

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2014

N° 025

THESE

Pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Spécialité Hématologie Clinique

par

Amandine Le Bourgeois

née le 17 Août 1986

Présentée et soutenue publiquement le 10 février 2014

**Etude des facteurs déterminant la prise de greffe et la
prédominance d'une unité de sang placentaire dans les allogreffes
de double unité de sang placentaire : à partir d'une cohorte
nantaise de 77 patients.**

Président de thèse :

Monsieur le Professeur Philippe Moreau

Directeur de thèse :

Monsieur le Docteur Patrice Chevallier

Membres du jury :

Monsieur le Professeur Steven Le Guill

Madame le Professeur Berthe-Marie Imbert-Marcille

Monsieur le Docteur Thierry Guillaume

Remerciements

Je remercie tout d'abord toutes les personnes qui ont contribué, de près ou loin, à la réalisation de ce travail ainsi qu'à ma formation.

Je tiens tout particulièrement à exprimer mes remerciements à **Monsieur le Pr Moreau** pour avoir accepté de présider ma thèse, pour ses conseils tout au long de ma formation d'interne et pour m'avoir permis d'apprendre l'hématologie dans ce grand service.

Mes remerciements sont aussi destinés à **Monsieur le Dr Chevallier** pour m'avoir fait confiance en me proposant ce sujet de thèse ; pour ses efforts et son soutien tout au long de ce travail ainsi que pour chacun de mes différents projets de recherches.

Je ne saurais oublier de remercier **Monsieur le Pr Le Guill** pour son engagement à la fois dans la formation clinique et le soutien des internes. Merci d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Mes sincères remerciements sont également destinés à **Madame le Pr Imbert-Marcille** pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, ainsi que pour sa confiance pour le projet de Master 2 qui j'espère pourra se réaliser.

Merci à **Monsieur le Dr Guillaume** pour sa disponibilité et ses précieux conseils cliniques. Je vous remercie d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Merci à **Monsieur le Pr Mohamad Mohty**, qui malgré la distance géographique est toujours un soutien important dans les différents projets de recherche.

Je tiens à remercier les différents **médecins du service d'hématologie** de Nantes pour leur soutien quotidien et leur aide dans ma formation : Dr Augeul-Meunier, Dr Ayari, Dr Blin, Dr Clavert, Dr Delaunay, Dr Dubruille, Dr Gallas, Dr Gastinne, Dr Mahé, Dr Peterlin, Dr Precupanu, Dr Rialland, Dr Roland, Dr Voltaire.

Mes sincères remerciements sont également destinés à toutes **les autres personnes ayant permis à ce travail d'aboutir** : M. Labopin, Y. Foucher, B. Tessoulin, S. Derenne, P. Herry, A. Cesbron, K. Gagne, F. Malard, L. Lodé, M. Illiaquer.

Je tiens à remercier les **médecins du service de Maladies infectieuses et tropicales** pour leur soutien et leur confiance : Pr Raffi, Pr Boutoille, Dr Biron, Dr Asseray, Dr Lefebvre.

Un grand merci aux **médecins du laboratoire d'hématologie** de Nantes (Pr Béné, Dr Garand, Dr Lodé, Dr Eveillard, Dr Wulleme, N Robillard, Dr Godon, Dr Trossaert, Dr Fouassier, Dr Ternisien, Dr Boissier) et **du service de réanimation** de La Roche sur Yon (Dr Reigner, Dr Vinatier, Dr Colin, Dr Yehia, Dr Lebert, Dr Lacherade, Dr Lascarrou, Dr Bachoumas, Dr Martin-Lefevre, Dr Fiancette, Dr Henri Lagarrigue).

Je tiens à remercier l'ensemble de mes **co-internes** qui m'ont soutenue et « supportée » au quotidien : Elsa L, Anne L, Benjamin G, Julia B, Benoit T, Catherine M, Marion L, Antoine B, Jessie B, Florent M, Eolia B, Cyrille T, Alexandre D, Cathelle L, Aurélie C, Arthur B, Rithy E, Rémi M, Romain B, François J, Emmanuelle R, Guillaume H, Elsa L, Louise-Marie C, Adrien L, Xénia L.

Merci aux **équipes soignantes** des services d'hématologie, de maladies infectieuses, de réanimation, aux **techniciens** du laboratoire d'hématologie et aux **attachés de recherche clinique** pour vos conseils avisés et votre soutien dans les situations difficiles.

Je conclus cette liste non exhaustive, en gardant le meilleur pour la fin. Je souhaite remercier profondément **ma famille** (maman, papa, mes grands-parents, Albakaye, Antoine, Martin, mes cousines) et **mes amis** (Cécile B, Florence C, Leslie M, Guillaume B, Maximilien P, Adeline A, Camille F, Camille S, Camille D, Bastien J, Laurent D, Franck M, Mathieu C) qui m'ont soutenue dans mes études depuis bien longtemps. Je leurs dois ce que je suis aujourd'hui.

Sommaire

Remerciements	2
Sommaire	4
Liste des figures	7
Liste des tableaux	8
Liste des abréviations	9
Introduction	11
Partie 1 : Généralités sur l'allogreffe	12
I : Introduction	12
II : Historique de l'allogreffe	12
III : Les indications de l'allogreffe	14
IV : Les principes de l'allogreffe	16
IV-a : L'effet « greffe versus leucémie » (GvL) ou « greffe versus tumeur » (GvT)	16
IV-b : Les différents types de donneurs	17
IV-c : Les différentes sources de greffon	19
V : Les étapes de l'allogreffe	19
V-a : Le conditionnement	20
V-a-1 : Les conditionnements myéloablatifs	22
V-a-2 : Les conditionnements non myéloablatifs	23
V-a-3 : Les conditionnements d'intensité réduite	23
V-b : Le jour zéro et la phase d'aplasie	24
V-c : La prise de greffe et le chimérisme	24
V-d : La reconstitution immunitaire	25
V-e : Les complications de l'allogreffe non liées à la rechute	25
V-e-1 : La réaction du greffon contre l'hôte (GvH)	26
V-e-2 : Les infections	28
V-e-3 : Les autres complications	29
V-f : La rechute	30

VI : Etat des lieux de l'allogreffe en France et à Nantes en 2013.	30
Partie 2 : L'allogreffe de sang placentaire	33
I : Introduction	33
II : Historique de l'allogreffe de sang placentaire	34
III : Techniques de prélèvement et de conservation des greffons de sang placentaire	35
IV : Caractéristiques des greffons de sang placentaire	35
V : Conditionnements actuels dans les allogreffes de sang placentaire	36
VI : Avantages et inconvénients des allogreffes de sang placentaire.	37
VI-a : Une moindre compatibilité HLA nécessaire entre receveur et donneur	37
VI-b : Moins de réaction du greffon contre l'hôte	39
VI-c : Augmentation du risque infectieux	40
VI-c : Pas de possibilité d'immunothérapie post greffe	41
 Partie 3 : Les problématiques liées à la prise de greffe dans les allogreffes de sang placentaire	 42
I : Comment augmenter la prise de greffe dans les allogreffes de sang placentaire	42
I-a : L'allogreffe de double unité de sang placentaire	42
I-b : L'expansion ex-vivo des greffons placentaires	44
I-d : L'injection intra-médullaire du greffon de sang placentaire	45
I-d : Le boost par un donneur haploidentique	46
II : Les facteurs influençant la prise de greffe dans le cas des allogreffes de double unité de sang placentaire.	47
II-a : Introduction	47
II-b : Les différents facteurs influençant la prise de greffe	48
II-b-1 : La richesse des greffons	48
II-b-2 : La compatibilité HLA	48
II-b-3 : Les autres facteurs	49
III : Les facteurs prédictifs de la prédominance d'une unité de sang placentaire par rapport à l'autre dans les allogreffes de double unité de sang placentaire	49

III-a : Introduction _____	49
III-b : Les différents facteurs influençant la prise d'une unité de sang placentaire par rapport à l'autre _____	50
III-b-1 : Un effet « greffon versus greffon » ? _____	50
III-b-2 : L'impact de la viabilité des greffons _____	51
III-b-3 : L'impact de l'ordre d'injection des greffons _____	51
III-b-4: Les autres facteurs _____	52

