



Myeloid derived suppressor cells in the context of allogeneic stem cell transplantation, in auto-immune diseases and in myelodysplastic syndromes

Maud d'Aveni

► To cite this version:

Maud d'Aveni. Myeloid derived suppressor cells in the context of allogeneic stem cell transplantation, in auto-immune diseases and in myelodysplastic syndromes. Life Sciences [q-bio]. Université de Lorraine; École doctorale BioSE - Biologie, Santé, Environnement, 2022. tel-03974451

HAL Id: tel-03974451

<https://hal.science/tel-03974451>

Submitted on 5 Feb 2023

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.

Ecole Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement)

**Rôle immunomodulateur de cellules myéloïdes suppressives dans
l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, certaines
maladies auto-immunes et le microenvironnement médullaire des
syndromes myélodysplasiques**

**Mémoire présenté et soutenu publiquement pour l'obtention du
diplôme
D'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES**

**Le 25 novembre 2022
Par Maud D'AVENI-PINEY
CNU sous-section 47-01**

Membres du jury

Rapporteurs

Sophie PARK PU-PH, Université de Grenoble

Philippe SAAS, PU, Université Bourgogne Franche Comté

Frédéric Baron, PU-PH, Université de Liège

Examineurs

Olivier HERMINE, PU-PH, Université Paris

Stéphanie NGUYEN-QUOC, PU-PH, Université de Paris

Natalia De Isla, MCU, Université de Lorraine

Examineur et Marraine scientifique :

Marie-Thérèse RUBIO, PU-PH, Hématologie, CHRU de Nancy

Equipe 6 IMoPa, CNRS UMR 7563, Biopole Université de Lorraine – Faculté de Médecine
9 Avenue de la Forêt de Haye – CD 50184 – 54505 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex

SOMMAIRE

1. CURRICULUM VITAE	8
1.1. Cours universitaire	8
1.2. Cours médical	9
1.2.1 Docteur en médecine en hématologie clinique	9
1.2.2. Etudes médicales	9
1.3. Publications	11
1.3.1. Journaux à comité de lecture	11
1.3.2 Cas cliniques et lettres à la rédaction : rédactions de brèves à HEMATO.net (3/an de 2016 à 2020)	19
1.3.3 chapitres de livres et publications didactiques	19
1.3.4. Communications orales	19
1.3.5. Présentations affichées	20
2. ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT	21
2.1 Formation personnelle à la pédagogie	21
2.2 Activité d'enseignement universitaire	21
2.3 Activité d'enseignement hospitalier	22
2.4 Participation à des jurys de thèse en médecine et pharmacie	23
2.5 Innovation et recherche pédagogiques	24
2.6 Valorisation des travaux d'encadrement des étudiants	26
2.6.1 Encadrement d'étudiants au laboratoire de recherche	26
2.6.2 Encadrement d'étudiants en médecine 3^{ème} cycle	28
3. RECHERCHE	29
3.1 Recherche Fondamentale	29
3.1.1 : Développement d'une thématique de recherche sur l'hématopoïèse en conditions pathologiques (mobilisation par le GCSF) : thèse d'université et développement d'une collaboration.	29
3.1.1.1 Les cellules myéloïdes suppressives ou « Myeloid-Derived Suppressor Cells » (MDSC), travail de thèse d'université	30
3.1.1.2 Progéniteurs multipotents (MPP) mobilisés, travail collaboratif	36
3.1.2 : Intégration dans une équipe de recherche : encadrement des travaux de recherche	44
3.1.2.1: ACT : Co-encadrement d'une thèse d'université sur « les cellules myéloïdes suppressives dans l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques »	45
3.1.2.2: ACT : Co-encadrement d'une thèse d'université sur « les cellules mésenchymateuses de la gelée de Wharton dans l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques »	50

3.2 Activités de Recherche Clinique et Translationnelle	57
3.2.1 Reconstitution immunitaire et immunothérapie adoptive anti-virale après allogreffe de CSH.....	57
3.2.2. Le virus Epstein Barr (EBV)	58
3.2.3 L'adénovirus (ADV) et production de CTL anti-adénovirus	61
3.2.4 Etude clinique sur l'allogreffe de CSH dans les syndromes myélodysplasiques et leucémie aiguë myéloïde.....	62
3.2.4.1 Etude de l'adjonction de sérum anti-lymphocytaire dans le conditionnement de greffe	63
3.2.4.2 Etude de l'intensité du conditionnement de greffe et du type de donneur	64
3.2.4.2 Etude de l'administration d'injections de lymphocytes du donneur (DLI)	69
3.2.5 Les syndromes myélodysplasiques (SMD)	71
3.2.5.1 Protocole prospectif sur les mécanismes de rechute des SMD après allogreffe de CSH	71
3.2.5.2. Implication dans les protocoles prospectifs cliniques du GFM investiguant les SMD	78
3.3 Financement et/ou valorisation de la recherche	79
4. COLLABORATIONS SCIENTIFIQUES DANS LES PROJETS DE RECHERCHE	80
4.1 Recherche expérimentale.....	80
4.2 Recherche translationnelle et clinique.....	81
5. PROJET DE RECHERCHE	83
5.1 Projet de recherche fondamentale	83
5.1.1 Projet scientifique à court terme.....	84
5.1.2 Projet scientifique à moyen terme.....	86
5.1.3 Projet scientifique à long terme.....	89
5.2 Projet de recherche clinique	89
6. BIBLIOGRAPHIE	91

TABLE DES FIGURES

- Figure 1 : Physiopathologie de la GVH (D'Aveni et al. Reference Module in Biomedical Science, 2022).
- Figure 2 : Emergence de cellules myéloïdes sous l'effet du G-CSF +/- FLT3-L dans la rate des souris
- Figure 3 : Les cellules myéloïdes suppressives obtenues dans la rate de souris après mobilisation par G-CSF.
- Figure 4 : Modèle murin d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.
- Figure 5 : hétérogénéité de la fraction CD34+ monocytes au sein des cellules mobilisées par du G-CSF.
- Figure 6 : Revue de la littérature sur les MDSC chez la souris et l'homme dans le contexte de l'allogreffe de CSH
- Figure 7. Co-culture des MPP mobilisés avec les lymphocytes T4.
- Figure 8 Rôle partiel de l'IL-1 β dans la modulation des Tregs exercée par les MPPs.
- Figure 9 : suivi du score clinique de développement de l'EAE.
- Figure 10: les MPP mobilisés diminuent l'incidence et la sévérité de la GVH par l'augmentation de Tregs in vivo.
- Figure 11: Les MPP mobilisés humains.
- Figure 12: composition de l'équipe 6 IMoPA.
- Figure 13 : étude de la reconstitution immunitaire des LT et des cellules myéloïdes au travers de l'étude REAL-GREFFE et réalisation d'une étude de sous-groupe pour identifier d'éventuels facteurs biologiques prédictifs de rechute.
- Figure 14 : étude de la reconstitution immunitaire des MDSC en post-greffe
- Figure 15 : Génération de « e-MDSC »
- Figure 16 : Expression membranaire de marqueurs avec (en rouge) et sans (en vert) pré-incubation par IFN- γ .
- Figure 17 : Propriétés immunosuppressives des CSM-GW.
- Figure 18 : L'inhibition de IDO reverse l'effet immunosuppresseur des CSM-GW et des CSM-GW-IFN
- Figure 19 : Modèle xénogénique de GVH. Les injections répétées de CSM-GW protègent les souris de la GVH aiguë et prolongent leur survie post-greffe.
- Figure 20 : Les CSM-GW requièrent un contact avec les LT pour inhiber leur prolifération.
- Figure 21 : reconstitution immunitaire après allogreffe de CSH (D'Aveni et al. Handbook 2018 sur l'allogreffe de CSH, chapitre XII sur les infections).
- Figure 22: suivi de la réplication EBV (charge virale) et Elispot chez 10 patients.
- Figure 23 : incidence cumulée à 3 ans de la GVH chronique selon les groupes
- Figure 24 : Devenir à 3 ans post-greffe des patients selon le conditionnement reçu
- Figure 25 : Devenir post-greffe des patients selon l'administration de DLI préventives
- Figure 26 : protocole inter-régional prospectif d'études de patients atteints de SMD, allogreffés de CSH et les mécanismes d'échappement au contrôle du système immunitaire (protocole EVADE).
- Figure 27 : Etude des interactions CSM de moelle osseuse et cellules hématopoïétiques.
- Figure 28: Stratégie d'analyse dans le laboratoire des 3 sous-types de MDSC en Cytométrie en flux dans la fraction CD34-

LISTE DES ABBREVIATIONS

ACT, Autorisation à Codiriger une Thèse

ADV, adénovirus

ALWP, Acute Leukemia Working Party

ANR, Agence Nationale de la Recherche

CCU, Chef de Clinique des Universités

CD, cluster de différenciation

CMV, cytomegalovirus

CNRS, Centre National de la Recherche Scientifique

COVID 19, Coronavirus infectious disease 2019.

CPA, Cellule Présentatrice d'Antigène

CSH, cellule souche hématopoïétique

CSIRC, Commission Scientifique Interrégionale de la recherche Clinique

CSM-GW, Cellule Stromale Méenchymateuse de la Gelée de Wharton

CSM-MO, Cellules Stromale Méenchymateuse de la Moelle Osseuse

CTL, lymphocyte T cytotoxique

DRCI, Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation

EBMT European Bone Marrow Transplantation

EBV, Epstein Barr Virus

EHA, European Hematology Association

ELN, European Leukemia Network

FAO, Fatty Acid Oxydation

G-CSF, Granulocyte Colony Stimulating Factor

GIRCI-Est Groupement Inter-régional pour la Recherche Clinique et l'Innovation

GFM, Groupe Francophone des Myélodysplasies

GVH, Réaction du Greffon Versus Hôte

GVL, Réaction du Greffon Versus Leucémie

GRFS, survie sans rechute et sans GVH aiguë (de grade 2-4) ni GVH chronique extensive

HCERES, Haut Conseil de l'Evaluation de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur

IDO, indoleamine 2,3-dioxygénase

IFN : Interféron

IMoPA, Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaire

KO, knock out (système d'invalidation d'un gène dans notre modèle murin)

MCU, Maitre de Conférence des Universités

MDSC, cellules myéloïdes suppressives

MESR, ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche

MPP, progéniteur myéloïde multipotent

MTI-PP, Médicament de Thérapie Innovante de Préparation Ponctuelle

NSG, NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ, souris profondément immunodéficiente avec 2 mutations dans le fond génétique NOD/ShiLtJ puis une déficience en lymphocytes dite « severe combined immune deficiency (scid) » et un allèle nul pour la chaîne gamma commune du récepteur à IL2

L-NMMA: N-méthyl-L-arginine, dérivé méthylé de l'arginine

LT, lymphocytes T

NO, monoxide d'azote

Nor-NOHA, N-Hydroxy-nor-L-arginine

NRM, Non Relapse Mortality

OS, survie globale ou Overall Survival

PFS ou LFS, survie sans rechute ou Progression Free Survival ou Leukemia Free Survival

PH, Praticien Hospitalier

PHRC-I, Programme Hospitalier de Recherche Clinique-Inter-regional

PTLD, Post-Transplant Lympho-Proliferative Disease, lympho-prolifération post-greffe

RI, Relapse Incidence

TRM, mortalité liée à la toxicité ou Toxicity Related Mortality

équivalent à NRM, mortalité non liée à la rechute ou Non-Relapse Mortality

SFGM-TC, Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire

SMD, syndrome myélodysplasique

TLR, Toll like Receptor, récepteurs de motifs moléculaires dans le système immunitaire

UTCT, Unité de Thérapie Cellulaire et Tissulaire

RESUME

La première partie de ce mémoire présente le parcours personnel et professionnel, actuellement Maître de Conférence Universitaire depuis septembre 2018 à l'Université de Lorraine et Praticien Hospitalier en hématologie au Centre Hospitalier Régional Universitaire de Nancy. Les publications et communications scientifiques ainsi que les ouvrages didactiques sont résumés sous format de tableaux synthétiques. A ces publications s'ajoutent un brevet « e-MDSC » en maturation, déposé pour le compte de l'Université de Lorraine.

La seconde partie présente l'activité pédagogique avec l'enseignement réalisé à l'Université de Lorraine en facultés de médecine et pharmacie, et les enseignements en licence, Master 1 et Master 2. Cet enseignement s'ajoute à une activité de pédagogie au quotidien dans l'activité hospitalière, avec l'encadrement des étudiants de deuxième et troisième cycles d'étude médicales, en tant que coordinatrice de leur parcours dans le service d'hématologie clinique. De plus, une activité d'encadrement de jeunes chercheurs (de la licence professionnelle au doctorat) est réalisée au laboratoire de recherche IMoPA, CNRS 7365. Les encadrements et leur valorisation scientifique sont résumés. Cette partie se conclut par un projet de pédagogie numérique en hématologie soutenu par Messieurs les doyens de la faculté de médecine (Professeur Marc Braun) et de la faculté de pharmacie (Professeur Raphaël Duval) ainsi que le collégium santé (Professeur Béatrice Faivre).

La troisième partie de ce mémoire présente les recherches expérimentales conduites à la date de soutenance du mémoire. Mon activité de recherche a débuté avec la réalisation d'un master 2 en immunologie fondamentale (Institut Pasteur) avec un stage dans le laboratoire d'Olivier Hermine, CNRS 8147, à l'hôpital Necker, co-dirigé par Marie-Thérèse Rubio. Grâce à l'obtention d'une bourse MESR, ce travail s'est poursuivi par trois ans de doctorat sur le rôle immunomodulateur dans la réponse allo-immune de cellules hématopoïétiques mobilisées par du G-CSF. A l'issue, j'ai développé une collaboration avec le Dr Flora Zavala, Institut Necker Enfants Malades. Lors de mon retour à Nancy, en tant que Chef de Clinique des Universités et Assistant Hospitalier, le co-encadrement de jeunes chercheurs s'est déroulé au sein de l'équipe 6 d'IMoPA avec le soutien et la confiance du Professeur Marie-Thérèse Rubio co-directrice de l'équipe avec le Professeur Danièle Bensoussan. Cette troisième partie de mémoire se poursuit par l'activité de recherche clinique et translationnelle centrée initialement sur l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) et qui s'ouvre plus récemment aux syndromes myélodysplasiques. Ma première publication en tant qu'interne était l'aboutissement d'un travail qui m'avait été confié par le Pr Bensoussan sur la reconstitution immunitaire post-greffe et l'immunité anti-virale, lors d'un stage effectué au sein de son laboratoire de thérapie cellulaire (UTCT). Ce travail m'a permis de collaborer longtemps avec son équipe sur cette thématique, avec notamment le co-encadrement d'étudiants en troisième cycle d'études médicales sur le sujet du transfert adoptif de lymphocytes T anti-virus. Mon implication dans le groupe coopérateur de la Société Francophone de Greffe de Moelle-Thérapie Cellulaire m'a permis de mener 3 études rétrospectives multicentriques (publiées avec l'encadrement de thèse de médecine). Plus récemment, mon implication dans le Groupe Français des Myélodysplasies me permet de m'impliquer de plus en plus dans la recherche clinique des SMD.

La quatrième partie expose les collaborations scientifiques.

Enfin, la cinquième partie développe le projet de recherche. Le projet de recherche expérimentale prolonge les travaux sur les cellules immunorégulatrices émergentes dans un contexte d'hématopoïèse pathologique. Compte tenu de l'expertise forte du laboratoire de recherche sur les cellules stromales mésenchymateuses, le projet est d'étudier les cellules myéloïdes suppressives dans les SMD et les interactions avec le stroma médullaire. Ce projet vise à proposer de nouvelles stratégies prédictives et thérapeutiques pour ces patients. En cela, ce projet de recherche fondamentale s'articule avec l'activité et la recherche clinique.

L'objectif ultime de ces projets est d'améliorer la prise en charge des patients.

1.CURRICULUM VITAE

Nom - Prénom : D'Aveni Maud

Date et lieu de naissance : 08/08/1981 à La Tronche

Adresse : 158 rue Jeanne d'Arc, 54000 Nancy

Mail : m.daveni-piney@chru-nancy.fr ou maud.d-aveni@univ-lorraine.fr

Téléphone 06 09 48 17 16

Nationalité : Française

- Fonction actuelle : MCU-PH, Maître de conférence des universités- Praticien hospitalier en hématologie, (CNU 47-01Hématologie-Transfusion) à l'Université de Lorraine, faculté de médecine et service d'hématologie clinique adulte du Professeur Feugier du CHRU de Nancy.

- Mobilité de 2009 à 2013 : au laboratoire du Professeur Olivier Hermine, INSERM U1163 and CNRS ERL 8254, Faculté de Médecine, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, 75015 Paris, France. Faculté de Médecine and Université Paris-Sud, 94805 Villejuif, France. Institut Hospitalo-Universitaire Imagine, Université Sorbonne Paris Cité, Hôpital Necker, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, 75015 Paris, France, avec un travail collaboratif avec l'équipe de Ronjon Chakraverty Institute of Immunity and Transplantation, University College London, London NW3 2PF, UK. Cancer Institute, University College London, London WC1E 6DD, UK.

1.1.Cursus universitaire

2010- 2013 Thèse d'université, université Paris XI, Ecole Doctorale de Cancérologie, obtention d'une bourse MESR de 3 ans. Laboratoire du Professeur Olivier Hermine, INSERM U1163 and CNRS ERL 8254, Faculté de Médecine, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, 75015 Paris, France. Faculté de Médecine et Université Paris-Sud, 94805 Villejuif, France.

Techniques utilisées sur cellules murines et humaines:

Analyse transcriptomique. Extraction d'ADN et d'ARN sur culture cellulaire.

Cultures cellulaires et tests fonctionnels.

Cytométrie en flux (FACS Canto 2, BD) avec analyse sur DIVA et FLOWJO

Tri cellulaire magnétique et électronique (ARIA sorter 2)

Expérimentation animale (construction et approbation d'une saignée, mise en place d'un modèle murin d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, imagerie in vivo)

Microscopie confocale

ELISA et WESTERN BLOT.

2019 Diplôme inter universitaire de pédagogie médicale

2012 Diplôme inter universitaire d'expérimentation animale, niveau 1

2011 Diplôme inter universitaire « CESAM, statistiques »

2009 Diplôme inter universitaire « Immunologie et biothérapies»

2008 Diplôme inter universitaire « Infections et transplantation»

2007 Diplôme inter universitaire « Immuno-hématologie Pédiatrique»

2010 Master 2 de sciences et technologies, mention biologie moléculaire et cellulaire, spécialité immunologie, université paris VI, co-habilité avec l'ENS Paris et l'Institut Pasteur.

Mention « Très bien », classement . Laboratoire du Docteur Flora ZAVALA, CNRS UMR 8147, Faculté de Médecine, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, 75015 Paris, France.

*Techniques utilisées :
culture cellulaire, cytométrie en flux, modèles murins in vivo.*

- 2007 Maîtrise de Sciences Biomédicales (MSBM)
- 2007 Certificat de génétique humaine et comparée
- 2003 Certificat de physiopathologie des maladies transmissibles
- 2002 Certificat d'Anatomie, imagerie et morphogénèse

1.2.Cursus médical

1.2.1 Docteur en médecine en hématologie clinique

De 2020 à aujourd'hui : MCU-PH dans le service du Pr Feugier

- *Activité ambulatoire du secteur d'hospitalisation de jour post-greffe avec 2 HDJ/semaine
- *+Coordination du secteur ambulatoire post-greffe
- *+Activité ambulatoire HDJ/consultation de SMD 1 journée/semaine

De 2018-2020 : MCU-PH dans le service du Pr Feugier

- *En charge du secteur de Transplantation Médullaire (8 lits) avec encadrement quotidien d'un interne et un externe en médecine
- *+ activité ambulatoire (1 HDJ/semaine et 1 consultation/semaine)

De 2016-2018 : CCU-AH dans le service d'Hématologie du Pr Feugier

- *En charge du secteur de Transplantation Médullaire (8 lits) avec encadrement quotidien d'un interne et un externe en médecine
- *+ activité ambulatoire (1 HDJ/semaine et 1 consultation/semaine)

De 2016-2014 : CCU-AH dans le service d'Hématologie du Pr Feugier

- *En charge d'un secteur d'hématologie générale de 24 lits (jusqu' à 26 lits en période hivernale avec 2 lits « Hôpital En Tension »), avec encadrement quotidien de 3 internes et 10 externes en médecine et 1 interne en pharmacie.
- * + Activité ambulatoire en hospitalisation de jour (1/2 journée/semaine) et consultations (1journée/semaine).
- * + Activité ambulatoire (hôpital de jour) dédiée au suivi post-greffe (1 journée/semaine)

1.2.2.Etudes médicales

Troisième cycle d'études médicales

Inscription à l'ordre des médecins depuis le 1/11/2014, RPPS 10100696698

2014 : DES d'hématologie

2013-14 service d'Hématologie Adulte, Pr Feugier, Hôpital Brabois Nancy
service d'Hématologie Adulte, Pr Hermine, Hôpital Necker-Enfants Malades

2011 Doctorat de médecine, Université Henri-Poincaré, Nancy

2008-09 service d'Hématologie Biologique, Pr Lecompte, Hôpital Brabois Nancy

service de Thérapie cellulaire, Pr Stoltz, Hôpital Brabois Nancy

2007-08 service de Réanimation médicale, Pr Lévy, Hopital Brabois Nancy

Service d'Hématologie Clinique, Dr Christian, Hôpital Metz

2006-07 Service d'Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, Pr Bordigoni, Hôpital d'enfants Nancy

Service de Maladies infectieuses, Pr May, Hôpital Brabois Nancy

2005-06 Service d'Hématologie, Pr Lederlin (Hôpital Brabois Nancy)

2005 – ENC, classée 1544.

2^{ème} cycle d'études médicales

2001-2005 : DCEM1, DCEM2, DCEM3 à l'Université Joseph Fourier de Grenoble, avec un stage de 2 mois en Australie (Melbourne, service de pneumologie du Pr Mathew Naughton).

1^{er} cycle d'études médicales

1999-2001 : PCEM1, classée 6^{ème} et PCEM2 à l'Université Joseph Fourier de Grenoble

1998 : baccalauréat S, spécialité mathématiques, mention Bien.

1.3. Publications

1.3.1. Journaux à comité de lecture

- Mekinian A, Zhao LP, Chevret S, Desseaux K, Pascal L, Comont T, Maria A, Peterlin P, Terriou L, **D'Aveni Piney M**, Gourin MP, Vey N, Rauzy OB, Grobost V, Bezanahary H, Dimicoli-Salazar S, Banos A, Wickenhauser S, De Renzis B, Durot E, Natarajan-Amé S, Voillat L, Chermat F, Lemaire K, Jachiet V, Himberlin C, Thépot S, Diaz JMT, Frenzel L, Gyan E, Denis G, Hirsch P, Kosmider O, Ades L, Fain O, Fenaux P. A Phase II prospective trial of azacitidine in steroid-dependent or refractory systemic autoimmune/inflammatory disorders and VEXAS syndrome associated with MDS and CMML. *Leukemia*. 2022 Sep 14. doi: 10.1038/s41375-022-01698-8.
- Schenone L, Notarantonio AB, Latger-Cannard V, Fremeaux-Bacchi V, De Carvalho-Bittencourt M, Rubio MT, Muller M, **D'Aveni M**. Allogeneic stem cell transplantation-A curative treatment for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with PIGT mutation: A case report. *World J Clin Cases*. 2022 Jun 16;10(17):5702-5707. doi: 10.12998/wjcc.v10.i17.5702.
- Rossignol J, Belaid Z, Fouquet G, Guillem F, Rignault R, Milpied P, Renand A, Coman T, **D'Aveni M**, Dussiot M, Colin E, Levy J, Carvalho C, Goudin N, Cagnard N, Côté F, Babdor J, Bhukhai K, Polivka L, Bigorgne AE, Halse H, Marabelle A, Mouraud S, Lepelletier Y, Maciel TT, Rubio MT, Heron D, Robert C, Girault I, Lebeherec D, Scoazec JY, Moura I, Condon L, Weimershaus M, Pages F, Davoust J, Gross D, Hermine O. Neuropilin-1 cooperates with PD-1 in CD8+ T cells predicting outcomes in melanoma patients treated with anti-PD1. *iScience*. 2022 May 5;25(6):104353. doi: 10.1016/j.isci.2022.104353. eCollection 2022 Jun 17.
- Pochon C, Notarantonio AB, Laroye C, Reppel L, Bensoussan D, Bertrand A, Rubio MT, **D'Aveni M**. Wharton's jelly-derived stromal cells and their cell therapy applications in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2022 (accepted doi: 10.1111/jcmm.17105)
- Maillard A, Redjoul R, Klemencie M, Labussière Wallet H, Le Bourgeois A, **D'Aveni M**, Huynh A, Berceanu A, Marchand T, Chantepie S, Botella Garcia C, Loschi M, Joris M, Castilla-Llorente C, Thiebaut-Bertrand A, François S, Leclerc M, Chevallier P, Nguyen S. Antibody response after 2 and 3 doses of SARS-CoV-2 mRNA vaccine in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients. *Blood*. 2022 Jan 6;139(1):134-137.
- Campidelli A, Robin M, Remen T, Luc A, Labussière-Wallet H, Dulery R, Srour M, Ceballos P, Forcade E, Nguyen-Quoc S, Furst S, Turlure P, Bay JO, Simand C, Marçais A, Daguindau E, Rubio MT, **D'Aveni M**. On Behalf of the SFGM-TC: Retrospective Comparison of Reduced and Higher Intensity Conditioning for High-Risk Myelodysplastic Syndrome Treated With Allogeneic Stem-Cell Transplantation. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2021 Jul 31:S2152-2650(21)00310-4.
- Xhaard A, Xhaard C, **D'Aveni M**, Salvator H, Chabi ML, Berceanu A, Coman T, Beguin Y, Chalandon Y, Poiré X, Loschi M, Paillard C, Bruno B, Ceballos P, Dalle JH, Bilger K,

- Bay JO, Robin M, N'Guyen-Quoc S, Rubio MT.. Risk factors for severe form of COVID-19 after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: an SFGM-TC multicentre cohort study. *Br J Haematol*. 2021 Mar;192(5):e121-e124.
- D'Aveni M**, Notarantonio AB, Agbogan VA, Bertrand A, Fouquet G, Gastineau P, Garfa-Traoré M, De Carvalho M, Hermine O, Rubio MT, Zavala F. Mobilized Multipotent Hematopoietic Progenitors Promote Expansion and Survival of Allogeneic Tregs and Protect Against Graft Versus Host Disease. *Front Immunol*. 2021 Feb 12;11:607180.
- D'Aveni M**, Korniotis S, Hergalant S, Letscher H, Tejerina E, Gastineau P, Ayawavi Agbogan V, Gras C, Fouquet G, Rossignol J, Chèvre JC, Cagnard N, Rubio MT, Hermine O and Zavala F. Mobilized multipotent hematopoietic progenitors stabilize and expand regulatory T-cells to protect against autoimmune encephalomyelitis (*Front Immunol*. 2020 Dec 23;11:607175)
- Vercellino L, Di Blasi R, Kanoun S, Tessoulin B, Rossi C, **D'Aveni-Piney M**, Obéric L, Bodet-Milin C, Bories P, Olivier P, Lafon I, Berriolo-Riedinger A, Galli E, Bernard S, Rubio MT, Bossard C, Meignin V, Merlet P, Feugier P, Le Gouill S, Ysebaert L, Casasnovas O, Meignan M, Chevret S, Thieblemont C. Predictive factors of early progression after CAR T-cell therapy in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Adv*. 2020 Nov 24;4(22):5607-5615.
- D'Aveni M**, Notarantonio AB, Bertrand A, Boulange L, Pochon C, Rubio MT. Myeloid-derived Suppressor Cells in the Context of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol*. 2020 May 22;11:989.
- Robin C, Thiebaut A, Alain S, Sicre de Fontbrune F, Berceanu A, **D'Aveni M**, Ceballos P, Redjoul R, Nguyen-Quoc S, Bénard N, Pahlavan-Grumel G, Cordonnier C. Letemovir for Secondary Prophylaxis of Cytomegalovirus Infection and Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Results from the French Compassionate Program. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2020 Feb 5. pii: S1083-8791(20)30060-4.
- Roupie AL, de Boysson H, Thietart S, Carrat F, Segulier J, Terriou L, Versini M, Queyrel V, Groh M, Benhamou Y, Maurier F, Decaux O, **D'Aveni M**, Rossignol J, Galland J, Solary E, Willems L, Schleinitz N, Ades L, Dellal A, Samson M, Aouba A, Fenaux P, Fain O, Mekinian A; On behalf MINHEMON (French Network of dysimmune disorders associated with hemopathies). Giant-cell arteritis associated with myelodysplastic syndrome: French multicenter case control study and literature review. *Autoimmun Rev*. 2020 Feb;19(2):102446.
- Roupie AL, Guedon A, Terrier B, Lahuna C, Jachiet V, Regent A, de Boysson H, Carrat F, Segulier J, Terriou L, Versini M, Queyrel V, Groh M, Benhamou Y, Maurier F, Ledoult E, Clech LL, **D'Aveni M**, Rossignol J, Galland J, Willems L, Chiche NJ, Peterlin P, Roux-

- Sauvat M, Parcelier A, Wemeau M, Lambert M, Belizna C, Puechal X, Swiader L, Cohen-Valensi R, Noc V, Dao E, Thepot S, de Frémont GM, Tanguy-Schmidt A, Koka AM, Bussone G, Philipponnet C, Konate A, Cavaille G, Guilpain P, Allain JS, Broner J, Solary E, Ruivard M, de Renzis B, Corm S, Baati N, Schleinitz N, Ponsoye M, Stamatoullas-Bastard A, Ades L, Dellal A, Tchirkov A, Aouba A, Fenaux P, Fain O, Mekinian A; On behalf MINHEMON (French Network of dysimmune disorders associated with hemopathies) and SNFMI. Vasculitis associated with myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia: French multicenter case-control study. . *Semin Arthritis Rheum*. 2020 Oct;50(5):879-884.
- Gendron N, Sicre de Fontbrune F, Guyard A, Fadlallah J, Chantepie S, **D'Aveni M**, Le Calloch R, Garnier A, Couturier MA, Morel V, Bernard C, Terriou L, Lazaro E, Socié G, Peffault de Latour R. Aplastic anemia related to thymoma: a survey on behalf of the French reference center of aplastic anemia and review of literature. *Haematologica*. 2019 Nov 14;haematol.2019.226134.
- Hadjadj J, Guffroy A, Delavaud C, Taieb G, Meyts I, Fresard A, Streichenberger N, L'Honneur AS, Rozenberg F, **D'Aveni M**, Aguilar C, Rosain J, Picard C, Mahlaoui N, Lecuit M, Hermine O, Lortholary O, Suarez F. Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol*. 2019 Jan;39(1):55-64.
- Coman T, Rossignol J, **D'Aveni M**, Fabiani B, Dussiot M, Rignault R, Babdor J, Bouillé M, Herbelin A, Côté F, Moura IC, Hermine O, Rubio MT. Human CD4- invariant NKT lymphocytes regulate graft versus host disease. *Oncoimmunology*. 2018 Aug 23;7(11):e1470735.
- D'Aveni M**, Divoux M, Busby-Venner H, Muller M, Broséus J, Feugier P. Idelalisib in a patient with refractory Waldenström's macroglobulinemia complicated by anuric renal failure: a case report. *J Med Case Rep*. 2018 Jun 12;12(1):164.
- Tozatto-Maio K, Giannotti F, Labopin M, Ruggeri A, Volt F, Paviglianiti A, Kenzey C, Hayashi H, Cornelissen J, Michallet M, Karakasis D, Deconinck E, Rohrlach PS, de la Tour RP, Blaise D, Petersen E, **D'Aveni M**, Sengeloev H, Lamy T, Russell NH, Forcade E, Craddock CF, Nagler A, Gluckman E, Rocha V. Cord Blood Unit Dominance Analysis and Effect of the Winning Unit on Outcomes after Double Unit Umbilical Cord Blood Transplantation in Adults with Acute Leukemia : a Retrospective Study on Behalf of Eurocord, the Cord Blood Committee of Cellular Therapy, Immunobiology Working Party and the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018 Feb 22.
- Campidelli A, Qian C, Laroye C, Decot V, Reppel L, **D'Aveni M**, Bensoussan D.

Adenovirus-specific T-lymphocyte efficacy in the presence of methylprednisolone : an in vitro study. *Cytotherapy*. 2018 Feb 26.

Qian C, Wang Y, Reppel L, **D'Aveni M**, Campidelli A, Decot V, Bensoussan D
Viral-specific T-cell transfer from HSCT donor for the treatment of viral infections or diseases after HSCT. *Bone Marrow Transplant*. 2018 Feb; 53(2):114-122

Dorin J, **D'Aveni M**, Debourgogne A, Cuenin M, Guillaso M, Rivier A, Gallet P, Lecoanet G, Machouart M. Update on *Actinomyces elegans*, a mucormycete infrequently detected in human specimens: how combined microbiological tools contribute efficiently to a more accurate medical care. *Int J Med Microbiol*. 2017 Dec;307(8):435-442.

