prometteuse (15). Le cyclophosphamide est un agent alkylant qui élimine spécifiquement les cellules proliférant activement. Cette méthode a l'avantage d'épargner les cellules T au repos (tels que les LT mémoire anti-agents infectieux qui, théoriquement, ne sont pas activés au cours des premiers jours après la greffe en l'absence d'infection active) mais semble aussi préserver les Treg, qui sont plus résistants que les LT conventionnels à son action (16). Cette stratégie est actuellement essentiellement utilisée dans le contexte de greffes de moelle avec un donneur HLA-haplo-identique, avec des résultats très encourageants. Une étude randomisée de phase III à trois bras est en cours, comparant le cyclophosphamide post-greffe à la combinaison standard méthotrexate/ tacrolimus et à la déplétion *ex vivo* du greffon par sélection CD34+ dans le cadre de greffes myéloablatives avec un donneur HLA-identique (ClinicalTrials.gov#NCT02345850).

Stratégies ciblant l'activation des LT

Diverses stratégies sont en cours d'exploration, ciblant les signaux et les voies de transduction impliqués dans l'activation des LT: inhibition des voies de signalisation dépendantes du TCR (signal 1), inhibition des signaux de costimulation positifs (signal 2) et inhibition des voies de transduction du signal induites par les cytokines (signal 3).

Le blocage de la voie d'activation du TCR dépendant de la calcineurine avec la ciclosporine ou le tacrolimus est l'une des stratégies utilisées dans les approches standard de prophylaxie de la GVHa. Comme signalé ci-dessus, la transduction du signal en aval de l'activation du TCR peut également impliquer la voie de NF- κ B. Les inhibiteurs du protéasome, tels que le bortézomib, bloquent cette voie en empêchant la dégradation du facteur inhibiteur de NF- κ B, I κ B α . De plus, en inhibant la dégradation d'autres protéines intracellulaires, les inhibiteurs du protéasome peuvent également interférer avec la migration des LT, la sécrétion de cytokines et la différenciation des Treg. Des études cliniques évaluant l'administration de bortézomib quelques jours après la greffe (aux jours +1, +4 et +7) en complément des schémas standard par méthotrexate et tacrolimus ont rapporté des résultats encourageants dans la prévention de la GVHa (17).

Figure 2: Pistes théoriques pour les stratégies de prévention de la GVHa ciblant les LT.



Comme décrit ci-dessus, la costimulation est une étape indispensable à l'engagement et à la pérennisation de toute réponse T. L'abatacept est une protéine recombinante, composée du domaine extracellulaire de CTLA-4 lié à la fraction Fc d'immunoglobuline humaine G1 (IgG1). CTLA-4 lie les protéines B7 (CD80 et CD86) présentes à la surface des cellules présentatrices d'antigènes, les rendant indisponibles aux interactions avec le CD28 des LT. Un essai clinique a été réalisé évaluant l'ajout de l'abatacept à la prophylaxie standard par ciclosporine et méthotrexate sur 10 patients greffés à partir de donneurs non apparentés (18). Deux seulement ont développé une GVHa de stades II-IV.

Enfin, d'autres stratégies tentent de bloquer l'activation des LT en ciblant le signal 3, c'est-à-dire les voies de transduction du signal induites par les cytokines. Parmi celles-ci, l'IL-2, indispensable à l'homéostasie des LT, est une cible intéressante. L'inhibition de son action par l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre son récepteur (le basiliximab et le daclizumab) a été explorée dans plusieurs études cliniques. Malheureusement, dans une étude de phase III, il est apparu que cette approche était associée à une augmentation de la mortalité liée à la GVH (19), probablement suite à un impact négatif sur les Treg. Parmi les voies de transduction

du signal en aval du récepteur à l'IL-2, l'inhibition de la voie de mTOR comme stratégie d'inhibition sélective de la prolifération des LT conventionnels et non des Treg (qui dépendent de STAT5 pour la signalisation IL-2-médiée) est en cours d'exploration depuis plusieurs années. La molécule inhibitrice de mTOR la plus étudiée et la plus utilisée en pratique clinique est le sirolimus. Récemment, une large étude randomisée de phase III a comparé l'immunosuppression post-greffe par tacrolimus/sirolimus avec la prophylaxie standard par tacrolimus/méthotrexate dans le contexte des greffes avec conditionnement myéloablateur par irradiation corporelle totale à fortes doses. Cette étude a rapporté une incidence de GVHa semblable entre les deux conditions et une meilleure tolérance en termes de prise de greffe et de toxicité muqueuse avec la combinaison tacrolimus/sirolimus (20). Signalons cependant que le recours au sirolimus après greffe avec un conditionnement par busulfan à hautes doses est peu recommandé, en raison d'un risque majoré de syndrome d'obstruction sinusoidale hépatique. L'immunosuppression post-greffe par sirolimus associé à un inhibiteur de calcineurine est actuellement en cours d'exploration dans le cadre des greffes avec conditionnements réduits (ClinicalTrials.gov#NCT01428973). Le blocage des voies JAK/STAT est également une approche émergente dans la prévention de la