Partie 4 : Etude rétrospective monocentrique, s'intéressant aux facteurs déterminant la prise de greffe et la prédominance d'une unité de sang placentaire dans les allogreffes de double unité de sang placentaire : expérience nantaise à partir de 77 patients. 53

I: Les objectifs de l'étude _____	53
II : Patients et méthodes _____	54
II-a: Caractéristiques des patients _____	54
II-b: Types de conditionnements et prophylaxie de la réaction du greffon contre l'hôte _____	56
II-c: Caractéristiques liées à la greffe _____	57
II-d: Définition de la reconstitution hématologique, de la prise de greffe et du chimérisme _____	57
II-e: Caractéristiques des soins de support _____	58
II-f: Caractéristiques liées au virus HHV-6 _____	58
II-g: Analyses statistiques _____	59
III : Résultats _____	60
III-a: Analyse des disparités entre les unités de sang placentaire et le receveur _____	60
III-b: Analyse des disparités entre les couples d'unités de sang placentaire _____	62
III-c: Prise de greffe et analyse des facteurs influençant la prise de greffe _____	62
III-d: Analyse des facteurs influençant la prédominance d'une unité de sang placentaire par rapport à l'autre _____	66
III-e: Analyses des survies et divers résultats _____	68
III-g: Impact de la réactivation HHV-6 _____	70
IV : Discussion _____	70
 Conclusion _____	 76
 Références bibliographiques _____	 77

Liste des figures

Figure 1 : Nombre de donneurs volontaires et d'unités de sang placentaire recensés par la BMDW en fonction des années.	14
Figure 2: Nombre d'allogreffes réalisées en Europe pour les différentes pathologies entre 1990 et 2010 (Passweg JR, 2012).	15
Figure 3: Les différentes étapes de l'allogreffe (Mohty M, 2010).	20
Figure 4: Définition des types de conditionnements d'allogreffe selon la durée d'aplasie et la nécessité d'injecter ou non un greffon afin de restaurer une hématopoïèse après greffe (Bacigalupo et al, 2009).	21
Figure 5: Evolution du nombre d'allogreffes réalisées à Nantes depuis 1983.	31
Figure 6: Nombre d'allogreffes réalisées en France en fonction du type de greffons (rapport d'activité de la SFGM-TC 2011).	31
Figure 7: Proportion d'allogreffes de sang placentaire réalisées chez l'adulte au CHU de Nantes entre 2006 et 2012.	32
Figure 8: Répartition des allogreffes en fonction des pathologies en France (rapport de la SFGM-TC de 2011).	32
Figure 9: Incidence cumulative de prise de greffe.	63
Figure 10: Etude de la survie globale (Overall Survival) en fonction du temps exprimé en années (years after transplant).	69
Figure 11: Etude de la survie sans maladie (Disease-Free Survival) en fonction du temps exprimé en années (years after transplant).	69

Liste des tableaux

Tableau 1: Caractéristiques de la population.....	54
Tableau 2: Caractéristiques des conditionnements.....	56
Tableau 3: Caractéristiques des richesses des unités de sang placentaire.....	57
Tableau 4 : Analyse des disparités entre les unités de sang placentaire et le receveur.....	61
Tableau 5: Analyses univariées des facteurs influençant la prise de greffe après allogreffe de double unité de sang placentaire.	64
Tableau 6: Analyses univariées des facteurs déterminants la prédominance d'une unité de sang placentaire par rapport à l'autre après allogreffe de double unité de sang placentaire.	67
Tableau 7: Analyses multivariées.	68

Liste des abréviations

CD : cluster de différenciation
CFU-GM : colony-forming unit granulocyte/macrophage
CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
CMV : cytomégalovirus
CN : cellules nucléées
CSH : cellules souches hématopoïétiques
CSM : cellules stromales mésenchymateuses
CSP : cellules souches périphériques
dUSP : double unité de sang placentaire
EBMT : European Bone Marrow Transplantation
EBV : Epstein-Barr virus
HHV-6: herpès virus humain de type 6
HLA: human leukocyte antigen
HTLV-1 : virus T-lymphotropique humain
ICT : irradiation corporelle totale
IL : interleukine
IV : intra-veineux
G-CSF : granulocyte colony-stimulating factor
GvH : réaction du greffon contre l'hôte
GvL : effet « greffe versus leucémie »
GvT : effet « greffe versus tumeur »
Gy : gray
KIR : killer cell immunoglobulin-like receptor
LAL : leucémie aigue lymphoblastique
LAM : leucémie aigue myéloblastique
MMF : mycophenotale mofetil
MTX : méthotrexate
NIMA : Non-Inherited Maternal Antigens
NK : natural killer

PNN : polynucléaire neutrophile

RC : rémission complète

Rh-D : Rhésus-D

SAL : sérum anti-lymphocytaire

SFGM-TC: Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire

SC : sang de cordon (ou sang placentaire)

USP : unité de sang placentaire

Σ : somme

Introduction

L'allogreffe de CSH (cellules souches hématopoïétiques) est une immunothérapie utilisée dans le traitement des hémopathies malignes, des déficits immunitaires et des hémoglobinopathies.

Environ 60% des patients en attente d'allogreffe ont un donneur identifié dans leur fratrie ou dans les fichiers des donneurs volontaires. Pour permettre aux autres patients de bénéficier d'une allogreffe de CSH, l'utilisation du sang de cordon placentaire (SC) a été développée.

L'allogreffe à partir de SC représente actuellement 15 à 20% des allogreffes de CSH. Chez l'adulte, il est nécessaire d'utiliser 2 unités de sang placentaire (USP) afin d'avoir une quantité suffisante de cellules progénitrices au prorata du poids du patient (allogreffe de double unité de sang placentaire : dUSP).

Un des inconvénients de l'allogreffe de SC est l'incidence plus élevée d'échec de prise de greffe.

Dans le cas des allogreffes de dUSP, seule une des 2 USP va s'installer définitivement et devenir majoritaire. Les facteurs déterminant la prédominance d'une USP vis-à-vis de l'autre restent flous.

Nous avons mené une étude rétrospective, monocentrique, à partir de l'ensemble des patients allogreffés avec 2 USP au CHU de Nantes, afin de déterminer les facteurs déterminant la prise de greffe et la prédominance d'une USP vis-à-vis de l'autre.

Partie 1 : Généralités sur l'allogreffe

I : Introduction

L'allogreffe de CSH est une immunothérapie utilisée dans le traitement des hémopathies malignes, des déficits immunitaires et des hémoglobinopathies. Dans le cadre des hémopathies malignes, cette technique repose sur le principe de l'effet « greffe contre leucémie » (GvL), aussi appelé effet « greffe contre tumeur » (GvT). Depuis maintenant plus de 50 ans, les techniques d'allogreffe se sont diversifiées et perfectionnées, permettant à un plus grand nombre de patients de bénéficier de cette thérapeutique.

II : Historique de l'allogreffe

L'allogreffe, comme nous la connaissons aujourd'hui, a subi plusieurs étapes de développement préclinique et clinique. C'est dans les années 1950 que les premières expérimentations animales ont eu lieu. En effet, après l'explosion des bombes atomiques d'Hiroshima et de Nagasaki, les scientifiques ont commencé à étudier les effets myélosuppresseurs des radiations ionisantes sur l'organisme. Jacobson et al ont ainsi montré, sur des souris, que les effets de l'irradiation, qui entraînent la destruction de la moelle osseuse, étaient diminués lorsque la rate ou un fémur de l'animal n'étaient pas irradiés (Jacobson et al, 1949). Lorenz et al ont ensuite montré que l'injection de moelle osseuse après une irradiation permettait la restauration d'une hématopoïèse (Lorenz et al, 1951). A cette époque, il est supposé que la reconstitution de la moelle osseuse est due à des « facteurs humoraux » encore inconnus. Ce n'est que dans le milieu des années 50, qu'il a été montré que la reconstitution de la moelle osseuse était due aux cellules issues du donneur, infusées lors de l'injection de la moelle osseuse chez le receveur (Owen et al, 1945 ; Main et al, 1955 ; Nowell et al, 1956).