Qian C, Campidelli A, Wang Y, Cai H, Venard V, Jeulin H, Dalle JH, Pochon C, **D'Aveni M**, Bruno B, Paillard C, Vigouroux S, Jubert C, Ceballos P, Marie-Cardine A, Galambrun C, Cholle C, Clerc Urmes I, Petitpain N, De Carvalho Bittencourt M, Decot V, Reppel L, Salmon A, Clement L, Bensoussan D. Curative or pre-emptive adenovirus-specific T cell transfer from matched unrelated or third party haploidentical donors after HSCT, including UCB transplantations: a successful phase I/II multicenter clinical trial. *J Hematol Oncol*. 2017 May 8;10(1):102

D'Aveni-Piney M, Rubio MT, Labopin M, Hamladji RM, Sanz MA, Blaise D, Ozdogu H, Daguideau E, Richard C, Santarone S, Irrera G, Yakoub-Agha I, Yeshurun M, Diez-Martin JL, Mohty M, Savani BN, Nagler A. Impact of in vivo T cell depletion in HLA-identical allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission conditioned with a Fludarabine iv-Busulfan myeloablative regimen: a report from the EBMT acute leukemia working party. *J Hematol Oncol*. 2017 Jan 24;10(1):31.

Devillier R, Dalle JH, Kulasekararaj A, **D'Aveni M**, Clément L, Chybicka A, Vigouroux S, Chevallier P, Koh M, Bertrand Y, Michallet M, Zecca M, Yakoub-Agha I, Cahn JY, Ljungman P, Bernard M, Loiseau P, Dubois V, Maury S, Socié G, Dufour C, Peffault de Latour R. Unrelated alternative donor transplantation for severe acquired aplastic anemia: a study from the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cell Therapies and the EBMT Severe Aplastic Anemia Working Party. *Haematologica*. 2016 Jul;101(7):884-90.

Broséus J, Roth-Guépin G, **D'Aveni-Piney M**, Perrot A, Lesesve JF, Perrin J. An usual cause of elliptocytosis. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2016 Dec 1;74(6):704-707.

Sivakumaran S, Henderson S, Ward S, Santos E Sousa P, Manzo T, Zhang L, Conlan T, Means TK, **D'Aveni M**, Hermine O, Rubio MT, Chakraverty R, Bennett CL. Depletion of CD11c(+) cells in the CD11c.DTR model drives expansion of unique CD64(+) Ly6C(+) monocytes that are poised to release TNF- α . *Eur J Immunol*. 2016 Jan;46(1):192-203.

D'Aveni M, Rossignol J, Coman T, Sivakumaran S, Henderson S, Manzo T, Santos e Sousa P, Bruneau J, Fouquet G, Zavala F, Alegria-Prévot O, Garfa-Traoré M, Suarez F, Trebeden-Nègre H, Mohty M, Bennett CL, Chakraverty R, Hermine O, Rubio MT. G-CSF mobilizes CD34+ regulatory monocytes that inhibit Graft-versus-Host Disease Science Translational Medicine. 2015 Apr 1;7 (281).

D'Aveni M, Aïssi-Rothé L, Venard V, Salmon A, Falenga A, Decot V, Virion JM, Wang Y, Clement L, Latger-Cannard V, Tomowiak C, Stoltz JF, Bordigoni P, Bensoussan D. The clinical value of concomitant Epstein Barr virus (EBV)-DNA load and specific immune reconstitution monitoring after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation Transplant Immunology. 2011 May;24(4):224-32.

Classement des publications (total 29) dans des journaux avec comité de lecture

Classement général des publications	Journal	Nombre
Impact Factor>5	Blood Science Translational Medicine Leukemia Journal of Hematology and oncology (x2) Haematologica (x2) Journal of clinical immunology Autoimmunity reviews Frontiers in immunology (x3) Oncoimmunology Journal of cellular and molecular medicine	14
Nommée en rang utile (premier, deuxième, troisième, avant-dernier, dernier)	Science Translational Medicine Journal of Hematology and oncology Frontiers in immunology (x3) Oncoimmunology Journal of cellular and molecular medicine Cytotherapy International Journal of Medical Microbiology British journal of haematology Clinical Myeloma Lymphoma Leukemia (x2) Transplant immunology World clinical case report Journal of medical case report	15
Travail issu d'un encadrement d'étudiants en science	Frontiers in immunology (x3) Journal of cellular and molecular medicine	4
Travail issu d'un encadrement d'étudiants en médecine	Cytotherapy Clinical Myeloma Lymphoma Leukemia Acta Haematologica World clinical case report Journal of medical case report	5
Travail issu d'un groupe coopérateur national ou international	Blood Haematologica Journal of Hematology and Oncology Autoimmunity reviews Seminar in arthritis and rheumatism British journal of haematology Biology of bone marrow transplantation Bone marrow transplantation	8
Revue de la littérature	Frontiers in immunology Journal of cellular and molecular medicine	2

Classement des publications sur les 10 dernières années

Journal	Impact Factor	Rang SIGAPS	2023	2022	2021	2020	2019	2018	2017	2016	2015	2011	Points SIGAPS
Leukemia Lymph	2.996	D	Dernier auteur										soumis
Blood	25.476	A	1										soumis
Nature communications	17.7	A	k										soumis
Cytotherapy	5.414	C	AD										8
BMT	5.174	C	Dernier auteur										16
BJH	6.998	B	k										6
Leukemia	12.883	A	k										8
JMIR serious game	3.36	D	Dernier auteur										12
Acta Haematologica	3.068	D	Dernier auteur										12
Journal of Hematology and Oncology	23.168	A		1									32
Leukemia	12.883	A		k									8
Clinical Exp Med	4.29	C		k									4
World Journal of Clinical Case	1.7	E		Dernier auteur									8
iScience	6.107	B		k									6
Journal of Cellular and Molecular Medicine	5.3	C		Dernier auteur									16
Blood	22	A		k									8
Clin Myel Lymph Leuk	3.1	D			Dernier auteur								12
British Journal of Haematology	3.57	C			3 ^{ème} auteur								8
Frontiers in immunology	6.429	B			1 ^{er} auteur								24
Frontiers in immunology	6.429	B				1 ^{er} auteur							24
Blood advance	4.91	B				k							6
Frontiers in immunology	6.429	B				1 ^{er} auteur							24
BBMT	3.67	C				k							4
Autoimmunity reviews	7.67	A				k							8
Seminar in arthritis and rheumatism	4.751	B				k							6

Haematologica	7.53	A					k						8
Journal of Clinical Immunology	6.78	A					k						8
Oncoimmunology	5.87	B					3ème						12
Journal of Medical Case Report	0.620	E						1er					2
BBMT	4.484	C						k					4
Cytotherapy	4.297	C						Avant dernier					8
International Journal of Medical Microbiology	3.391	B							2ème				18
Bone Marrow Transplantation	3.87	C							k				4
Journal of Hematology and Oncology	6.26	A							k				8
Journal of Hematology and Oncology	6.26	A							1 ^{er}				32
Haematologica	6.67	A								k			8
European Journal of Immunology	4.03	B								k			6
Annales de Biologie Clinique	0.284	E								k			2
Science Translational Medicine	15.8	A									1 ^{er}		32
Transplant immunology	1.46	E										1 ^{er}	8
Total													420

Rang SIGAPS : La qualité de la publication est définie en fonction des facteurs d'impact des journaux de la même spécialité : A si le journal fait partie du top 10%, sinon B s'il reste dans le premier quart, sinon C s'il reste dans la première moitié, etc.

Chaque catégorie est affectée d'une pondération :

- 8 points pour les revues A
- 6 points pour les revues B
- 4 points pour les revues C
- 3 points pour les revues D
- 2 points pour les revues E
- un point pour les revues NC

La position parmi les co-auteurs est précisée dans la colonne de l'année de publication. « k » signifie : autre position que premier, deuxième, troisième, avant-dernier ou dernier.

Surligné en bleu : revue de la littérature

Ecrit en gras : article dont ma position est en rang utile (1,2, 3 ou Avant dernier ou Dernier)

1.3.2 Cas cliniques et lettres à la rédaction : rédactions de brèves à HEMATO.net (3/an de 2016 à 2020)

1.3.3 chapitres de livres et publications didactiques

Participation à la rédaction d'un "E-Book" de frontiers in immunology August 2021 "The Role of Hematopoietic Progenitors in Immune Regulation and Memory"

Participation à l'écriture du référentiel d'hématologie des collèges avec la Société Française d'Hématologie, 4ème Edition, conforme à la R2C 2021, Elsevier Masson

D'Aveni M (2022) et al. Immunology of allogeneic stem cell transplantation. Reference Module in Biomedical Science.

D'Aveni M (2021). Post-MDS fundation. Correspondances en Onco-hématologie

D'Aveni M (2017). Actualités dans la réaction du greffon contre l'hôte aiguë digestive. Correspondances en Onco-Hématologie, 12.

D'Aveni M (2017). Prophylaxie de la réaction du greffon contre l'hôte. Horizons Hémato, 7.

D'Aveni M et al. (2018). Risques infectieux chez le patient allogreffé de CSH (Handbook ed.)

Rubio and D'Aveni M (2013) et al. Immunology of allogeneic stem cell transplantation. Reference Module in Biomedical Science

1.3.4. Communications orales

Conférences invitées

Avril 2022, congrès de la Société Française d'Hématologie. « Les nouvelles thérapies dans la prise en charge des GVH (incluant thérapie cellulaire sauf la TMF) ».

Novembre 2021, congrès de la Société Francophone de greffe de moelle et thérapie cellulaire. « Les MDSC dans l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques ».

Juin 2019, congrès de la Société Française de Médecine Interne. « Fer et syndrome myélodysplasique ».

Octobre 2013, « Des modèles murins d'allogreffe de CSH », Rencontre Grand-Est en hématologie, ONCOLOR.

Communications sélectionnées

Novembre 2013 : congrès de la Société Française de Greffe de Moelle osseuse et Thérapie cellulaire.

Avril 2013 congrès European Bone Marrow Transplantation. Communication orale « Hematopoietic myeloid progenitor cells mobilized by G-CSF can inhibit GVHD». **Obtention d'un « Travel Grant »**

Mars 2013 congrès de la Société Française d'Hématologie. Communication orale « Un nouveau progéniteur myéloïde murin et humain mobilisé par G-CSF capable de diminuer la GVH ».

Mars 2012 congrès de la Société Française d'Hématologie. Communication orale « Des progéniteurs hématopoïétiques mobilisés par G-CSF capables de diminuer la GVH ».

1.3.5. Présentations affichées

Décembre 2013 congrès de l’American Society of Hematology- ASH “Phenotypic and Functional Characterization of a Novel Immature Hematopoietic Myeloid Suppressive cell Mobilized by G-CSF” **obtention d’un “abstract Achievement”**.

Décembre 2011 congrès de l’American Society of Hematology- ASH –“ Hematopoietic multipotent progenitor cells mobilized by G-CSF can inhibit GVHD”

Octobre 2011 congrès de la Société Française de greffe de moelle et de Thérapie Cellulaire « Hematopoietic multipotent progenitor cells mobilized by G-CSF can inhibit GVHD »

Octobre 2009, congrès de la Société Française de greffe de moelle et de Thérapie Cellulaire « The impact on clinical practice of concomitant Epstein Barr Virus PCR Monitoring and specific anti-EBV immune reconstitution after allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation »

Distinctions scientifiques

Thématique	Congrès	Année	Distinction
Projet de recherche	Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire	2016	2ème Prix association capucine
Communication affichée	American Society of Hematology	2013	Award achievement
Communication orale	European Bone Marrow Transplantation	2013	Travel Grant

Prix scientifiques

Domaine	Année	Distinction
Pédagogie Numérique	2019	Allocation d’une partie d’IDEFI-REMIS (ANR) pour le projet
Doctorat (PhD)	2010	Bourse MESR
Master 2	2009	Année recherche

Intégration dans la communauté scientifique

Groupe	Année d’intégration
Membre de la CSIRC : Commission Scientifique Inter-régionale de la Recherche Clinique	2020
Référente recherche Clinique du pôle de spécialités médicale au CHRU de Nancy	2019
Membre du Groupe Français des Myélodysplasies	2018
Membre de la Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire	2017
Membre du comité scientifique de Cryostem	2017

2. ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT

2.1 Formation personnelle à la pédagogie

- Certification SIDES depuis 2015
- Formation à la pédagogie : DIU de pédagogie médicale obtenue en 2019
- Participation aux Journées d'Accueil Commune des Assistants des Sciences Médicales (JACASM), « le camp des chefs » 2019.

2.2 Activité d'enseignement universitaire

-Faculté de Médecine

1^{er} cycle UE Tissu Sanguin en FGSM3 (UE coordonnée par le Pr FEUGIER) : en moyenne 10 heures par an

1^{er} cycle UE immunopathologie et immunointervention en FGSM3 (UE coordonnée par le Pr de CARVALHO) : 1 heure/an

2^{ème} cycle UE Hématologie en FASM2 (coordonnée par le Pr FEUGIER) : en moyenne 16 heures/an

3^{ème} cycle : DIU d'allogreffe (Paris) : 1h/an

Infirmières de pratique avancée (**coordination** du parcours hématologie M D'AVENI) : 6h/an

-Faculté des Sciences/ faculté de pharmacie

Master 1 BSIS option BIM: UE 7.305 d'Introduction à l'Ingénierie cellulaire : 1h/an

Master 1 UE 8.311 « Immunopathologie et immunothérapies » : 1h/an

Master 2 BSIS option BIMNS : UE 9.614 Ingénierie cellulaire : 2h/an

Master international de Biomédecine (IMBM), UE Therapeutic Potential of Stem cells: 3h/an

Cours magistraux et enseignements dirigés en L3 SpS bioingénierie et médicament : 2h+2h/an

-Faculté d'Odontologie (6heures/an de 2014 à 2018) Hématologie générale en DFGSO3 (Dr BISSON)

-En école d'infirmières (6 heures/ an de 2014 à 2018)

-A l'hôpital : Service d'Hématologie Clinique et Médecine Interne

Enseignement de sémiologie générale FGSM2 (10,5h/an de 2014 à 2018)

Étudiants Hospitaliers Préparation aux ECNi (**coordination de la formation dans le service** au lit du malade, cours et cas cliniques, et ECOS 12h/an).

Internes : cours, bibliographie (**coordination de la formation dans le service**, + 6 heures/an).

Score SIAPS :

	Année 2014- 2015	Année 2015- 2016	Année 2016- 2017	Année 2017- 2018	Année 2018- 2019	Année 2019- 2020	Année 2020- 2021	Année 2021- 2022	Total
Nb d'heures cours magistraux MED2 à MED6	1	2	13	13	21	17	20	20	107
Nb d'heures ED MED2 à MED6	13	13	13						39
Conférence internat au sein de la faculté de médecine	1								2
Nb d'heures cours magistraux 3 ^{ème} cycle (DESC, DU, DIU)			1		1	1	1	1	5
Nb d'heures cours MASTER	6	4	3	3	3	7	7	5	38
Nb d'heures cours paramédical facultaire	0	2	2	0	0	6	6	6	22
Nb d'heures cours paramédical extra-facultaire	3	6	5						7
Titulaire certification SIDES									3
DU de pédagogie					1				20
Journées formation pédagogie médicale						2			1
Participation à la rédaction d'un polycopié national								1	10
Production pédagogique numérique			1	4					15
Rédaction sujets examens fin d'année	1	2	3	3	3	8	8	13	82
Nombre de copies corrigées	90					24	24		2.76
Score SIAPS total									353.76

- Encadrement de travaux pédagogiques :

*Encadrement de thèses d'exercice : Esther Hazane-Leroyer (prévue pour avril 2023) ; Claire Michel soutenance le 3/10/22, Charles Guisnel soutenance le 6/05/22, Arnaud Campidelli (soutenance en 2016)

*Encadrement du mémoire d'IPA : Céline Kicki, validé mention TB (2021)

*Encadrement d'un mémoire de DES : Luciane Schirmer, validé (2017)

2.3 Activité d'enseignement hospitalier

Coordination/Responsable des CCU-AH pour assurer un travail sur les objectifs de la réforme du deuxième cycle d'études médicales avec les étudiants hospitaliers dans le domaine de l'hématologie. Mise en place des nouvelles méthodes pédagogiques et d'évaluation facultaire avec

Une après-midi par semaine sur l'apprentissage par problème,

Une après-midi par semaine sur les ECOS

Organisation d'une évaluation par ECOS à chaque fin de stage des étudiants en médecine

Coordination/ Responsable de la formation des internes en médecine dans le service d'hématologie du Pr Feugier avec un cours hebdomadaire et une séance de bibliographie mensuelle.

Participation aux réunions avec l'anatomopathologie bimensuelle.

2.4 Participation à des jurys de thèse en médecine et pharmacie

GUICHARD S , 2022, Signification clinique des gammapathies monoclonales au cours du syndrome VEXAS, Juge.

MICHEL C., 2022, Comparaison de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques haploidentique versus HLA 10/10 dans le cadre des syndromes myélodysplasiques de haut risque cytogénétique, **Directrice**

ZIEGLER C. 2022, Evaluation du dosage des antibiotiques chez les patients d'hématologie en aplasie longue durée, Juge

GUISNEL C. 2022, Etude de l'administration préventive d'injection de lymphocytes du donneur chez les patients allogreffés de cellules souches hématopoïétiques pour un syndrome myélodysplasique ou une leucémie aiguë myéloïde, **Directrice**

VESTRAETE E. 2020, Comparaison du TBF au conditionnement standard FluBu2 après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : une étude rétrospective, monocentrique, Juge

WANG V. 2020, Etat des lieux de la production académique des CAR-T cells, Juge

MBUYI T. 2020, Optimisation d'un panel d'immunophénotypage lymphocytaire par cytométrie en flux : caractérisation complémentaire des populations lymphocytaires et monocytaires au cours du suivi de la reconstitution immunitaire post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques périphériques, Juge

MARIAGE C. 2019, Création d'un parcours en HAD qui accompagne l'administration et la surveillance à domicile d'une chimiothérapie par BLINATUMOMAB chez le patient atteint de leucémie aigue lymphoblastique B Phi - réfractaire ou récidivante, Juge

DIVOUX M. 2019, Etude rétrospective de l'impact des immunoglobulines de lapin antithymocytes humain fresenius (Grafalon) utilisées en prophylaxie de la GvHD chez des patients atteints d'hémopathie maligne allogreffés à partir d'un donneur non apparenté après un conditionnement myeloablatif, Juge

VINUELA V. 2017, Etude des complications de la granulomatose septique chronique chez les patients suivis au CHU de Nancy depuis 40 ans, Juge

CAMPIDELLI A., 2016, Comparaison de trois types de conditionnement avant allogreffe de cellules souches hématopoïétiques pour le traitement des syndromes myélodysplasiques de haut risque, **Directrice**.

2.5 Innovation et recherche pédagogiques

- Création d'un nouveau support pédagogique par le jeu sérieux en hématologie. A l'issue du DIU de pédagogie médicale, avec dépôt d'invention en 2020, « SUPER HEMO ». Logiciel de type jeu vidéo évolutif, sur l'hématologie générale, pour aider à l'apprentissage de la discipline.

Collaborateurs :

Dr PERRIN (Faculté de Pharmacie)

Dr GRAVOULET (Faculté de Pharmacie)

Dr BROSEUS (Faculté de Médecine)

Pr FAIVRE (Collegium Santé, Faculté de Pharmacie)

- Obtention de financements au titre de la pédagogie : obtention d'un financement de la faculté de médecine et de l'investissement de 70000€ de la part d'IDEFI-REMIS (initiative d'excellence en formations innovantes) soutenue par l'ANR pour le financement de SUPER HEMO, par le soutien du doyen de la faculté de pharmacie.

-Communication orale au Congrès international francophone de pédagogie en sciences de la santé (SIFEM), juin 2022, communication affichée lors des États Généraux de la Formation de la Recherche Médicales, septembre 2022 au Campus Saint-Germain-des-Prés, et article soumis en juin 2022 dans une revue internationale « JMIR serious game ».

SUPER HEMO® : Stratégie Universitaire Pour l'Enseignement et la Réflexion en Hématologie, un jeu vidéo sérieux.

Julien Perrin^{1,3}, Amélie Meeus¹, Julien Broséus^{2,3}, Béatrice Faivre¹, Julien Gravoulet¹, Maud D'Aveni^{2,3}

(1) Faculté de pharmacie, Université de Lorraine, F-54000, Nancy

(2) Faculté de Médecine, Maïeutique et métiers de la Santé, Université de Lorraine, F-54000, Nancy

(3) Centre Hospitalier Régional Universitaire de Nancy

Résumé

Problématique: L'hémogramme est un des examens de biologie les plus prescrits. Sa juste interprétation est nécessaire à de nombreux professionnels de santé. A l'Université de Lorraine, environ 250 heures d'enseignement en hématologie sont annuellement dispensées à 2700 étudiants. Une enquête interne objective que les étudiants considèrent cette spécialité comme une matière difficile (54%) ou très difficile (29%). Pour améliorer l'apprentissage des étudiants, les jeux sérieux ont montré un intérêt avec le développement récent de jeux-vidéos.

Objectif : Nous avons développé puis évalué un jeu sérieux en hématologie avec pour objectifs : proposer une approche pédagogique ludique ; développer la capacité de raisonnement de l'étudiant face à un hémogramme pathologique ; approfondir/illustrer ses connaissances par l'observation des principales cellules normales et anormales du sang.

Matériel et Méthode : L'élaboration du jeu s'est déroulée en conception participative avec des «experts pédagogiques» et des «experts ludiques». Une évaluation du gain de connaissances en mémoire immédiate (pré et post-test) et mémoire à moyen terme (résultats universitaires) ainsi que la satisfaction des étudiants a été conduite chez 86 volontaires parmi 324 en médecine (26.5%) et 67 volontaires parmi 115 en pharmacie (58%). Tous étaient en 3^{ème} année de formation générale (DFGSM3 et DFGSP3) et avaient achevé l'enseignement en hématologie.

Résultats : SUPER HEMO® est un jeu vidéo qui permet une scénarisation graphique avec des objectifs de difficulté croissante et un système de récompense pour le joueur quand il atteint ses objectifs. L'évaluation du gain de connaissance en mémoire immédiate indique une amélioration statistiquement significative, avec une progression de la note médiane pré-test et post-test (6 vs 7/10 en DFGSM3, $p < 0.01$ et 7,5 vs 8/10 en DGSP3, $p < 0.01$). A l'examen universitaire d'hématologie, les étudiants de DFGSM3 ayant joué à SUPER HEMO® affichent des résultats significativement meilleurs que le reste de la promotion (note médiane : 13/20 vs 12/20, $p < 0.01$) ; pour les étudiants en DFGSP3 des meilleures notes sont aussi observées, bien que non statistiquement significatives (note médiane : 21.75/30 vs 20/30, $p = 0.12$). Sur l'ensemble des participants ayant répondu au questionnaire ($n = 143$), plus de 86% pensent avoir renforcé leurs connaissances et près de 80% se sont amusés.

Discussion et conclusion : SUPER HEMO® est le premier jeu vidéo sérieux en hématologie rapporté dans la littérature. Il permet d'améliorer les connaissances en mémoire immédiate et à moyen terme. Ce nouvel outil hébergé sur le site de l'université pourrait se développer dans d'autres universités et s'élargir à d'autres domaines de la santé.

Mots clés : Hématologie, jeu sérieux, évaluation.

2.6 Valorisation des travaux d'encadrement des étudiants

2.6.1 Encadrement d'étudiants au laboratoire de recherche

Encadrement	Etudiant	Niveau	Temps de stage	Valorisation	Position dans les co-auteurs
Directrice de stage	Océane Blaise	Master 1	Mars à mai 2022	-validation du diplôme de M1 mention TB	
Directrice de stage	Julie Rayet	Licence professionnelle	Février à août 2021	-validation diplôme avec mention TB -Maturation de Brevet →	M.D'Aveni porteur principal (80%)
Co-direction (ACT)	Allan Bertrand	Thèse d'université	Oct 2020 à 2023	<i>Travail en cours</i>	
Co-direction (ACT)	Thomas Moulinet	Thèse d'université	PHU (mi-temps)	<i>Travail en cours</i>	
Co-direction (ACT)	Anne-Béatrice Notarantonio	Thèse d'université	Nov 2017-2021	-soutenance thèse le 25/11/21, mention TB félicitations du jury -Publications 1/ Une revue de la littérature ¹ : → <i>Front Immunol. 2020 May 22;11:989.</i> 2/ Articles originaux ² → <i>Front Immunol. 2021 Feb 12;11:607180 fruit d'une collaboration avec Dr Flora ZAVALA Necker</i> + <i>Un article en préparation, soumission prévue à Leukemia</i> → 3/Prix de la meilleure communication orale → FILO 2020 4/Brevet (SATT Sayens) e-MDSC →	M.D'Aveni : 1 ^{er} auteur AB Notarantonio : co-1 ^{er} M.D'Aveni : 1 ^{er} auteur AB. Notarantonio : 2 ^{ème} AB Notarantonio : 1 ^{er} M.D'Aveni : dernier auteur AB Notarantonio : 1 ^{er} M.D'Aveni : dernier auteur M.D'Aveni porteur principal (80%)
Co-direction (ACT)	Cécile Pochon	Thèse d'université	PHU (mi-temps)	-soutenance thèse 14/09/2022 -Publications 1/ Une revue de la littérature ³ : → <i>J Cell Mol Med . 2022 Jan 28.</i> 2/ Article original <i>Un article en préparation, avec soumission Blood</i> → 3/Prix de la meilleure communication orale → SFGM-TC 2018 4/Transfert vers la recherche clinique Obtention de 2 PHRC-I en 2020 : un PHRC-I (porteur C.Pochon) sur les cellules stromales mésenchymateuses dans le COVID 19 (COVID-CSM ») et obtention d'un PHRC-I (porteur M.D'Aveni) sur les cellules stromales mésenchymateuses dans la GVH (« HAPLO-GEL »)	C.Pochon : 1 ^{er} M.D'Aveni : dernier auteur C.Pochon : 1 ^{er} M.D'Aveni : dernier auteur C.Pochon : 1 ^{er} M.D'Aveni : dernier auteur
Directrice de stage	Allan Bertrand	Master 2	Janvier-juin	Obtention du diplôme avec mention B.	

			2020	Obtention d'une bourse MESR, classé 4/16 Publications : 1/ Une revue de la littérature¹ :  M.D'Aveni : 1^{er} A.Bertrand : 2^{ème} 2/ Article original  M.D'Aveni : 1^{er} A.Bertrand : 3^{ème} <i>Front Immunol. 2020 May 22;11:989.</i> <i>Front Immunol. 2021 Feb 12;11:607180 fruit d'une collaboration avec Dr Flora ZAVALA Necker</i>	
Co-directrice de stage	Anne-Béatrice Notarantonio	Master 2	Janv-juin 2017	Obtention du diplôme mention B.	
Directrice de stage	Fatouma Salem	Master 2	Janv-juin 2017	Obtention du diplôme mention AB	
Co-directrice	Fatouma Salem	Master 1	Mars-avril 2016	Validation	
Co-directrice	Guillemette Fouquet	Master 2	Janv-juin 2014	Obtention du diplôme mention B Article original⁴  M.D'Aveni : 1^{er} G.Fouquet : 8^{ème} <i>Front Immunol. 2020 Dec 23;11:607175</i>	

2.6.2 Encadrement d'étudiants en médecine 3^{ème} cycle

Encadrement	Etudiant	Niveau	Temps	Valorisation	Position dans les co-auteurs
Co-directrice	Esther Hazane Leroyer	Thèse de médecine	2021-2022	Communication orale à l'ASCO 8/12/2021 Soutenance prévue en avril 2023 Article original en préparation	
Directrice	Claire Michel	Thèse de médecine	2021-2022	Soutenance le 3 octobre 2022 Article soumis à Bone Marrow Transplantation	C.Michel : 1 ^{er} auteur M.D'Aveni : dernier auteur
Directrice	Charles Guisnel	Thèse de médecine	2021-2022	Soutenance le 6 mai 2022 Article soumis à Acta Haematologica, en révision	C.Guisnel : 1 ^{er} auteur M.D'Aveni : dernier auteur
Co-encadrement	Emma Verstraete	Thèse de médecine	2019-2020	Soutenance en octobre 2020, doctorat obtenu avec mention TB et félicitations du jury Article soumis à Transplantation	E.Verstraete : 1 ^{er} auteur M.D'Aveni : dernier auteur
Directrice	Arnaud Campidelli	Thèse de médecine	2015-2016	Soutenance en octobre 2016, doctorat obtenu avec mention TB et félicitations du jury Article original publié ⁵ : Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2021 Jul 31:S2152-2650(21)00310-4	A.Campidelli : 1 ^{er} auteur M.D'Aveni : dernier auteur
Encadrement de stage	Laurence Schenone	4 ^{ème} année	2021	Article publié World journal of clinical case 2022	L.Schenone: 1er auteur M.D'Aveni: dernier auteur
Co-encadrement de stage	Arnaud Camplidelli	4 ^{ème} année	2016	Article original publié ⁶ : Cytotherapy. 2018 Feb 26	A.Campidelli: 1er auteur M.D'Aveni: avant dernier
Encadrement de stage	Marion Divoux	3 ^{ème} année	2017	Article original publié : J Med Case Rep. 2018 Jun 12;12(1):164	M.D'Aveni: 1er auteur M.Divoux: 2ème auteur

3. RECHERCHE

3.1 Recherche Fondamentale

3.1.1 : Développement d'une thématique de recherche sur l'hématopoïèse en conditions pathologiques (mobilisation par le GCSF) : thèse d'université et développement d'une collaboration.

La greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) allogéniques demeure le seul traitement curatif de nombreuses hémopathies malignes. L'effet anti-tumoral de cette approche d'immunothérapie cellulaire, appelé effet du Greffon contre la Leucémie (GVL) est souvent associé au développement d'une réponse T cytotoxique dirigée contre les tissus sains du receveur. Cette réaction, appelée la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) est responsable de lésions cutanées, digestives et hépatiques qui peuvent se compliquer d'une morbidité et mortalité élevées (Figure 1).

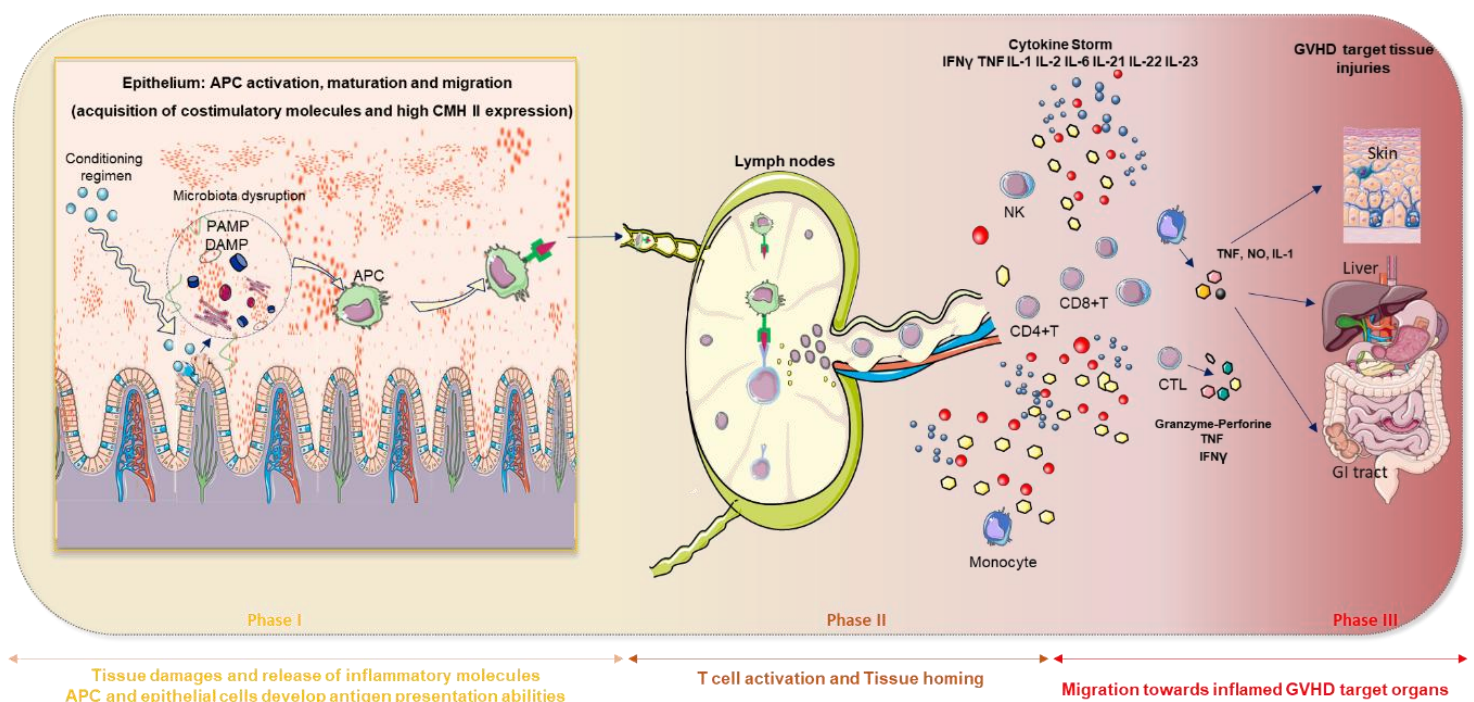


Figure 1 : Physiopathologie de la GVH (D'Aveni et al. Reference Module in Biomedical Science, 2022).

Les dommages tissulaires du conditionnement de la greffe créent un contexte pro-inflammatoire qui va faire maturer les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) hématopoïétiques (donneur+receveur) et les cellules épithéliales (receveur) qui acquièrent des propriétés de CPA. La présentation des antigènes aux lymphocytes T (LT) exprimant le cluster de différenciation (CD)4 et CD8 est alors optimale. Le LTCD4 joue un rôle pivot dans l'orientation de la réponse immune par la sécrétion de cytokines inflammatoires, responsable d'un orage cytokinique entraînant le recrutement de cellules effectrices. Les cellules effectrices activées et les cytokines inflammatoires engendrent des lésions de GVH.

