



**HAL**  
open science

## Transfert adoptif de lymphocytes T cytotoxiques anti-BK virus : étude des paramètres de la production par sélection immunomagnétique basée sur la sécrétion d'interféron gamma.

M Gauthier, C Laroye, Maud D'aveni-Piney, M de Carvalho, V Decot, L Reppel, M T Rubio, D Bensoussan

### ► To cite this version:

M Gauthier, C Laroye, Maud D'aveni-Piney, M de Carvalho, V Decot, et al.. Transfert adoptif de lymphocytes T cytotoxiques anti-BK virus : étude des paramètres de la production par sélection immunomagnétique basée sur la sécrétion d'interféron gamma.. Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire, Nov 2018, Montpellier, France. hal-02980434

**HAL Id: hal-02980434**

**<https://hal.science/hal-02980434v1>**

Submitted on 27 Oct 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

M. Gauthier<sup>(1)</sup>, C. Laroye<sup>(1)</sup>, M. D'aveni-Piney<sup>(3)</sup>, M. de Carvalho<sup>(2)</sup>, V. Decot<sup>(1)</sup>, L. Reppel<sup>(1)</sup>, MT. Rubio<sup>(3)</sup>, D. Bensoussan<sup>(1)</sup>  
Unité de Thérapie Cellulaire (1), Plateforme de cytométrie (2), Unité de Transplantation (3) - CHRU Nancy

OBJECTIF

La technique de sélection immunomagnétique (MSI) permet un tri cellulaire rapide et fonctionnel des CTL antiviraux sur leur sécrétion d'IFN $\gamma$  après activation.

La **faisabilité** MSI tient à 2 paramètres essentiels :  
- **fréquence** suffisante des CTL sécrétant l'IFN $\gamma$   
- **intensité de sécrétion d'IFN $\gamma$**  forte à la stimulation

Dans ce travail, ces paramètres seront définis pour les CTL BKV chez le donneur sain

CONTEXTE BKV

La réactivation symptomatique du BK virus (BKV) : enjeu dans la prise en charge des patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques (HSCT)

**[10-50]% des patients HSCT déclarent une cystite hémorragique potentiellement invalidante.**

Le développement actuel d'immunothérapies par **transfert adoptif de lymphocytes T cytotoxiques (CTL) antiviraux**, permet de proposer un **traitement étiologique** : pallier spécifiquement le défaut d'immunité cellulaire anti-BKV lors de la reconstitution immunitaire retardée post-HSCT.

CONCLUSION

De par la faible fréquence de l'immunité anti-BKV chez le sujet sain et la forte variabilité interindividuelle :

- le **screening des donneurs** (de CSH et haplo-identiques) pour la production des CTL anti-BKV semble incontournable : la probabilité que le donneur de CSH ait une immunité anti-BKV suffisante étant faible
- une **technique de sélection immunomagnétique automatisée et performante** semble nécessaire