Ces découvertes ont particulièrement intéressé le monde scientifique. Elles permettaient d'entrevoir un traitement pour les patients ayant une insuffisance médullaire ou une hémopathie maligne et d'accroître l'intensité des chimiothérapies myélotoxiques. Bien que les premiers essais de greffe de moelle osseuse sur des modèles murins aient été satisfaisants (Barnes et al, 1956), les premières études cliniques menées chez l'homme se sont révélées décevantes (Thomas et al, 1957 ; Bortin et al, 1970). En effet, chez la majorité des patients, il n'y avait pas de prise de greffe. Pour les autres, les rechutes étaient fréquentes et la toxicité liée à la réaction du greffon contre l'hôte (GvH) était majeure. Ainsi, dans les années soixante, l'allogreffe réalisée chez l'homme est restée une technique expérimentale et de nombreux scientifiques ont abandonné cette procédure.

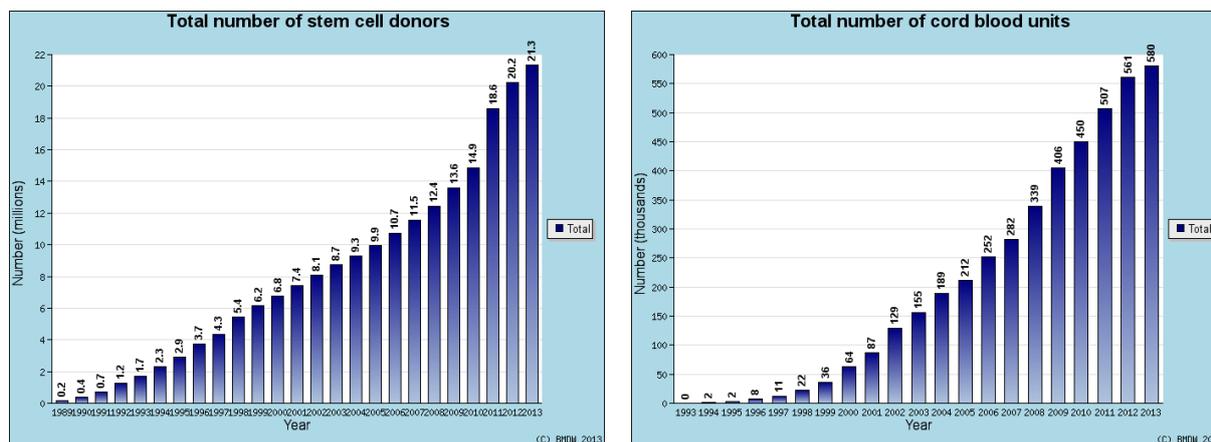
Les chercheurs se sont alors concentrés sur des modèles animaux, permettant une meilleure compréhension de cette immunothérapie. Ils ont ainsi constaté que la non prise de greffe ou la GvH étaient influencées par la compatibilité tissulaire entre le donneur et le receveur. Après avoir défini le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) chez le chien (Epstein et al, 1968), il a été montré que l'histocompatibilité était un élément central à prendre en compte dans l'allogreffe, puisqu'on observait une diminution de la mortalité des chiens greffés avec des donneurs compatibles par rapport à des donneurs non compatibles (Storb et al, 1971). Le CMH chez l'homme, aussi appelé système HLA (human leukocyte antigen), a été découvert en 1958 par J. Dausset. Cette découverte fut aussi un tournant pour l'allogreffe. En parallèle, les recherches sur les modèles animaux ont permis d'améliorer la prise en charge de la GvH et de mettre en évidence l'effet GvL (Barnes et al, 1956).

Fort de ces découvertes, le nombre d'allogreffes réalisées chez l'homme à partir de donneurs compatibles issus de la fratrie (greffe génoidentique) a augmenté à partir des années 70. Cependant, en considérant la fratrie, seul 25% des patients avaient des donneurs familiaux. En 1973, a eu lieu la première allogreffe à partir d'un donneur HLA compatible non familiale (greffe non apparentée) (Speck et al, 1973) et en 1988, la première allogreffe à partir de SC (Gluckman et al, 1989).

En 1988, l'organisation Bone Marrow Donor Worldwide (BMDW) a été créée. Basée aux Pays-bas, la BMDW est un organisme gérant les registres de donneurs de CSH et les banques de SC sur la base du volontariat. Le but de la BMDW est de centraliser les informations sur les donneurs (notamment le phénotype HLA) et de permettre une meilleure coordination du choix des donneurs. Actuellement la BMDW recense plus de 21 millions de donneurs adultes (69 registres) issus de 50 pays différents et 580000 greffons de SC (39

registres) issus de 32 pays. Le nombre de donneurs recensés est en constante augmentation (**Figure 1**).

Figure 1 : Nombre de donneurs volontaires et d'unités de sang placentaire recensés par la BMDW en fonction des années.



Depuis les années 1980, l'allogreffe n'a cessé de se développer. Plusieurs avancées majeures ont permis de sécuriser cette procédure (amélioration des traitements de la GvH, traitements antifongiques) et d'accroître le nombre de patients pouvant en bénéficier (les conditionnements d'intensité réduite, l'utilisation de donneurs alternatifs) (Little et al, 2002).

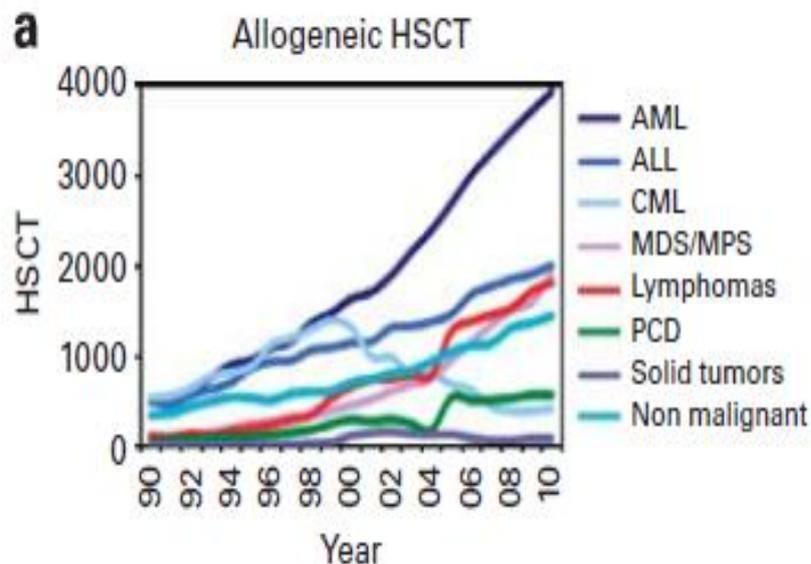
III : Les indications de l'allogreffe

L'allogreffe était initialement réservée aux patients atteints de leucémies aiguës ou d'aplasie médullaire. Ces indications se sont progressivement élargies à d'autres hémopathies malignes telles que les syndromes myélodysplasiques, les syndromes myéloprolifératifs, les hémopathies lymphoïdes (lymphome, myélome, leucémie lymphoïde chronique...), ainsi qu'à des pathologies non malignes telles que les hémoglobinopathies (thalassémie β majeure, drépanocytose), les déficits immunitaires et certaines maladies métaboliques (la leucodystrophie, l'ostéopétrose). La réalisation d'allogreffes de CSH pour la prise en charge des tumeurs solides est très rare. La **Figure 2** représente la répartition des patients allogreffés en Europe en fonction des différentes pathologies (Passweg et al, 2012).