L'allogreffe de CSH est de plus en plus souvent réalisées avec des greffons mobilisés par un facteur de croissance appelé le Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF). Malgré la présence de dix fois plus de LT dans ces greffons comparativement aux greffons de moelle osseuse, l'incidence de la GVH aiguë est comparable. Les premières explications avancées furent que le G-CSF enrichissait le greffon en LT immunomodulateurs⁷. Mais certaines cellules myéloïdes acquièrent aussi des propriétés régulatrices. C'est dans ce contexte que j'ai débuté mon sujet de Master 2 puis de thèse d'université dans le laboratoire du Professeur Hermine, co-direction avec le Professeur Marie-Thérèse Rubio, à l'hôpital Necker, CNRS.

3.1.1.1 Les cellules myéloïdes suppressives ou « Myeloid-Derived Suppressor Cells » (MDSC), travail de thèse d'université

Depuis les années 1990, des équipes ont décrit chez la souris, la présence de cellules immunosuppressives après l'administration sous-cutanée de G-CSF ou après allogreffe de CSH. Ces cellules constituent une population très hétérogène en morphologie, phénotype et fonctionnalité et sont maintenant communément appelées les MDSC pour cellules myéloïdes suppressives⁸. Chez la souris, les MDSC sont classiquement décrites CD11b+ (Mac-1) et Gr1+ (Ly6G/Ly6C)⁹. Elles sont plutôt de type granulocytaire si elles expriment le Ly6G ou monocytaire si elles expriment le Ly6C. Chez l'homme, les MDSC sont Lin-, HLA-DR-, CD11b+ CD33+ de type granulocytaire CD15+ ou monocytaire CD14+^{9,10}.

Au moment de ma thèse d'université, peu de publications identifiaient précisément les MDSC dans les greffons de CSH mobilisés par du G-CSF chez l'homme¹¹. Les quelques études disponibles étaient essentiellement réalisées chez la souris et décrivaient des cellules immunosuppressives sans identifier de contrepartie humaine ou avec un mécanisme d'action peu clair¹²⁻¹⁴.

Mon travail de thèse a donc permis d'observer que l'administration sous-cutanée de G-CSF chez la souris, fait émerger une population hématopoïétique dans la rate que l'on peut qualifier (sur des arguments phénotypiques) "d'immature", c'est à dire dépourvue de marqueurs de quelque lignée hématopoïétique (ni lymphocytaire, ni érythrocytaire, ni myélo-monocytaire). Elle exprime, en revanche, les protéines cKit+, Sca-1+ et CD34+ classiquement exprimées en surface des cellules souches hématopoïétiques et des progéniteurs multipotents. En triant cette fraction Lin-, cKit+, Sca-1+ CD34+ pour étudier ses propriétés *in*

vitro, nous nous sommes aperçus que mise en co-culture avec soit des LT régulateurs (Tregs) soit des LT conventionnels activés, elle pouvait respectivement augmenter la prolifération de LT régulateurs et diminuer la prolifération de LT conventionnels. La première observation vis à vis des LT régulateurs était connue du laboratoire d'accueil dans le modèle de la souris diabétique (Non Obese Diabetic ou "NOD")^{15,16}. En revanche, l'interaction avec les LT conventionnels et notamment la régulation de leur prolifération n'était pas connue. Nous avons donc dans un premier temps caractérisé au mieux phénotypiquement et morphologiquement les cellules contenues dans la fraction Lin⁻ CD34⁺ cKit⁺ et Sca1⁺ après mobilisation par G-CSF. Nous avons montré que cette fraction contenait en réalité deux populations cellulaires (figure 2).

La première population correspondait à une population myéloïde (Lin⁻ CD34⁺ CD33⁺ CD11b⁺) exprimant faiblement des marqueurs monocytiques (CD14⁺), jamais décrite au préalable dans la littérature, qui a fait tout l'objet du travail exposé dans l'article original¹⁷ publié à l'issue de cette thèse dans Science Translational Medicine 2015 Apr 1;7 (281). Parmi les cellules Lin⁻ CD34⁺ cKit⁺ et Sca1⁺, seule cette population acquiert des propriétés de régulation de la prolifération des LT conventionnels lorsqu'elle entre en contact avec des LT activés. La deuxième population correspond à des progéniteurs multipotents, dont le travail sera développé dans le cadre d'une collaboration avec le Dr Flora ZAVALA.

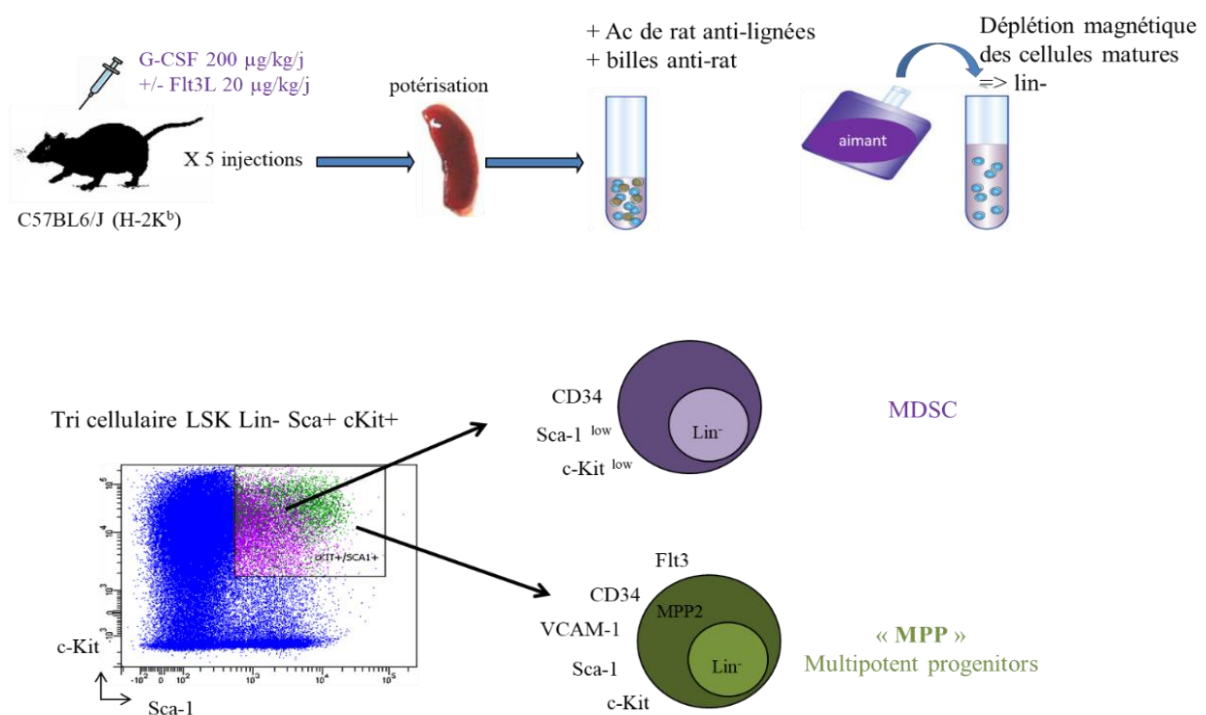


Figure 2 : Emergence de cellules myéloïdes sous l'effet du G-CSF +/- FLT3-L dans la rate des souris.

Deux sous-types cellulaires nouvellement apparus : les MDSCs (travail de thèse) et des MPP mobilisés (collaboration ultérieure avec le Dr F.Zavala).

Au cours du travail de thèse, nous avons

-d'une part défini cette population cellulaire immunosuppressive au sein de l'hématopoïèse murine par une analyse morphologique, phénotypique et une étude transcriptionnelle comparativement à d'autres cellules, de la lignée myélo-monocytaire, douées ou non de propriétés immunosuppressives. Nous avons pu conclure qu'elle correspondait à une population monocyttaire (appelée monocyte CD34+). Cette population exprime des marqueurs d'immaturité et des marqueurs monocytaires. Elle est, selon une analyse transcriptomique, distincte des précurseurs hématopoïétiques de la lignée myélo-monocytaire puisqu'elle exprime un programme proche des monocytes matures (figure 3, analyse réalisée en collaboration avec l'équipe de Ronjon Chakraverty à Londres).

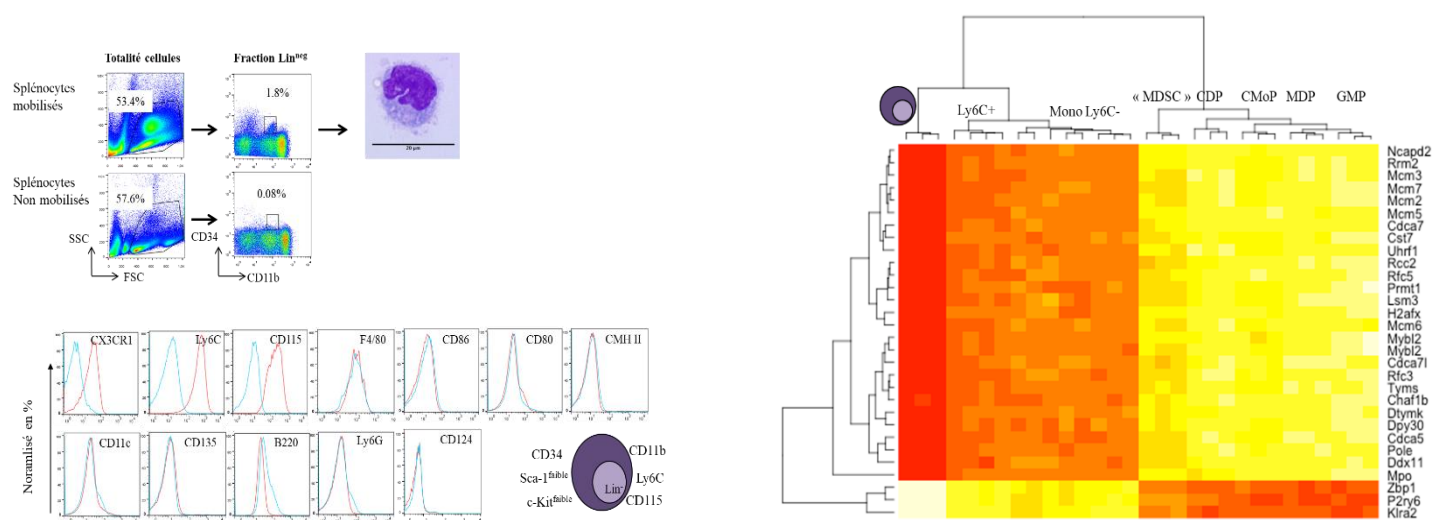


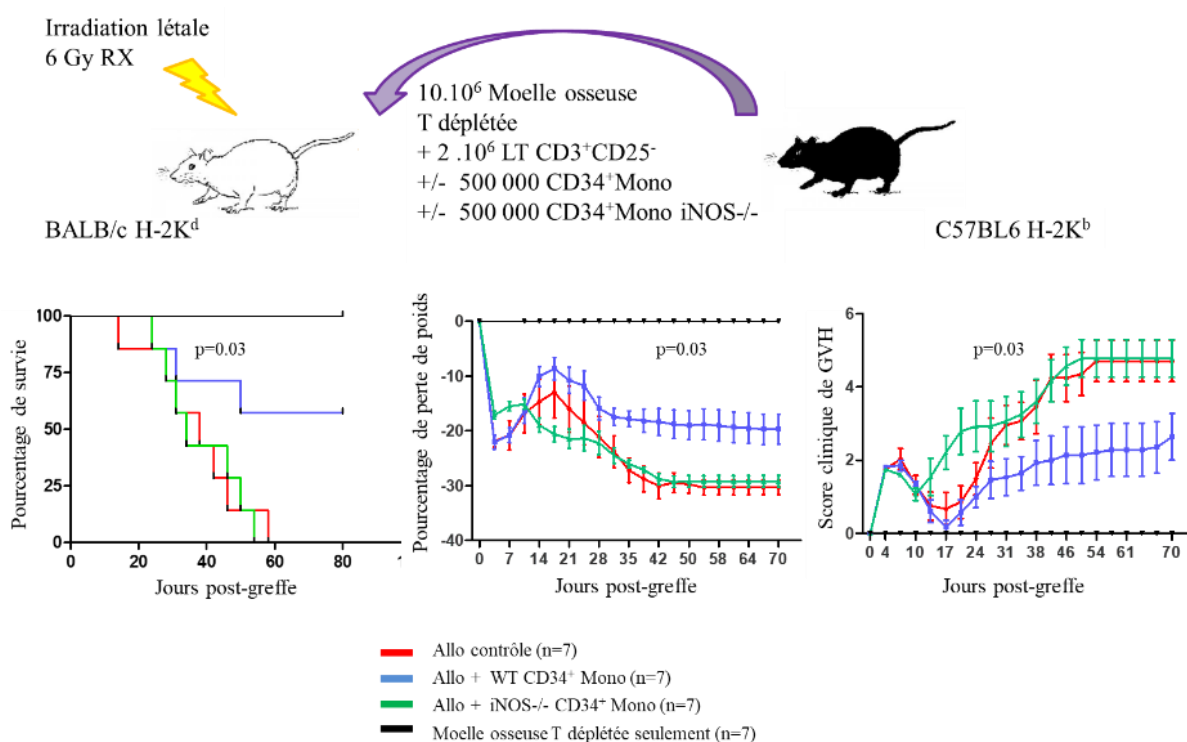
Figure 3 : Les cellules myéloïdes obtenues dans la rate de souris après mobilisation par G-CSF.

A droite : Phénotype des cellules mobilisées par du G-CSF obtenues dans la rate après 5 jours : cKit+, Sca-1+, CD34+, CD11b+, CD115+, absence de marqueurs de costimulation (CD80, CD86, CMH II).

A gauche : Analyse transcriptomique des cellules obtenues cKit+, Sca-1+, CD34+, CD11b+, CD115+. Les cellules sont sur le plan transcriptomique plus proches des cellules monocytaires matures (mais distinctes) que les progéniteurs myéloïdes (les « MDSC » correspondent à des cellules obtenues selon la technique de l'équipe de B.Blazar¹⁸ en induisant ces cellules à partir de moelle osseuse en culture avec du G-CSF, GM-CSF, IL-13 ; les autres cellules ont été triées à partir de la moelle osseuse de souris, à l'état basal : Common Dendritic Progenitor-CDP ; Common Monocytic Progenitor-CMoP ; Mono-dendritic Progenitor-MDP ; Granulomononuclear progenitor-GMP).

- d'autre part, nous avons identifié les mécanismes par lesquels ces monocytes CD34+ mobilisés permettent de réguler la prolifération des LT activés chez la souris. *In vitro*, les monocytes CD34+ étaient capables d'inhiber la prolifération des LT activés, par un

mécanisme dépendant du contact cellulaire et de la sécrétion d'interféron (IFN)- γ par les LT. De plus nous observions que les LT (en co-culture avec les monocytes CD34+) exprimaient en fin de culture plus de marqueurs d'apoptose de type Annexine V. Nous avons donc essayé de bloquer ce mécanisme immunosuppresseur en bloquant des enzymes essentielles à la survie et à la prolifération des LT activés telles que l'arginase 1 (inhibiteur chimique Nor-NOHA) et la synthase inductible du monoxyde d'azote ou iNOS (inhibiteur chimique L-NMMA). L'adjonction uniquement de L-NMMA inhibait complètement les propriétés immunosuppresseuses des monocytes CD34+, suggérant un mécanisme immunomodulateur en lien avec iNOS. *In vivo*, la co-injection de LT ($2 \cdot 10^6$ CD3/souris) et de CD34+ monocytes ($0,5 \cdot 10^6$ /souris) protégeait la souris receveuse allogreffée de moelle osseuse d'une GVH aiguë sévère (figure 4). Cette régulation de l'incidence et de la sévérité de la GVH aiguë n'était plus observée lorsque les CD34+ monocytes, co-injectés au moment de la greffe de moelle osseuse, étaient issus de souris invalidées pour iNOS (souris iNOS knock out KO).



Nous avons d'ailleurs été confronté à la problématique du rôle du monoxyde d'azote, qui selon la littérature, est plutôt pourvoyeur de dommages tissulaires dans la GVH. Quel était son rôle dans notre modèle ? Nous avons suggéré que le monoxyde d'azote était capable

d'induire l'apoptose des LT allogéniques. *In vivo*, les LT apoptotiques objectivés dans les ganglions et le sang de la souris receveuse, étaient phagocytés par les macrophages du receveur capables alors de devenir tolérogènes en produisant du TGF- β et ainsi d'induire des LT régulateurs.

-enfin, nous avons mis en évidence à partir de greffons de CSH mobilisées par du G-CSF chez des donneurs volontaires sains qu'il existait une contrepartie cellulaire équivalente chez l'Homme (figure 5). Au sein des cellules mobilisées par du G-CSF (appelées CSP pour Cellules Souches Périphériques) nous avons trié les cellules correspondant au phénotype de cellules myéloïdes suppressives sur les critères suivant : cellules dépourvues de marqueurs de lignée lymphoïde (CD3-, CD19-) et de molécules HLA-DR, et co-exprimant CD11b et CD33+, avec l'expression de CD14+ pour la fraction monocytique. Dans nos expériences de co-culture, pour tester *in vitro* les propriétés immunosuppressives de ces cellules, seule la fraction CD34+ était capable de réguler la prolifération des LT activés. Cette régulation était dépendante du contact cellulaire et était totalement inhiber par l'adjonction de L-NMMA dans la culture. Nous avons donc conclu, que la contrepartie humaine des CD34+ monocytes était définie comme : Lin-, HL-DR-, CD34+, CD11b+, CD33+ et CD14+.

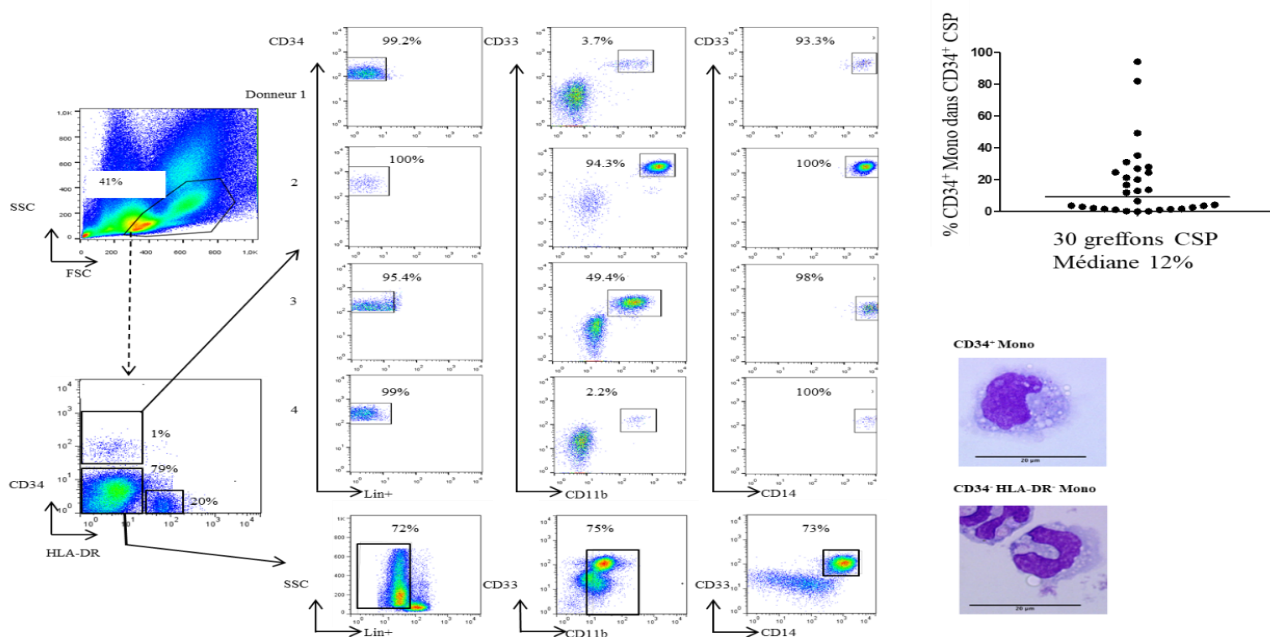


Figure 5 : hétérogénéité de la fraction CD34+ monocytes au sein des cellules mobilisées par du G-CSF.

(A) Les greffons de CSH mobilisés par du G-CSF ont été analysés par cytométrie en flux. Parmi la fraction HLA-DR⁻, nous distinguons la fraction CD34⁺ et CD34⁻. Dans la fraction CD34⁺, la population cellulaire HLA-DR⁻ Lin⁻ contient une population qui co-exprime CD11b, CD14, et CD33, appelée CD34⁺ monocytes (CD34⁺ Mono). Analyse de 4 donneurs différents (HD1 à 4).

De façon identique, nous identifions dans la fraction CD34⁻, la population cellulaire HLA-DR⁻ Lin⁻ et au sein de celle-ci une sous-population co-exprimant CD11b, CD33, et CD14.

Analyse morphologique en May-Grünwald-Giemsa

(B) Proportions de CD34⁺ Mono dans la fraction CD34⁺ de 30 greffons (médiane 12%; moyenne 17.5%).

Après mise au point d'un modèle murin de xéno-GVH, c'est-à-dire dans la souris profondément immunodéprimée dite « NSG » ou NOD/SCID/Gamma-c KO qui permet de réaliser une allogreffe de CSH humaines, le transfert adoptif de cette population purifiée Lin⁻, CD34⁺, CD11b⁺, CD33⁺ CD14⁺ protège le receveur de la GVH aiguë.

Une étude pilote sur 19 patients a permis aussi d'observer chez l'Homme que lorsque la fraction CD34⁺ du greffon contient plus de 12% de monocytes CD34⁺, les receveurs ont une incidence cumulée à J100 post-greffe statistiquement plus faible de GVH aiguë. Finalement, nous avons conclu que ces CD34⁺ monocytes répondent à la définition de cellules myéloïdes suppressives ou « MDSC », Myeloid Derived Suppressor Cell. En effet, les cellules myéloïdes appelées cellules myéloïdes suppressives ou « MDSC » constituent une population très hétérogène en morphologie, phénotype et fonctionnalité. Chez l'homme, les MDSCs ont un phénotype défini par l'absence de marqueurs de lignées lymphoïde (Lin⁻), et l'absence d'expression de HLA-DR. En revanche elles co-expriment des marqueurs myéloïdes peu

spécifiques (CD11b⁺ CD33⁺) avec des niveaux d'expression très variable d'un modèle à l'autre. Elles ont surtout des propriétés immunosuppressives en inhibant la prolifération des LT.

Ces résultats ont été depuis renforcés par de nombreuses publications récentes qui observent une corrélation entre la richesse du greffon en cellules myéloïdes suppressives et l'incidence diminuée de la GVH aiguë chez les receveurs¹⁹⁻²². Par ailleurs, la littérature s'étoffe de publications, parfois contradictoires, faisant état d'une corrélation entre l'émergence de MDSC dans la reconstitution immunitaire post-greffe et l'incidence de la GVH^{23,24} et/ou la rechute²⁵ et/ou les infections opportunistes²⁶. Toutes ces données publiées par différentes équipes dans le monde ont été résumées et publiées dans une revue de la littérature en 2020 co-écrite avec AB Notarantonio doctorante lors du co-encadrement de sa thèse d'université¹ (D'Aveni et al. Front Immunol. 2020 May 22;11:989).

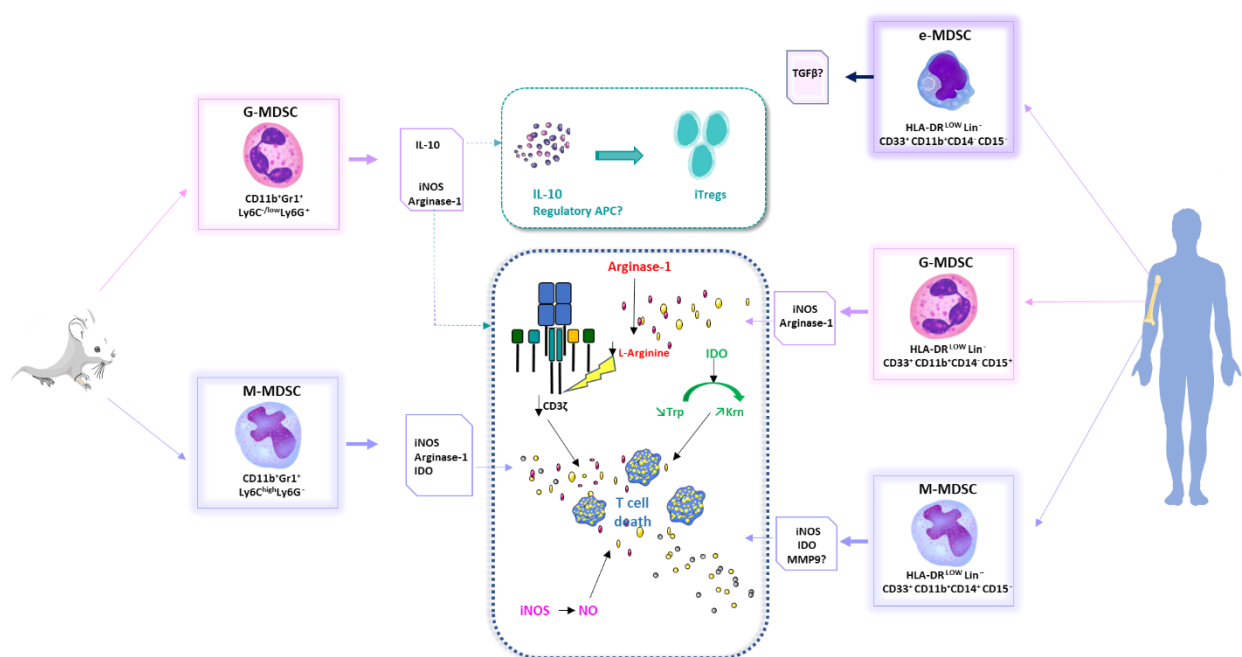


Figure 6 : Revue de la littérature sur les MDSCs chez la souris et l'homme dans le contexte de l'allogreffe de CSH (D'Aveni et al. Front Immunol. 2020 May 22;11:989)¹

Chez la souris, les MDSC sont décrites CD11b⁺ Gr1⁺, avec l'identification de 2 sous-types : granulocytaire Ly6G⁺ et monocyttaire Ly6C⁺.

Chez l'Homme, les MDSC sont décrites HLA-DR^{low} Lin⁻, avec l'identification de 3 sous-types : les « early-stage » ou « e-MDSC », les granulocytaires CD15⁺ et les monocytaires CD14⁺.

3.1.1.2 Progéniteurs multipotents (MPP) mobilisés, travail collaboratif

La deuxième population cellulaire observée après mobilisation par du G-CSF chez la souris C57BL/6 correspondait à la population préalablement décrite dans le laboratoire du Dr Zavala

dans la souris NOD: lin- Sca-1+ cKit+ CD34+ avec un phénotype de progéniteur multipotent (Flt3+, V-CAM+) et publiée par son équipe (Kared et al. Immunity 2006; 25: 823-34 et Kared et al. Blood 2008; 112: 2575-8)^{15,16}.

Cette population cellulaire était également capable dans le fond génétique C57BL/6 d'augmenter la survie/prolifération des LT régulateurs activés *in vitro* (figure 7). Malheureusement, contrairement à ce qui avait été démontré chez la souris de fond génétique NOD, chez la souris C57BL/6, l'augmentation de prolifération des Tregs n'était pas dépendante de Jagged 2/Notch 3 ou GM-CSF-CD116. Plusieurs expérimentations *in vitro* pour neutraliser des mécanismes supposés tels que: TGF- β , IL-10, CD80, CD86, CD40, OX40, ICOS, ou GITR n'ont pas annulé l'effet observé sur la survie et la prolifération des Tregs.

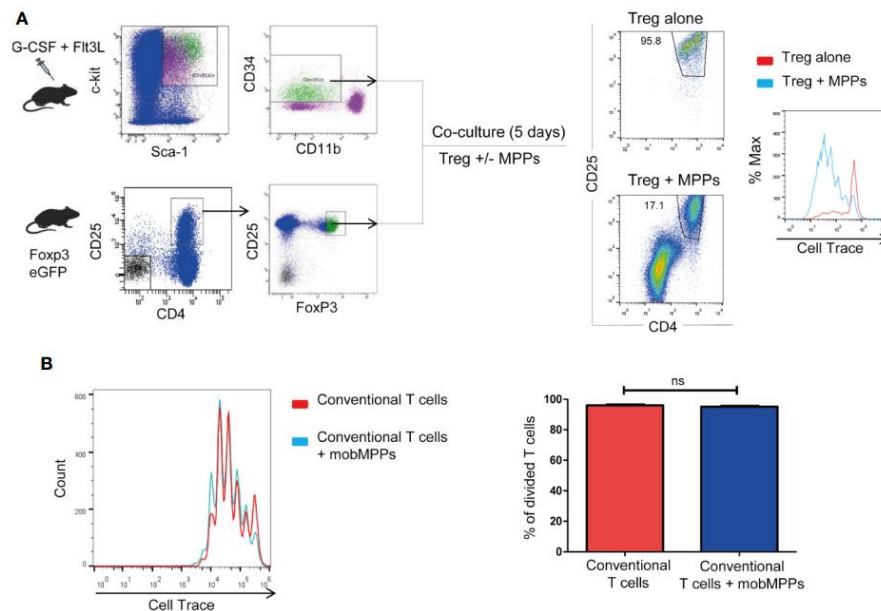


Figure 7. Co-culture des MPP mobilisés avec les lymphocytes T4.

A. Les MPP augmentent la prolifération des LT régulateurs naturels (CD4+, CD25+ foxp3+) cultivés *in vitro*
 B. Les MPP ne modifient pas la prolifération des lymphocytes T CD4+ CD25- conventionnels.

En l'absence d'hypothèse évidente pour le mécanisme impliqué dans l'augmentation de la prolifération des Tregs par les MPP, nous avons réalisées un microarray sur les Tregs triés après 4 jours de culture. Nous avons étudié les Tregs activés en anti-CD3 et anti-CD28, comparativement aux Tregs activés en anti-CD3 et anti-CD28 et en présence de MPP. L'analyse du transcriptome a pris beaucoup de temps, et a été finalement analysée avec la collaboration du Dr Sébastien Hergalant (Université de Lorraine, Inserm U1256, NGERE) (figure 8). Sur 21,108 gènes uniques, l'analyse non supervisée de clustering objectivait clairement 2 groupes. Une analyse compilée avec GO, Reactome et EnrichR, a permis d'identifier que les gènes sous-exprimés dans les Tregs co-cultivés avec les MPP étaient

impliqués dans la régulation de l'apoptose, la voie non canonique de Wnt et du TCR (liaison et signalisation). De même, les gènes du cycle cellulaire et notamment de réplication durant la phase S et ceux de la synapse immunologique (adhésion) étaient diminués, ce qui était compatible avec des cellules en prolifération accrue. Par ailleurs, des voies de signalisation de la réponse inflammatoire étaient surexprimées : complexe CMH, réponse aiguë inflammatoire et signalisation cytokinique, TNF α et les interactions cytokine- récepteur de cytokine (IL-1 β).

Après une analyse plus restreinte, nous nous sommes intéressés à 291 gènes différentiellement exprimés entre les 2 groupes (FDR < 0.05), dont 122 sous-exprimés et 169 sur-exprimés pour les Tregs en co-culture avec les MPP. Parmi les gènes les plus surexprimés, nous observons Lyz1 and Lyz2 (35.8-fois et 23.1-fois, respectivement), codant pour les lysozymes en lien avec le facteur de transcription C-MYB. D'autres gènes, tels que Ccl6 (20-fold), codant pour les CC chemokines impliquées dans le recrutement de cellules myéloïdes, et Mcpt8 (24.1-fold), impliquées dans la voie de l'apoptose médiée par granzyme et Csf2rb (9.8-fold), codant pour la sous-unité commune de type I du récepteur aux cytokines GM-CSF, IL-3, and IL-5, étaient très augmentés dans les Tregs cultivés avec les MPPs. En revanche, une franche diminution a été observée sur les gènes tels que Nrep (-4.1-fold), jouant un rôle dans la régulation de la voie de signalisation du récepteur au transforming growth factor beta receptor, Evl (-1.8-fold), hautement exprimés dans les leucocytes tout comme Igfbp4 (-2.5-fold), connu pour coder pour un facteur apoptotique réduisant la croissance de certains cancers, ou Bcl2l11 (-2.3-fold), codant pour un activateur de BIM, qui lorsqu'il est déficient, augmente la survie et l'accumulation des Tregs .

Pour les Tregs cultivés, un haut niveau d'expression était observé pour Cd4, Il2ra (CD25), Il17ra (CD127), Il2rg, Ptprc (CD45), Tcrb-J, Foxp3, Foxo1, Foxo3, Lef1, Ctla4, Stat3, Cdkn1a (p21), Tgfb1, Tnfrsf1b, Tnfrsf4 (Ox40/CD134), Tnfrsf18 (Gitr), Ikzf2 (Helios), Ikzf1 (Ikaros), Nr4a3, Hif1a, and Cd28. Parmi ces gènes hautement exprimés, on observe une expression encore plus élevée après co-culture avec MPP (> 1.7-fold) pour Ctla4, Tnfrsf4 (Ox40/CD134), Tnfrsf18 (Gitr), Ikzf2 (Helios), Tgfb1, Cdkn1a (p21), Stat3, Nr4a3, and Hif1a. En revanche, l'expression de Cd4 était discrètement diminuée (mais maintenue à un haut niveau d'expression) tout comme Ikzf1 (Ikaros), Tcrb-J and Lef1 (down to -1.2-fold), Il17ra (CD127), Il2rg, Ptprc (CD45), Foxo1, Foxo3 (-1.6-fold), Tnfrsf1b, et Cd28 et aussi dans une moindre mesure, Nrp1 (Neuropilin-1; -1.9-fold), Rarg, Dnmt3a, Ilr1, Wnt7a, Wnt10a, and Gata1.