RÉSULTATS

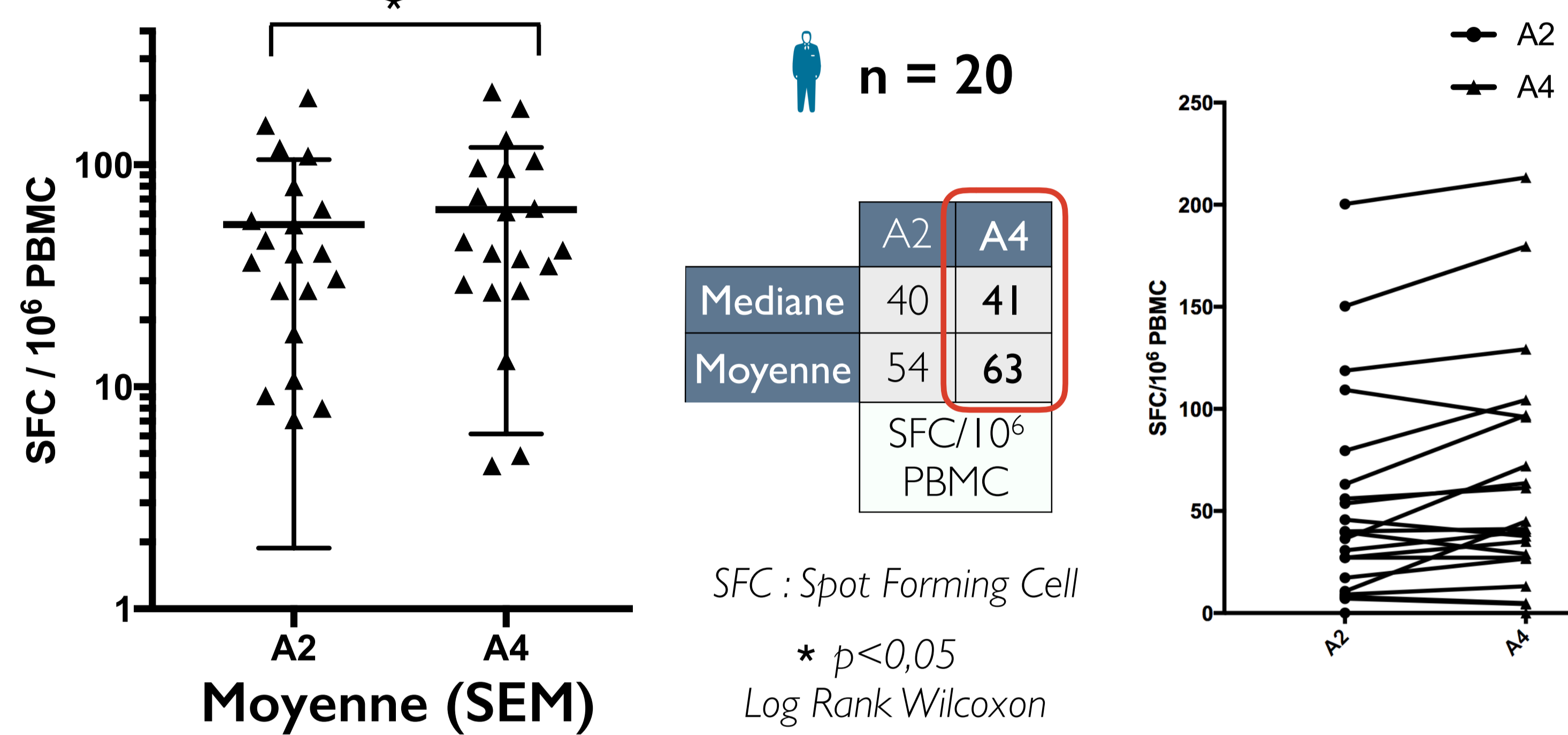
Evaluation de la fréquence des cellules BKV spécifiques sécrétrices d'IFN $\gamma$

Screening de l'immunité BKV spécifique chez le donneur sain

[ELISPOT/IFN $\gamma$ ]

Comparaison des combinaisons antigéniques :

**A2** (VPI, LT) vs. **A4** (VPI, LT, VP2, ST)



DISCUSSION

Dans la pratique, même si différence entre A2 et A4 significative, cela concerne majoritairement les donneurs avec une réponse ELISPOT/IFN $\gamma$  déjà élevée (>50 SFC/10<sup>6</sup> PBMC)

**VPI et LT** seuls antigènes peptidiques BKV disponibles en grade clinique : le choix de **A2** pour la stimulation BKV est pertinent, sans perte de chance de sélection des CTL anti-BKV

- Augmentation de l'intensité de sécrétion d'IFN $\gamma$  au cours du temps
- Augmentation de la fréquence des lymphocytes IFN $\gamma$ + (CD4+ majoritaires) entre 4 et 6 heures de stimulation

Paramètres optimaux de sécrétion d'IFN $\gamma$  : **6 heures** de stimulation par la combinaison antigénique **A2 (VPI, LT)**