Les principales indications d'allogreffe sont les leucémies aigues myéloblastique (LAM) de pronostic intermédiaire et défavorable en première rémission complète (RC1), les leucémies aigues lymphoblastiques (LAL) de haut risque en RC1, les LAM ou LAL en RC2 et RC3, la myélofibrose primitive ou secondaire, les aplasies médullaires selon l'âge et la réponse au traitement, les syndromes myélodysplasiques ou les hémopathies lymphoïdes de risque élevé. Ces indications dépendent de l'âge, des comorbidités du patient et de la disponibilité d'un greffon.

Les indications évoluent régulièrement en fonction des évaluations de l'efficacité et de la toxicité de l'allogreffe, de l'arrivée de nouvelles thérapeutiques ciblées et du progrès de la biologie (en particulier la cytogénétique, la biologie moléculaire et la cytométrie en flux).

Figure 2: Nombre d'allogreffes réalisées en Europe pour les différentes pathologies entre 1990 et 2010 (Passweg JR, 2012).



AML: leucémie aigue myéloblastique, ALL: leucémie aigue lymphoblastique, CML: leucémie myéloïde chronique, MDS/MPS: syndrome myélodysplasique/myéloprolifératif, PCD: myélome et leucémie à plasmocyte, solid tumors: tumeur solide, non malignant: pathologie bénigne (hémoglobinopathie, déficit immunitaire).

IV : Les principes de l'allogreffe

IV-a : L'effet « greffe versus leucémie » (GvL) ou « greffe versus tumeur » (GvT)

L'hypothèse d'un effet immunologique anti-leucémique du greffon a pour la première fois été suggéré en 1956 (Barnes et al, 1956). En effet, les chercheurs ont observé que chez les souris leucémiques recevant un greffon syngénique (issu d'un jumeau), il y avait de nombreuses rechutes, alors que celles bénéficiant d'un greffon allogénique (non jumeau) développaient une GvH tout en rechutant moins. L'effet GvL a également été suggéré par l'équipe de Weiden. Ces derniers ont montré que les souris leucémiques allogreffées ayant développé une GvH aigue (Weiden et al, 1979) ou chronique (Weiden et al, 1981) rechutaient moins que celles n'ayant pas présenté de GvH. Plus tard, ce sont les expériences de greffes allogéniques à partir de greffons déplétés en lymphocytes T qui ont permis d'établir le principe de l'effet GvL médié par les lymphocytes T. En effet, l'incidence de rechute était plus importante chez les patients greffés avec ce type de greffon (Martin et al, 1985). L'effet GvL a définitivement été prouvé par l'obtention de rémission complète chez des patients en rechute post allogreffe après injection de cellules lymphocytaires issue du donneur (Kolb et al, 1990). A ce jour, la majorité des allogreffes est réalisée avec un conditionnement d'intensité réduite, dont le principe d'efficacité repose sur l'effet GvL pour permettre la guérison des patients.

Le mécanisme de l'effet GvL n'est pas parfaitement élucidé. Les effecteurs identifiés actuellement sont les lymphocytes T CD4 contenus dans le greffon (Riddell et al, 2003). Les lymphocytes T responsables de l'effet GvL sont différents de ceux induisant la GvH (lymphocytes T CD8) (Ferrara et al, 2009), ce qui peut permettre d'un point de vue théorique de différencier l'effet GvL et l'effet GvH. En situation de greffe où l'histocompatibilité est partielle entre donneur et receveur (allogreffe haploidentique), les lymphocytes natural killer (NK) jouent un rôle dans l'effet anti-tumoral (Ruggeri et al, 1999). Les antigènes cibles, impliqués dans l'effet GvL, sont principalement les antigènes mineurs d'histocompatibilité, et les peptides polymorphiques présentés par les molécules HLA des cellules du receveur (Riddell et al, 2003).

IV-b : Les différents types de donneurs

Le choix d'un donneur repose en premier lieu sur la compatibilité tissulaire entre le donneur et le receveur. Cette compatibilité tissulaire correspond à l'expression similaire d'un certain nombre d'antigènes du soi, appelés encore antigènes HLA ou antigènes majeurs d'histocompatibilité, à la surface des cellules. Le système HLA regroupe plus de 200 gènes présents sur le bras court du chromosome 6. On distingue trois régions, groupes ou classes d'antigènes HLA : classes I, II et III. Chaque classe est sub-divisée en plusieurs régions appelées locus. Seuls les loci A, B et Cw de la classe I et les loci DRB1, DQB1 de la classe II sont pris en compte pour la compatibilité entre patient et donneur (Klein et al, 2000a et 2000b). Ainsi la compatibilité maximale (greffe matchée) est celle où les 10 allèles A, B, Cw, DRB1, DQB1 du receveur correspondent aux mêmes 10 allèles chez le donneur (compatibilité dite 10/10^{ème}). On estime alors que le risque de complications (rejet ou GvH) est minimal après la greffe. L'importance du matching DQB1 est discutée (greffe 8/8^{ème}) (Kamani et al, 2008). Dans le cas où la compatibilité n'est pas maximale on parle de greffe « mismatch ». On tolère ainsi des greffes 9/10^{ème}, en particulier avec un mismatch au locus Cw. Dans le cas où aucun donneur n'a été retrouvé, on peut faire le choix d'un donneur seulement semi-compatible (5/10^{ème}) familiale (greffe haploidentique). On sait également qu'il existe un certain nombre d'antigènes mineurs d'histocompatibilité (MiHA) (HY, HA-1, HA-2, HA-3) (il s'agit essentiellement de gènes présents au niveau du chromosome Y chez l'homme) et un certain degré de polymorphisme non-HLA qui peuvent aussi influencer le devenir des patients après greffe, mais ceux-ci ne sont pas pris en compte actuellement pour le choix du donneur (Miklos et al, 2005 ; Bettens et al, 2012). Du fait de l'immaturation des cellules placentaires, seuls les loci A, B et DRB1 sont pris en compte pour la compatibilité maximale (6/6^{ème}) entre donneur et receveur et des greffes mismatches sont permises (jusqu'à 4/6^{ème}) (Spellman et al, 2012).

Il existe trois types de donneurs potentiels : les donneurs familiaux ou apparentés (greffes syngéniques, compatibles (dites génoïdentes), mismatches dont haploïdentes), les donneurs non familiaux ou non apparentés (greffes compatibles (dites phénoïdentes) ou mismatches) et le sang placentaire.

A : les donneurs familiaux :

1- Les greffes syngéniques, (à partir d'un jumeau), ont été les premières allogreffes réalisées. Compte tenu de l'absence d'effet GvL, ce type d'allogreffe n'est pas recommandé chez les patients atteints d'hémopathies malignes (Barnes et al, 1956).

2- Les greffes génoidentiques (à partir de la fratrie compatible), permettent de réaliser des allogreffes pour lesquelles la mortalité non liée à la rechute est la plus faible. Les greffes génoidentiques sont à privilégier chez tout patient en attente d'allogreffe.

3- Les greffes haploidentiques sont réalisées à partir de donneurs HLA semi-compatibles issus de la famille (parents, fratrie, enfants). L'avantage de ce type de greffe est la rapidité de mise à disposition du greffon. On considère que 95% des patients ont un donneur familial semi-identique potentiel (Gladstone et al, 2011). Les patients greffés à partir de greffons haploidentiques ont un risque important de non prise de greffe ou de développer une GvH. L'injection de cyclophosphamide dans les jours suivant l'allogreffe a permis de limiter d'incidence de GvH et de rejet (Tuve et al, 2011). Ces patients ont néanmoins un risque de rechute important. La place des greffes haploidentiques vis-à-vis des greffes de SC reste à définir.

B : Les greffes non apparentées :

Elles sont réalisées avec des donneurs volontaires inscrits sur les fichiers internationaux de donneurs. Ces donneurs peuvent avoir soit une compatibilité HLA totale sur les 10 locus (greffes phénoïdentiques), soit un mismatch. Dans le cas des greffes non apparentées et particulièrement en cas de mismatch, le risque de GvH est supérieur aux greffes génoidentiques (Sierra et al, 2003).