En bref, les Tregs cultivés avec les MPP présentaient une signature transcriptomique « spécialisée » avec un phénotype stabilisé : Cd4^{high}, Il2ra^{high}, Foxp3^{high}, Il7ra⁻, Ctla4⁺, Tnfrsf18⁺, Ikzf2⁺, Tnfrsf4⁺, Itgae⁺, sous la régulation transcriptionnelle augmentée de Satb1, Runx2, Runx3, and Gata3. De plus, ces Tregs présentaient une expression augmentée de Prdm1 (+1.3-fold; pvalue=6e-3), récemment publié comme capable de prévenir la méthylation de Foxp3 dans les Tregs du système nerveux central (19), et Nr4a (+1.45-fold; p-value = 9e-5), qui stabilise les Tregs et bloquerait leur différenciation en LT effecteurs. La meilleure survie des Tregs était donc supposée par une réduction du signal d'apoptose et par diminution du signaling du TCR et une augmentation du signal de l'IL-2, une inhibition de la voie de NF-kB par une augmentation de l'activité TNF α , et la transcription de FOXO-via p21 (Cdkn1a) qui a été démontré comme capable de promouvoir la prolifération des Tregs avec un contrôle anti-apoptotique.

Parallèlement à l'analyse de ce transcriptome, l'encadrement d'une étudiante en Master 2 (Guillemette Fouquet) m'a permis de poursuivre les investigations sur d'éventuels mécanismes suggérés à l'issue de l'analyse de ce transcriptome. Par exemple, nous avons pu tester l'effet de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 β sur les co-cultures de MPP avec des Tregs en inhibant IL-1 β ou en ayant recours à des cellules issues de souris IL-1 β KO (figure 8). Ces co-cultures ont permis de montrer que IL-1 β pouvait jouer un rôle dans l'augmentation de prolifération et de survie des Tregs (tout comme il avait été démontré pour le TNF- α).²⁷

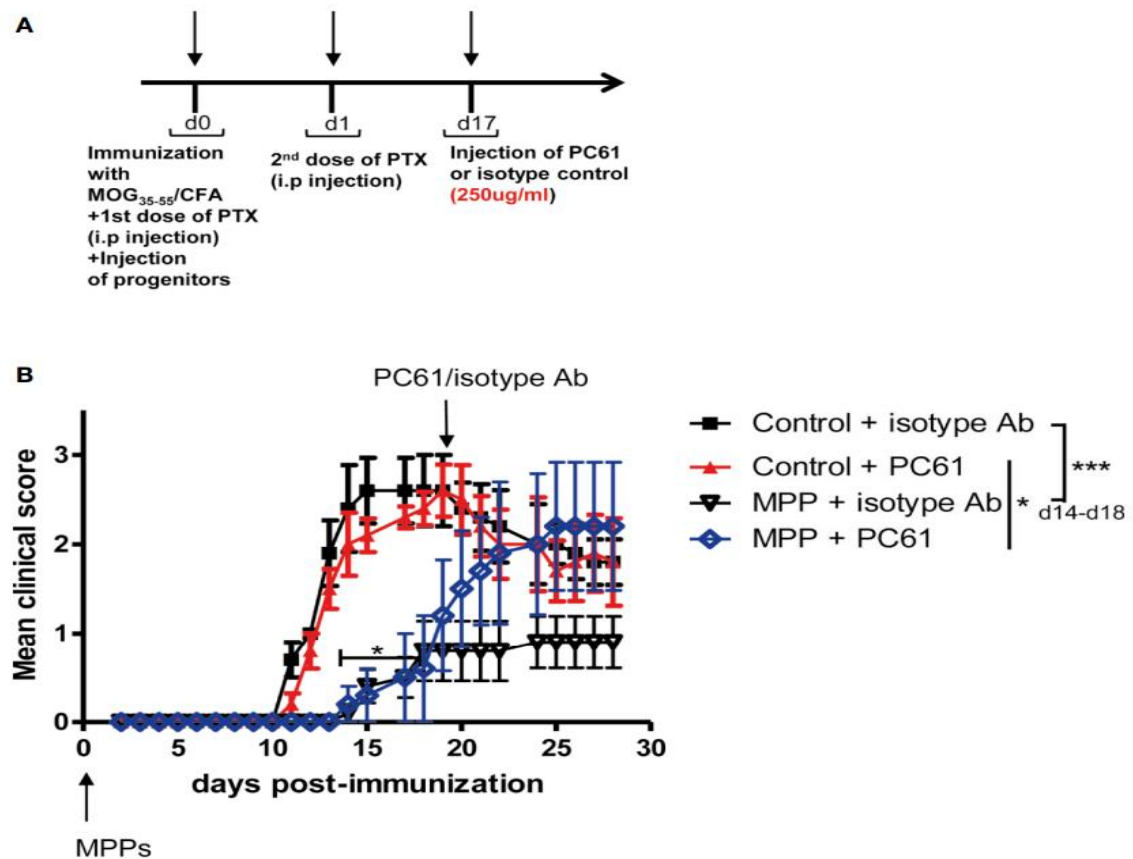


Figure 9 : suivi du score clinique de développement de l'EAE.

Les souris C57BL / 6 sont immunisées avec la myéline oligodendrocyte glycoprotein (MOG) peptide 35-55. L'épitope immunogène MOG 35-55 est mis en suspension dans de l'adjuvant complet de Freund (CFA) avant l'immunisation et la toxine pertussique (PTX) est administrée en intra-péritonéal (IP) à jour 0 et jour 1. A 10 jours de l'immunisation avec MOG, les souris contrôles (sans MPP) développent rapidement une EAE avec score moyen de 2,5 en présence ou non d'un anticorps déplétant les Tregs (PC61)

En revanche, pour les souris avec injection de MPP à J0, le développement de l' Encéphalomyélite auto-immune expérimentale EAE est retardé à 15 jours après l'immunisation avec MOG. L'adjonction de PC61 reverse tardivement l'effet protecteur des MPP.

Par ailleurs, mon travail a également concerné le rôle des MPP dans la réponse allogénique c'est-à-dire dans le contexte de l'allogreffe de CSH. Forts de l'expertise sur les MPP mobilisés capables d'augmenter la survie et la prolifération des Tregs, nous avons injecté les MPP mobilisés dans les modèles murins pré-établis¹⁷ d'allogreffe de CSH. Brièvement, les souris BALB/c allogreffées avec de la moelle osseuse enrichie avec 2.10^6 LT issus de souris C57BL6 et $3.5.10^5$ MPP avaient une survie globale statistiquement meilleure que les souris du groupe contrôle (allogreffées avec moelle osseuse et 2.10^6 LT). Cette observation était corrélée à une perte de poids moindre. En revanche, l'administration régulière de PC61 (anticorps déplétant les Tregs) abolissait l'effet protecteur des MPP, suggérant que l'effet protecteur des MPP vis-à-vis de la GVH étaient fortement dépendant des Tregs.

Huit jours après la greffe, nous observons en cytométrie en flux une proportion plus importante de Tregs chez les souris allogreffées avec les MPP mobilisés, pouvant représenter jusqu'à 42% des LTCD4⁺ (dans les ganglions, et dans une moindre mesure le sang et la rate); en microscopie confocale, les Tregs étaient en contact étroit avec les MPP injectés (figure 10) dans les ganglions.

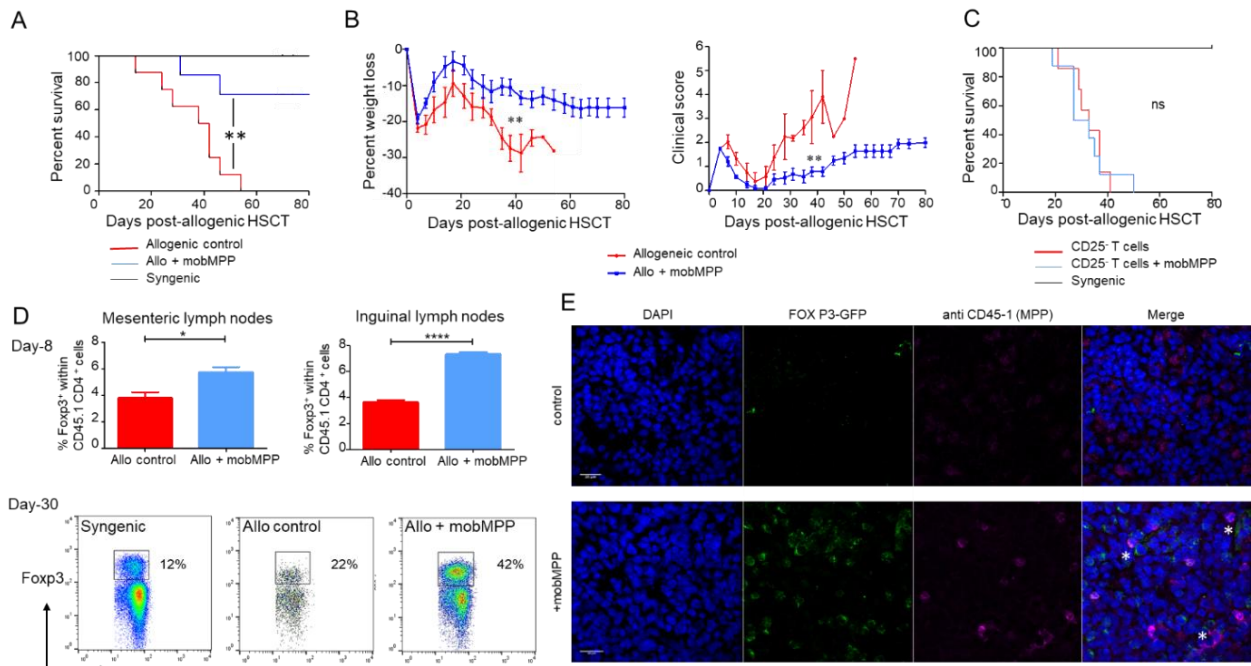


Figure 10: les MPP mobilisés diminuent l'incidence et la sévérité de la GVH par l'augmentation de Tregs in vivo.

(A) Les souris BALB/cJ, irradiées létalement (6Gy RX) ont reçu 1×10^7 moelle osseuse T déplétée de C57BL/6 (noir, $n = 4$) ou avec 2×10^6 LT cells (contrôle allogénique, rouge, $n = 7$) ou avec l'injection de 0.35×10^6 de MPP mobilisés chez la C57BL/6 (bleu, $n = 7$) à J0. < 40% des souris traitées par le co-transfert de mobMPP meurent alors que la médiane de survie est de 40 jours dans le groupe contrôle (** $p = 0.004$).

(B) Moyenne de perte de poids et moyenne du score clinique de GVH

(C) Etude de la survie des souris lorsqu'un anticorps déplétant les Tregs (PC61) est administré

(D) Pourcentage de Tregs observés chez les souris receveuses 8 jours après allogreffe dans les ganglions

(E) Analyse en microscopie confocale des ganglions à 8 jours après allogreffe.

Ce travail préliminaire chez la souris, a été renforcé par des expérimentations plus récentes réalisées au cours de l'encadrement en thèse d'Anne-Béatrice Notarantonio à Nancy, qui a mis en évidence l'existence d'une contrepartie humaine² (figure 11) *Front Immunol.* 2021 Feb 12;11:607180².

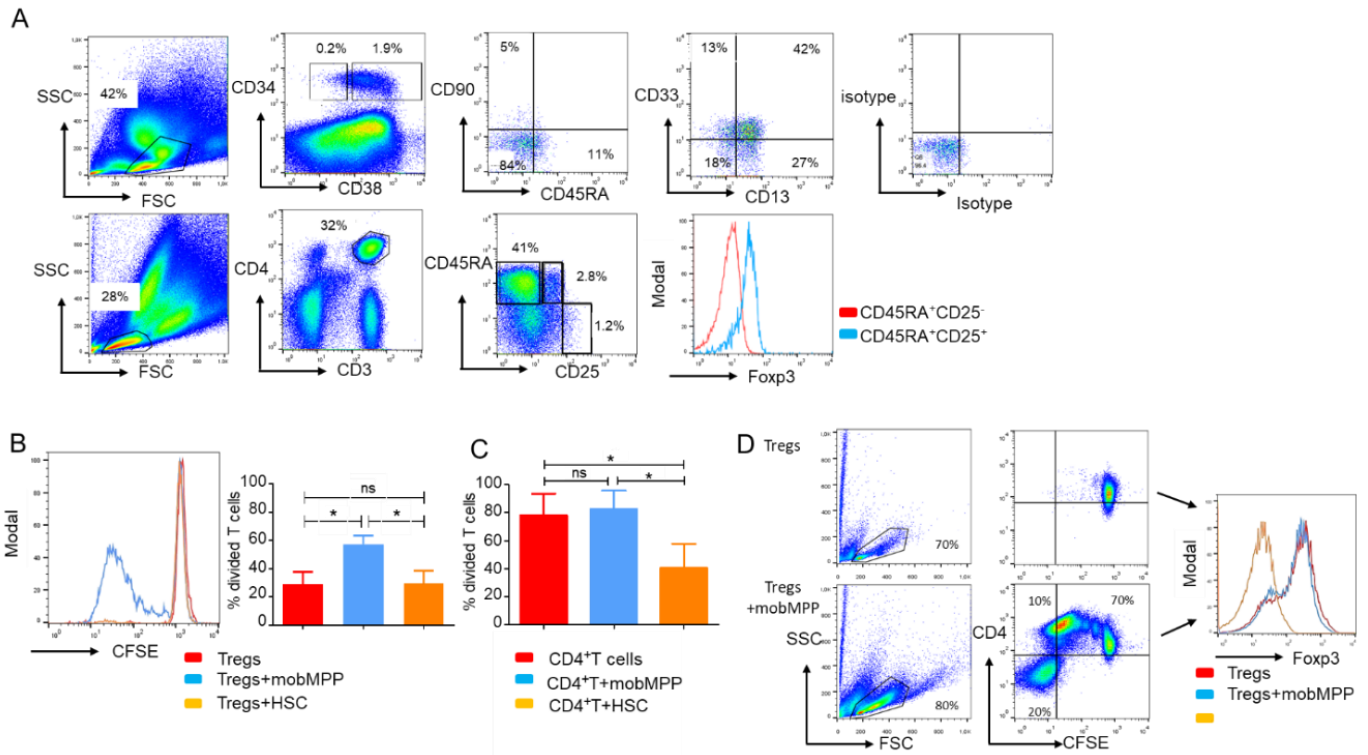


Figure 11: Les MPP mobilisés humains

(A) Les greffons de CSP ont été analysés en cytométrie en flux. Dans la fraction CD34⁺, une population CD34⁺ CD38⁺ CD90⁻ et CD45RA⁻ exprime de façon homogène CD13 et CD33. Dans la fraction CD34⁻, les Tregs naïfs sont définis : CD3⁺ CD4⁺ CD45RA⁺ CD25⁺. (B) Prolifération des Tregs naïfs activés en anti-CD3 and -CD28 seuls (rouge) ou avec des MPP (bleu) ou avec des CSH mobilisées (orange) à un ratio 1:1 (n = 3). (C) Prolifération des LT conventionnels CD4⁺CD25⁻ activés par anti-CD3 and -CD28 après 4 jours de culture, seuls (rouge) avec MPP (bleu) ou avec CSH (orange) ratio 1:1 (n = 3). (D) Persistance de l'expression de *foxp3* après 4 jours de culture.

3.1.2 : Intégration dans une équipe de recherche : encadrement des travaux de recherche

A l'issue de la thèse d'université et de mes études médicales, j'ai débuté en tant que CCU-AH (dès novembre 2014), mon intégration dans une équipe de recherche, tout d'abord dans l'équipe 5 du laboratoire CNRS UMR 7365, Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie articulaire (IMoPA), dirigée par le Professeur Jean-Yves Jouzeau. Depuis janvier 2017, après validation du Haut Conseil de l'Evaluation de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur (HCERES), s'est créée l'équipe 6 « Ingénierie cellulaire, Immunothérapie cellulaire et Approches translationnelles » d'IMoPA, sous la responsabilité des Professeurs Danièle Bensoussan (PU-PH, chef de service de thérapie cellulaire du CHRU de Nancy) et Professeur Marie-Thérèse Rubio (PU-PH, responsable de l'activité clinique d'allogreffe dans le service d'Hématologie du CHRU de Nancy). Les projets de recherche de l'équipe 6 concernent une recherche translationnelle et appliquée dédiée à l'ingénierie cellulaire. Ils s'articulent selon trois grands axes (figure 12):

- Immunomodulation avec principalement l'utilisation des Cellules Souches Mésoenchymateuses de la Gelée de Wharton du cordon ombilical (CSM-GW) pour leurs propriétés modulatrices de l'inflammation dans le choc septique et dans l'alloréactivité ; les cellules myéloïdes suppressives (MDSC) et les cellules invariante Natural Killer T (iNKT) dans la régulation de l'alloréactivité.
- Immunothérapie avec génération de lymphocytes T cytotoxiques (CTL) anti-viraux (anti-CMV, adénovirus et BK virus), et de cellules NK à visée d'immunothérapie anti-tumorale
- Un transfert vers la clinique pour valoriser la recherche fondamentale avec des brevets déposés ou en cours de dépôt, et des protocoles de phase I et/ou II dans l'allogreffe de CSH et la modulation de la GVH, et dans le choc septique.

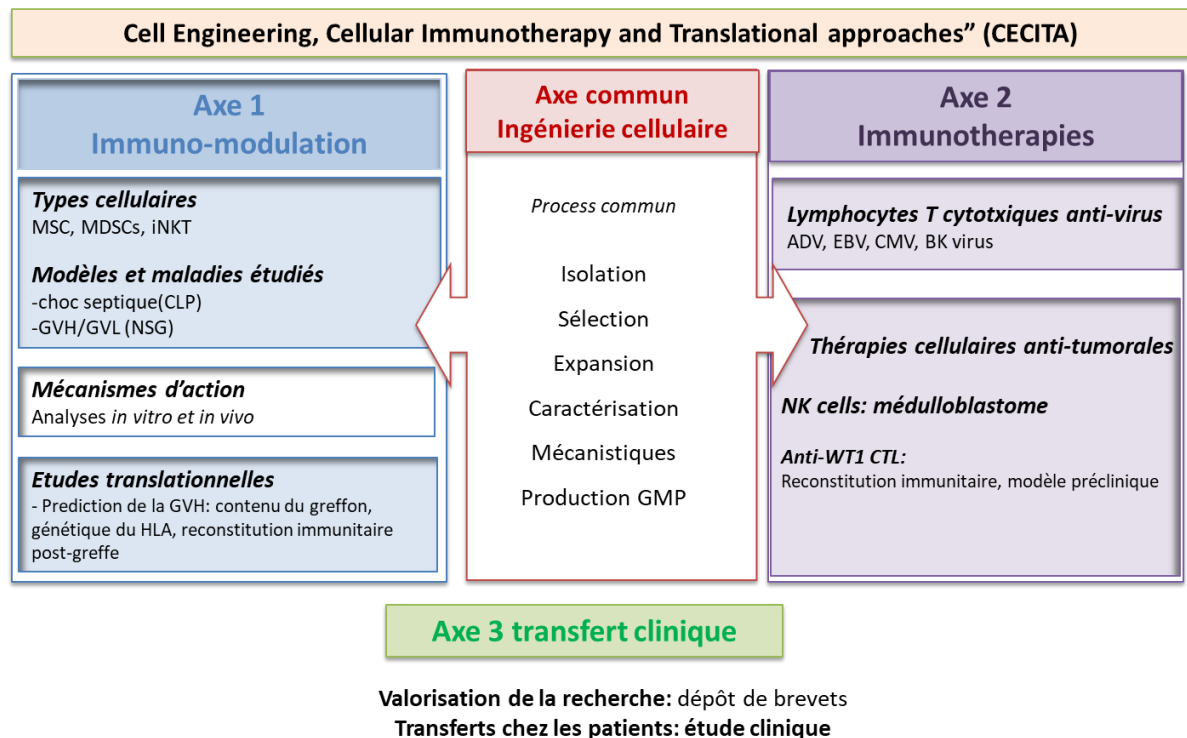


Figure 12: composition de l'équipe 6 IMoPA.

CECITA pour cell engineering, cellular immunotherapy and translational approaches

3.1.2.1: ACT : Co-encadrement d'une thèse d'université sur « les cellules myéloïdes suppressives dans l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques »

Lors de mon intégration dans l'équipe de recherche, et dans la continuité de mon travail de thèse (sur les MDSC en pré-greffe), nous avons décidé de mieux comprendre le rôle des différents sous types de MDSC chez l'Homme observés à ce jour dans le sang des receveurs après allogreffe de CSH et leur impact dans la régulation de la GVH et de l'effet GVL, avec le sujet de thèse « Rôle des cellules myéloïdes suppressives dans l'échappement des cellules tumorales à l'effet de la greffe contre la leucémie (GVL) et le contrôle de la réaction du greffon contre l'hôte (GVH) après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques humaines » (co-encadrement de Anne-Béatrice Notarantonio avec le Pr Rubio, thèse d'université).

Ces travaux se sont déroulés au laboratoire IMoPA de 2016 à 2020 avec des expérimentations *in vitro* et *in vivo*. Pour la partie *in vitro*, l'étude de la reconstitution immunitaire post-greffe dans le sang et dans la moelle osseuse a été possible grâce à la mise en place du protocole de recherche translationnelle REAL-GREFFE (N° ID-RCB : 2018-A03267-68) dirigé par le Professeur Rubio qui visait à différents temps (un pré-greffe et plusieurs temps post-greffe avec notamment J30, J90, J180 et J365) d'évaluer la reconstitution immunitaire lymphoïde T et myéloïde. Après analyse supervisée et non supervisée, nous avons pu étudier les LT : CD4

et CD8, en fonction de leur différenciation : T naïfs ou T_N ($CD45RA^+$, $CCR7^+$), T central mémoire ou T_{CM} ($CD45RA^-$, $CCR7^+$), T souche central mémoire ou T_{SCM} ($CD45RA^-$ $CCR7^{low}$ $CD95^+$), T effecteur mémoire terminal ou T_{EMRA} ($CD45RA^+$ $CCR7^-$ $CD95^-$). Ces lymphocytes T étaient aussi caractérisés pour l'expression membranaire éventuelle de marqueurs d'épuisement tels que PD1, LAG-3 et Tim3. Concomitamment nous étudions les cellules myéloïdes suppressives : $CD34^+$, Lin^- , $HLA-DR^-$, $CD33^+$, $CD11b^+$ et $\pm$ $CD14$ et/ou $CD15$ (figure 13).

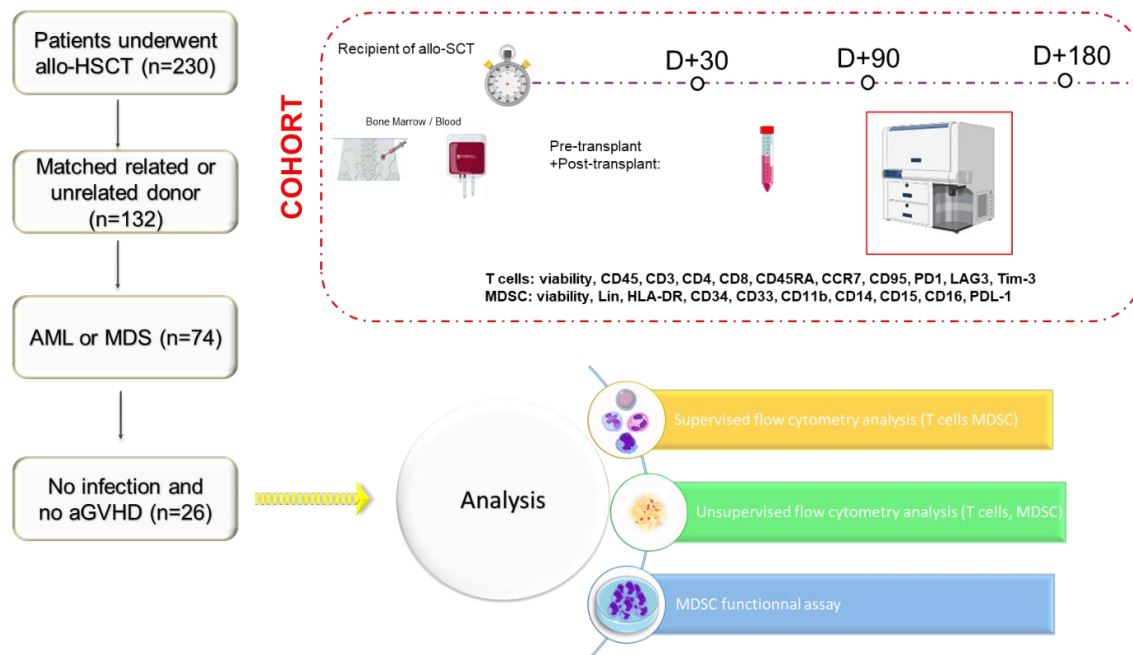


Figure 13 : étude de la reconstitution immunitaire des LT et des cellules myéloïdes au travers de l'étude REAL-GREFFE et réalisation d'une étude de sous-groupe pour identifier d'éventuels facteurs biologiques prédictifs de rechute.

De 2018 à 2021, 230 patients allogreffés de CSH au CHRU de Nancy ont été inclus dans l'étude REAL-GREFFE. Pour l'étude d'éventuels facteurs prédictifs biologiques de la rechute, nous avons souhaité étudier dans le contexte d'allogreffe de CSH HLA identique (soit intra-familial soit à partir de donneur volontaire anonyme) les patients atteints d'hémopathie myéloïde de type syndromes myélodysplasiques (SMD) ou leucémie aiguë myéloïde (LAM). Seuls les patients indemnes d'infection opportuniste et de GVH aiguë en sortie d'aplasie de la greffe étaient retenus, pour limiter les biais d'interprétation de la présence de certaines MDSC.

Pour la partie *vivo*, nous avons procédé à la mise en place des modèles murins de xénogreffes de CSH humaines jusque-là non maîtrisés dans l'animalerie d'accueil. Ce modèle de souris immunodéprimée NOD/SCID/Gamma-c KO NSG a été mis en place à l'Animalerie du Campus Biologie Santé (autorisations éthique N°066, ministérielle APAFIS10297-2017060417575295-V9), et HCB obtenues). Ces travaux ont été soutenus par :

-30000€ de la ligue contre le cancer en 2015 (co-porté par Pr MT Rubio)

-30000€ de l'association Capucine-SFGM-TC (Société Francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire) en novembre 2016 (porteur M D'Aveni)

-30000€ ligue contre le cancer 2017 (co-porté par Pr MT Rubio)

La thèse d'université de Anne-Béatrice Notarantonio a été soutenue le 25/11/21 et obtenue, mention très honorable avec les félicitations du jury (soutenue avec un retard d'un an compte tenu de la pandémie COVID-19, ayant obligé la doctorante à revenir dans les services cliniques).

Ce travail fait l'objet d'un article en cours de préparation.

Ce travail a obtenu le prix de la meilleure communication orale, congrès du FILO 2020, « NOTARANTONIO, A.; PIUCCO, R.; BOULANGE, L.; BROUARD, J.; DE CARVALHO DE BITTENCOURT, M.; LOUIS, H.; BERTRAND, A.; POCHON C.; FEUGIER, P.; RUBIO, M-T. AND D'AVENI, M. » (2020). Description d'une nouvelle signature immunitaire dans le contexte de la rechute après allogreffe de Cellules Souches Hématopoïétiques. 6ème Journée de la French Innovative Leukemia Organization, Nancy, France.

Ainsi, au cours du travail de thèse d'université, Anne Béatrice Notarantonio, il a été abordé :

- quels sous types phénotypiques contenus dans le greffon sont corrélés au devenir du receveur ?
- quelle est la corrélation entre la présence de ces cellules en post-greffe et la rechute, la maladie du greffon contre l'hôte et les complications infectieuses post-greffe ?
- Peut-on expandre ces cellules en grade clinique pour les proposer un jour en thérapie cellulaire ?

Malheureusement, à la première question, nous n'avons pas pu identifier un sous-type de MDSC corrélé au devenir du receveur.

En revanche, à la deuxième question, il s'agissait d'une étude clinico-biologique qui a permis d'observer de façon prospective la reconstitution immunitaire post-greffe des patients allogreffés au CHRU de Nancy en lymphocytes T et MDSC. Brièvement, la doctorante a pu montrer que (figure 14) :

-les cellules myéloïdes HLA-DR-, Lin-, CD11b+ et CD33+ apparues précocement dans un contexte inflammatoire post-greffe ne peuvent être affirmées comme « MDSC », car elles ne sont pas immunosuppressives et disparaissent progressivement dans les 3 premiers mois.

-L'émergence dès J90 de cellules myéloïdes HLA-DR-, Lin-, CD11b+ et CD33+ + avec les critères phénotypiques de MDSC et des propriétés immunosuppressives est corrélée à la rechute de l'hémopathie sous-jacente.

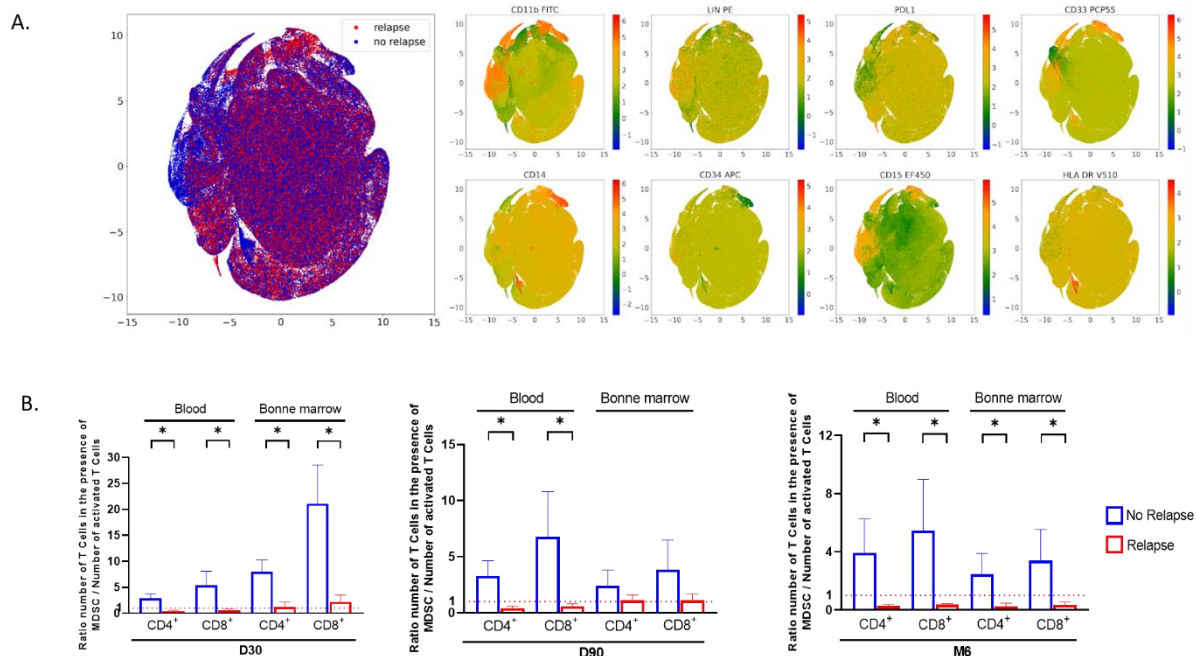


Figure 14 : étude de la reconstitution immunitaire des MDSC en post-greffe

A. En analyse non supervisée, nous n'observons pas de phénotype particulier de MDSC en fonction du statut rechute versus non rechute de l'hémopathie sous-jacente.

B. Seuls les patients qui rechutent précocement en post-greffe ont des MDSC avec des propriétés immunosuppressives en co-culture avec des LT.

Enfin, à la troisième question, les travaux ont pu aboutir à un brevet en cours de maturation (dépôt d'invention à la SATT Sayens), avec des données qui sont encore confidentielles pour l'heure, et que de fait nous ne détaillerons pas.

PROCEDE CONFIDENTIEL

Figure 15 : Génération de « e-MDSC »

3.1.2.2: ACT : Co-encadrement d'une thèse d'université sur « les cellules mésenchymateuses de la gelée de Wharton dans l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques »

Par ailleurs, l'équipe 6 d'IMoPa avait développé, de longue date, une grande expérience sur les CSM-GW. L'équipe 6 (Pr D. Bensoussan, Pr C. Huselstein, Dr L. Reppel, Dr Laroye) avait mis au point une technique d'expansion en grade clinique de ces cellules et avait montré qu'elles avaient des propriétés immunosuppressives comparables aux CMS de moelle osseuse *in vitro*. Cette source de CSM a l'avantage de pouvoir être prélevée au décours de l'accouchement sans controverse éthique. Elles possèdent par ailleurs une plus grande capacité d'auto-renouvellement que les CSM de la moelle osseuse de donneur. Il a donc été décidé de démontrer le potentiel régulateur des CSM-GW dans la réponse allogénique, de déterminer les mécanismes d'action et de réaliser les études pré-cliniques dans un but de développement de projet clinique pour traiter/prévenir la GVH. Ce travail a été réalisé en thèse d'université par le Dr Cécile Pochon (soutenance le 14 septembre 2022, thèse réalisée à mi-temps avec l'activité clinique, obtenue avec mention très honorable et félicitations du jury) et co-encadré avec le Pr MT Rubio.