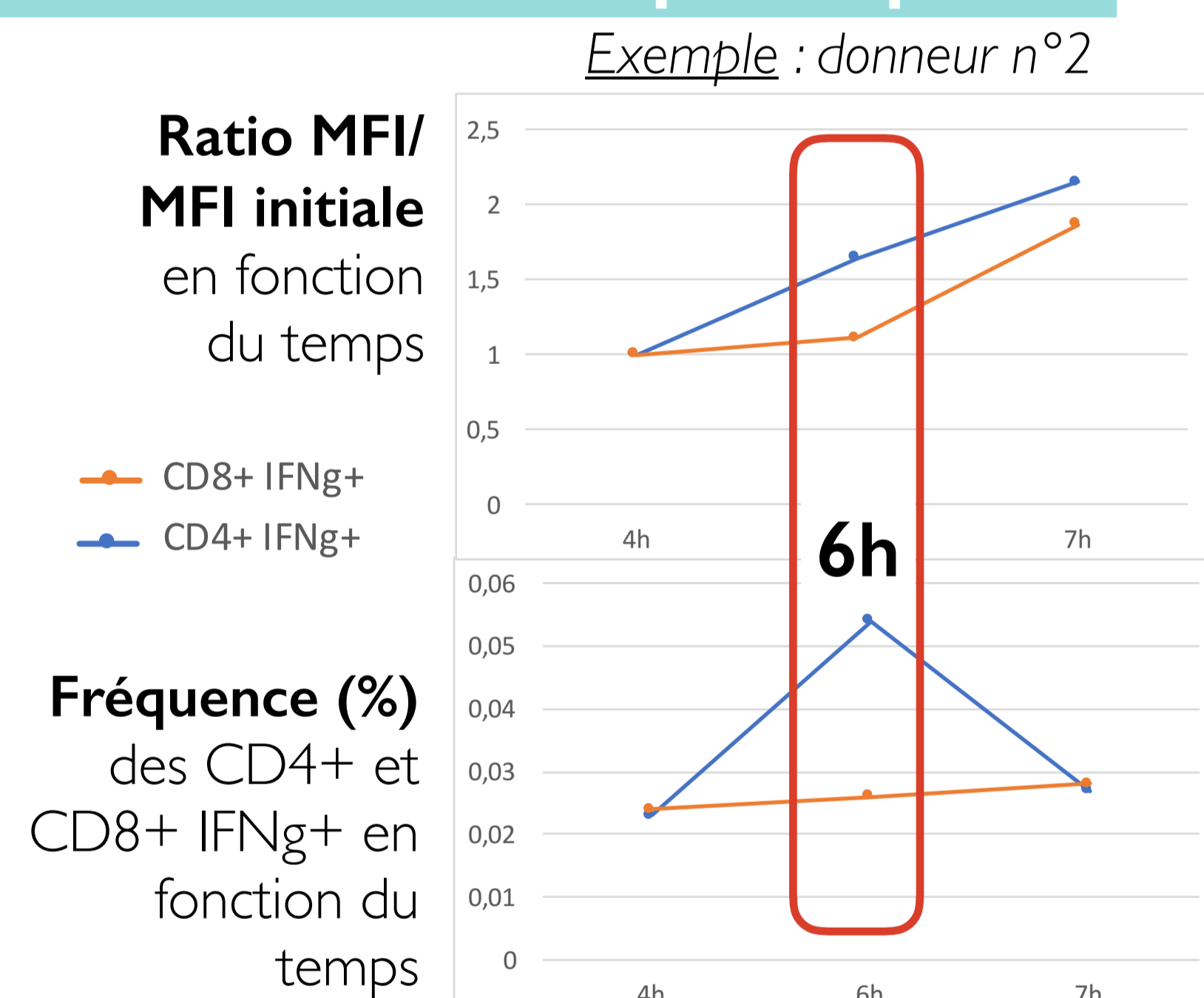
Evaluation de la cinétique de sécrétion d'IFN $\gamma$  des cellules BKV spécifiques

[CMF/Cytokine Capture System® IFN $\gamma$ ]