GVHa. Le ruxolitinib (un inhibiteur de JAK1/2) est actuellement en cours d'exploration dans des études cliniques pour cette indication (ClinicalTrials.gov#NCT02528877). Des résultats encourageants ont effectivement été rapportés dans des études précliniques (21) ainsi que comme traitement de la GVHa cortico-réfractaire chez l'homme (22). Au niveau cellulaire, le ruxolitinib aurait pour effet de bloquer la réponse Th1 et Th17, et d'augmenter les Treg.

Stratégies ciblant la migration des LT

Les LT différenciés expriment à leur surface des récepteurs aux chémokines qui leur permettent de migrer vers les organes lymphoïdes secondaires et vers les organes cibles périphériques. Le récepteur à C-C chimiokine de type 5 (CCR5) semble être impliqué dans la migration vers les ganglions lymphatiques et le tractus digestif. Récemment, l'addition d'un antagoniste du CCR5 (le maraviroc) à la prophylaxie standard de la GVH par tacrolimus et méthotrexate a été étudiée dans une étude de phase I-II et a montré une faible incidence de GVHa (23).

Promotion des Treg

Comme signalé ci-dessus, des études expérimentales menées chez la souris ont démontré que la perfusion de hautes doses de Treg pouvait prévenir le développement de la GVH (6). En accord avec ces observations précliniques, des essais pilotes de phases I-II ont également rapporté des résultats encourageants (7, 8). Les principaux facteurs limitants de ces approches résident cependant dans les techniques d'isolation et d'expansion *ex vivo* des Treg et du maintien de leur phénotype et de leurs fonctions immunosuppressives après transfert chez les patients. Des stratégies visant à promouvoir la différenciation des Treg *in vivo* sont également en cours d'étude. Tenant compte du rôle de l'IL-2 sur l'homéostasie des Treg, des chercheurs ont évalué les effets de l'administration de très faibles doses d'IL-2 recombinante après la greffe. Cette approche s'est avérée être bien tolérée et associée à une augmentation des Treg et à une incidence faible de GVHa (24).

Modulation de l'expression génique des LT

Comme pour toute cellule, les fonctions des LT sont dictées par l'expression de gènes spécifiques, et cette expression peut être modulée par différents mécanismes épigénétiques, tels que la méthylation de l'ADN (qui, au niveau des promoteurs, induit la «mise sous silence» du gène) ou des modifications des histones liant l'ADN (par ex. l'acétylation des histones qui induit la «condensation de l'ADN» en chromatine et rend les gènes inaccessibles à la transcription). Différentes molécules interférant avec ces mécanismes sont en cours d'évaluation dans la prévention de la GVHa.

Plusieurs groupes d'investigateurs se sont penchés sur l'impact d'agents déméthylants, tels que la 5-azacitidine ou la 5-aza-2'-déoxycytidine (décitabine), sur les réactions immunitaires impliquées dans la GVHa dans des modèles murins. Ils ont démontré que ces agents étaient capables de bloquer la prolifération des LT conventionnels tout en induisant celle des Treg (via la déméthylation du promoteur du gène du facteur de transcription des Treg, FoxP3) (25). Récemment, il a été rapporté que l'administration de faibles doses de 5-azacitidine après la greffe augmentait également le nombre des Treg chez les patients et était associée à une faible incidence de GVHa (26). Ces résultats préliminaires supportent l'intérêt de poursuivre l'exploration de cette stratégie de prévention dans de plus larges études cliniques prospectives (#NCT01747499, #NCT02458235, #NCT01541280, #NCT01835587, #NCT02017457, #NCT01758367).