Les CSM-GW sont décrites dans la littérature pour leurs propriétés immunosuppressives, notamment par la modulation de la prolifération des LT conventionnels. Ces propriétés sont variables d'une source à l'autre. Nous avons donc voulu explorer l'effet d'une pré-incubation par IFN- γ sur ces propriétés immunosuppressives. Après 48h d'incubation avec 100 ng/ml d'IFN γ (CSM-GW-IFN), la viabilité des CSM-GW et leur morphologie n'étaient pas modifiées. Concernant leurs marqueurs membranaires, nous avons observé (Figure 13):

- Le maintien des marqueurs qui les définissent selon la Société Internationale de Thérapie Cellulaire (ISCT) : CD73, CD90 et CD105.
- une augmentation d'intensité d'expression des marqueurs HLA-DR (plus ou moins marquée selon les CSM-GW, mais toujours présente), et CD40. En revanche, nous n'observons pas d'expression des molécules de costimulation telles que CD80, CD86 et CD209 (DC sign).
- Une augmentation d'intensité d'expression de la molécule d'adhérence « vascular cell adhesion molecule » VCAM-1 à la surface. Par contre, nous n'avons pas noté de modifications d'expression de Neuropilin-1 (NP1), CD29 ni CD47.

De façon tout à fait intéressante, cette pré-incubation augmentait significativement l'expression membranaire de PDL-1 et PDL-2 et l'expression en intra-cellulaire de l'indoléamine 2-3 dioxygénase 1 (IDO), enzyme dont l'expression est induite au cours de la réaction inflammatoire.

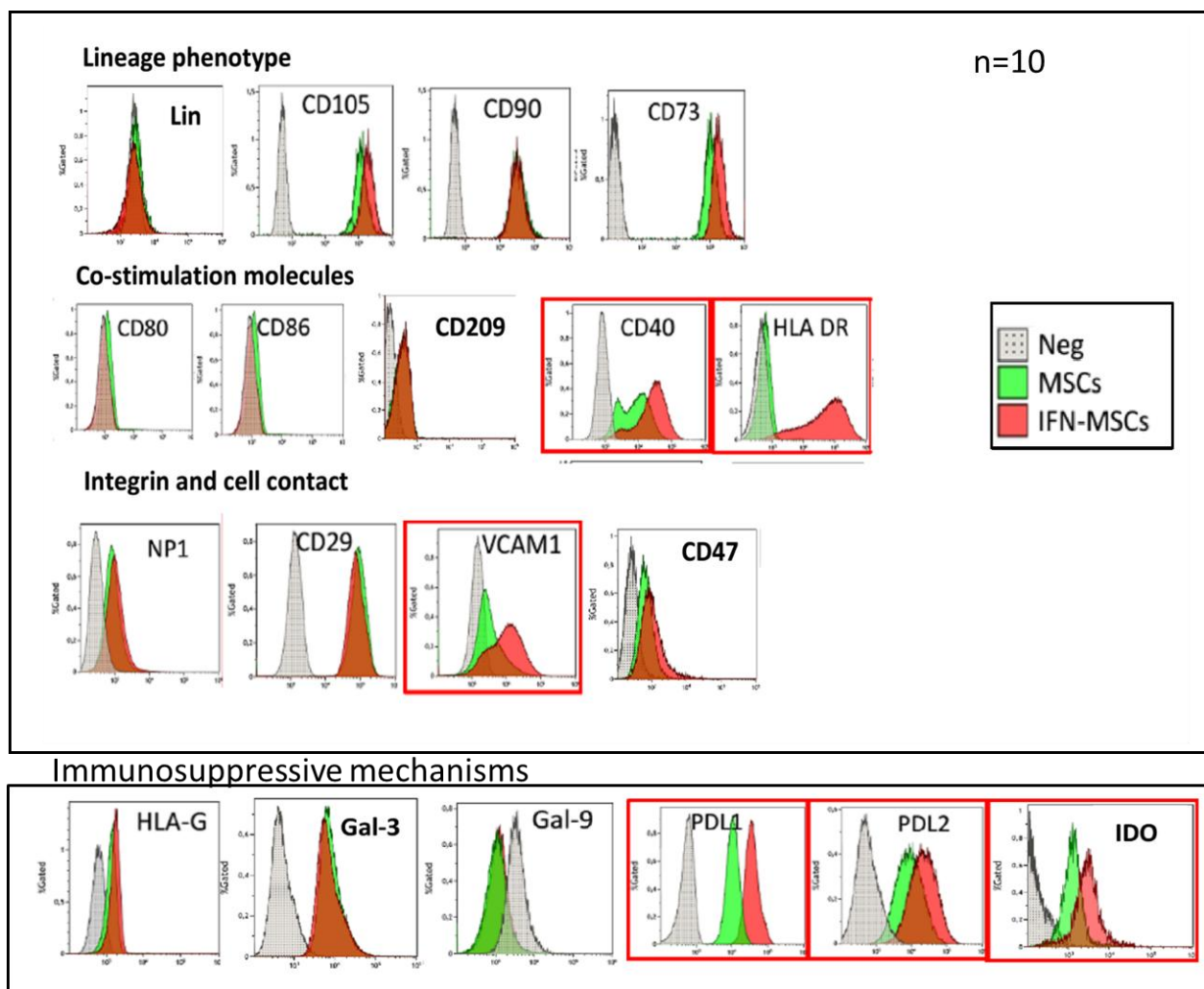


Figure 16 : Expression membranaire de marqueurs avec (en rouge) et sans (en vert) pré-incubation par IFN- γ . Les courbes grises sont le témoin négatif.

La pré-incubation par IFN- γ augmente l'expression de CD40, HLA DR, VCAM1

La pré-incubation par IFN- γ augmente l'expression de PDL1, PDL2 et IDO (n=10).

L'effet immunosuppresseur sur les LT et notamment l'effet antiprolifératif *in vitro* des CSM-GW a été évalué après activation des lymphocytes T par anti-CD3 et anti-CD28, ainsi que dans un modèle de réaction mixte lymphocytaire (activation des lymphocytes T en présence de cellules dendritiques allogéniques).

La pré-incubation par IFN- γ majore dans les 2 types d'activation lymphocytaire T l'effet antiprolifératif des CSM-GW (figure 17).

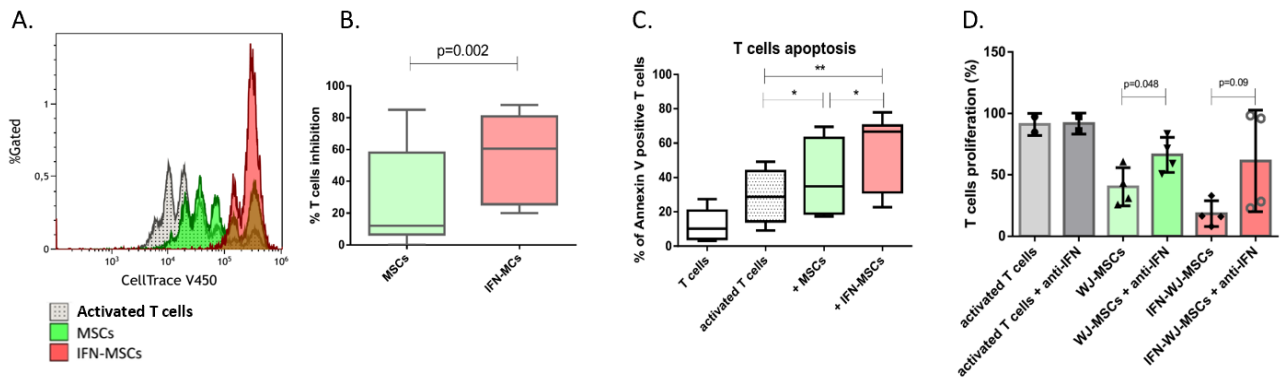


Figure 17 : Propriétés immunosuppressives des CSM-GW.

A : Régulation de la prolifération lymphocytaire T.

B : Le pourcentage d'inhibition de la prolifération T est plus important lorsque les CSM-GW sont préparées en interféron gamma.

C. Les lymphocytes T cultivés avec les CSM-GW sont plus apoptotiques en fin de culture.

D. L'administration d'un anticorps anti-interféron gamma diminuent les propriétés immunosuppressives des CSM-GW.

Afin de déterminer l'impact des molécules augmentées par l'IFN γ , nous avons inhibé la voie PDL-1-PDL-2/PD1 ainsi qu'IDO lors des co-cultures de CSM avec les T activés. Seul le blocage de l'activité enzymatique d'IDO par l'ajout de 1L-méthyltryptophane (1L-MT) dès le début de la co-culture, à la concentration de 1mmol/L et 0,5 mmol/L permettait d'inhiber complètement les propriétés régulatrices des CSM. Dans toutes les expérimentations (n=6), nous avons observé en présence de 1L-MT, une restauration complète de la prolifération des lymphocytes T, en co-culture avec les CSM-GW ainsi qu'avec les CSM-GW-IFN (figure 18). Ainsi, IDO est une voie prépondérante d'immunomodulation des CSM-GW et des CSM-GW-IFN envers les lymphocytes T activés *in vitro*.

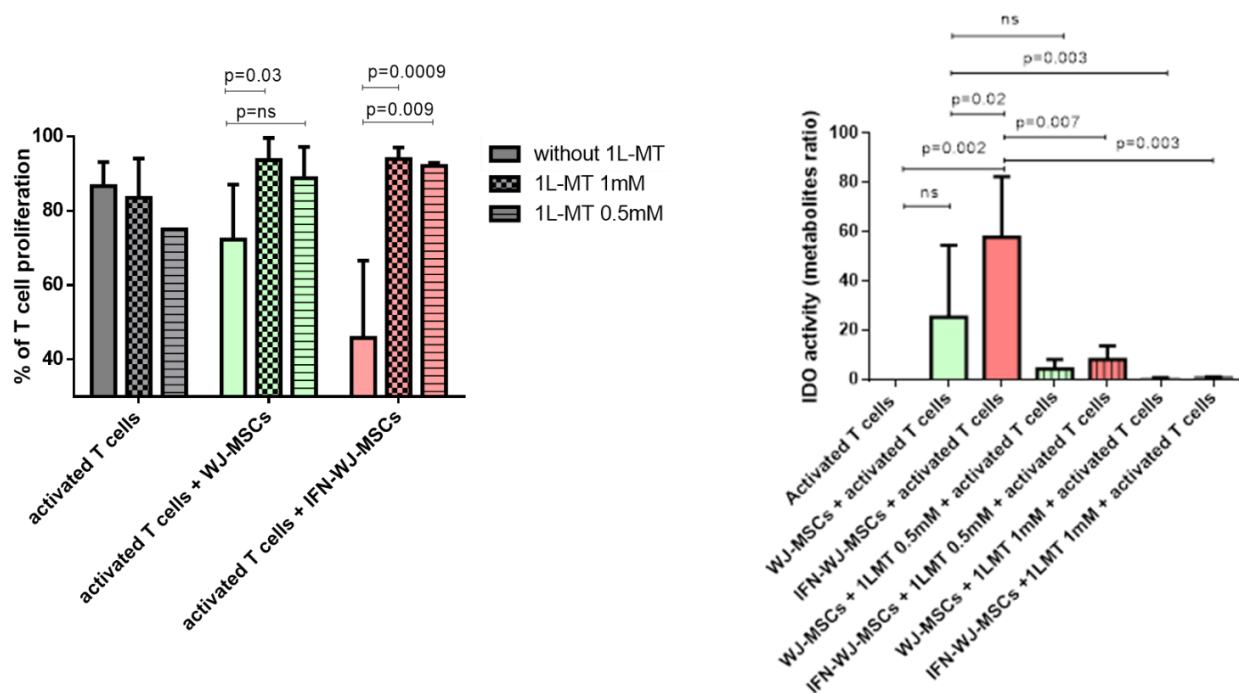


Figure 18 : L'inhibition de IDO reverse l'effet immunosuppresseur des CSM-GW et des CSM-GW-IFN
 L'adjonction de 1L-MT 1mM reverse complètement les propriétés anti-prolifératives des CSM-GW
 CSM-GW: 94% vs 76% de prolifération des LT
 CSM-GW-IFN: 94% vs 40% de prolifération des LT
 Test de Student, n = 6 (5 cordons différents)

Pour conforter les résultats sur l'impact d'IDO dans l'immunomodulation des CSM-GW, nous avons procédé à des dosages du tryptophane et de ses métabolites dans les surnageants des co-cultures (à J5) de lymphocytes T activés et de CSM-GW +/- IFN- γ . Ces dosages ont été réalisés par l'équipe du Pr Emond à Tours par chromatographie liquide et spectrométrie de masse de haute résolution. Nous avons mis en évidence une diminution maximale du tryptophane, (et une tendance à la diminution du 5-OH-tryptophane, de la tryptamine et du tryptophol) dans les milieux de co-culture avec CSM-GW-IFN. Parallèlement, nous observons une augmentation significative des métabolites toxiques tels que la kynurénine et l'acide kynurénique dans les co-cultures avec les CSM-GW-IFN (figure 18). Le 1L-méthyltryptophane (à la concentration de 1mM mais aussi de 0.5 mM) restaure la concentration de tryptophane, 5-OH-tryptophane, tryptamine, et tryptophol. En revanche, il ne permet pas la diminution de la concentration des métabolites kynurénine ni acide kynurénique. Ce résultat pourrait être en faveur d'un rôle prépondérant de la diminution du tryptophane dans l'effet immunomodulateur des CSM-GW (avec un rôle moindre de la concentration absolue des métabolites produits par IDO).

Afin de valider l'inhibition d'IDO par le 1L-méthyltryptophane, nous avons comparé le ratio entre la somme des métabolites du tryptophane dépendant d'IDO à des concentrations supérieures aux seuils de détection (Kynurénine + acide kynurénique + 3-OH-kynurénine + acide quinolinique + acide xanthurénique) et la somme du tryptophane et autres dérivés, ne dépendant pas d'IDO (tryptophane + 5-OH-tryptophane + tryptamine + sérotonine + tryptophol). Ce ratio représente l'activité de l'enzyme IDO. Nous avons montré que le 1L-méthyltryptophane à la concentration de 0,5mM et de 1mM inhibe effectivement IDO. Les CSM-GW-IFN ont l'activité d'IDO la plus élevée (figure 18).

In vivo, ces cellules protègent de l'apparition de la GVH lorsque les injections sont répétées de façon hebdomadaire et cette observation est statistiquement significative lorsque les CSM-GW ont été pré-incubées en IFN- γ (figure 19).

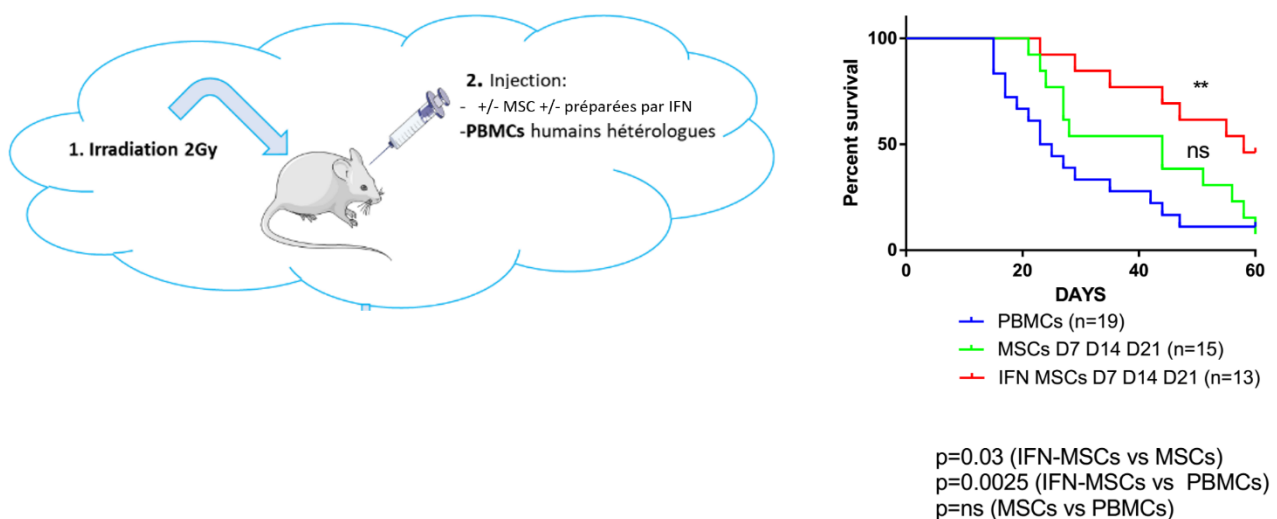


Figure 19 : Modèle xénogénique de GVH. Les injections répétées de CSM-GW protègent les souris de la GVH aiguë et prolongent leur survie post-greffe.

En bleu : courbe de survie Kaplan-Meier du groupe contrôle, injecté uniquement avec des cellules sanguines humaines (PBMC=peripheral blood mononuclear cells). On observe 50% de létalité dès J20 par xéno-GVH.

En vert : courbe de survie des souris injectées avec des PBMC et 3 injections à une semaine d'intervalle des cellules stromales mésenchymateuses de la gelée de Wharton. On observe 50% de létalité à J40 post-greffe, sans que cette différence ne soit statistiquement significative.

En rouge : courbe de survie des souris injectées avec des PBMC et 3 injections itératives à une semaine d'intervalle de CSM-GW pré-activées en IFN- γ . On observe 50% de létalité par xéno-GVH à J60 avec une différence statistiquement significative avec le groupe contrôle en bleu ($p<0.01$).

La doctorante, Cécile Pochon a d'ailleurs obtenu le prix de la meilleure communication orale, au congrès de la SFGM-TC 2018

« POCHON, C.; NOTARANTONIO, A.; FOUQUET, G.; MOULIN, D.; CHARIF, N.; REPPEL, L.; BENSOUSSAN, D.; RUBIO, M.T. ; D'AVENI, M. (2018). » CSM de

cordon ombilical : une thérapie cellulaire pour favoriser la prise de greffe de CSH sans majorer le risque de maladie du greffon contre l'hôte, Congrès de la Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), Montpellier, France.

L'article original est en cours de préparation. En effet, en décortiquant les mécanismes qui régulaient la prolifération des LT par les CSM-GW, nous avons identifié qu'un contact cellulaire entre les LT et les CSM était essentiel. Outre un mécanisme de synthèse d'IDO, capable de cataboliser un acide aminé essentiel le tryptophane en métabolite toxiques tels que la kynurénine et l'acide kynurénique, un autre mécanisme complémentaire et totalement novateur a été identifié, par le transfert de mitochondrie entre les CSM-GW et les LT. Ces données sont innovantes et actuellement en cours de confirmation (figure 20).

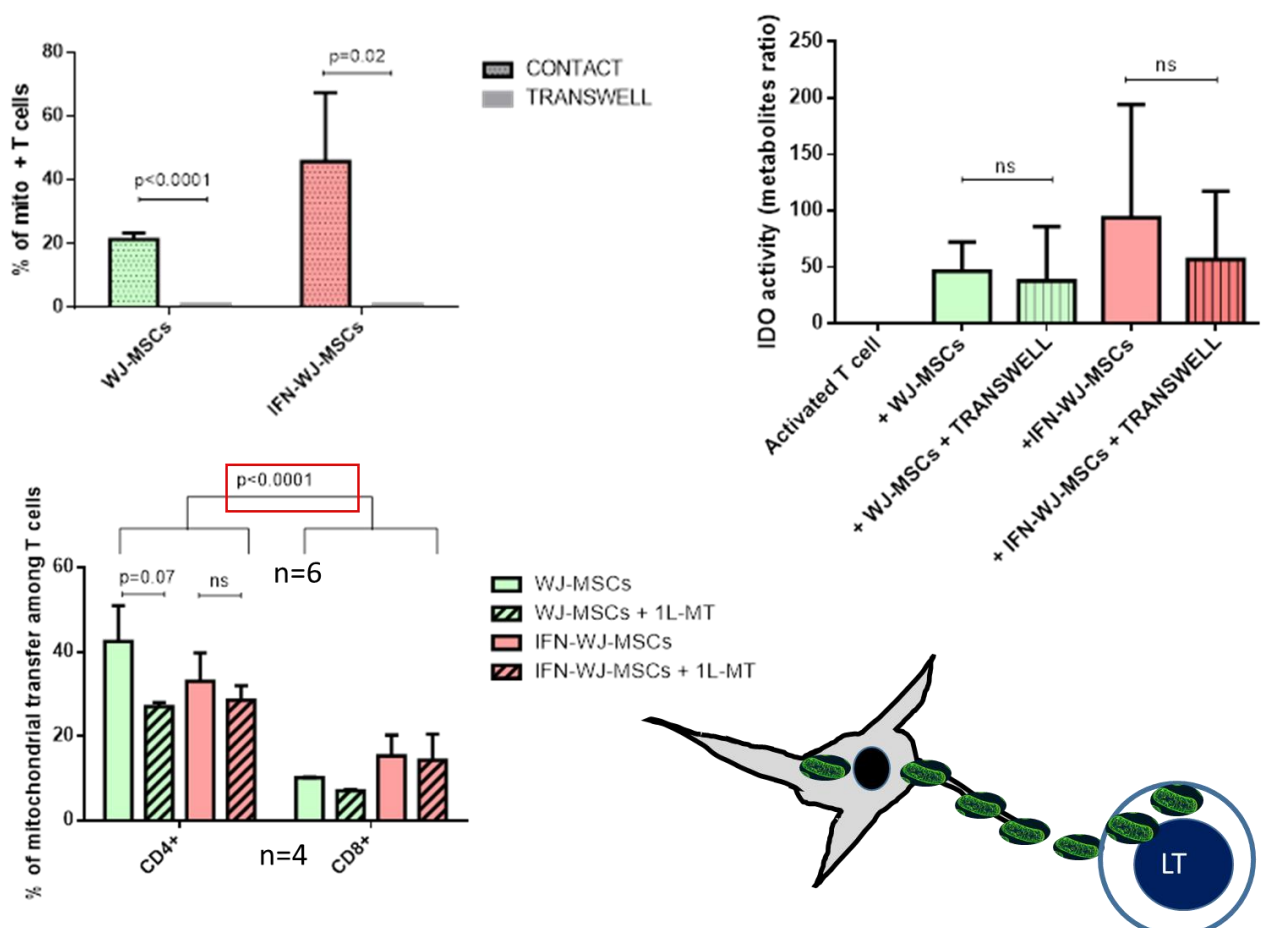


Figure 20 : Les CSM-GW requièrent un contact avec les LT pour inhiber leur prolifération.

Pourtant, l'activité enzymatique d'IDO n'est pas influencée par le contact entre CSM-GW et LT. Les CSM-GW transfèrent des mitochondries aux LT activés, et ce transfert dépend du contact entre CSM-GW et LT. Ce transfert est majoritaire vers les T CD4+. Il n'est pas modulé par l'IFN- γ , ni par l'activité d'IDO.

D'autre part, ces travaux avaient pour but de développer des projets de recherche clinique et de thérapie cellulaire innovante à visée d'immunomodulation de la réponse immunologique. Finalement, ces travaux ont mené à l'élaboration de 2 protocoles cliniques :

-Obtention d'un Programme Hospitalier de Recherche Clinique Interrégional PHRC-I (porteur Maud D'Aveni) pour un protocole de phase 1 : Injection de cellules stromales mésenchymateuses de la gelée de Wharton (CSM-GW) après allogreffe haplo-identique de cellules souches hématopoïétiques pour la prophylaxie de la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) : étude d'escalade de doses « HAPLO-GEL ». Ce projet a obtenu une excellente évaluation des experts et a été financé en 2020 à hauteur de 300000€.

-Obtention d'un financement PHRC-I (porteur Cécile Pochon) pour un protocole de phase 2 : Injection de cellules stromales mésenchymateuses de la gelée de wharton (CSM-GW) dans le syndrome de détresse respiratoire aigu consécutif à la COVID19 « MSC-COVID ». Ce projet a obtenu une excellente évaluation des experts et a été financé en 2020 à hauteur de 300000€.

En conclusion, au travers de ces deux co-encadrements de thèse d'université sur les cellules immunomodulatrices de la réponse allo-immune, j'ai pu m'intégrer pleinement dans une équipe de recherche au sein de sa thématique « immunomodulation de la GVH ». Nous avons consolidé notre axe de recherche sur les cellules myéloïdes suppressives dans un contexte d'hématopoïèse pro-inflammatoire (post-greffe), et acquis des connaissances fondamentales sur les techniques de culture, expansion et propriétés immunomodulatrices des cellules stromales mésenchymateuses. Afin de favoriser la valorisation de ces sujets avec des potentiels transferts de technologie en recherche clinique, je me suis impliquée au sein de la direction de la recherche et de l'innovation du CHRU de Nancy, en tant que référente recherche du pôle de spécialités médicales (depuis septembre 2020). De plus, je suis membre de la CSIRC (Commission Scientifique Interrégionale de la recherche Clinique) du Groupement Inter-régional pour la Recherche Clinique et l'Innovation- GIRCI-Est (depuis septembre 2021).

3.2 Activités de Recherche Clinique et Translationnelle

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est à l'heure actuelle le seul traitement potentiellement curatif de certaines hémopathies. Selon le rapport 2018 de l'Agence de Biomédecine, si le nombre d'allogreffes réalisées en France est stable depuis 2014 (entre 1900 et 2000 allogreffes, 88% chez des patients adultes), on constate que les 2/3 des indications sont des hémopathies myéloïdes (leucémie aiguë myéloïde, syndromes myélodysplasiques et myéloprolifératifs). En effet, malgré les avancées thérapeutiques actuelles alliant thérapie ciblée et chimiothérapie, ces hémopathies ne sont souvent que partiellement contrôlées et ne seront mises en rémission persistante qu'avec l'allogreffe de CSH. L'allogreffe consiste à remplacer le système hématopoïétique et immunitaire du patient receveur par celui d'un donneur sain. Ces cellules immunocompétentes permettent le développement d'une réaction immunitaire anti-tumorale cellulaire ciblant potentiellement différents antigènes tumoraux et permettant l'instauration d'une mémoire immunologique et un contrôle à long terme de la maladie sous-jacente. Malheureusement, les antigènes reconnus par les cellules du donneur ne sont pas spécifiques des cellules tumorales et la réaction allogénique de la greffe peut conduire à une maladie du greffon contre l'hôte (appelée GVH), responsable d'une morbidité et mortalité limitant le succès de cette approche d'immunothérapie cellulaire anti-tumorale. Ainsi, la mortalité liée à la toxicité de la greffe (TRM, Toxicity-Related-Mortality) n'est pas négligeable comprenant notamment les infections opportunistes (en lien avec une reconstitution immunitaire pouvant prendre jusqu'à 2 ans post-greffe en moyenne) et la GVH (aiguë puis chronique touchant les tissus sains du receveur). Nous verrons qu'avec la recherche clinique, la prophylaxie et le traitement des infections opportunistes d'une part et de la GVH d'autre part ont considérablement réduit cette TRM ces vingt dernières années, et je me suis, dès mon 3^{ème} cycle d'étude médicale, inscrite dans ces études prospectives et rétrospectives de groupes coopérateurs tels que la Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC) et l'European Bone Marrow Transplantation (EBMT).

3.2.1 Reconstitution immunitaire et immunothérapie adoptive anti-virale après allogreffe de CSH

L'allogreffe de CSH, s'accompagne d'un déficit immunitaire cellulaire et humoral plus ou moins prolongé. Cette immunodépression est à l'origine d'un grand nombre d'infections.

Parmi celles-ci, les infections virales et en particulier celles dues à l'Epstein Barr Virus (EBV), le CMV et l'adénovirus (ADV) résumé dans un chapitre éducationnel sur l'allogreffe de CSH (handbook 2018).

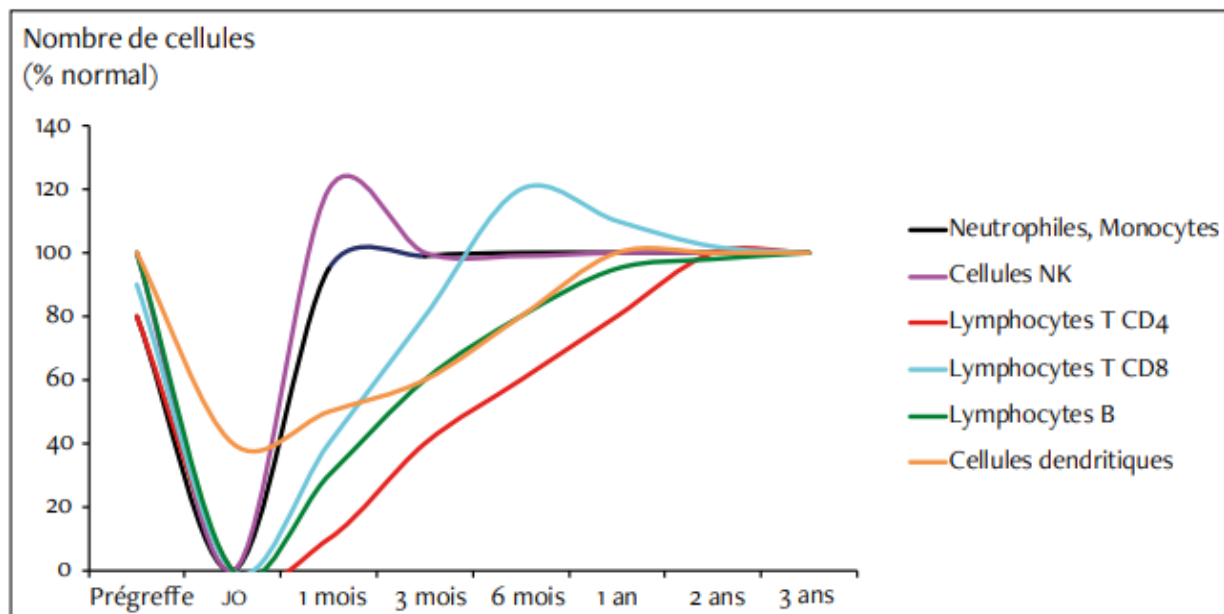


Figure 21 : reconstitution immunitaire après allogreffe de CSH (D'Aveni et al. Handbook 2018 sur l'allogreffe de CSH, chapitre XII sur les infections). La reconstitution lymphocytaire T se fait dans les premiers mois post-greffe par l'expansion homéostatique des lymphocytes matures du greffon et dans un deuxième temps, à partir des cellules souches lymphoïdes du greffon qui doivent être rééduquées via la sélection thymique, source de la genèse de nouveaux lymphocytes T naïfs. Elle peut prendre jusqu'à 2 ans post-greffe pour une reconstitution optimale.

3.2.2. Le virus Epstein Barr (EBV)

Le virus Epstein Barr est un gamma herpes virus ubiquitaire qui infecte les cellules épithéliales de l'oropharynx et les lymphocytes B. La multiplication des lymphocytes B à la faveur de l'immunosuppression du receveur de CSH peut aboutir à une lymphoprolifération B appelée « Post-Transplant Lympho-Proliferative Disease » (PTLD), dont la majorité survient dans l'année qui suit la greffe. La T-déplétion du greffon *ex vivo* par manipulation du greffon ou *in vivo* par des thérapies telles que le sérum antilymphocytaire (SAL) ou l'alemtuzumab (anti-CD52) est le principal facteur de risque de PTLD. La survenue d'une GVH aiguë sévère, la disparité HLA entre le donneur et le receveur sont aussi des facteurs de risque. Le recours aux greffes alternatives haplo-identiques ou à partir de sang de cordon placentaire est associé à un risque élevé de PTLD. L'incidence du PTLD augmente de 1,1 %, 3,6 % ou 8 % en présence respectivement de 1, 2 ou 3 facteurs de risque. La prévention de la survenue d'un PTLD repose sur l'administration préemptive d'une

thérapie antilymphocytaire B, le Rituximab lorsqu'une répllication EBV sanguine est objectivée. Toutefois, aucun seuil de charge virale sanguine universel n'a été retenu pour débiter ce traitement pré-emptif. Lors de mon stage d'internat à l'UTCT, le Professeur Danièle Bensoussan m'a donc confié le travail d'explorer l'intérêt de l'étude de la reconstitution immunitaire post-greffe anti-EBV par la technique ELISPOT-IFN γ . Brièvement, parmi 35 patients allogreffés de CSH au CHRU de Nancy, avec un monitoring hebdomadaire de la charge virale EBV sanguine, une étude quantitative et qualitative des LT ainsi que de la reconstitution immunitaire T spécifique de l'EBV a été menée concomitamment. Seulement 14 patients (35%) présentaient une répllication virale EBV significative (>1000copies) et seulement 2/14 (14%) ont nécessité un traitement pré-emptif par rituximab (répllication virale >10000 copies) (figure 22).