donneurs **sélectionnés** sur leur réponse ELISPOT/IFN $\gamma$

Temps de stimulation BKV **4-6-7 heures**  
Stimulation **A2**

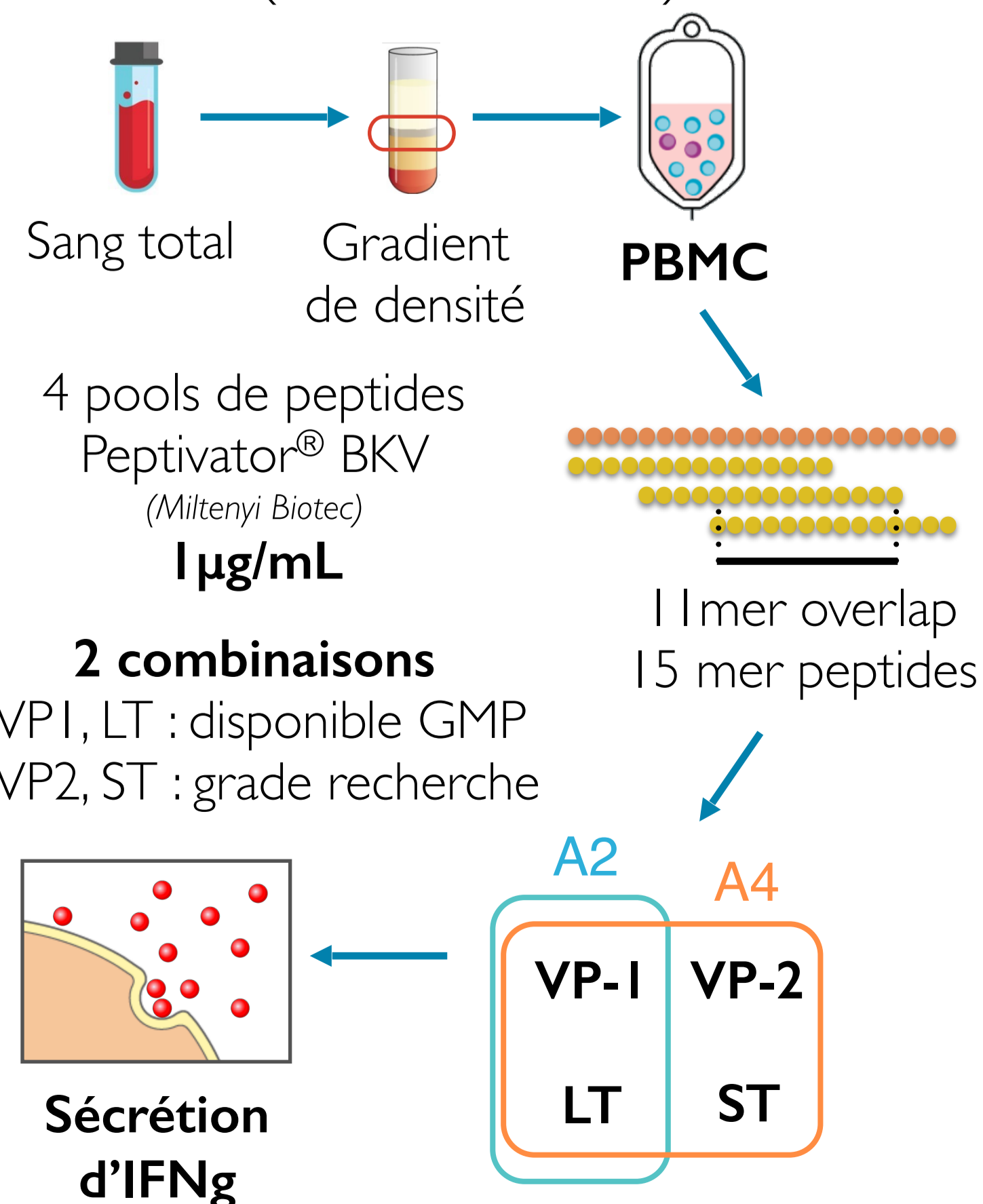
Cinétique de la **fréquence** et de l'**intensité** de sécrétion d'IFN $\gamma$  (MFI) BKV spécifique



MATÉRIEL ET MÉTHODE

Stimulation antigénique BKV

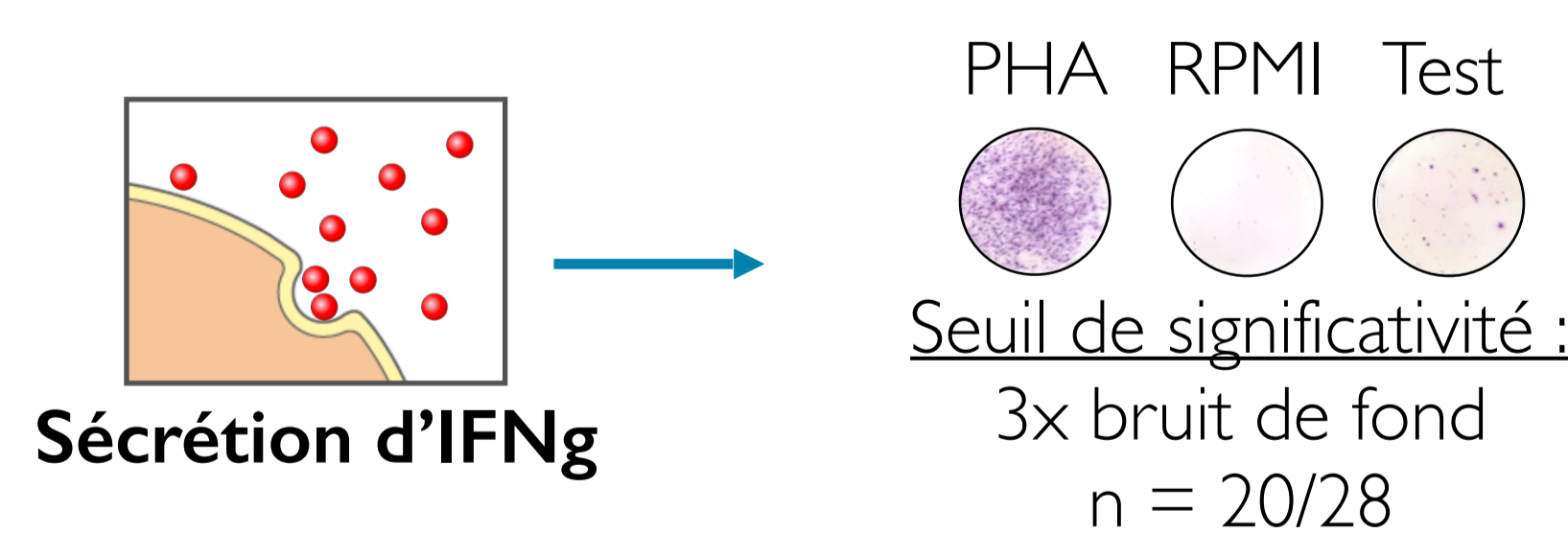
Donneurs sains volontaires (EFS Grand Est)