D'autres groupes ont évalué les effets des inhibiteurs des histones désacétylases (HDAC). Ces agents maintiennent les histones hyperacétylées, altérant ainsi l'accessibilité de l'ADN et le profil d'expression génique des cellules. Au cours des dernières années, les inhibiteurs d'HDAC ont bénéficié d'une attention particulière dans le domaine de l'oncologie. Des données récentes suggèrent qu'ils pourraient également avoir des effets immunorégulateurs et anti-inflammatoires, notamment en favorisant les fonctions des Treg et en modulant l'activité de CPA (27). Citons le SAHA (vorinostat), pour lequel un effet significatif sur la prévention de la GVH a été observé dans des modèles expérimentaux précliniques (27). Une faible incidence de GVHa a également été rapportée dans une étude clinique de phase I-II évaluant l'addition de vorinostat (du J-10 au J+100 post-greffe) à la prophylaxie par tacrolimus et mycophénolate mofétil (28). D'autres études cliniques sont également en cours (ClinicalTrials.gov#NCT01789255, NCT01790568).

Conclusion et perspectives

Les progrès dans la compréhension de la physiopathologie de la GVHa, notamment en ce qui concerne les LT, ont permis de diversifier les stratégies possibles de prévention. Plusieurs de celles-ci sont en cours d'exploration dans des études cliniques, le plus souvent en association avec les schémas de prophylaxie standard, et semblent associées à des résultats encourageants. En théorie, il serait légitime de penser que la combinaison de plusieurs de ces stratégies, visant chacune des cibles et des mécanismes différents au sein des LT, permettrait d'obtenir un contrôle optimal de la GVHa. Cependant, la suppression complète de l'alloréactivité T n'est pas souhaitable car cela risquerait de compromettre les effets bénéfiques de la greffe contre la tumeur, la prise de greffe et la reconstitution immunitaire post-transplantation. À l'avenir,

on pourrait imaginer que le choix de stratégies spécifiques ou de combinaisons particulières de plusieurs d'entre elles pourrait être dicté par le profil de risque de chaque patient. Ainsi, le développement d'algorithmes permettant de pondérer le risque de GVHa, de rechute et de complications infectieuses permettrait également d'optimiser les approches de prévention de la GVHa.

Références

- Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease. *BBMT*. 2015.
- Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant* 1995;15(6):825-8.
- Servais S, Beguin Y, Delens L, et al. Novel approaches for preventing acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 2016;25:957-72.
- Aversa F, Tabilio A, Velardi A, et al. Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N Engl J Med* 1998;339(17):1186-93.
- Bruggen MC, Klein I, Greinix H, et al. Diverse T-cell responses characterize the different manifestations of cutaneous graft-versus-host disease. *Blood* 2014;123(2):290-9.
- Hannon M, Lechanteur C, Lucas S, et al. Infusion of clinical-grade enriched regulatory T cells delays experimental xenogeneic graft-versus-host disease. *Transfusion* 2014;54(2):353-63.
- Brunstein CG, Miller JS, Cao Q, et al. Infusion of ex vivo expanded T regulatory cells in adults transplanted with umbilical cord blood: safety profile and detection kinetics. *Blood* 2011;117(3):1061-70.
- Martelli MF, Di Ianni M, Ruggeri L, et al. HLA-haploidentical transplantation with regulatory and conventional T cell adoptive immunotherapy prevents acute leukemia relapse. *Blood* 2014;124:638-44.
- Mohy M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia* 2017;1387-94.
- Kroger N, Solano C, Wolschke C, et al. Antilymphocyte globulin for prevention of chronic graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 2016;374(1):43-53.
- Socie G, Schmoor C, Bethge WA, et al. Chronic graft-versus-host disease: long-term results from a randomized trial on graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin ATG-Fresenius. *Blood* 2011;117(23):6375-82.