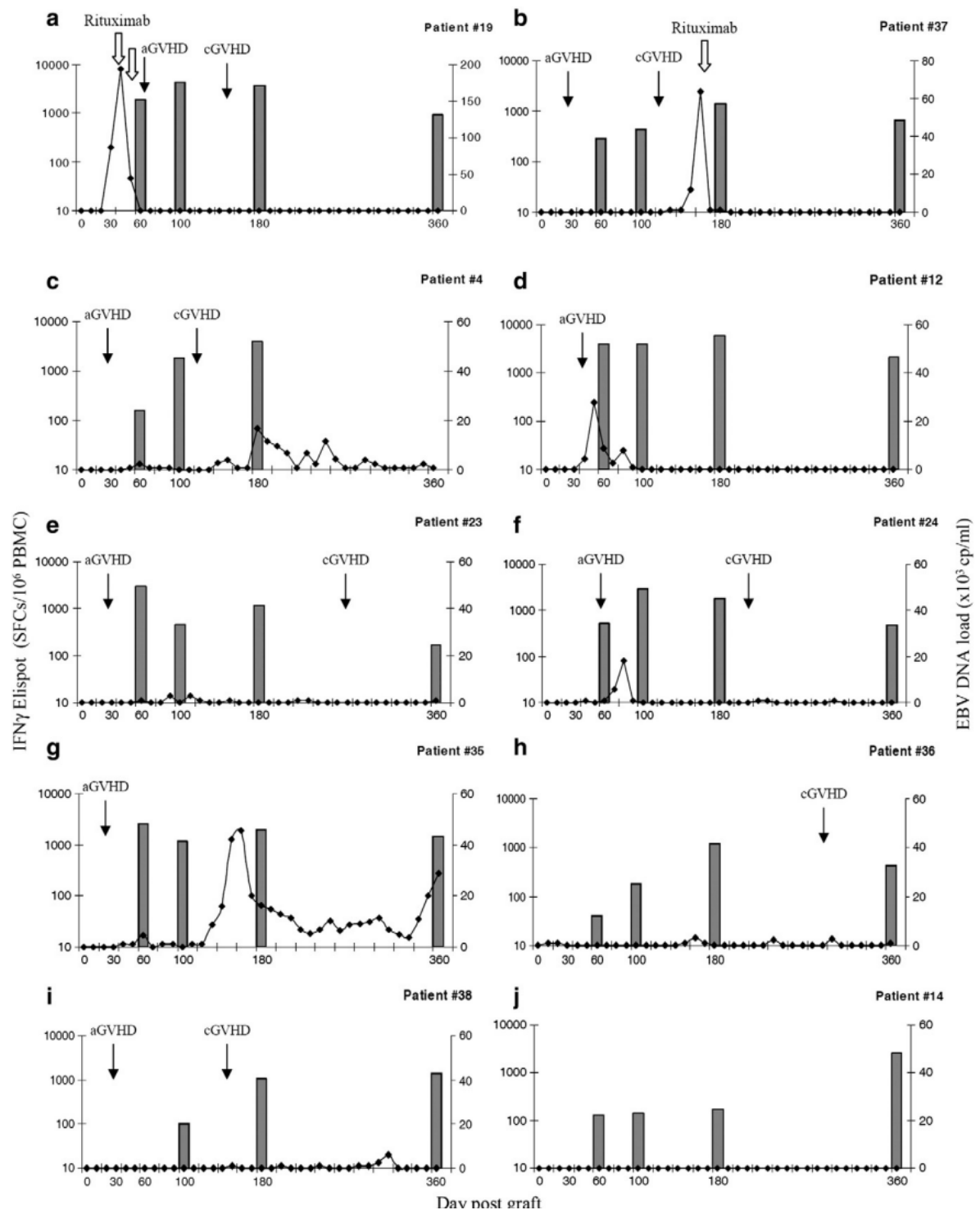


Figure 22: suivi de la réplication EBV (charge virale) et Elispot chez 10 patients.

Patients a et b ont été traité par rituximab. Le premier avec une charge virale EBV jusqu'à 194 200 cp/mL à J40, avec un résultat Elispot à J60 à 1880 et à J100 4330 SFC/10⁶ PBMC. Ce patient a reçu 2 injections hebdomadaires de rituximab 375 mg/m² avec une clearance totale de l'EBV. Pour le second patient, la charge virale atteint 64 000 cp/mL à J160 quand le résultat Elispot à J100 était à 430 et à J180 à 1440 SFC/10⁶ PBMC. Patients c à i : patients avec une réplication EBV significative (>1000 cp/mL) mais avec une clairance de l'EBV sans recours au rituximab.

En analyse multivariée, 4 facteurs influencent les résultats de l'ELISPOT IFN γ : la réplication EBV, l'âge, la reconstitution immunitaire LT globale et la GVH aiguë sévère (grade III-IV). Parmi les 14 patients avec répliquions virales significatives, les 12 patients qui ont une diminution spontanée de la charge virale sans recours au Rituximab, sont les patients avec des résultats d'Elispot supérieur à 1000 spot forming cells (SFC)/10⁶ PBMC.

Ce travail publié en 2011²⁸ (Transplant Immunology. 2011 May;24(4):224-32), a fait l'objet de mon mémoire de DES d'hématologie, et m'a permis de tisser des liens solides avec l'UTCT et de développer par la suite des collaborations dans d'autres études translationnelles : dans ce domaine de la reconstitution immunitaire post-greffe et aussi l'immuno-intervention et notamment l'immunothérapie adoptive par lymphocytes T cytotoxiques anti-adénovirus, domaine d'expertise nationale de l'UTCT de Nancy.

3.2.3 L'adénovirus (ADV) et production de CTL anti-adénovirus

L'ADV constitue un défi particulièrement important, peu de molécules étant actives à son encontre en l'absence de reconstitution immunitaire. La mortalité peut atteindre 60 voire 73% des patients atteints en post-greffe de CSH. Les traitements antiviraux comme le cidofovir et brincidofovir, molécules anti-virales à large spectre, présentent une efficacité relative lorsque le patient ne présente pas d'immunité spécifique anti-ADV. De plus, leurs toxicités (notamment rénale) rendent leur utilisation difficile. C'est pourquoi, il a été mené par le Professeur Bensoussan la production académique de lymphocytes T cytotoxiques anti-ADV (CTL anti-ADV) à partir de cellules du donneur (leukaphérèse) à l'aide d'une technique rapide de grade clinique (Cytokine Capture System de Miltenyi) afin de proposer une alternative thérapeutique aux patients en échec de traitement par Cidofovir. Le principe de production des CTL anti-ADV repose sur le recueil de cellules mononucléées du donneur de CSH, préalablement testées pour leur réponse cellulaire anti-ADV. Ces cellules sont stimulées par un pool de peptides de la protéine Hexon de l'ADV5 (Peptivator-ADV5, Miltenyi Biotec, Allemagne) pendant 6 heures. Les cellules sécrétant de l'IFN- γ sont ensuite sélectionnées sur CliniMACS en utilisant le Cytokine Capture System (Miltenyi Biotec). Les CTL anti-ADV après isolement sont prêtes à être réinjectées.

Malheureusement, un des freins à l'efficacité des CTL anti-virus est la présence souvent de traitements immunosuppresseurs administrés au patient dans ce contexte de post-greffe. J'ai pu collaborer avec le Pr Bensoussan dans l'encadrement du travail de stage d'Arnaud Campidelli, sur l'étude *in vitro* de l'impact des corticostéroïdes sur les CTL anti-adénovirus⁶. Si la méthylprednisolone inhibe transitoirement l'expansion des CTL anti-adénovirus, elle ne

réduit ni la sécrétion d'IFN γ (par dosage de cytokine intracellulaire après restimulation par le Peptivator ADV) ni la cytotoxicité (contre des cellules cibles autologues chargées ou non avec du lysat viral d'ADV2 ou d'ADV5) (Cytotherapy. 2018 Apr ;20(4) :524-531).

Un essai clinique de phase I/II multicentrique mené par le Professeur Bensoussan a permis de traiter 11 patients (1 patient avec une infection à adénovirus et 10 avec une maladie à adénovirus). Les 11 patients ont eu une bonne expansion *in vivo* de leur CTL anti-adénovirus détectés jusqu'à 60 jours après l'injection de façon corrélée à une bonne clairance du virus pour 10 patients. Aucune GVH ou évènement indésirables graves n'ont été déplorés à l'issue de l'injection²⁹.

Actuellement je poursuis cette collaboration forte avec l'UTCT avec l'encadrement d'une étudiante en 3^{ème} cycle d'étude médicale (Esther Hazane Leroyer) en préparation d'une thèse de médecine. Depuis 2016, le groupe de Médicament de Thérapie Innovante de Préparation Ponctuelle (MTI-PP) de la SFGM-TC analyse les prescriptions de MTI-PP (CTL et CSM). Depuis cette date, 33 injections de CTL anti-viraux ont été réalisées, 28 en frais et 5 en décongelé, parmi lesquelles 14 CTL-ADV, 7 CTL-EBV et 12 CTL-CMV. Afin d'évaluer de façon objective l'activité du groupe et le service rendu au patient, nous souhaitons analyser l'évolution clinique des patients. Les données cliniques d'efficacité et d'absence de toxicité sont actuellement recueillis et feront l'objet d'une publication. Par ailleurs, je suis depuis 2021 l'investigateur principal et le coordonnateur clinique pour la France de l'essai européen TRACE : une étude prospective de phase 3 évaluant le transfert adoptif de LT incubés *ex vivo* avec des peptides synthétiques d'antigènes viraux de CMV, adénovirus et EBV versus placebo. Cet axe fort dans ma recherche clinique s'est enrichi d'autres travaux collaboratifs de la SFGM-TC sur le CMV³⁰ et le COVID19^{31,32}.

3.2.4 Etude clinique sur l'allogreffe de CSH dans les syndromes myélodysplasiques et leucémie aiguë myéloïde

Au-delà des infections sévères que peuvent développer les patients allogreffés de CSH, d'autres complications en lien avec la greffe peuvent être délétères et contribuer à une mortalité liée à la toxicité de la greffe (appelée TRM ou appelée indifféremment dans certaines études NRM pour Non-Relapse Mortality) non négligeable. Pour limiter cette TRM, depuis plusieurs années, la réduction d'intensité des conditionnements de greffe (pour diminuer les dommages tissulaires à la base de la physiopathologie de la GVH comme expliqué dans la partie recherche fondamentale) et ajouter des agents immunomodulateurs

dans ce conditionnement ont été les principales stratégies. Malheureusement ces stratégies sont limitées par l'augmentation du risque de rechute de l'hémopathie sous-jacente qui devient à l'heure actuelle la première cause de mortalité post-greffe. Au travers d'un travail collaboratif de l'EBMT, Marie-Thérèse Rubio m'a proposé de co-écrire une étude rétrospective sur l'impact du sérum anti-lymphocytaire dans le conditionnement de greffe réalisé pour les patients atteints de leucémie aiguë. Forte de cette première étude clinique, j'ai par la suite conduit l'encadrement de trois thèses en médecine, pour mener trois études rétrospectives sur le registre francophone de la SFGM-TC visant à étudier les facteurs qui pourraient diminuer la rechute de ces hémopathies.

3.2.4.1 Etude de l'adjonction de sérum anti-lymphocytaire dans le conditionnement de greffe

Le groupe Acute Leukemia Working Party "ALWP" de l'EBMT coordonné par Savani Bipin et Arnold Nagler a proposé au Professeur Marie-Thérèse Rubio d'étudier dans l'allogreffe de CSH réalisé à partir d'un donneur géno-identique (c'est-à-dire un donneur intra-familial HLA-identique), l'impact de l'adjonction de sérum anti-lymphocytaire au conditionnement myélo-ablatif de type fludarabine et 4 jours de busulfan.

Pour cela, il a été analysé rétrospectivement 566 patients allogreffés de CSH en Europe pour une leucémie aiguë myéloïde en première rémission complète, entre 2006 et 2013 et avons comparé le devenir de 45 (25.6%) patients traités par SAL versus 421 (74.4%) patients traités sans SAL.

Il a été d'un part identifié, en analyse univariée, que les patients allogreffés avec du SAL au moment du conditionnement étaient plus âgés, étaient greffés avec une source de greffon de cellules souches périphériques (mobilisées par du G-CSF) à partir de donneur souvent plus âgés ($p < 0.001$). Toutefois, l'incidence cumulée de GVH chronique à 2 ans était significativement plus faible (31 vs. 52%, $p = 0.0002$) et la forme extensive de la GVH chronique aussi (8 vs. 26%, $p < 0.0001$) avec une incidence cumulée de rechute similaire (22 vs. 27%, $p = 0.23$). Ainsi, le groupe ayant reçu du SAL avait une survie sans GVH et sans rechute (GRFS) statistiquement supérieure au groupe traité sans SAL (60 vs. 40%, $p = 0.0001$). En analyse multivariée, l'adjonction de SAL était un facteur indépendamment associé à une incidence de GVH chronique plus faible (HR = 0.46, $p = 0.0001$), une meilleure survie sans leucémie (HR = 0.67, $p = 0.027$), une meilleure survie globale (HR = 0.65, $p = 0.027$), et une meilleure GRFS (HR = 0.51, $p = 4 \times 10^{-5}$).

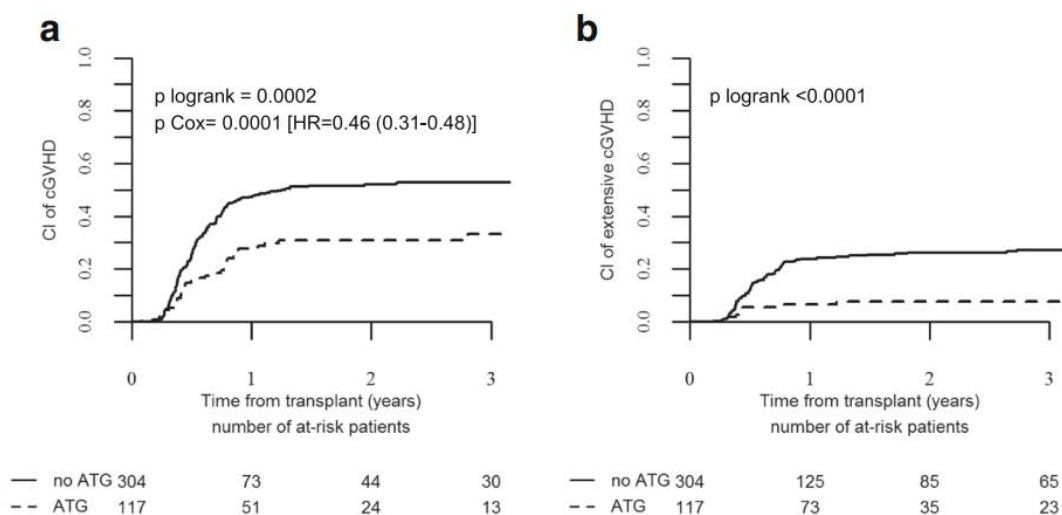


Figure 23 : incidence cumulée à 3 ans de la GVH chronique selon les groupes (traitement par SAL en pointillés et pas de SAL en trait plein)

- A. Incidence cumulée de toute GVH chronique, quelque soit le stade
B. Incidence cumulée de la GVH chronique extensive

3.2.4.2 Etude de l'intensité du conditionnement de greffe et du type de donneur

Depuis 2017, grâce au parrainage du Professeur Rubio, je suis membre de la Société Francophone de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire. Compte tenu de mon investissement auprès des patients atteints d'hémopathie myéloïde et notamment de syndrome myélodysplasique dans le service clinique, j'ai pu m'impliquer dans la société en proposant des sujets d'étude rétrospective en lien avec mon activité clinique, à partir de la base de données des patients PROMISE (base de patients allogreffés en France, Belgique, Suisse). La première étude incluait 431 patients atteints de SMD de haut risque (IPSS intermédiaire-2 et élevé) traité par allogreffe de CSH en France de 2010 à 2016, publiée dans le journal Clinical Lymphoma Myeloma Leukemia⁵ (issus de l'encadrement de la thèse de médecine d'Arnaud Campidelli, soutenue en octobre 2016). Nous avons comparé 3 conditionnements:

- 1/ un conditionnement séquentiel de type FLAMSA-RIC qui a fait la preuve de son efficacité et de sa tolérance dans le traitement des leucémies aiguë myéloïdes de haut risque en rechute ou réfractaire ;
- 2/ le conditionnement d'intensité réduite FluBu2 (fludarabine et 2 jours de busulfan) dont l'avantage est d'être mieux toléré avec moins de morbi-mortalité toxique mais au prix souvent d'une incidence supérieure de rechute ;

3/ un conditionnement myéloablatif à toxicité réduite FluBu3 et FluBu4 (fludarabine et busulfan 3 jours ou 4 jours), traitement qui permet un meilleur contrôle de la maladie hématologique.

Les caractéristiques des patients différaient entre les 3 groupes avec des patients plus jeunes dans les groupes FLAMSA-RIC et Flubu3/Flubu4. Par ailleurs, l'allogreffe était réalisée de façon plus précoce ainsi que des caractéristiques de la maladie hématologique étaient plus péjoratives dans le groupe FLAMSA-RIC (pourcentage de blaste médullaire au moment de la greffe et progression de la maladie significativement plus importants, $p < 0,0001$ pour les 2 caractéristiques). Le devenir des patients post-greffe dans les 3 groupes de conditionnement étudié en analyse univariée était comparable. On objectivait une incidence de GVH aiguë similaire et de GVH chronique globale (limitée et extensive comparable dans les 3 groupes). En revanche, l'incidence de la GVH chronique extensive était plus importante dans le groupe FLAMSA-RIC, par rapport aux 2 autres groupes ($p = 0,0017$). Finalement, compte tenu de caractéristiques des patients et de transplantation très différentes au sein des 3 groupes, nous avons décidé de réaliser une analyse multivariée après analyse du score de propension pour pondérer les caractéristiques initiales et permettre une analyse de groupes rendus homogènes. Brièvement, seul le pronostic cytogénétique défavorable du SMD et la greffe avec un donneur phéno-identique étaient statistiquement associés à une moins bonne survie globale.

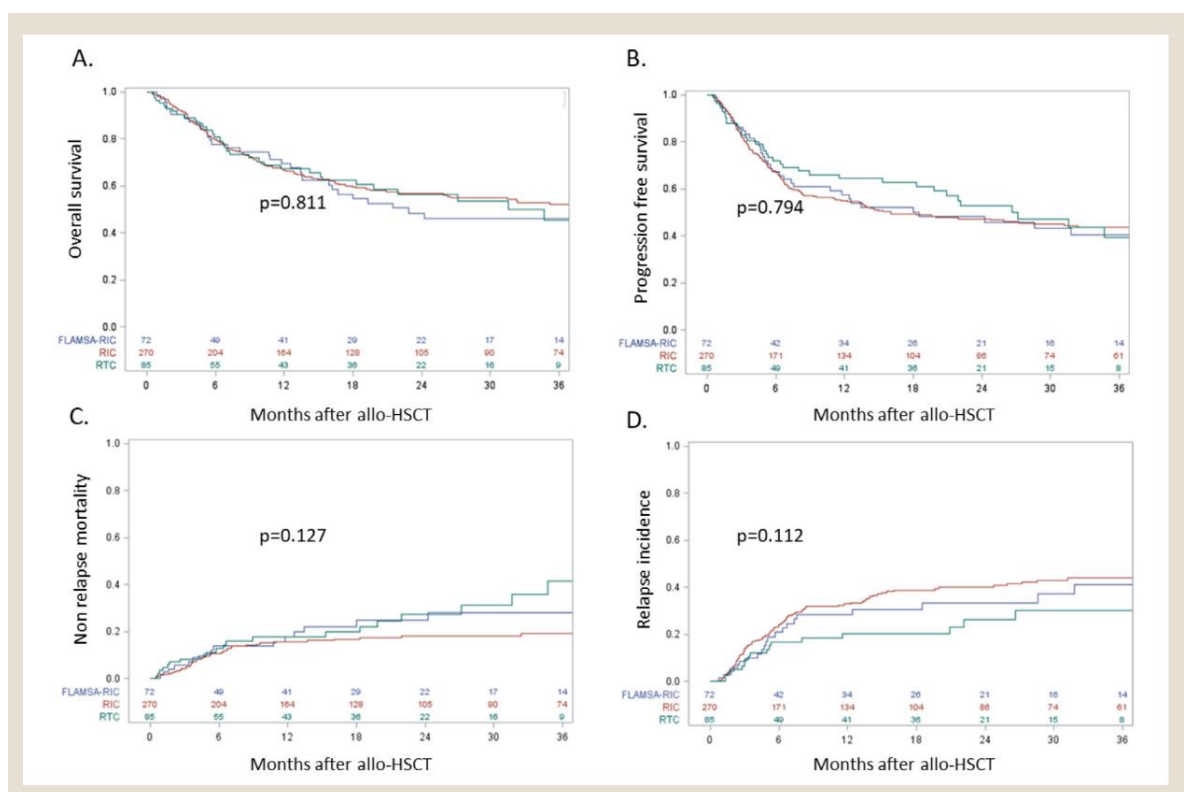


Figure 24 : Devenir à 3 ans post-greffe des patients selon le conditionnement reçu (FLAMSA-RIC en bleu, RIC de type FluBu2 en rouge et RTC type Flubu3 et Flubu4 en vert)

(A) Survie globale (Overall survival).

(B) Survie sans progression (Progression-free survival).

(C) Incidence cumulée de mortalité non liée à la rechute (non relapse mortality).

(D) Incidence cumulée de la rechute (incidence of relapse).

L'intensité du conditionnement de greffe est toujours un choix difficile pour trouver la meilleure balance entre la prévention de la rechute de l'hémopathie initiale sans augmenter la toxicité de la greffe. Dans cet esprit d'investiguer l'intensité des conditionnements de greffe, le Professeur Rubio avait proposé un sujet de thèse de médecine visant à reprendre au sein de notre centre uniquement, les patients allogreffés de CSH après un conditionnement réduit tel que le FluBu2 comparativement à un conditionnement appelé TBF réduit (qui est un conditionnement FluBu2 avec adjonction d'une dose de Thiotepa 5mg/kg). Cette étude monocentrique rétrospective a concerné 88 patients, 49 patients allogreffés après un conditionnement FluBu2 et 39 après un conditionnement TBF. Cette étude s'est heurtée une fois de plus à des caractéristiques de population très différente dans les deux groupes en termes de caractéristiques de l'hémopathie, statut de la maladie à la greffe, risque de la maladie (calculé sur le score DRI³³) reflétant notre souhait d'intensifier le conditionnement lorsque nous jugions l'hémopathie à haut risque de rechute. De plus les caractéristiques de la greffe étaient différentes entre les deux groupes en termes de choix du donneur et prophylaxie de la GVH (tableau 1). L'analyse de notre cohorte a donc nécessité la réalisation d'un score de propension (tableau 1) pour réduire les différences entre les deux groupes. Cette étude a permis d'identifier que le groupe de patients allogreffés après un conditionnement TBF réduit avait une moins bonne OS en lien avec une TRM plus élevée en analyse univariée. En analyse multivariée, le fait de recevoir un conditionnement TBF et d'avoir une maladie hématologique à risque élevé selon le calcul du score DRI étaient associés à une moins bonne survie globale (tableau 2), et nous avons soumis tout récemment l'article au journal Transplantation.

Tableau 1. Caractéristiques de la population étudiée avant et après score de propension

	Total N=88			Flu-Bu2 N=49 (55,1%)			RIC-TBF N=39 (44,9%)			P-value before adjustment	P-value after adjustment
	N	%/median	SD	N	%/moy	SD	N	%/median	SD	p**	p***
Interval from diagnosis to SCT (months)										0,0398	0,8884
	88	26.2	35	49	18.6	25	39	35.7	44		
Hematological disease										0,0002	0,8287
AML/ALL/MDS	50	56.8		37	75.5		13	33.3			
MPD/ MDS-MPD	22	25.0		2	4.1		20	51.3			
Lymphoid disorders	16	18.2		10	20.4		6	15.4			
Disease status at transplant										<0,0001	0,9492
CR	56	63,6		43	87.8		13	33.3			
PR	7	8.0		3	6.1		4	10.3			
SD	21	23.9		2	4.1		19	48.7			
Active disease	4	4.5		1	2.0		3	7.7			
Disease Risk index (DRI)										0,0136	0,9377
Low	11	12.5		9	18.4		2	5.1			
Intermediate	50	56.8		21	42.9		29	74.4			
High/very high	27	30.7		19	38.8		8	20.5			
Donor type										0,0680	0,9960
MSD	20	22.7		11	22.4		9	23.1			
MUD	53	60.2		36	73.5		17	43.6			
MMUD	4	4.5		2	4.1		2	5.1			
Haplo	11	12.5		0	0.0		11	28.2			
GVHD prophylaxis with Anti-Metabolite										0,0145	0,7383
	74	84.1		36	73.5		38	97.4			

Tableau 2. Analyse multivariée de la survie globale

OS		HR (95% CI)	p-value*
Univariate analysis	RIC-TBF versus FluBu2	4.5 (1.1-18.7)	0.04
Multivariate analysis	Age at SCT [§]	1.3 (0.7-2.1)	0.4
	DRI (high/very high)	3.7 (1.3-10.4)	0.01
	CMV seropositivity in recipient	1.8 (0.8-4.2)	0.16
	In vivo T cell depletion (ATG)	9.2 (0.4-208.1)	0.16
	Disease status (not in CR)	1.7 (0.4-7.8)	0.52
	RIC-TBF versus FluBu2	4.7 (1.1-21.01)	0.04

Plus récemment, j'ai pu conduire une deuxième étude multicentrique rétrospective au sein de la SFGM-TC (encadrement de la thèse de médecine de Claire Michel, soutenue le 3/10/2022) en proposant de comparer le devenir post-greffe des patients adultes atteints de syndrome myélodysplasique comportant des critères de haut risque cytogénétique (caryotype complexe à très complexe, monosomie 7, anomalies du 3 ou mutation *EVII*) selon le type de donneur, HLA 10/10 ou haplo-identique (HID).

Les critères d'inclusion étaient :

- Un diagnostic de MDS, selon la classification OMS 2008
- Un âge supérieur à 18 ans
- Première allogreffe entre 2010 et 2019
- Cytogénétique de haut risque et de très haut risque selon l'IPSS-R, ainsi que les anomalies moléculaires de haut risque ($TP53^{multihit}$, mutation de FLT3 et MLL^{PTD})

Au total, 269 patients ont été inclus, dont 220 patients ayant reçu une greffe de donneur HLA-identique (79 de donneur apparenté et 141 de donneur sur registre) et 49 ayant reçu une greffe de donneur haploidentique. L'âge médian à la greffe était légèrement plus élevé dans le groupe haploidentique à 64,9 ans (32,86-73.68) contre 61,87 ans (28,35-74,45) dans le groupe HLA-identique ($p=0,037$). Il n'y avait pas de différence significative dans les caractéristiques initiales du SMD, selon la classification OMS ($p=0,498$), le score IPSS ($p=0,570$) ou le score IPSS-R ($p=0,389$). Chaque groupe avait reçu un nombre de lignes de traitement pré-greffe comparable ($p=0,886$). En revanche, et comme attendu, la source du greffon, le type de conditionnement, le type de déplétion lymphocytaire T et la prophylaxie de la GVH étaient différentes selon le type de donneur choisi ($p<0,001$), en rapport avec des plateformes de greffe incluant conditionnement et prophylaxie du rejet et de la GVH différentes dans le groupe haplo-identique.

En analyse univariée, l'OS était statistiquement supérieure dans le groupe HLA-compatible par rapport au groupe HID (43,13%, 95% CI [36,85- 50,46]) *versus* (21,98%, 95% CI [11,77-41,05], $p=0.009$). Cette différence peut être expliquée par une PFS statistiquement plus élevée dans le groupe HLA-compatible (34.51%, 95%CI [29.06- 40.99]) par rapport au groupe HID (18.25%, 95%CI [9.47-35.20]), $p=0.021$). La TRM était comparable entre les deux groupes, ainsi que l'incidence cumulée de GVH et la GRFS. Il est à noter un excès de rejet du greffon dans le groupe haplo-identique (6,12% *versus* 1,82%), mais non significative ($p=0,282$)

En analyse multivariée, le seul facteur pronostic qui semblait pouvoir impacter l'OS était le donneur haplo-identique avec une tendance à un risque de mortalité plus élevé (sdHR = 1,63

[0,94-2,81], $p= 0,082$) et une tendance pour une incidence cumulée de rechute plus élevée (sdHR= 1.65 [0.94-2.89], $p= 0,078$). Ce travail vient de faire l'objet d'une soumission dans le journal Bone Marrow Transplantation.

3.2.4.2 Etude de l'administration d'injections de lymphocytes du donneur (DLI)

La troisième étude rétrospective menée au sein de la SFGM-TC et par l'encadrement d'une thèse de médecine (Charles Guisnel, soutenance le 6 mai 2022, article en révision à Acta Haematologica) concerne les injections de lymphocytes du donneur (ou DLI pour Donor Lymphocyte Infusion). Les DLI visent à réduire le risque de rechute post greffe. Le rationnel est que le microenvironnement médullaire et/ou la cellule souche leucémique d'une hémopathie maligne serait capable de diminuer le nombre et la fonctionnalité des lymphocytes cytotoxiques anti-tumoraux du donneur infiltrant la moelle osseuse. Ainsi l'injection de lymphocytes du donneur frais, ou préalablement congelés au moment du don, apporterait régulièrement des lymphocytes non soumis à ce microenvironnement qui auraient la capacité de reconnaître comme étrangères les cellules tumorales. Les injections de lymphocytes du donneur constituent une technique utilisée depuis les années 90 en stratégie dite « pre-emptive » c'est-à-dire lorsque l'on observe des marqueurs de rechute (chimérisme mixte et plus récemment sur le suivi de la maladie résiduelle ou MRD pour Minimal Residual Disease) ou après la rechute confirmée en traitement de rattrapage, en association ou non avec de la chimiothérapie. Puis les DLI ont été proposées pour la première fois en 1995 en stratégie « préventive » c'est-à-dire réalisées en post-greffe chez des patients indemnes de tout signe de rechute (chimérisme tout donneur, absence de maladie résiduelle détectable). Il s'agit d'une étude rétrospective sur registre qui se base sur les données de la Société Francophone de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire (SFGMTC), comprenant une base de données nationale de 3493 patients, ayant reçu une première allogreffe de CSH HLA-identique entre 2010 et 2016 pour un syndrome myélodysplasique ou une leucémie aiguë myéloïde. Parmi ces patients, ont été extraits les patients ayant reçus des DLI en stratégie préventive. Les critères d'inclusion étaient : avoir reçu au moins 1 DLI après la greffe et être en rémission de la maladie sous-jacente (SMD ou LAM), avec une MRD indétectable et/ou un chimérisme 100% donneur. Les critères d'exclusion étaient : avoir fait de la GVH de grade II à IV avant la première DLI et/ou avoir reçu des DLI pour une indication tierce (réactivation virale). Cinquante-six patients ont été sélectionnés pour le groupe « DLI preventive » et ont été appariés en 1 patient dans le groupe « DLI préventive » pour 3 patients dans le groupe contrôle sur les critères de :

- la pathologie : LAM ou SMD
- l'âge,
- le conditionnement : myélo-ablatif, dit « MAC » : comprenant les conditionnements à bas de TBI 12Gy, en association avec le la Cyclophosphamide (60mg/kgx2), le conditionnement Busulfan (12.8mg/kg)-Cyclophosphamide (60mg/kgx2) ainsi que les conditionnements à toxicité réduite tel que la Fludarabine (150mg/m²)-Busulfan (9.6 et 12.8mg/kg) ; ou d'intensité réduite, dit « RIC » comprenant Fludarabine (150mg/m²)-Busulfan (6.4mg/kg) et les conditionnements séquentiels, tel que le FLAMSA)
- la cytogénétique : sur la classification European Leukemia Network ELN2017 pour les LAM et sur la classification IPSS pour les MDS. Pour les deux maladies, les patients ont été répartis en trois groupes (favorable, intermédiaire et défavorable).

Le critère de jugement principal était l'incidence de la rechute. Les critères de jugement secondaire étaient la survie globale (OS), la survie sans progression de la maladie (PFS), la mortalité non liée à la rechute (NRM), l'incidence et la sévérité de la GVH aiguë et chronique.

Sur un total de 223 patients, la médiane d'âge à la greffe était de 50.1 ans, 12.11% étaient allogreffés pour un SMD et 87.89% pour une LAM. Plus de la moitié des patients (59.19%) ont reçu un conditionnement d'intensité réduite. Les caractéristiques initiales des patients entre le groupe « DLI préventive » versus contrôle sont comparables en termes de source de greffon (p=0.713), type de donneur (p=0.947), et prophylaxie de la GVH (p=0.216). En revanche, on observe une tendance à un plus haut risque de rechute post-greffe dans le groupe DLI préventive versus contrôle avec des patients atteints d'une LAM au-delà de la première rémission complète (RC1) (34% versus 20,55%, p=0.083) et on observe de façon statistiquement significative plus de patients recevant d sérum anti-lymphocytaire dans le groupe DLI préventive versus contrôle (83.93% versus 65.87%, p=0,017).

L'analyse univariée objective une tendance pour une incidence cumulée de rechute à 3 ans plus élevée dans le groupe « DLI préventive » (52.61, IC 95% [25.99-79.23] versus le groupe contrôle (29.31%, IC 95% [20.28-38.34], p=0.067). En revanche, on n'observait aucune différence entre le groupe « DLI préventive » versus « groupe contrôle » de la survie globale à 3 ans (OS) (respectivement 61.63%, IC 95% [44.03- 86.26] versus 64.16%, IC 95% [54.31- 75.80], p=0.892), de la mortalité non liée à la rechute à 3 ans (3-year NRM) (respectivement 5.70%, IC 95% [0.00-14.00]) versus 11.66%, IC 95% [4.33-18.99]), p=0,343), de la survie

sans progression à 3 ans (3-year PFS), (respectivement 41.69%, IC 95% [23.19- 74.96] versus 59.03%, IC 95% [49.37- 70.58], $p= 0.239$).