ELISPOT IFN $\gamma$

Conditions :  
- 7,5x10<sup>5</sup> PBMC/puits  
- Stimulation **A2 et A4**  
- Incubation : **20h**  
- 37°C, 5% CO<sub>2</sub>

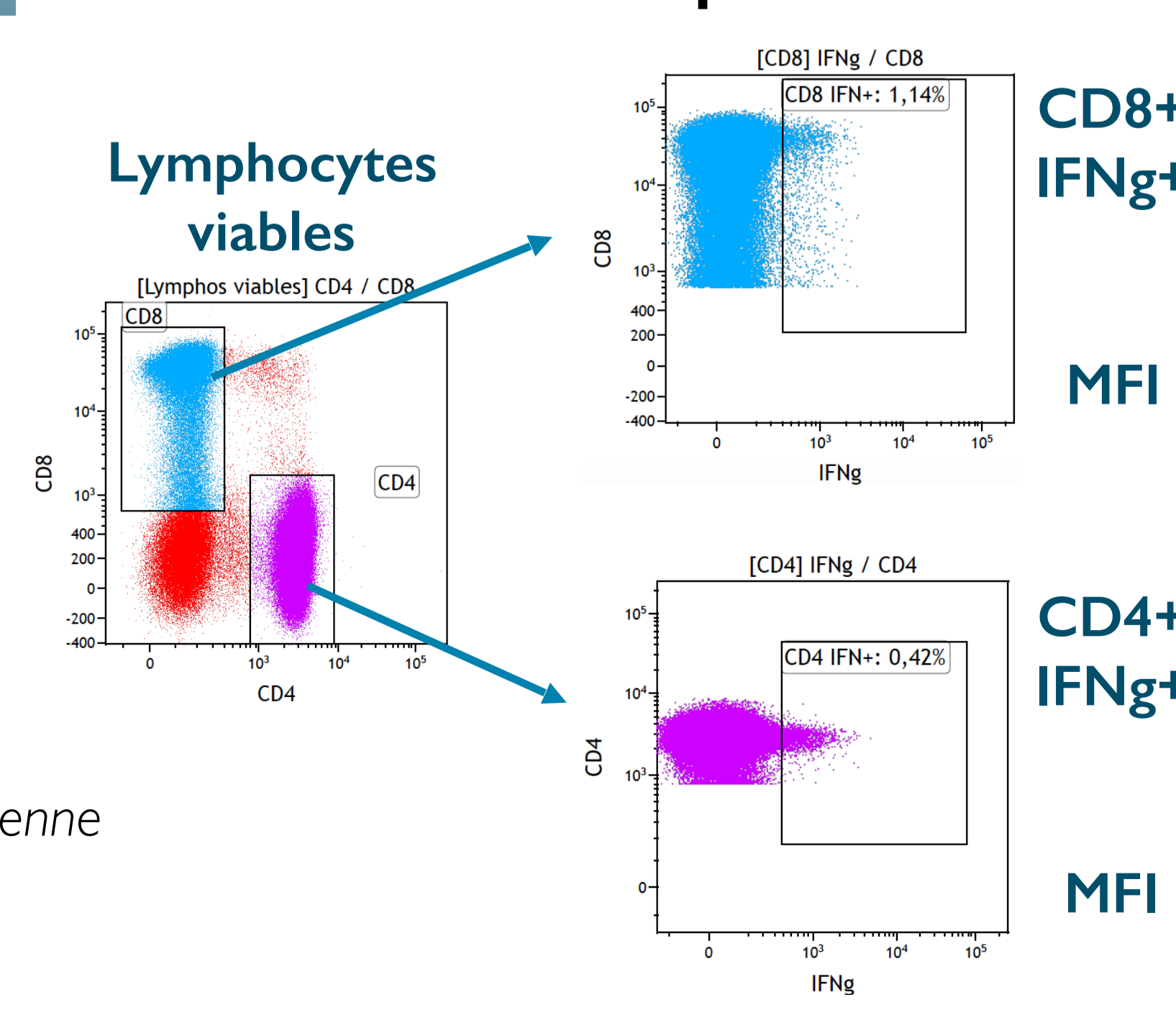
Etude de la sécrétion **cumulative** d'IFN $\gamma$