C : Les greffes de sang placentaire :

La greffe de SC est responsable d'une mortalité non liée à la rechute élevée en lien avec une reconstitution hématologique et immunologique retardée (Laughlin et al, 2004). Le risque de GvH est plus faible que dans les greffes phénoïdentiques et génoidentiques (Chen et al, 2012 ; Le Bourgeois et al, 2013b). La réalisation d'allogreffe à partir de 2 USP a permis de diminuer la mortalité non liée à la rechute. La place de ce type de greffon vis-à-vis des greffes non familiales, matchées ou non, reste à définir. En effet, les SC sont souvent plus rapidement disponibles que les greffons issus de donneurs volontaires. Ceci est un avantage pour les hémopathies à croissance tumorale rapide telles que les leucémies aiguës pour lesquelles le délai de réalisation de la greffe est un élément central pour la survie sans rechute. Il n'y a pas d'étude prospective ayant comparé les greffes à partir de SC et à partir de donneurs volontaires. Cependant les études comparatives rétrospectives montrent qu'il n'existe pas de différence en terme de survie pour les greffes réalisées avec ces deux types

de donneurs, que ce soit après un conditionnement myéloablatif ou d'intensité réduite (Ponce et al, 2011 ; Brunstein et al, 2012 ; Le Bourgeois et al, 2013b). Il n'est pas noté de différence de survie non plus lorsqu'on compare les allogreffes de SC et les greffes non familiale mismatch 9/10^{ème} (Malard et al, 2013a). A l'heure actuelle, l'utilisation de SC est indiquée chez l'adulte en l'absence de donneur familiale ou de fichier HLA 10/10^{ème} ou 9/10^{ème}. Mais il est recommandé de rechercher rapidement des SC de compatibilité HLA \geq 4/6^{ème}, en l'absence de donneur génoïdentique, afin de ne pas retarder la réalisation de d'allogreffe.

IV-c : Les différentes sources de greffon

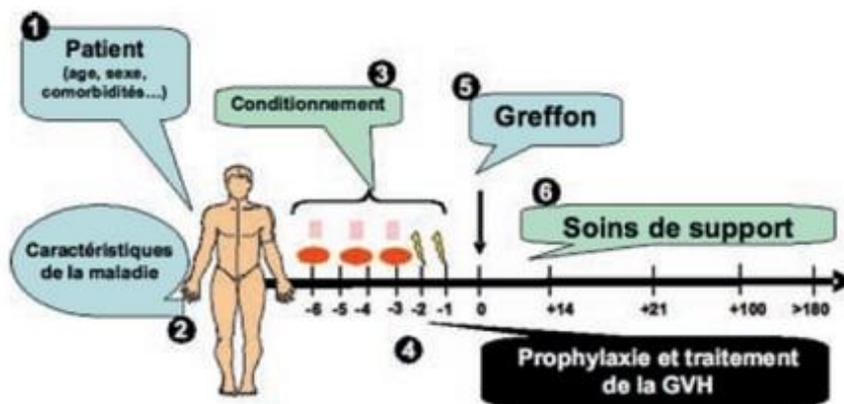
Il existe trois types de greffon. Historiquement les allogreffes ont été réalisées à partir de greffons d'origine médullaire, prélevés au moyen de ponctions avec un trocart au niveau de l'os iliaque du donneur. Depuis les années 90, les greffons à partir de cellules souches périphériques (CSP) sont réalisés grâce au prélèvement de CSH circulantes par cytophérèse après stimulation par du Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF). Ce type de recueil a majoritairement remplacé les prélèvements médullaires (Passweg et al, 2012) et évite aux donneurs les risques liés à l'anesthésie. De plus, les greffons de CSP sont plus riches en cellules souches que les greffons de moelle osseuse permettant une reconstitution hématologique et immunologique plus rapide (Demiriz et al, 2012). Un des inconvénients des greffons de CSP est l'augmentation du risque de GvH chronique (Demiriz et al, 2012). Le troisième type de greffon est le greffon de sang placentaire dont les caractéristiques seront détaillées par la suite (cf partie II, chapitre IV).

V : Les étapes de l'allogreffe

L'allogreffe se déroule en plusieurs étapes. Le conditionnement est la première. Il correspond à une chimiothérapie associée ou non à une radiothérapie. Puis vient le jour de la greffe, désigné par définition le jour zéro (J0). Après la greffe, le patient se retrouve en général en aplasie (taux de polynucléaires neutrophiles (PNN) inférieur à 500/mm³). Pendant cette période, des complications infectieuses ainsi que des complications liées au conditionnement (mucite, maladie veino-occlusive) peuvent survenir. La prise de greffe a lieu en générale la deuxième semaine suivant l'injection du greffon. Le patient est alors

exposé à des complications telles que la GvH aigue puis chronique, les infections, la perte secondaire du greffon. Les différentes étapes de l'allogreffe sont résumées dans la **Figure 3**. Le patient peut aussi rechuter de sa maladie dans un délai plus ou moins court.

Figure 3: Les différentes étapes de l'allogreffe (Mohty M, 2010).



V-a : Le conditionnement

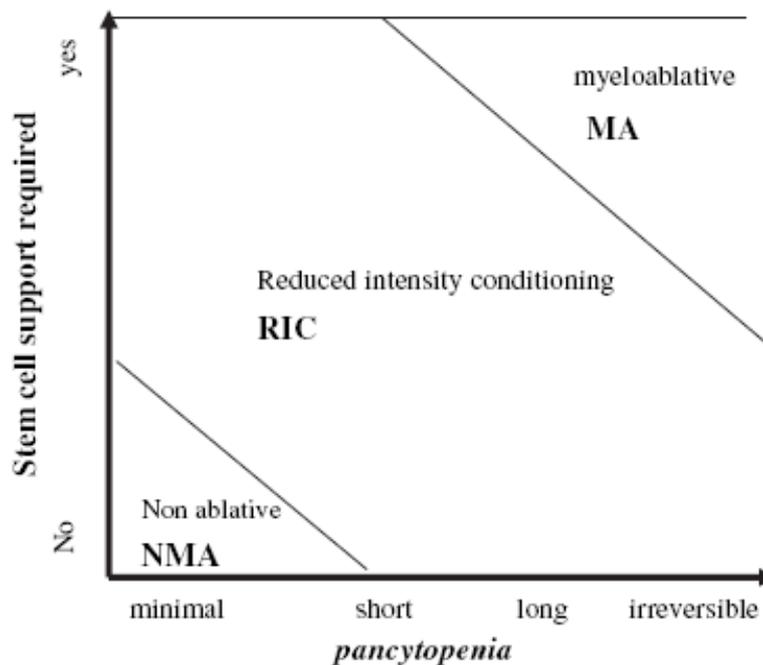
Les conditionnements des allogreffes de CSH répondent à trois principes :

- Création d'une immunosuppression chez le patient, afin que le greffon puisse s'installer et ainsi permettre l'effet GvL : rôle immunosuppresseur.
- Création d'espace en détruisant la moelle osseuse : rôle myéloablatif ou myélotoxique.
- Destruction du clone malin : rôle antitumoral. Ce dernier est plus important avec un conditionnement myéloablatif qu'avec un conditionnement d'intensité réduite ou qu'avec un conditionnement non myéloablatif qui reposent sur l'effet immunosuppresseur.

Il existe en effet trois types de conditionnements: les conditionnements myéloablatifs, les conditionnements d'intensité réduite et les conditionnements non myéloablatifs. La durée d'aplasie est variable en fonction des types de conditionnement (Bacigalupo et al, 2009) (**Figure 4**). Les conditionnements myéloablatifs sont des conditionnements responsables de cytopénies profondes et irréversibles ; un support de CSH est indispensable pour permettre la reconstitution hématopoïétique. A l'opposé les conditionnements non myéloablatifs entraînent peu de cytopénies, ainsi la greffe n'est, en théorie, pas indispensable. Les

conditionnements d'intensité réduite sont des conditionnements d'intensité intermédiaire, responsables de cytopénies de durées variables, rendant nécessaire un support de CSH pour permettre une reconstitution hématologique dans un délai raisonnable ; cependant ces cytopénies associées aux conditionnements d'intensité réduite ne sont pas irréversibles.