- Walker I, Panzarella T, Couban S, et al. Pretreatment with anti-thymocyte globulin versus no anti-thymocyte globulin in patients with haematological malignancies undergoing haemopoietic cell transplantation from unrelated donors: a randomised, controlled, open-label, phase 3, multicentre trial. *Lancet Oncol* 2016;17(2):164-73.
- Kottaridis PD, Milligan DW, Chopra R, et al. In vivo CAMPATH-1H prevents graft-versus-host disease following nonmyeloablative stem cell transplantation. *Blood* 2000;96(7):2419-25.
- Ciceri F, Bonini C, Stanghellini MT, et al. Infusion of suicide-gene-engineered donor lymphocytes after family haploidentical haemopoietic stem-cell transplantation for leukaemia (the TK007 trial): a non-randomised phase I-II study. *Lancet Oncol* 2009;10(5):489-500.
- Luznik L, Bolanos-Meade J, Zahurak M, et al. High-dose cyclophosphamide as single-agent, short-course prophylaxis of graft-versus-host disease. *Blood* 2010;115(16):3224-30.
- Kanakry CG, Ganguly S, Zahurak M, et al. Aldehyde dehydrogenase expression drives human regulatory T cell resistance to posttransplantation cyclophosphamide. *Sci Transl Med* 2013;5(211):211ra157.
- Koreth J, Stevenson KE, Kim HT, et al. Bortezomib-based graft-versus-host disease prophylaxis in HLA-mismatched unrelated donor transplantation. *J Clin Oncol* 2012;30(26):3202-8.
- Koura DT, Horan JT, Langston AA, et al. In vivo T cell costimulation blockade with abatacept for acute graft-versus-host disease prevention: a first-in-disease trial. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19(11):1638-49.
- Lee SJ, Zahrieh D, Agura E, et al. Effect of up-front daclizumab when combined with steroids for the treatment of acute graft-versus-host disease: results of a randomized trial. *Blood* 2004;104(5):1559-64.
- Cutler C, Logan B, Nakamura R, et al. Tacrolimus/sirolimus vs tacrolimus/methotrexate as GVHD prophylaxis after matched, related donor allogeneic HCT. *Blood* 2014;124(8):1372-7.
- Spoerl S, Mathew NR, Bscheider M, et al. Activity of therapeutic JAK 1/2 blockade in graft-versus-host disease. *Blood* 2014;123(24):3832-42.
- Zeiser R, Burchert A, Lengerke C, et al. Ruxolitinib in corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: a multicenter survey. *Leukemia* 2015;29(10):2062-8.
- Reshef R, Luger SM, Hexner EO, et al. Blockade of lymphocyte chemotaxis in visceral graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 2012;367(2):135-45.
- Kennedy-Nasser AA, Ku S, Castillo-Caro P, et al. Ultra low-dose IL-2 for GVHD prophylaxis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation mediates expansion of regulatory T cells without diminishing antiviral and antileukemic activity. *Clin Cancer Res* 2014;20(8):2215-25.
- Sanchez-Abarca LI, Gutierrez-Cosio S, Santamaria C, et al. Immunomodulatory effect of 5-azacytidine (5-azaC): potential role in the transplantation setting. *Blood* 2010;115(1):107-21.
- Goodyear OC, Dennis M, Jilani NY, et al. Azacitidine augments expansion of regulatory T cells after allogeneic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 2012;119(14):3361-9.
- Reddy P, Sun Y, Toubai T, et al. Histone deacetylase inhibition modulates indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent DC functions and regulates experimental graft-versus-host disease in mice. *J Clin Invest* 2008;118(7):2562-73.
- Choi SW, Braun T, Chang L, et al. Vorinostat plus tacrolimus and mycophenolate to prevent graft-versus-host disease after related- 819. donor reduced-intensity conditioning allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation: a phase 1/2 trial. *Lancet Oncol* 2014;15(1):87-95.

Reçu: 25/11/2016 – Accepté: 02/01/2017

EN BREF

Tests pour les mutations somatiques et germinales dans le cancer de l'ovaire

Dans une récente publication, 4 auteurs belges plaident pour le dépistage de routine des mutations BRCA chez les femmes atteintes d'un cancer de l'ovaire. Tant les mutations somatiques que germinales devraient être recherchées. Des adaptations des recommandations de traitement sont pour cela nécessaires.

La chimiothérapie à base de dérivés du platine est souvent le premier traitement non chirurgical du cancer de l'ovaire. À l'heure actuelle, deux traitements de maintenance sont disponibles en cas de récurrence, à savoir le bévacizumab et l'olaparib, un inhibiteur de

PARP. La présence de mutations dans les gènes BRCA1 et BRCA2, qui jouent un rôle dans la réparation de l'ADN par recombinaison homologue, prédit une plus grande sensibilité à la chimiothérapie, une meilleure survie et une meilleure réponse aux inhibiteurs de PARP comme l'olaparib. Une mutation BRCA est ainsi le premier marqueur génétique prédictif pour une thérapie ciblée dans le cancer de l'ovaire. Les auteurs estiment donc que ce traitement est également indiqué après réponse aux dérivés du platine en cas de récurrence d'un cancer sévère de l'ovaire de haut grade avec mutation BRCA. Ces

mutations doivent être recherchées dans le tissu tumoral, mais également dans le sang, car l'identification de mutations germinales peut avoir des implications familiales.

Les recommandations actuelles se penchent surtout sur les mutations germinales, mais à la lumière de découvertes récentes, ces recommandations devraient être mises à jour afin d'insister sur l'importance des deux types de mutations.

Référence
Vergote I, Bours V, Blaumeiser B, Baurain J-F. New perspective on maintenance therapies for platinum-sensitive recurrent ovarian cancer in women with germline and somatic mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. *Facts Views Vis Obgyn* 2016;8(3):161-7.