Cytométrie en flux

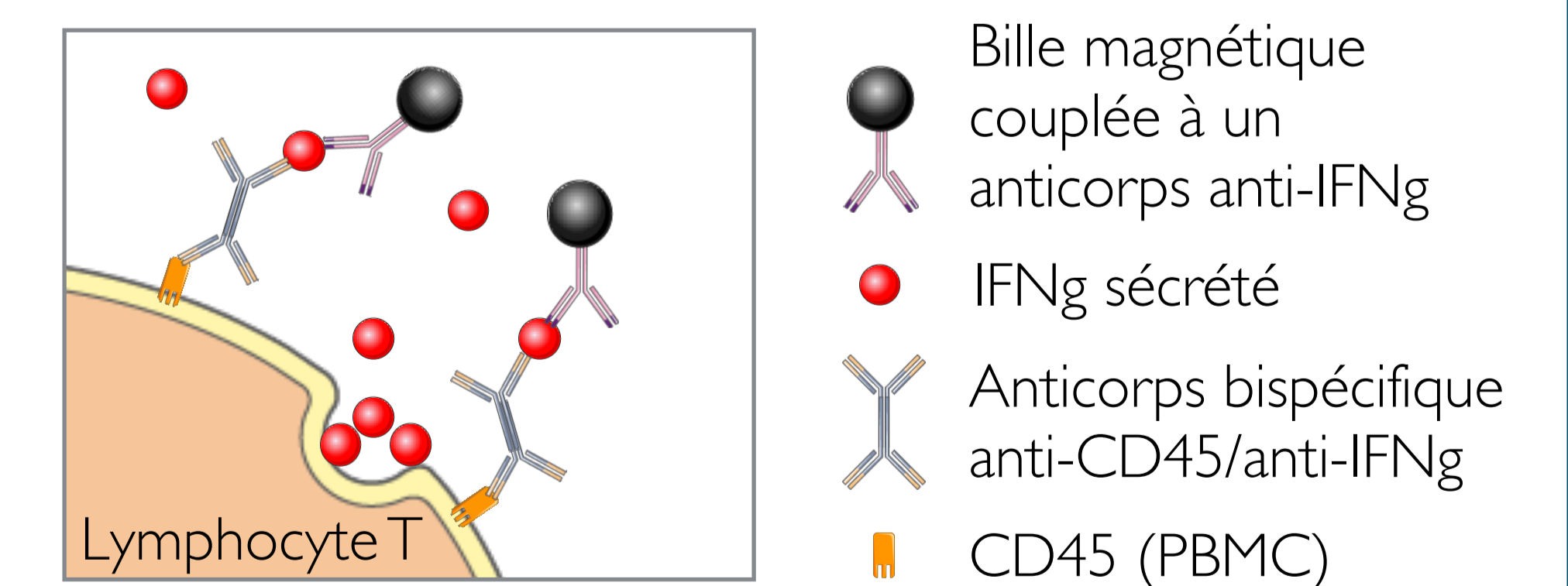
Conditions :  
- 37°C, 5% CO<sub>2</sub>  
- Témoin : Cytostim®  
- FACS Canto II (BD Bioscience)  
- Cytokine Capture System® IFN $\gamma$  (Miltényi Biotec)

Etude de la **cinétique** de sécrétion d'IFN $\gamma$



Cytokine Capture System® IFN $\gamma$

GMP Grade / Grade clinique



Sélection Immunomagnétique automatisée