Figure 4: Définition des types de conditionnements d'allogreffe selon la durée d'aplasie et la nécessité d'injecter ou non un greffon afin de restaurer une hématopoïèse après greffe (Bacigalupo et al, 2009).



Le choix du conditionnement repose sur un certain nombre de critères qui doivent permettre d'établir un équilibre entre l'intensité de celui-ci (prédisant plus ou moins le contrôle de la maladie et la prise de greffe) et les toxicités attendues responsables de la mortalité non liée à la rechute. Ainsi le conditionnement de greffe de CSH doit être adapté au patient en fonction de son âge physiologique, de ses comorbidités, des précédents de traitements de sa pathologie et de son statut à la greffe. Le conditionnement sera en général de forte intensité chez les patients jeunes ou ayant une maladie non contrôlée, et de faible intensité chez des patients âgés ou avec des comorbidités.

V-a-1 : Les conditionnements myéloablatifs

Les premiers conditionnements de greffe de CSH ont été des conditionnements myéloablatifs. Les conditionnements myéloablatifs ont une toxicité telle que l'hématopoïèse du patient est détruite de façon définitive; ainsi aucune reconstitution autologue n'est théoriquement possible. On considère qu'un conditionnement est myéloablatif si la dose d'irradiation corporelle totale (ICT) est au moins équivalente à 5 Gy (gray) (en une dose) ou 8 Gy (en doses cumulatives fractionnées) ou si la dose de busulfan est strictement supérieure à 8mg/kg per os (=par voie orale) ou 6,4 mg/kg intra-veineux (IV) (Bacigalupo et al, 2009). Les conditionnements myéloablatifs sont surtout utilisés chez les enfants car leur tolérance est meilleure.

Les premières allogreffes chez l'homme ont été conditionnées par une ICT à 8,5 grays en une dose (Thomas et al, 1957). Cependant l'ICT seule ne permettait pas un contrôle durable de la maladie. Rapidement le cyclophosphamide, agent immunosuppresseur et antitumoral, a été associé à l'ICT, entraînant une diminution des rechutes. Les scientifiques ont ensuite fractionné la dose d'ICT afin d'en limiter les complications (pneumopathies interstitielles, maladies veino-occlusives) tout en montrant la persistance d'une efficacité correcte du conditionnement (Girinsky et al, 2000). De nombreux protocoles de radiothérapies ont été testés avec le cyclophosphamide (Christ et al, 1990 ; Clift et al, 1990 ; Girinsky et al, 2000). Le protocole publié par Deeg et al, en 1986, associant le cyclophosphamide à la dose de 120 mg/kg réparti en 2 jours et l'ICT à 12 Gy (6 doses de 2 Gy sur 3 jours), est le conditionnement myéloablatif avec ICT le plus utilisé aujourd'hui (Deeg et al, 1986).

Dans les années quatre-vingt, les chercheurs ont essayé de mettre au point des conditionnements sans ICT afin de diminuer les complications à long terme liées à l'irradiation. Ainsi plusieurs drogues, telles que l'aracytine forte dose (Herzig et al, 1985), le busulfan (Santos et al, 1983), l'étoposide, le melphalan (Cahn et al, 1991), le BCNU, ont été testées en association avec le cyclophosphamide. L'association du busulfan per os (16 mg/kg réparti sur 4 jours) avec du cyclophosphamide (120 mg/kg sur 2 jours) reste le conditionnement myéloablatif sans ICT de référence aujourd'hui (Santos et al, 1983), à la nuance près que le busulfan per os ait été remplacé en 2003 par le busulfan administré par voie IV (Busilvex®). Le passage de cette molécule de la voie orale à la voie parentérale a permis de contourner les problèmes de sous dosage, secondaire à des difficultés de prise chez des patients ayant des nausées et une mucite, ou de surdosage, responsables d'un risque accrue de maladies veino-occlusives (Kashyap et al, 2002).

Les différentes études prospectives et rétrospectives ayant comparées les conditionnements ICT + cyclophosphamide et busulfan + cyclophosphamide (busulfan per os ou IV), n'ont pas permis de montrer la supériorité d'un conditionnement vis-à-vis d'un autre. Cependant, selon des études rétrospectives, les patients ayant une LAL semblent bénéficier de l'irradiation (Clift et al, 1994 ; Clift et al, 1999 ; Socié et al, 2001).

Actuellement les études se portent vers une réduction de la toxicité des conditionnements myéloablatifs, notamment en remplaçant le cyclophosphamide par de la fludarabine (Shimoni et al, 2006 ; Andersson et al, 2008), ou de la clofarabine (Kebriaei et al, 2012) mais ces conditionnements myéloablatifs dits à toxicité réduite seraient moins efficaces (Lee et al, 2013).

V-a-2 : Les conditionnements non myéloablatifs

Le principal inconvénient des conditionnements myéloablatifs est leur toxicité importante, rendant difficile leur réalisation après l'âge de 50 ans. Les conditionnements non myéloablatifs ont été développés à partir des années 1990, afin de rendre l'allogreffe accessible aux patients âgés ou ayant des comorbidités. Les conditionnements non myéloablatifs sont des conditionnements d'intensité faible pour lesquels la myélotoxicité est pratiquement nulle. Le but est l'installation du greffon sans toxicité. Ce type de conditionnement s'accompagne d'une reconstitution autologue en l'absence de greffon. Il existe différents types de conditionnements non myéloablatifs : ICT de 1 ou 2 Gy ± fludarabine, irradiation totale des organes lymphoïdes ± sérum anti-lymphocytaire (SAL), fludarabine ou cyclophosphamide + SAL, cladribine + aracytine, fludarabine + aracytine + idarubicine (Bacigalupo et al, 2009). Il s'accompagne d'une mortalité non liée à la rechute faible (Sorrer et al, 2004), cependant l'incidence de rechute est élevée. Actuellement, ce type de conditionnement est délaissé au profit des conditionnements d'intensité réduite, pour lesquels l'incidence de rechute est plus faible sans accroissement de la toxicité (Martino et al, 2013).

V-a-3 : Les conditionnements d'intensité réduite

Les conditionnements d'intensité réduite sont des conditionnements d'intensité intermédiaire. Comme pour les conditionnements non myéloablatifs, le principe de ces conditionnements repose sur l'immunomodulation afin de permettre la prise de greffe et l'éradication de la maladie et non sur la myélosuppression comme pour les conditionnements

myéloablatifs. Cependant, contrairement aux conditionnements non myéloablatifs, les conditionnements d'intensité réduite entraînent des cytopénies longues rendant nécessaire le support d'un greffon pour permettre une sortie d'aplasie dans un délai raisonnable. Ces conditionnements, grâce à leur faible toxicité, rendent possibles des allogreffes chez des patients âgés ou ayant des comorbidités (Chevallier et al, 2012). Actuellement les conditionnements d'intensité réduite représentent la majorité des conditionnements d'allogreffe réalisée (Passweg JR, 2012).

Le conditionnement d'intensité réduite est un bon compromis entre efficacité, évaluée par la survie sans maladie et tolérance, évaluée par la mortalité non liée à la rechute (Aoudjhane et al, 2005 ; Lioure et al, 2012 ; Martino et al, 2013). Les conditionnements d'intensité réduite sont définis par les caractéristiques suivantes : ICT < 8 Gy en doses fractionnées ou < 5 Gy en dose unique, busulfan \leq 8mg/kg per os, melphalan \leq 140mg/m², thiotepa < 10mg/kg (Bacigalupo et al, 2009 ; Giral S, 2009). Les conditionnements d'intensité réduite sont fréquemment basés sur l'association de fludarabine et de busulfan tel que le conditionnement de référence aujourd'hui dit FB2A2 (fludaradine 30mg/m² pendant 5 jours, busulfan 3,6mg/Kg pendant 2 jours et SAL 2,5mg/kg pendant 2 jours) (Michallet et al, 2008 ; Blaise et al, 2010 ; Le Bourgeois et al, 2013a).