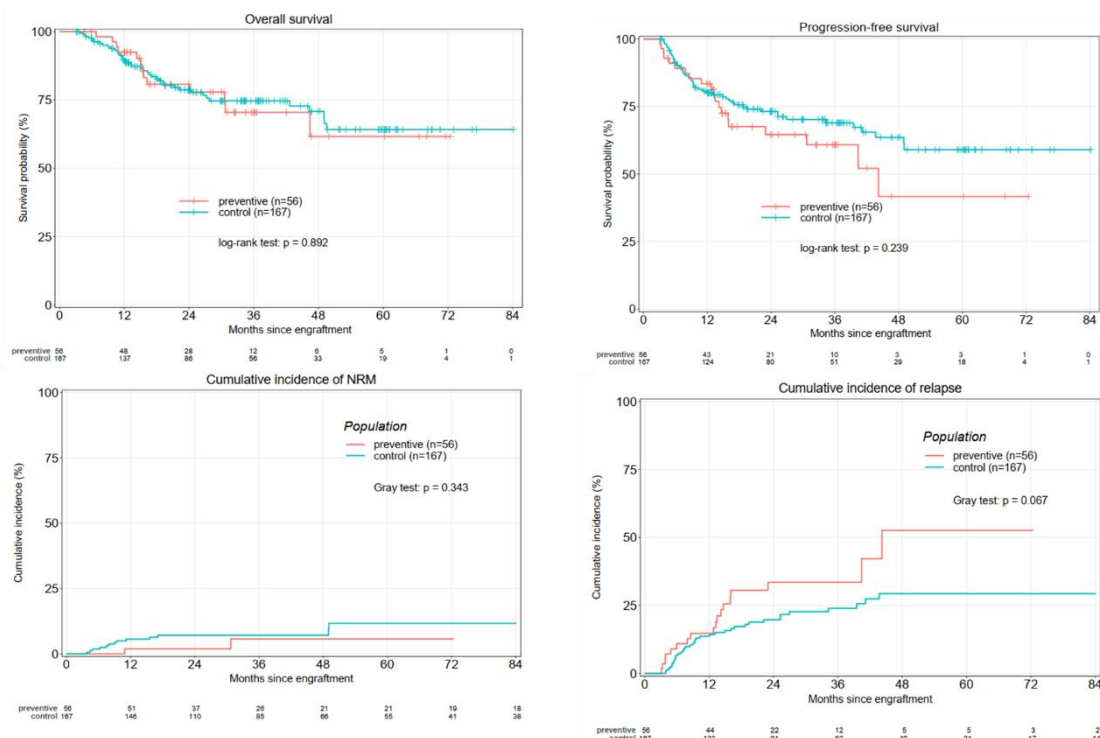


Figure 25 : Devenir post-greffe des patients selon l'administration de DLI préventives (DLI préventives en rouge et groupe contrôle en bleu)
 (A) Survie globale (Overall survival).
 (B) Survie sans progression (Progression-free survival).
 (C) Incidence cumulée de mortalité non liée à la rechute (non relapse mortality).
 (D) Incidence cumulée de la rechute (incidence of relapse).

En analyse multivariée, seule l'administration de sérum anti-lymphocytaire pendant le conditionnement est associée à une mortalité augmentée (HR 2.37, 95%CI [1.17-4.80], $p=0.017$), probablement expliquée par une diminution de la survie sans rechute (HR 1.70, 95% CI [0.96-3.03], $p= 0.069$), avec une NRM comparable (HR 1.45, 95%CI [0.49-4.25], $p=0.5$). En analyse de sous-groupe, aucun avantage au groupe DLI préventive n'était observé en terme d'incidence de rechute, survie globale, mortalité liée à la toxicité, survie sans rechute pour le sous-groupe « LAM » ou le sous-groupe avec « cytogénétique défavorable ».

3.2.5 Les syndromes myélodysplasiques (SMD)

3.2.5.1 Protocole prospectif sur les mécanismes de rechute des SMD après allogreffe de CSH

Depuis plusieurs années, je prends en charge aussi les patients atteints de syndromes myélodysplasiques et depuis quatre ans je me suis impliquée au sein du Groupe Francophone

des Myélodysplasie (GFM). Il nous est apparu important de développer ma propre thématique de recherche clinique en tant qu'investigateur principal. Ainsi, le premier protocole de recherche clinique prospectif que j'ai construit, a intéressé les SMD dans le contexte de l'allogreffe de CSH, projet multicentrique inter-régional (Nancy, Strasbourg, Besançon).

J'ai donc proposé un projet exploratoire qui permette d'explorer, pourquoi certains patients rechutent de leur SMD malgré une allogreffe de CSH (Appel à Projet Jeune Chercheur du GIRCI-Est, APJ 2019, 50000€, promoteur CHRU de Nancy, investigateur principal coordonnateur M.D'Aveni, protocole EVADE, multicentrique, CPP Sud-Ouest et Outre-Mer : Avis favorable le 06/06/2019, ANSM : Autorisation le 09/05/2019, N°ID-RCB : 2019-A00842-55).

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des hémopathies clonales acquises de la cellule souche hématopoïétique médullaire, avec prolifération excessive de progéniteurs myéloïdes qui se différencient de manière anormale (= dysmyélopoïèse). L'apoptose excessive des précurseurs aboutit à un défaut de production et à des cytopénies périphériques (= hématopoïèse inefficace). L'incidence de cette hémopathie augmente avec l'âge et avoisine l'incidence de la leucémie aiguë myéloïde avant 60 ans³⁴. Les SMD sont très hétérogènes puisqu'une partie des patients évoluera lentement vers des cytopénies croissantes, 30% des patients évolueront vers une leucémie aiguë myéloïde dont le pronostic est effroyable³⁵ et 10% des patients développeront des maladies auto-immunes associées. L'essor de la biologie moléculaire a permis l'exploration des SMD essentiellement sous l'angle du « mutatosome » (ensemble de mutations somatiques de gènes codant pour : les protéines de transcription, la régulation épigénétique (méthylation, compaction chromatine), l'épissage, la ségrégation de chromosome)³⁶. Pourtant, une des autres voies de recherche intéressantes pour de nouvelles pistes thérapeutiques est l'exploration des anomalies du microenvironnement médullaire avec l'émergence d'un système immunitaire régulateur, incapable d'éliminer ces cellules précancéreuses.

Pour explorer le microenvironnement médullaire des patients et comprendre l'échappement tumoral au contrôle du système immunitaire, il semble intéressant de l'étudier au moment du diagnostic mais aussi au cours d'une thérapeutique curative. Or, à l'heure actuelle, le seul traitement potentiellement curateur des SMD est l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Il s'agit d'une immunothérapie puissante qui suggère que le système immunitaire joue un rôle majeur dans le contrôle de l'évolution du SMD. L'effet anti-tumoral d'une allogreffe (appelé effet du Greffon contre la Tumeur ou GVT) est véhiculé

par l'effet immunologique des lymphocytes du donneur contre les cellules myélodysplasiques du receveur. Cet effet GVT est souvent associé au développement d'une maladie du greffon contre l'hôte (GVH), au cours de laquelle les lymphocytes T (LT) du donneur attaquent les organes sains du receveur tels que la peau, le tube digestif et le foie. Toutefois, la rechute du SMD survient chez environ 30 à 40% des patients allogreffés. Le pronostic de ces patients en rechute reste sombre avec moins de 5% de survie à 5 ans et une médiane de survie de 3 à 6 mois. La rechute est vraisemblablement liée à une inefficacité du système immunitaire du donneur à éradiquer les cellules tumorales résiduelles, souvent corrélée à l'absence de GVH, comme si le système immunitaire du donneur était devenu rapidement tolérant chez son nouvel hôte³⁷.

Plusieurs études récentes s'intéressent à établir des corrélations entre l'apparition en grand nombre de certaines cellules de l'immunité et la rechute post-greffe des hémopathies malignes (syndrome myélodysplasique, leucémie aiguë) suggérant un rôle important du système immunitaire dans le contrôle et la guérison de l'hémopathie. L'émergence de lymphocytes T de phénotype « épuisé », l'amplification de lymphocytes T régulateurs et la présence de cellules MDSC sont les principales cellules corrélées à la rechute.

L'épuisement lymphocytaire T (ou « exhaustion » LT) correspond à l'état du lymphocyte T en réponse à une stimulation antigénique persistante et est caractérisé par la perte de sa capacité de production cytokinique telles que l'IL-2, le TNF- α et l'IFN- γ , la perte de ses propriétés prolifératives et cytotoxiques. L'épuisement lymphocytaire T est lié à l'expression par le lymphocyte T activé des molécules PD-1, TIM-3, 2B4, CD160, BTLA et LAG-3. Le rôle de l'épuisement lymphocytaire T a été bien décrit dans les tumeurs solides mais les données dans le syndrome myélodysplasique sont plus restreintes. Récemment, il a été montré que l'apparition d'une population lymphocytaire épuisée phénotypiquement et fonctionnellement (LT PD-1^{high} TIM-3⁺, moindre production d'IL-2, TNF- α et IFN- γ) était prédictive de la rechute post-greffe de la leucémie aiguë. Cette population lymphocytaire était autant CD4⁺ que CD8⁺ mémoire³⁸. De plus, les patients en rechute d'une hémopathie maligne après allogreffe de CSH ont dans leur moelle osseuse une diminution en nombre de LT8 cytotoxiques infiltrant la moelle osseuse, et les LT8 qui persistent ont un phénotype épuisé³⁹.

L'apparition de LT « régulateurs » est aussi corrélée à la rechute d'une hémopathie myéloïde⁴⁰. Ces lymphocytes régulateurs peuvent avoir un phénotype très particulier (LT4 CD25⁻ CD69⁺) avec des propriétés immunosuppressives puissantes.

L'émergence de MDSC a été observée pour la première fois en hématologie chez les receveurs d'allogreffe de CSH qui présentaient une GVH aiguë. Ces MDSC (HLA-DRlow / - CD14+) étaient dotées de propriétés suppressives in vitro par l'Indoleamine 2,3-deoxygenase ou IDO²³. Plus récemment, certaines équipes ont décrit en post-greffe l'émergence des deux principaux sous-types de MDSC bien connus dans la littérature d'oncologie solide. Les MDSC monocytiques ou M-MDSC (HLA-DR- CD11b+ CD33+ CD14+) et les MDSC granulocytiques ou G-MDSC (HLA-DR- CD11b+ CD33+ CD15 + CD66b +) apparaissent dans les 3 premiers mois post-transplantation. Ces cellules régulent la prolifération des cellules T CD4+ et favorisent la déviation immune vers un profil de LT régulateurs²⁴. Plus récemment, des études prospectives ont tenté d'identifier des corrélations entre les MDSC circulantes dans le sang post-greffe et le devenir des patients (survie globale (OS), mortalité sans rechute (NRM), survie sans événement (EFS) et GVH aiguë et chronique). Nous retiendrons que l'expansion précoce dans le sang des M-MDSC après allogreffe de CSH semble associée aux devenir post greffe des patients : incidence plus élevée d'infection, de rechute et impact contradictoire sur la GVH^{25 26}. Deux limites majeures sont soulevées par ces études : les MDSC n'ont pas été étudiées au sein du microenvironnement tumoral qui est la moelle osseuse, et d'autre par les MDSC ont été décrites selon leur phénotype en cytométrie en flux, aucune vérification de leur propriété immunosuppressive n'a été réalisée. De plus, leur voie métabolique et leur signature transcriptomique n'ont pas été étudiées. Or, quelques études récentes montrent que les MDSC sont très plastiques dans leur fonction et peuvent perdre leurs propriétés immunosuppressives en fonction du contexte. Récemment, il a été démontré dans un modèle murin que leur propriété immunosuppressive pouvait disparaître en lien avec un niveau d'activation élevé de l'inflammasome^{41,42} quelques jours après allogreffe de CSH.

Notre hypothèse principale est que la présence de cellules myéloïdes immatures suppressives (MDSC) dans le microenvironnement médullaire est un facteur important dans l'échappement des cellules myélodysplasiques au contrôle du système immunitaire adaptatif représenté par les lymphocytes T. Ces MDSC seraient capables de réguler l'activation et la prolifération des lymphocytes T qui envahissent la moelle osseuse et de les orienter vers un profil régulateur. Par ailleurs, en post-allogreffe de CSH immédiat, le microenvironnement stromal médullaire déficient persistant du receveur, pourrait dans les premiers mois de la greffe induire des MDSC à partir des cellules myéloïdes du donneur qui colonisent la moelle osseuse du receveur. Ces MDSC rapidement apparues en post-allogreffe pourraient inhiber le système

immunitaire adaptatif du donneur et ainsi favoriser la rechute précoce. Ce mécanisme expliquerait pourquoi les patients qui rechutent dans les premiers mois de la greffe sont les patients qui ne développent aucune allo-réactivité post-greffe. *A contrario*, dans certaines situations d'allogreffe (haplo-identique, conditionnement toxique avec relargage de signaux de dangers ...) où le système immunitaire du donneur est capable de déclencher rapidement une allo-réactivité forte, les MDSC pourraient maturer vers un phénotype de monocytes matures inflammatoires totalement dépourvus de propriété immunorégulatrice. Ceci expliquerait que les patients atteints de GVH aiguë rechutent rarement dans les premiers mois de la greffe.

Ainsi nous avons proposé une étude inter-régionale, prospective, translationnelle, avec comme objectif principal : étudier la relation entre la quantité de cellules myéloïdes suppressives (MDSC) présente dans le micro-environnement médullaire et/ou le sang périphérique et l'incidence de la rechute à deux ans post-greffe chez les patients atteints de leucémie aiguë ou myélodysplasie après allogreffe de CSH (figure 26).

Les objectifs secondaires sont :

1. Etudier la relation entre la quantité de ces cellules régulatrices (MDSC, Tregs et certains phénotypes de lymphocytes T) et l'évolution clinique des patients à 2 ans post-greffe
2. Etudier la relation entre la quantité de cellules myéloïdes suppressives (MDSC) et celle d'autres populations cellulaires régulatrices telles que les lymphocytes T régulateurs (Tregs) ou l'apparition de lymphocytes T tolérants vis-à-vis des cellules tumorales (T « exhausted ») dans la moelle osseuse et dans le sang du receveur.
3. Définir les différents sous types phénotypiques de MDSC contenus dans le microenvironnement médullaire et dans le sang circulant de ces patients allogreffés ainsi que leurs propriétés immunosuppressives in vitro vis-à-vis des lymphocytes T.

Les patients de la cohorte sont actuellement inclus dans l'inter-région par l'unité de greffe où ils bénéficient de leur suivi clinique (les informations cliniques sont collectées et anonymisées au fur et mesure du suivi).

Le suivi des patients (clinique et biologique), nécessite des cellules fraîches issues des prélèvements de moelle osseuse et de sang) pendant 1 an, et se fait en consultation pré-greffe, à un mois (M1), M3, M6 et M12 post-greffe. Au-delà d'un an, seul le suivi clinique se

poursuit jusqu'à 2 ans post-greffe avec le recueil des données : rechute, survie, GVH, toxicité liée à la greffe.

Les prélèvements biologiques de sang et moelle permettent:

- caractérisation des cellules régulatrices (technique de cytométrie en flux), et corrélation entre elles :

*MDSC: CD34, Lin, HLA-DR, CD33, CD11b, CD14, CD15

*Tregs: CD3, CD4, CD25, CD127, Foxp3

*T « exhausted » : CD3, C4, CD8, CD45RA, CD95, CCR7, PD-1, TIM-3, 2B4, BTLA, CD160, LAG-3).

-étude de leurs propriétés régulatrices (tri des MDSC et des LT, que pour les prélèvements riches en cellules). Les LT triés, activés mis en co-culture avec les MDSC triées pour analyser les propriétés régulatrices des MDSC sur les LT. Pour certaines cultures, adjonction d'inhibiteurs de mécanismes régulateurs des MDSC.

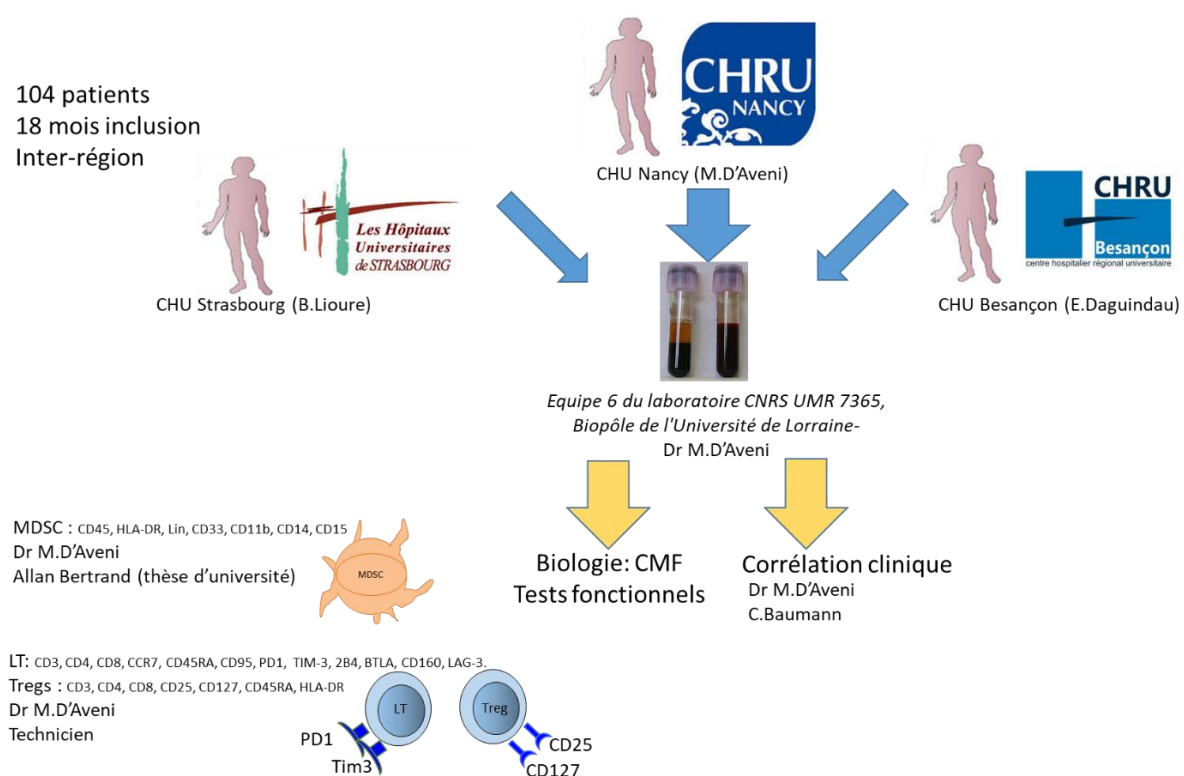


Figure 26 : protocole inter-régional prospectif d'études de patients atteints de SMD, allogreffés de CSH et les mécanismes d'échappement au contrôle du système immunitaire (protocole EVADE).

A noter que ce projet de recherche translationnelle mené dans le contexte de l'allogreffe de CSH a été l'objet d'une discussion avec le service de médecine interne. Le Docteur Thomas Moulinet (actuellement PHU) mène actuellement une thèse d'université au laboratoire de

recherche, sur le lupus érythémateux disséminé. Le lupus érythémateux systémique (LES) est une maladie auto-immune, chronique et invalidante. Cette maladie affecte environ 1 personne pour 1000 (soit 60000 personnes en France) majoritairement les femmes (9 femmes/1 homme) jeunes entre 15 ans et 45 ans. La physiopathologie est complexe impliquant des facteurs génétiques, environnementaux et hormonaux, conduisant à une rupture de tolérance (un déséquilibre entre cellules immunitaires régulatrices et cellules effectrices). Parmi les cellules régulatrices, les cellules myéloïdes suppressives (ou MDSC) sont décrites constamment dans la littérature comme augmentées au cours du LES, et a fortiori en cas de LES actif. Elles peuvent avoir un phénotype hétérogène : toujours HLA-DR-, Lin-, CD33+, CD11b+, elles sont parfois monocyttaire CD14+ parfois granulocytaire CD15+ ou parfois immatures CD14- CD15-. Par ailleurs, les propriétés immunosuppressives des MDSCs sont discordantes : certaines études objectivent un maintien de leurs capacités suppressives, alors que d'autres objectivent l'acquisition d'un phénotype pro-inflammatoire avec induction de lymphocytes Th17.

Le lupus est une maladie chronique évoluant par poussées. La maladie et la prise de traitements au long cours ont des conséquences sur la vie quotidienne. Le traitement doit être réduit progressivement pour maintenir une immunosuppression prolongée minimum pour limiter les effets secondaires à long terme mais suffisante pour prévenir la future poussée ainsi que les séquelles définitives. Actuellement, le traitement de fond repose sur l'utilisation de médicaments aux propriétés anti- inflammatoires permettant un contrôle de la maladie au long cours et de prévenir la rechute. Malgré des années de recherche sur le système immunitaire dérégulé dans le LES, il n'existe pas de traitement curatif du Lupus Érythémateux Systémique, ni de test biologique permettant de prédire les poussées. Nous avons émis l'hypothèse que la présence de MDSC dans le sang des patients atteints de LES puisse être associée à l'activité de la maladie.

Nous avons donc proposé une étude translationnelle adossée au laboratoire de recherche IMoPA avec l'exploration identique des MDSC sur les expérimentations déjà maîtrisées (phénotype, propriétés fonctionnelles, métabolisme, transcriptomique...). Nous avons proposé cette collaboration pour évaluer le rôle des MDSC dans le LES en étudiant plus précisément leur immunophénotype et immunométabolisme de façon prospective sur cellules fraîches à l'aide de la technique de cytométrie multiparamétrique.

3.2.5.2. Implication dans les protocoles prospectifs cliniques du GFM investiguant les SMD

Mon activité de recherche clinique, initialement centrée sur l'allogreffe de CSH, s'est donc progressivement élargie à la prise en charge des SMD. Mon implication croissante dans la prise en charge des patients atteints de SMD, m'a conduit à participer en tant que co-investigateur dans de nombreux protocoles de recherche clinique avec le Dr Agnès Guerci, investigateur principal (protocoles de recherche académique coordonnés par le GFM et protocoles de recherche industrielle). Depuis novembre 2021, c'est au sein d'une collaboration forte avec l'équipe du Pr Pierre Fenaux à l'hôpital Saint Louis, président du GFM, que je m'implique de plus en plus dans la recherche clinique dans les SMD.

3.3 Financement et/ou valorisation de la recherche

Thématique de recherche	Financement	Montant (en €)	Porteurs du projet	Année d'obtention
-------------------------	-------------	-------------------	--------------------	-------------------

Etude de la reconstitution immunitaire post-greffe des MDSC	Ligue contre le cancer	30000	M.D'Aveni	2022
Etude du métabolisme des cellules myéloïdes suppressives par la technique de cytométrie en flux	AAP incitatif pôle BMS	12500	M.D'Aveni	2021
Production en grade clinique de MDSC, « E-MDSC »	Brevet SATT Sayens	346000	M.D'Aveni	2021
Injection de cellules stromales mésenchymateuses de la gelée de wharton (CSM-GW) après allogreffe haplo-identique de cellules souches hématopoïétiques pour la prophylaxie de la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) : étude d'escalade de doses, protocole « HAPLO-GEL »	PHRC-I	300000	M.D'Aveni	2020
Etude des mécanismes d'immuno-évasion et notamment du rôle des cellules myéloïdes suppressives dans l'échappement des cellules de leucémie aiguë et de myélodysplasie au contrôle immunitaire de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques EVADE	GIRCI-Est	50000	M.D'Aveni	2019
Rôle de l'exhaustion lymphocytaire T et des cellules immunosuppressives après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques dans la prédiction de la rechute des hémopathies malignes myéloïdes	Ligue contre le cancer (co-porteur)	30000	Co-porteur M.D'Aveni et MT Rubio	2018
Immunorégulation de la maladie du greffon contre l'hôte par les cellules souches mésenchymateuses de la gelée de Wharton : Etudes in vitro et in vivo sur un modèle de la GVHD chez la souris NSG SC et rechute post-greffe	Ligue contre le cancer (co-porteur)	30000	Co-porteur M.D'Aveni et MT Rubio	2017
Immunorégulation de la maladie du greffon contre l'hôte par les cellules souches mésenchymateuses de la gelée de Wharton : Etudes in vitro et in vivo sur un modèle de la GVHD chez la souris NSG	AREMIG (Association pour la Recherche et les Etudes dans les Maladies Infantiles Graves) co-porteur	30000	Co-porteur M.D'Aveni et C.Pochon	2017
Immunorégulation de la maladie du greffon contre l'hôte par les cellules souches mésenchymateuses de la gelée de Wharton : Etudes in vitro et in vivo sur un modèle de la GVHD chez la souris NSG	Agence de Biomédecine	20000	M.D'Aveni	2016

4. COLLABORATIONS SCIENTIFIQUES DANS LES PROJETS DE RECHERCHE

4.1 Recherche expérimentale

Les travaux de recherche expérimentale ont été réalisés grâce aux collaborations suivantes :

- Equipe du Pr Olivier Hermine, CNRS UMR 8147, Hôpital Necker, Paris et Institut Hospitalo-Universitaire (IHU) Imagine, Université Sorbonne Paris cité, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker, Paris, France
- Equipe du Dr Flora Zavala, chercheur, spécialiste des cellules régulatrices mobilisées par le G-CSF, Institut Necker Enfants Malades, INSERM U1151, CNRS UMR8253, Université Paris Descartes
- Equipe du Pr Ronjon Chakraverty, « Institute for Immunity and Transplantation » et « Cancer Institute, University College London », Londres, UK
- Dr Julie Bruneau, Laboratoire d'anatomopathologie du Pr Brousse, Hôpital Necker, Paris
- Equipe du Pr Mohamad Mohty INSERM UMRs 938, Centre de recherche de l'hôpital Saint Antoine, Paris, France
- Dr Hélène Trebeden-Nègre, Département de biothérapie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
- Equipe du Pr Jean-Louis Guéant, Université de Lorraine, Inserm U1256, NGERE, avec tout particulièrement, les Drs Sébastien Hergalant et Julien Broséus et le Pr Feugier.

4.2 Recherche translationnelle et clinique

Les travaux de recherche clinique et clinico-biologique ont été réalisés grâce aux collaborations suivantes :

- Unité de méthodologie du Pr Nathalie Thilly, Data-management and Statistics (UMDS), CHRU de Nancy et particulièrement le Dr Cédric Baumann.
- Unité de Thérapie Cellulaire et Tissulaire, Pr Danièle Bensoussan et ses collaboration avec le Pr Tobias Feuchtinger (Münich, Allemagne) pour son expertise dans la production de CTL anti-virus.
- Les centres de greffes de la SFGM-TC, en particulier :
 APHP, Hôpital Saint-Louis (Dr Marie Robin), Hôpital de la Pitié Salpêtrière (Pr Stéphanie Nguyen), Hôpital Saint Antoine (Pr Mohamad Mohty)
 CHU de Lyon, Dr Hélène Labussière
 CHU de Bordeaux, Hôpital Haut-Levêque, Dr Edouard Forcade
 CHU de Besançon, Dr Etienne Daguindau
 CHU de Strasbourg, Dr Bruno Lioure,
 CHU de Lille, Pr Ibrahim Yakoub-Agha
 CHU de Grenoble, Dr Claude-Eric Bulabois

APHM, Institut Paoli Calmette, Pr Didier Blaise et Dr Raynier Devillier

CHU de Nantes, Dr Patrice Chevallier

CHU d'Angers, Dr Sylvie François,

CHU de Toulouse, Dr Anne Huynh,

CHU de Montpellier, Hôpital Saint Eloi, Dr Patrice Ceballos.

Hôpital Saint-Luc, Bruxelles, Belgique, Dr Xavier Poire.

Hôpital UZ Leuven, Louvain, Belgique, Dr Johan Maertens.

CHU de Caen, Hôpital Côte de Nacre, Caen, Dr Sylvain Chantepie.

CHU de Tour, Dr Alban Villate.

CHU d'Amiens, Dr Amandine Charbonnier

CHU de Rouen, Dr Nathalie Contentin.

-Les centres de greffe européens de l'EBMT et en particulier Dr Myriam Labopin, Pr Arnon Nagler, Dr Bipin Savani de l' « Acute Leukemia Working Party » de l'EBMT, EBMT data office, Hôpital Saint Antoine, Paris

-Les centres d'hématologie du GFM, en particulier

APHP, hôpital Saint Louis, service du Pr Pierre Fenaux, Pr Lionel Adès et Dr Marie Sébert

CHU de Grenoble, Pr Sophie Park

Oncopôle de Toulouse, Dr Thibault Comont

-Groupe MINHEMON, mené par le Pr Arsène Mekinian, Manifestations associées aux hémopathies et cancers « Club Médecine Interne Hemato et Onco », et interaction avec le service de médecine interne du Pr Roland Jaussaud (et particulièrement le Dr Thomas Moulinet).

5. PROJET DE RECHERCHE

5.1 Projet de recherche fondamentale

Au cours de mon doctorat j'ai travaillé sur les cellules myéloïdes suppressives (MDSC) dans un contexte d'hématopoïèse pro-inflammatoire (mobilisation par du G-CSF). Par la suite, j'ai pu m'intégrer dans l'équipe de recherche CNRS 7365 adossée au service d'hématologie clinique sur la thématique des cellules immunorégulatrices permettant de contrôler la réaction du greffon contre l'hôte (GVH). J'ai ainsi co-dirigé 2 thèses avec le Pr Marie-Thérèse Rubio, l'une sur les MDSC (ma thématique d'expertise) et l'autre sur les CSM-GW (thématique d'expertise du laboratoire) dans la régulation de l'alloréactivité, et ceci en lien avec mon activité clinique principalement sur l'allogreffe de CSH.

Depuis ma prise de fonction en tant que CCU-AH puis MCU-PH, je prends en charge aussi les patients atteints de syndromes myélodysplasiques et depuis peu je me suis impliquée au sein du Groupe Francophone des Myélodysplasie. Il nous est apparu important de développer ma propre thématique au sein du laboratoire. Celle-ci s'oriente vers l'étude du microenvironnement médullaire dans les syndromes myélodysplasiques. Des demandes de financements sont en cours. Ce projet réunit mon domaine d'expertise (MDSC) mais aussi l'expertise des Dr Natalia De Isla (MCU à la faculté de médecine, Université de Lorraine) sur les cellules stromales mésenchymateuses et leur sénescence et du Dr David Moulin (CR à la faculté de médecine, Université de Lorraine) sur le métabolisme cellulaire, tous deux travaillant dans le laboratoire CNRS 7365 et avec qui je travaille déjà en étroite collaboration.

L'incidence des SMD, le risque d'évolution vers une LAM et la faible réponse globale aux traitements classiques (tels que les agents hypométhylants) augmentent fortement avec l'âge⁴³. Avec une population vieillissante croissante, il existe un besoin imminent de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques dans les SMD⁴⁴. Les facteurs génétiques, et épigénétiques ont largement été décrits comme impliqués dans l'évolution des SMD. Les mutations somatiques sont apparues comme des marqueurs précieux pour définir les groupes à risque de progression et comme candidats pour des approches thérapeutiques ciblées⁴⁵. Mais de toute évidence, une autre voie de recherche prometteuse est le microenvironnement médullaire immunitaire⁴⁶, avec une proportion accrue de cellules T épuisées et/ou régulatrices, et une proportion accrue de cellules suppressives dérivées des myéloïdes (MDSC) qui pourraient favoriser la progression du SMD par évasion au contrôle immunitaire⁴⁷. Les MDSC ne sont pas présentes à l'état d'équilibre chez les individus sains et apparaissent dans le cancer et les

conditions pathologiques associées à l'inflammation chronique ou au stress⁴⁸. Ces dernières années, de nombreuses preuves soutiennent un rôle clé des MDSC dans les SMD. Par conséquent, le ciblage de ces cellules peut représenter une opportunité thérapeutique intéressante.

5.1.1 Projet scientifique à court terme

Tout d'abord, nous proposons d'explorer la niche hématopoïétique et notamment les interactions possibles entre les cellules stromales mésenchymateuses de la moelle osseuse (CSM-MO) et les cellules hématopoïétiques myéloïdes et notamment comment les CSM pourraient contribuer à l'émergence de cellules myéloïdes avec des propriétés immunorégulatrices.

En effet, les CSM-MO sénescents peuvent induire un stress génotoxique cellulaire extrinsèque indispensable à l'émergence de MDSC⁴⁹. La niche mésenchymateuse a d'abord été démontrée chez la souris comme étant impliquée dans la transformation maligne via la signalisation p53-S100A8/9-TLR4⁵⁰. Depuis cette description, de nombreuses études chez des patients atteints de SMD ont démontré que les BM-MSC sont structurellement, épigénétiquement et fonctionnellement altérées, avec une sénescence prématurée⁵¹. De plus, lorsque des cellules progénitrices et souches hématopoïétiques HSPC saines sont cultivées sur une monocouche de cellules stromales mésenchymateuses issues de la moelle osseuse de patients myélodysplasiques, on observe une différenciation des cellules hématopoïétiques vers des cellules dysplasiques et les monocytes acquièrent des propriétés phénotypiques et immunosuppressives répondant à la définition de MDSC⁵². Le Dr De Isla explore la sénescence des CSM-MO depuis plusieurs années dans le laboratoire CNRS 7365^{53,54}. Tout d'abord, elle a démontré que les CSM-MO sénescents réalisent des transferts de mitochondries avec leur microenvironnement via des nanotubes⁵⁵. Il a été décrit dans la littérature que les blastes myéloïdes peuvent recevoir un transfert de mitochondries à partir des CSM-MO⁵⁶, et l'incorporation de ces mitochondries dans les cellules blastiques augmenterait leur chimiorésistance⁵⁷. Le transfert mitochondrial est une voie de recherche intéressante à explorer car il est augmenté en présence de ROS (élevé dans la moelle osseuse de SMD) et il est à ce jour très peu exploré dans les SMD. Nous émettons l'hypothèse que ces transferts pourraient favoriser l'émergence d'un microenvironnement tolérant. En effet, des études récentes ont montré que les transferts de mitochondries favorisent la différenciation des cellules T CD4⁺ en cellule régulatrices T CD4⁺CD25⁺ (Tregs) en augmentant le taux de consommation d'oxygène des cellules T pour la respiration basale et la production d'ATP⁵⁸.