V-b : Le jour zéro et la phase d'aplasie

Le jour de la greffe, désigné par définition le jour zéro (J0), a lieu généralement 24 heures après la fin du conditionnement. Le greffon est infusé au receveur par IV. Après la greffe, le patient se retrouve généralement en aplasie. Pendant cette période, le patient est exposé à des complications infectieuses ainsi qu'à des complications liées au conditionnement (mucite, maladie veino-occlusive).

V-c : La prise de greffe et le chimérisme

La sortie d'aplasie est définie en par le premier des 3 jours consécutifs pour lequel le taux de PNN est \geq 500/mm³. La prise de greffe correspond à une sortie d'aplasie chez le patient associée à une reconstitution hématologique d'origine allogénique évaluée par l'étude du chimérisme. La non prise de greffe (rejet primaire) est définie comme l'absence de sortie d'aplasie après le 28^{ème} jour pour les greffes à partir de donneurs vivants ou le 60^{ème} jour pour les allogreffes de SC, ou par une reconstitution hématologique autologue évaluée par l'étude du chimérisme. Le chimérisme est l'examen biologique permettant de déterminer

le ratio de cellules hématopoïétiques du donneur et du receveur. On considère que la greffe a pris si les cellules donneurs sont détectées à un taux > 5% avec l'objectif d'atteindre à terme un taux de 100%. Le rejet primaire est rare en allogreffe (Olsson et al, 2013). Les facteurs de risque de rejet primaire sont les allogreffes de SC, les mismatches HLA entre donneur et receveur, la présence d'anticorps anti-HLA dirigé contre le donneur chez le patient, l'incompatibilité sexuelle entre donneur et receveur (donneur de sexe féminin et receveur de sexe masculin) (Mattson et al, 2008 ; Olsson et al, 2013). La perte secondaire du greffon (rejet secondaire) est souvent associée à une rechute de l'hémopathie.

V-d : La reconstitution immunitaire

Après la greffe, il persiste un déficit immunitaire pendant plusieurs mois, exposant le patient à des complications telles que des infections sévères, des tumeurs secondaires (par exemple : lymphoprolifération induite par l'Epstein-Barr virus ou tumeur solide) ou à la rechute de la maladie initiale. La reconstitution immunitaire a lieu progressivement au cours des mois suivant l'allogreffe avec initialement (dans les 100 premiers jours) la restauration de l'immunité innée (PNN, monocytes, macrophages, cellules NK), puis plus tardivement, la restauration de l'immunité adaptative (lymphocytes B et T) (Storek et al, 2001 ; Le Bourgeois et al, 2013a). De nombreux facteurs, tels que le type de greffon (SC), le type de greffe (non apparentée mismatch, haploidentique), la présence d'une GvH ralentissent la reconstitution immunitaire (Storek et al, 2001).

V-e : Les complications de l'allogreffe non liées à la rechute

Les principales complications post allogreffe sont la GvH et les infections qui peuvent aboutir au décès du patient. La mortalité non liée à la rechute correspond au décès chez un patient en situation de rémission complète. On considère que tous les décès non liés à la rechute sont liés à la procédure de greffe. La mortalité non liée à la rechute permet ainsi d'évaluer la toxicité des différentes procédures d'allogreffe.

V-e-1 : La réaction du greffon contre l'hôte (GvH)

La GvH est une des complications majeures de l'allogreffe de CSH. Elle correspond à une « attaque » du greffon dirigée contre l'hôte receveur. Elle est la cause d'une morbidité et d'une mortalité importante après allogreffe. Elle survient chez environ 70% des malades et entraîne le décès dans à peu près 30% des cas (jusqu'à 80-90% des cas dans les formes sévères) (Cahn et al, 2005). Elle est divisée en 2 entités, la GvH aigue survenant avant le 100^{ème} jour après la greffe et la GvH chronique plus tardive. Il existe cependant des formes cliniques de GvH aigues après le 100^{ème} jour, notamment après les conditionnements d'intensité réduite ou après injection de lymphocytes du donneur.

La GvH fut décrite initialement sous le nom de « maladie secondaire ». Elle regroupait des symptômes à type de perte de poids, de diarrhées, de lésions cutanées et d'atteintes hépatiques. Rapidement, les chercheurs ont compris que ces manifestations cliniques étaient liées à des réactions immunologiques secondaires à l'incompatibilité entre le donneur et le receveur puisque de telles complications n'étaient pas présentes après des greffes syngéniques. Bullingham et al ont décrit, en 1966, les 3 critères nécessaires au développement de la GvH (Bullingham et al, 1966). Premièrement, le greffon doit contenir des cellules immunocompétentes. Puis, il doit exister une incompatibilité antigénique entre l'hôte et le greffon. Et enfin, l'hôte ne doit pas pouvoir mettre en place une réaction immunologique de rejet contre le greffon.

La GvH aigue est la première cause de mortalité précoce après allogreffe (Cahn et al, 2005). Sa physiopathologie est complexe (Ferrara et al, 2009) et fait encore l'objet de nombreuses recherches. Lors de l'allogreffe, le conditionnement est responsable de lésions tissulaires entraînant la libération de nombreux facteurs pro-inflammatoires tels que le TNF α (tumor necrosis factor), l'interleukine 1 (IL), l'IL6. Ces cytokines augmentent l'immunogénicité des cellules de l'hôte en activant la présentation antigénique au niveau des tissus endommagés. Ils favorisent aussi la nécrose tissulaire. L'ensemble est responsable de l'activation et la prolifération des lymphocytes T du donneur. Les lymphocytes T, ainsi activés, libèrent des cytokines telles que l'IL-2, le TNF- α et l'interferon- γ qui activent secondairement les cellules effectrices responsables des lésions de la GvH (lymphocytes T cytotoxiques, cellules NK, macrophages...). Certaines cellules telles que les lymphocytes T régulateurs entraînent au contraire une inhibition de la réponse immunologique.

L'incidence de la GvH aigue varie de 25 à 70% en fonction des séries. La GvH aigue se présente sous la forme d'une atteinte digestive et/ou cutanée et/ou hépatique. Au niveau digestif, la symptomatologie est variable : douleurs abdominales à type de crampes, anorexie, vomissements, diarrhées. Au niveau cutané, on observe en cas de GvH aigue un

érythème plus ou moins généralisé pouvant évoluer dans les formes sévères vers une desquamation. La GvH hépatique est responsable d'une hépatite cholestatique. En fonction de la gravité des atteintes d'organes, la GvH aigue est gradée de I à IV (Glucksberg et al, 1974). Les symptômes de la GvH aigue ne sont pas spécifiques. Les diagnostics différentiels de la GvH aigue sont essentiellement les infections virales, la toxicité liée au conditionnement et une maladie veino-occlusive. Ainsi le diagnostic de GvH aigue repose sur un faisceau d'arguments à la fois cliniques et paracliniques avec si possible une analyse histologique des lésions.

La GvH chronique correspond à un déséquilibre immunitaire post allogreffe, avec des caractéristiques à la fois d'auto-immunité et d'immunodéficience. Elle ressemble à certaines pathologies auto-immunes telles que la sclérodermie, la maladie de Gougerot-Sjogren et la cirrhose biliaire primitive. Elle survient dans 40 à 70% des allogreffes avec une intensité variable. La physiopathologie de la GvH chronique est encore peu connue mais comme pour la GvH aigue, les lymphocytes T du donneur ont un rôle essentiel.

Les manifestations cliniques de la GvH chronique sont extrêmement variées (Ex : sécheresse oculaire ou génitale, ulcération buccale, atteinte cutanée sclérodermiforme, cholestase hépatique, érythème du visage, syndrome obstructif pulmonaire). La GvH chronique peut être soit localisée, soit extensive (Filipovich et al, 2005). En fonction de la localisation et du degré d'atteinte, le patient peut avoir une altération importante de sa qualité de vie (Syrjala et al, 2004).