Une autre piste est que les CSM-MO sénescents surexpriment le CD157 à leur surface (Targa et al. soumis). CD157 est une glycoprotéine de surface cellulaire à ancrage GPI qui catalyse l'hydrolyse du NAD⁺ et agit comme un composant du complexe récepteur d'adhésion de l'intégrine. Il a été montré que le CD157 peut se lier au CD11b (exprimé à la surface des cellules myéloïdes) et ainsi pourrait induire une mobilisation intracellulaire de Ca²⁺. Toutes ces observations réalisées dans les CSM-MO sénescents doivent à notre sens être investiguées pour comprendre comment elles façonnent, modifient le microenvironnement immunitaire médullaire dans les SMD.

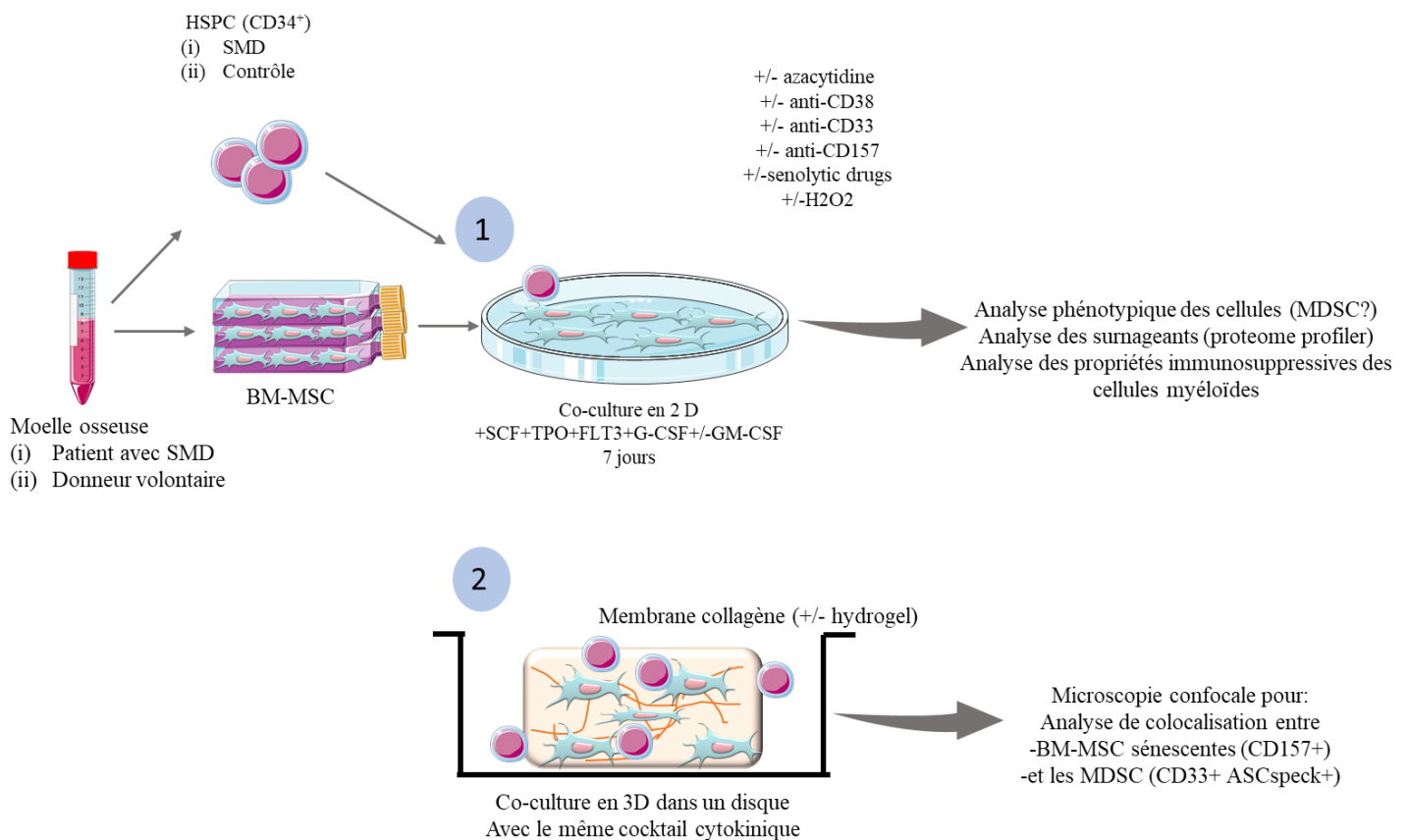


Figure 27 : Etude des interactions CSM de moelle osseuse et cellules hématopoïétiques.

1 / Les cultures de CSM-MO (de patients SMD ou contrôle) sont réalisées avec les CD34⁺ (de patients SMD ou contrôle). Après 7 jours en SCF, TPO, FLT-3L, G-CSF, les cellules myéloïdes sont caractérisées. Les mécanismes supposés (senescence, inflammation, ROS production) seront inhibés.

2. Pour mimer le microenvironnement, une membrane de collagène (+/- hydrogel) permettra une co-culture en 3D dans des conditions d'hypoxie. Ces cultures permettront d'observer les contacts cellulaires entre CSM sénescents (CD157⁺ CD45⁻) et les cellules myéloïdes (CD45⁺CD33⁺ +/- ASCspeck⁺).

5.1.2 Projet scientifique à moyen terme

Parallèlement à cette problématique de la senescence, l'émergence des MDSC dans le compartiment myéloïde est une thématique importante et encore peu étudiée chez l'Homme, dans l'évolution des SMD de faible risque et dans l'échappement au contrôle immunitaire. Chez les souris transgéniques S100A9, un modèle expérimental de SMD, il a été démontré que les MDSC s'accumulent dans la moelle osseuse⁵⁹. Chez l'homme, les Toll Like Receptors (TLR) sont surexprimés dans les cellules souches et progénitrices hématopoïétiques (HSPC) chez les patients atteints de SMD et l'expression et la signalisation des TLR jouent un rôle important dans la mort des cellules hématopoïétiques. Les alarmines S100A8 et S100A9 entraînent l'activation de l'inflammasome NLRP3 et la pyroptose qui en résulte⁶⁰. De plus, l'engagement du CD33 par l'alarmine S100A9 active et expand les MDSC, et les MDSC activées sécrètent à leur tour des alarmines S100A8/A9, fournissant ainsi à la fois une stimulation autocrine et paracrine des MDSC et renforçant la génération de cytokines pro-inflammatoires. Plusieurs composants de la réponse inflammatoire, tels que la signalisation NF-κB et TLR, sont régulés positivement dans les MDSC, renforçant l'idée que les MDSC sont des cellules myéloïdes pathologiquement activées dans les SMD. L'accumulation de MDSC chez les patients atteints de SMD a été rapportée et corrélée à un pronostic plus sombre⁶¹ et le blocage du CD33 par l'administration d'un anticorps monoclonal a amélioré le microenvironnement de la moelle osseuse dans des études pré-cliniques⁶². En revanche, les études cliniques de phase 2 n'ont pas montré d'efficacité des anticorps monoclonaux anti-CD33 dans la prise en charge des SMD de faible risque. Les critères de caractérisation phénotypique de ces cellules par cytométrie en flux sont maintenant relativement bien définis⁹. Comme décrit précédemment, parmi les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC), les MDSC granulocytaires sont définies comme CD11b+CD14-CD15+ ou CD11b+CD14-CD66b+, et les MDSC monocytaires comme CD11b+CD14+HLA-DR-/loCD15-. Lin- (y compris CD3, CD14, CD15, CD19, CD56). Les cellules HLA-DR-CD33+ contiennent des groupes mixtes de MDSC comprenant plus de progéniteurs immatures. Le terme « early-stage MDSC » (e-MDSC) a été récemment proposé pour cette dernière population (figure 21).

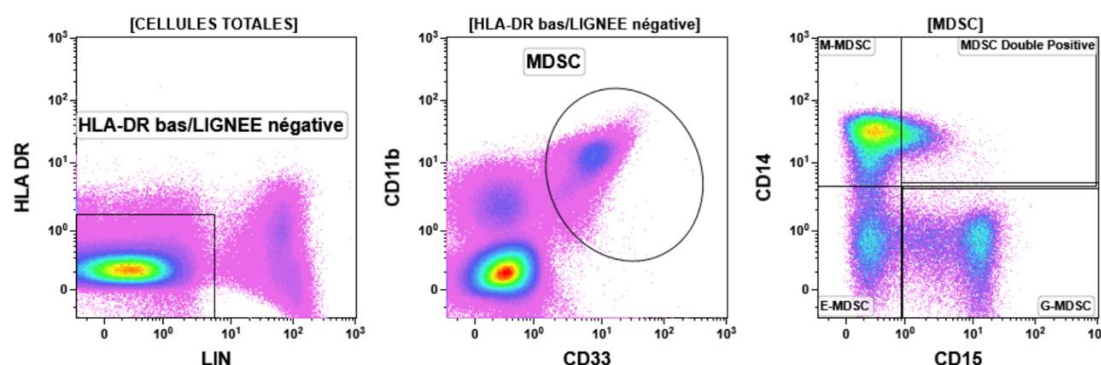


Figure 28: Stratégie d'analyse dans le laboratoire des 3 sous-types de MDSC en Cytométrie en flux dans la fraction CD34- : M-MDSC : HLA-DR low Lineage- CD33+ CD11b+ CD14+ CD15-, G-MDSC : HLA-DR low Lineage - CD33+ CD11b+ CD14+ CD15+, P-MDSC : HLA-DR low Lineage - CD33+ CD11b+ CD14- CD15-.

Cependant, les marqueurs de surface spécifiques permettant l'identification précise des MDSC, parmi les cellules myéloïdes, font défaut. Par conséquent, les critères phénotypiques seuls ne sont pas suffisants pour identifier les cellules en tant que MDSC. Pour affirmer que ces cellules myéloïdes sont des MDSC, il faut vérifier leur fonction immunosuppressive⁶³. Bien que les MDSC aient été impliquées dans la suppression de différentes cellules du système immunitaire, les principales cibles des MDSC sont les lymphocytes T conventionnels. Les principaux facteurs impliqués dans la suppression immunitaire induite par les MDSC comprennent l'arginase (ARG1), l'iNOS, le TGF β , l'IL-10, la cyclo-oxygénase (COX)2, la séquestration de l'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO), la diminution de l'expression de la L-sélectine par les lymphocytes T. A ce jour, si les MDSC sont bien étudiées dans le microenvironnement de cancers solides, il reste difficile de savoir comment les MDSC peuvent moduler et interagir dans le microenvironnement médullaire des SMD. D'une part, comment les MDSC modulent l'immunité médullaire et contribueraient à la progression des SMD vers une LAM, d'autre part comment les MDSC affectent le remodelage du microenvironnement tumoral et pourraient favoriser la sénescence⁶⁴. En effet, les cellules myéloïdes résidentes dans la moelle osseuse de patients atteints de SMD seraient dans un microenvironnement assez agressif et sénescant, caractérisé par des conditions hypoxiques, des concentrations élevées d'agents oxydants (ROS, NO, peroxy-nitrite), des cytokines pro-inflammatoires et un apport limité en nutriments. Ces conditions pourraient favoriser l'échange de mitochondries entre BM-MSC et les cellules myéloïdes, qui à leur tour pourraient modifier leur métabolisme. La plasticité du métabolisme des MDSC et en particulier la régulation à la baisse du flux de glucose et la régulation à la hausse de l'absorption des acides gras, entraînent le basculement métabolique vers la respiration

mitochondriale et les voies FAO (oxydation des acides gras), dont il a été démontré qu'elles améliorent leurs propriétés immunosuppressives dans certains modèles de tumeurs solides.

Ces observations sont, à notre sens, à mettre en perspective des travaux menés sur l'immunométabolisme des LT qui ont permis de mieux distinguer différents sous-types de LT et leurs fonctions à chaque étape de la réponse immunitaire (la prolifération, la différenciation, les fonctions immunologiques activatrices et/ou inhibitrices). Brièvement, il existe 3 sources bioénergétiques principales : le glucose, les acides aminés et les acides gras. Ces substrats sont métabolisés dans les cellules par les voies interconnectées de la glycolyse, de la glutaminolyse, de la β -Oxydation des acides gras et de la respiration mitochondriale. Ainsi, lors de l'activation les LT effecteurs, le métabolisme anabolique est préféré pour la prolifération et la croissance. Le glucose importé par la surexpression de Glut 1 à la membrane de surface permet la glycolyse aérobie. Le pyruvate est constamment converti en lactate pour régénérer du NAD et soutenir la glycolyse aérobie. Les acides aminés importés par l'expression accrue de CD98 permettent la glutaminolyse qui aboutit à des produits dérivés du cycle des acides tricarboxylés pour la synthèse de la membrane lipidique et des acides nucléiques. En revanche les LT mémoires et régulateurs ont préférentiellement un métabolisme catabolique pour augmenter la production d'ATP. Ainsi, le glucose est peu importé, et il est rapidement converti en pyruvate par la glycolyse pour obtenir 2 ATPs, et le pyruvate va être converti dans la mitochondrie en acétyl-CoA substrat essentiel pour générer le cycle de Krebs. Les substrats du cycle de Krebs (ou cycle des acides tricarboxyliques) sont préférentiellement apportés par la glutaminolyse et la bêta-oxydation des acides gras. Nous faisons l'hypothèse que des modifications précises au sein des voies métaboliques influencent la fonction des MDSC. Etudier l'immunométabolisme des MDSC⁶⁵ nous permettrait probablement de distinguer différents sous-types avec des fonctions différentes. Si ces modifications métaboliques modulent l'expression à la membrane de surface de certains transporteurs, elles pourraient nous permettre d'identifier des récepteurs de surface spécifique de la fonctionnalité des MDSC. Elles pourraient aussi identifier de nouvelles pistes thérapeutiques pour moduler le métabolisme des MDSC. La meilleure caractérisation au sein des cellules myéloïdes de sous-types profondément immunosuppresseurs nous permettrait de mieux prédire le risque de rechute de leucémie aiguë dans notre contexte de recherche. Cette thématique en développement, grâce à l'obtention récente de l'AAP INCITATIF du POLE BMS.

5.1.3 Projet scientifique à long terme

Cette thématique sur les SMD pourra s'enrichir de l'expertise du Pr Julien Broséus, chef de service du laboratoire d'hématologie biologique du CHRU de Nancy et impliqué au sein de l'unité INSERM U1256 N-GERE sur les mécanismes épigénétiques oncogéniques dans les SMD. Le Professeur Broséus a développé un projet d'étude multi-omique des syndromes mixtes myélodysplasiques/myéloprolifératifs de longue date, initialement sous le patronage du Professeur François GIRODON à Dijon. Il dirige actuellement une thématique de recherche sur les modifications du méthylome des syndromes myélodysplasiques purs traités par agents déméthylants (projet MYRAGE Myélodysplasies de haut Risque, étude Génétique et Épigénétique) par l'encadrement de la thèse d'université de Marion DIVOUX, actuellement CCU-AH au laboratoire de génétique. Ce projet vise à caractériser des modifications du méthylome et du transcriptome dans les SMD de haut risque avec excès de blastes. L'objectif principal est de comparer, entre répondeurs et non répondeurs à l'Azacytidine, les « Differentially Methylated Regions » dont le niveau de méthylation a changé entre le diagnostic et la fin du 3ème cycle mensuel de traitement, afin d'identifier précocement des profils de DMR prédictifs de la réponse à l'Azacytidine, dans les SMD de haut risque avec excès de blastes.

Ainsi, nous pouvons d'ores et déjà proposer que notre thématique de recherche sur le microenvironnement médullaire des SMD d'une part et d'autre part la thématique de recherche menée par le Pr Broséus sur l'analyse épigénétique des SMD, permettront de créer des ponts entre les enseignants de la discipline d'hématologie et permettront de renforcer les collaborations étroites dans les années à venir.

5.2 Projet de recherche clinique

Les projets de recherche clinique seront axés sur l'allogreffe de CSH et les SMD.

Pour la partie allogreffe de CSH, le développement de nouvelles approches MTI-PP dans l'optimisation de la prophylaxie de la GVH sont d'ores et déjà amorcées. A court terme, le premier projet concerne le transfert adoptif de CSM-GW dans la prophylaxie de la GVH dans les allogreffes à haut risque d'alloréactivité (protocole de phase 1, HAPLO-GEL). Dans cette même thématique, à moyen/long terme, le brevet sur la production en grade clinique de « e-

MDSC » pourra aboutir à de nouvelles thérapies prophylactiques de la GVH. Ces projets seront mis en place en collaboration avec les centres de greffe de la région grand-est, soit Besançon et Strasbourg, mais aussi au sein d'études nationales par l'intermédiaire de la Société Française de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC).

Les projets de recherche centrés sur les SMD s'inscriront dans l'implication récente au sein du GFM.

Enfin, dans la continuité du protocole EVADE, projet prospectif translationnel sur l'allogreffe de CSH dans les SMD et l'identification de nouveaux marqueurs biologiques de rechute/échappement au contrôle du système immunitaire, les nouvelles cibles identifiées pourront faire l'objet de proposition de nouveaux essais thérapeutiques à long terme.

6. BIBLIOGRAPHIE

- 1 D'Aveni, M. *et al.* Myeloid-Derived Suppressor Cells in the Context of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Frontiers in immunology* **11**, 989, doi:10.3389/fimmu.2020.00989 (2020).
- 2 D'Aveni, M. *et al.* Mobilized Multipotent Hematopoietic Progenitors Promote Expansion and Survival of Allogeneic Tregs and Protect Against Graft Versus Host Disease. *Frontiers in immunology* **11**, 607180, doi:10.3389/fimmu.2020.607180 (2020).
- 3 Pochon, C. *et al.* Wharton's jelly-derived stromal cells and their cell therapy applications in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Journal of cellular and molecular medicine*, doi:10.1111/jcmm.17105 (2022).
- 4 Korniotis, S. *et al.* Mobilized Multipotent Hematopoietic Progenitors Stabilize and Expand Regulatory T Cells to Protect Against Autoimmune Encephalomyelitis. *Frontiers in immunology* **11**, 607175, doi:10.3389/fimmu.2020.607175 (2020).
- 5 Campidelli, A. *et al.* On Behalf of the SFGM-TC: Retrospective Comparison of Reduced and Higher Intensity Conditioning for High-Risk Myelodysplastic Syndrome Treated With Allogeneic Stem-Cell Transplantation. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, doi:10.1016/j.clml.2021.07.027 (2021).
- 6 Campidelli, A. *et al.* Adenovirus-specific T-lymphocyte efficacy in the presence of methylprednisolone: An in vitro study. *Cytotherapy* **20**, 524-531, doi:10.1016/j.jcyt.2017.12.010 (2018).
- 7 Toh, H. C. *et al.* G-CSF induces a potentially tolerant gene and immunophenotype profile in T cells in vivo. *Clin Immunol* **132**, 83-92, doi:10.1016/j.clim.2009.03.509 (2009).
- 8 Gabrilovich, D. I. Myeloid-Derived Suppressor Cells. *Cancer immunology research* **5**, 3-8, doi:10.1158/2326-6066.CIR-16-0297 (2017).
- 9 Damuzzo, V. *et al.* Complexity and challenges in defining myeloid-derived suppressor cells. *Cytometry B Clin Cytom* **88**, 77-91, doi:10.1002/cyto.b.21206 (2015).
- 10 Mandruzzato, S. *et al.* Toward harmonized phenotyping of human myeloid-derived suppressor cells by flow cytometry: results from an interim study. *Cancer immunology, immunotherapy : CII* **65**, 161-169, doi:10.1007/s00262-015-1782-5 (2016).
- 11 Luyckx, A. *et al.* G-CSF stem cell mobilization in human donors induces polymorphonuclear and mononuclear myeloid-derived suppressor cells. *Clin Immunol* **143**, 83-87, doi:10.1016/j.clim.2012.01.011 (2012).
- 12 Luyckx, A. *et al.* Subset characterization of myeloid-derived suppressor cells arising during induction of BM chimerism in mice. *Bone marrow transplantation*, doi:bmt2011207 [pii] 10.1038/bmt.2011.207 (2011).
- 13 Wang, D. *et al.* Dynamic change and impact of myeloid-derived suppressor cells in allogeneic bone marrow transplantation in mice. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* **19**, 692-702, doi:10.1016/j.bbmt.2013.01.008 (2013).
- 14 Billiau, A. D., Fevery, S., Rutgeerts, O., Landuyt, W. & Waer, M. Transient expansion of Mac1+Ly6-G+Ly6-C+ early myeloid cells with suppressor activity in spleens of murine radiation marrow chimeras: possible implications for the graft-versus-host and graft-versus-leukemia reactivity of donor lymphocyte infusions. *Blood* **102**, 740-748, doi:10.1182/blood-2002-06-1833 (2003).
- 15 Kared, H. *et al.* Jagged2-expressing hematopoietic progenitors promote regulatory T cell expansion in the periphery through notch signaling. *Immunity* **25**, 823-834, doi:10.1016/j.immuni.2006.09.008 (2006).
- 16 Kared, H. *et al.* Role of GM-CSF in tolerance induction by mobilized hematopoietic progenitors. *Blood* **112**, 2575-2578, doi:10.1182/blood-2008-02-140681 (2008).

- 17 D'Aveni, M. *et al.* G-CSF mobilizes CD34+ regulatory monocytes that inhibit graft-versus-host disease. *Science translational medicine* **7**, 281ra242, doi:10.1126/scitranslmed.3010435 (2015).
- 18 Highfill, S. L. *et al.* Bone marrow myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) inhibit graft-versus-host disease (GVHD) via an arginase-1-dependent mechanism that is up-regulated by interleukin-13. *Blood* **116**, 5738-5747, doi:blood-2010-06-287839 [pii] 10.1182/blood-2010-06-287839 (2010).
- 19 Vendramin, A. *et al.* Graft monocytic myeloid-derived suppressor cell content predicts the risk of acute graft-versus-host disease after allogeneic transplantation of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* **20**, 2049-2055, doi:10.1016/j.bbmt.2014.09.011 (2014).
- 20 Lv, M. *et al.* Monocytic and promyelocytic myeloid-derived suppressor cells may contribute to G-CSF-induced immune tolerance in haplo-identical allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *American journal of hematology* **90**, E9-E16, doi:10.1002/ajh.23865 (2015).
- 21 Wang, K. *et al.* Early myeloid-derived suppressor cells (HLA-DR(-)/(low)CD33(+))CD16(-)) expanded by granulocyte colony-stimulating factor prevent acute graft-versus-host disease (GVHD) in humanized mouse and might contribute to lower GVHD in patients post allo-HSCT. *Journal of hematology & oncology* **12**, 31, doi:10.1186/s13045-019-0710-0 (2019).
- 22 Fan, Q. *et al.* Superior GVHD-free, relapse-free survival for G-BM to G-PBSC grafts is associated with higher MDSCs content in allografting for patients with acute leukemia. *Journal of hematology & oncology* **10**, 135, doi:10.1186/s13045-017-0503-2 (2017).
- 23 Mouggiakakos, D. *et al.* Immunosuppressive CD14+HLA-DRlow/neg IDO+ myeloid cells in patients following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Leukemia* **27**, 377-388, doi:10.1038/leu.2012.215 (2013).
- 24 Guan, Q. *et al.* Functional Myeloid-Derived Suppressor Cell Subsets Recover Rapidly after Allogeneic Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* **21**, 1205-1214, doi:10.1016/j.bbmt.2015.04.015 (2015).
- 25 Kim, T. W. *et al.* Predictive Role of Circulating Immune Cell Subtypes Early after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients with Acute Leukemia. *International journal of stem cells* **12**, 73-83, doi:10.15283/ijsc18094 (2018).
- 26 Lee, S. E. *et al.* Matrix Metalloproteinase-9 in Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells Correlate with Early Infections and Clinical Outcomes in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* **24**, 32-42, doi:10.1016/j.bbmt.2017.08.017 (2018).
- 27 Mercer, F., Kozhaya, L. & Unutmaz, D. Expression and function of TNF and IL-1 receptors on human regulatory T cells. *PloS one* **5**, e8639, doi:10.1371/journal.pone.0008639 (2010).
- 28 D'Aveni, M. *et al.* The clinical value of concomitant Epstein Barr virus (EBV)-DNA load and specific immune reconstitution monitoring after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Immunol* **24**, 224-232, doi:10.1016/j.trim.2011.03.002 (2011).
- 29 Qian, C. *et al.* Viral-specific T-cell transfer from HSCT donor for the treatment of viral infections or diseases after HSCT. *Bone Marrow Transplant* **53**, 114-122, doi:10.1038/bmt.2017.232 (2018).
- 30 Robin, C. *et al.* Letermovir for Secondary Prophylaxis of Cytomegalovirus Infection and Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Results from the French Compassionate Program. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* **26**, 978-984, doi:10.1016/j.bbmt.2020.01.027 (2020).

- 31 Maillard, A. *et al.* Antibody response after 2 and 3 doses of SARS-CoV-2 mRNA vaccine in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients. *Blood* **139**, 134-137, doi:10.1182/blood.2021014232 (2022).
- 32 Xhaard, A. *et al.* Risk factors for a severe form of COVID-19 after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: a Societe Francophone de Greffe de Moelle et de Therapie cellulaire (SFGM-TC) multicentre cohort study. *British journal of haematology* **192**, e121-e124, doi:10.1111/bjh.17260 (2021).
- 33 Armand, P. *et al.* Validation and refinement of the Disease Risk Index for allogeneic stem cell transplantation. *Blood* **123**, 3664-3671, doi:10.1182/blood-2014-01-552984 (2014).
- 34 Greenberg, P. *et al.* International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* **89**, 2079-2088 (1997).
- 35 Greenberg, P. L. *et al.* Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* **120**, 2454-2465, doi:10.1182/blood-2012-03-420489 (2012).
- 36 Greenberg, P. L. Molecular and genetic features of myelodysplastic syndromes. *Int J Lab Hematol* **34**, 215-222, doi:10.1111/j.1751-553X.2011.01390.x (2012).
- 37 Inamoto, Y. *et al.* Influence of immunosuppressive treatment on risk of recurrent malignancy after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* **118**, 456-463, doi:10.1182/blood-2011-01-330217 (2011).
- 38 Kong, Y. *et al.* PD-1(hi)TIM-3(+) T cells associate with and predict leukemia relapse in AML patients post allogeneic stem cell transplantation. *Blood cancer journal* **5**, e330, doi:10.1038/bcj.2015.58 (2015).
- 39 Martin, P. J. Reversing CD8+ T-cell exhaustion with DLI. *Blood* **123**, 1289-1290, doi:10.1182/blood-2014-01-547000 (2014).
- 40 Zhao, X. S. *et al.* Non-traditional CD4+CD25-CD69+ regulatory T cells are correlated to leukemia relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of translational medicine* **12**, 187, doi:10.1186/1479-5876-12-187 (2014).
- 41 Koehn, B. H. *et al.* GVHD-associated, inflammasome-mediated loss of function in adoptively transferred myeloid-derived suppressor cells. *Blood* **126**, 1621-1628, doi:10.1182/blood-2015-03-634691 (2015).
- 42 Koehn, B. H. *et al.* Danger-associated extracellular ATP counters MDSC therapeutic efficacy in acute GVHD. *Blood* **134**, 1670-1682, doi:10.1182/blood.2019001950 (2019).
- 43 Neukirchen, J. *et al.* Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Dusseldorf MDS-registry. *Leukemia research* **35**, 1591-1596, doi:10.1016/j.leukres.2011.06.001 (2011).
- 44 Schanz, J. *et al.* Coalesced multicentric analysis of 2,351 patients with myelodysplastic syndromes indicates an underestimation of poor-risk cytogenetics of myelodysplastic syndromes in the international prognostic scoring system. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **29**, 1963-1970, doi:10.1200/JCO.2010.28.3978 (2011).
- 45 Papaemmanuil, E. *et al.* Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood* **122**, 3616-3627; quiz 3699, doi:10.1182/blood-2013-08-518886 (2013).
- 46 Montes, P. *et al.* Tumor genetic alterations and features of the immune microenvironment drive myelodysplastic syndrome escape and progression. *Cancer Immunol Immunother* **68**, 2015-2027, doi:10.1007/s00262-019-02420-x (2019).
- 47 Han, D., Tao, J., Fu, R. & Shao, Z. Myeloid-derived suppressor cell cytokine secretion as prognostic factor in myelodysplastic syndromes. *Innate immunity* **26**, 703-715, doi:10.1177/1753425920961157 (2020).
- 48 Sallman, D. A., Cluzeau, T., Basiorka, A. A. & List, A. Unraveling the Pathogenesis of MDS: The NLRP3 Inflammasome and Pyroptosis Drive the MDS Phenotype. *Frontiers in oncology* **6**, 151, doi:10.3389/fonc.2016.00151 (2016).

- 49 Zambetti, N. A. *et al.* Mesenchymal Inflammation Drives Genotoxic Stress in Hematopoietic Stem Cells and Predicts Disease Evolution in Human Pre-leukemia. *Cell stem cell* **19**, 613-627, doi:10.1016/j.stem.2016.08.021 (2016).
- 50 Geyh, S. *et al.* Insufficient stromal support in MDS results from molecular and functional deficits of mesenchymal stromal cells. *Leukemia* **27**, 1841-1851, doi:10.1038/leu.2013.193 (2013).
- 51 Borojevic, R. *et al.* Bone marrow stroma in childhood myelodysplastic syndrome: composition, ability to sustain hematopoiesis in vitro, and altered gene expression. *Leukemia research* **28**, 831-844, doi:10.1016/j.leukres.2003.11.019 (2004).
- 52 Sarhan, D. *et al.* Mesenchymal stromal cells shape the MDS microenvironment by inducing suppressive monocytes that dampen NK cell function. *JCI insight* **5**, doi:10.1172/jci.insight.130155 (2020).
- 53 Li, Y. *et al.* Donor's age dependent proliferation decrease of human bone marrow mesenchymal stem cells is linked to diminished clonogenicity. *Biomed Mater Eng* **24**, 47-52, doi:10.3233/BME-140973 (2014).
- 54 Charif, N. *et al.* Aging of bone marrow mesenchymal stromal/stem cells: Implications on autologous regenerative medicine. *Biomed Mater Eng* **28**, S57-S63, doi:10.3233/BME-171624 (2017).
- 55 Benameur, L., Charif, N., Li, Y., Stoltz, J. F. & de Isla, N. Toward an understanding of mechanism of aging-induced oxidative stress in human mesenchymal stem cells. *Biomed Mater Eng* **25**, 41-46, doi:10.3233/BME-141247 (2015).
- 56 Moschoi, R. *et al.* Protective mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to acute myeloid leukemic cells during chemotherapy. *Blood* **128**, 253-264, doi:10.1182/blood-2015-07-655860 (2016).
- 57 Marlein, C. R. *et al.* NADPH oxidase-2 derived superoxide drives mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to leukemic blasts. *Blood* **130**, 1649-1660, doi:10.1182/blood-2017-03-772939 (2017).
- 58 Agrawal, M., Rasiah, P. K., Bajwa, A., Rajasingh, J. & Gangaraju, R. Mesenchymal Stem Cell Induced Foxp3(+) Tregs Suppress Effector T Cells and Protect against Retinal Ischemic Injury. *Cells* **10**, doi:10.3390/cells10113006 (2021).
- 59 Chen, X. *et al.* Induction of myelodysplasia by myeloid-derived suppressor cells. *The Journal of clinical investigation* **123**, 4595-4611, doi:10.1172/JCI67580 (2013).
- 60 Basiorka, A. A. *et al.* The NLRP3 inflammasome functions as a driver of the myelodysplastic syndrome phenotype. *Blood* **128**, 2960-2975, doi:10.1182/blood-2016-07-730556 (2016).
- 61 Kittang, A. O. *et al.* Expansion of myeloid derived suppressor cells correlates with number of T regulatory cells and disease progression in myelodysplastic syndrome. *Oncoimmunology* **5**, e1062208, doi:10.1080/2162402X.2015.1062208 (2016).
- 62 Eksioglu, E. A. *et al.* Novel therapeutic approach to improve hematopoiesis in low risk MDS by targeting MDSCs with the Fc-engineered CD33 antibody BI 836858. *Leukemia* **31**, 2172-2180, doi:10.1038/leu.2017.21 (2017).
- 63 Bronte, V. *et al.* Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. *Nat Commun* **7**, 12150, doi:10.1038/ncomms12150 (2016).
- 64 Caicedo, A. *et al.* MitoCeption as a new tool to assess the effects of mesenchymal stem/stromal cell mitochondria on cancer cell metabolism and function. *Sci Rep* **5**, 9073, doi:10.1038/srep09073 (2015).
- 65 Ahl, P. J. *et al.* Met-Flow, a strategy for single-cell metabolic analysis highlights dynamic changes in immune subpopulations. *Communications biology* **3**, 305, doi:10.1038/s42003-020-1027-9 (2020).