Les risques de développer une GvH aigue ou chronique varient en fonction des caractéristiques de l'allogreffe, du donneur et du receveur. Le type de greffe influence l'incidence de GvH. En effet, les allogreffes génoidentiques sont les allogreffes pour lesquelles l'incidence de GvH est la plus faible. Les risques augmentent pour les allogreffes non familiale 10/10^{ème} et deviennent majeurs dans les allogreffes avec mismatch ou haploidentiques. La source du greffon influe aussi sur l'incidence de GvH. Après les allogreffes de CSP, on observe plus de GvH chronique par rapport à celles réalisées avec de la moelle osseuse. Le taux de GvH, notamment chroniques, est faible dans les allogreffes réalisées à partir de SC. Le type de conditionnement est aussi un facteur influençant l'incidence de GvH. La présence d'une incompatibilité sexuelle (donneur femme pour receveur homme), la séropositivité du cytomégalovirus (CMV) du receveur, l'âge élevé du patient sont aussi des facteurs de risque de GvH. Vis-à-vis de la GvH chronique, d'autres facteurs ont été mis en évidence, tels que l'antériorité d'une GvH aigue et une splénectomie (Atkinson et al, 1990 ; Mohty et al, 2002 ; Remberger et al, 2002 ; Randolph et al, 2004).

Actuellement la prophylaxie de la GvH est essentiellement basée sur l'association de la ciclosporine A (inhibiteur de la calcineurine) avec une autre molécule telle que le méthotrexate (MTX) ou le mycophenotale mofetil (MMF). Le sérum anti-lymphocytaire (SAL) est un élément essentiel des conditionnements d'intensité réduite ou myéloablatifs avec un donneur non familial (Socié et al, 2011). Son action lymphodéplétrice permet, en plus de prévenir efficacement la GvH, de favoriser la prise de greffe.

Le traitement de la GvH aigue repose sur une forte dose de corticothérapie (2mg/kg/jour). Cette première ligne de traitement est efficace dans 40 à 50% des cas. En cas d'échec de la corticothérapie, d'autres traitements sont associés tels que le MTX, le MMF, le SAL, l'anti-IL2 (leukotac®), la photophérese extra-corporelle. A l'heure actuelle il n'existe pas de données littéraires suffisantes pour privilégier un traitement par rapport à un autre en deuxième ligne (Bacigalupo et al, 2007).

Le traitement de la GvH chronique dépend de la localisation (oculaire, cutanée, génitale, pulmonaire...) et de son caractère extensif ou non. En cas de GvH chronique localisée, le traitement repose sur une corticothérapie locale. Pour les formes extensives, le traitement est basé sur la majoration des immunodépresseurs et l'introduction de nouveaux agents (Filipovich et al, 2005). Dans le cas des GvH chroniques cutanées résistantes aux corticoïdes, l'Imatinib (inhibiteur de tyrosine kinase, Glivec®) a un intérêt (Magro et al, 2009).

Malgré des progrès sur la prophylaxie et le traitement des GvH aigues et chroniques, la mortalité et la morbidité restent importantes. En effet, environ 1/3 des patients atteints de GvH aigue vont mourir des conséquences directes ou indirectes de la GvH. Chez les patients présentant une GvH aigue grade 3-4, ce taux augmente à 90%. En cas de contrôle de la GvH par des moyens thérapeutiques, les patients gardent un traitement immunosuppresseur de façon prolongé avec une majoration des risques infectieux notamment fongiques et viraux. De plus, les patients présentent fréquemment des complications liées à une corticothérapie prolongée (ostéonécrose de hanche, ostéoporose, diabète, hypertension artérielle, dyslipidémie, cataracte). En plus de ces risques, viennent s'ajouter des complications d'ordre psychologique en lien avec les modifications de l'image corporelle et l'incapacité physique et sexuelle.

V-e-2 : Les infections

Les infections représentent également une des principales complications après l'allogreffe (Gratwohl et al, 2005). En effet, les patients sont profondément immunodéprimés

pendant les mois suivant l'allogreffe. Ceci est lié à l'hémopathie elle-même, aux chimiothérapies antérieures, au conditionnement lui-même (ICT, SAL), aux traitements immunodépresseurs administrés en prophylaxie de la GvH. Certains facteurs comme l'allogreffe de SC, la GvH, la séroposivité CMV du receveur, l'antécédent d'aspergillose invasive, les conditionnements myéloablatifs, les comorbidités du patient, la T déplétion sont des facteurs augmentant le risque d'infection (Gratwohl et al, 2005).

Les patients allogreffés sont sujets aux infections bactériennes essentiellement pendant la période initiale d'aplasie. Les infections virales, notamment liées au CMV et à l'Epstein Barr virus (EBV) sont fréquentes dans les 3 mois suivant l'allogreffe, principalement chez les patients en cours de traitement d'une GvH. Enfin le risque de développer une infection fongique dans les mois suivant l'allogreffe est augmenté. Le principal facteur de risque est alors la corticothérapie initiée pour le traitement d'une GvH.

Les soins de support tels que les flux laminaires, les nouveaux traitements antifongiques, les conditionnements d'intensité réduite ainsi que la détection des réplifications virales chez les patients ont permis de réduire la mortalité liée aux infections chez les patients allogreffés ces dernières années.

V-e-3 : Les autres complications

Les patients peuvent être sujets à d'autres complications durant les premières semaines suivant l'allogreffe : par exemple la maladie veino-occlusive et les microangiopathies thrombotiques.

L'allogreffe est aussi responsable de complications à long terme avec une infertilité et des troubles des fonctions sexuelles. On observe aussi une augmentation des risques cardio-vasculaires, des endocrinopathies, des complications ostéo-articulaires ainsi qu'une augmentation de l'incidence des cancers secondaires (Tichelli et al, 2009). Les enfants ont fréquemment un retard de croissance. De plus les patients allogreffés ont aussi plus de complications d'ordre psychiatrique avec une augmentation de l'incidence des suicides (Tichelli et al, 2013). L'allogreffe a également une incidence à long terme sur l'activité socio-professionnelle et la qualité de vie des patients (Khera et al, 2012).

V-f : La rechute

La rechute reste malheureusement une des premières causes de mortalité après allogreffe. L'incidence de rechute est variable et dépend du type de pathologie, du statut du patient à la greffe et du nombre de lignes de traitements antérieurs. D'autres facteurs tels que les conditionnements d'intensité réduite, l'administration de traitements T dépléteurs, l'âge élevé du patient, les comorbidités, augmentent le risque de rechute.

En cas de rechute, le pronostic du patient est sombre. En fonction du type de pathologie, de l'état clinique du patient et du délai entre la greffe et la rechute, une chimiothérapie plus ou moins intensive pourra être proposée. En parallèle de la chimiothérapie pourra être réalisé une immunothérapie basée sur l'injection de lymphocytes du donneur afin d'induire un effet GvL (Porter et al, 2006).

VI : Etat des lieux de l'allogreffe en France et à Nantes en 2013.

Lors de ces vingt dernières années, en France, comme à Nantes, le nombre de patients allogreffés a augmenté de façon exponentielle (**Figure 5**). Ce phénomène est tout d'abord lié à la diminution de la mortalité non liée à la rechute avec l'apparition des conditionnements d'intensité réduite. Les conditionnements d'intensité réduite, du fait d'une moindre toxicité, représentent actuellement, en France, 56% des conditionnements chez tous patients confondus (rapport d'activité de la SFGM-TC 2011) (Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire). Les patients de plus de 50 ans représentent 42% des patients allogreffés (rapport d'activité de la SFGM-TC 2011). Les CSP sont les premières sources de greffon en France (rapport d'activité de la SFGM-TC 2011) (**Figure 6**). De plus la diversification des donneurs, avec en particulier la disponibilité en sang placentaire, a permis d'envisager une allogreffe chez un plus grand nombre de patients. En 2011, 13.5% des allogreffes, en France, ont été réalisées à partir de SC (rapport d'activité de la SFGM-TC 2011). A Nantes, l'allogreffe de SC représente environ à 8 à 15% des allogreffes selon années (**Figure 7**)

Figure 5: Evolution du nombre d'allogreffes réalisées à Nantes depuis 1983.

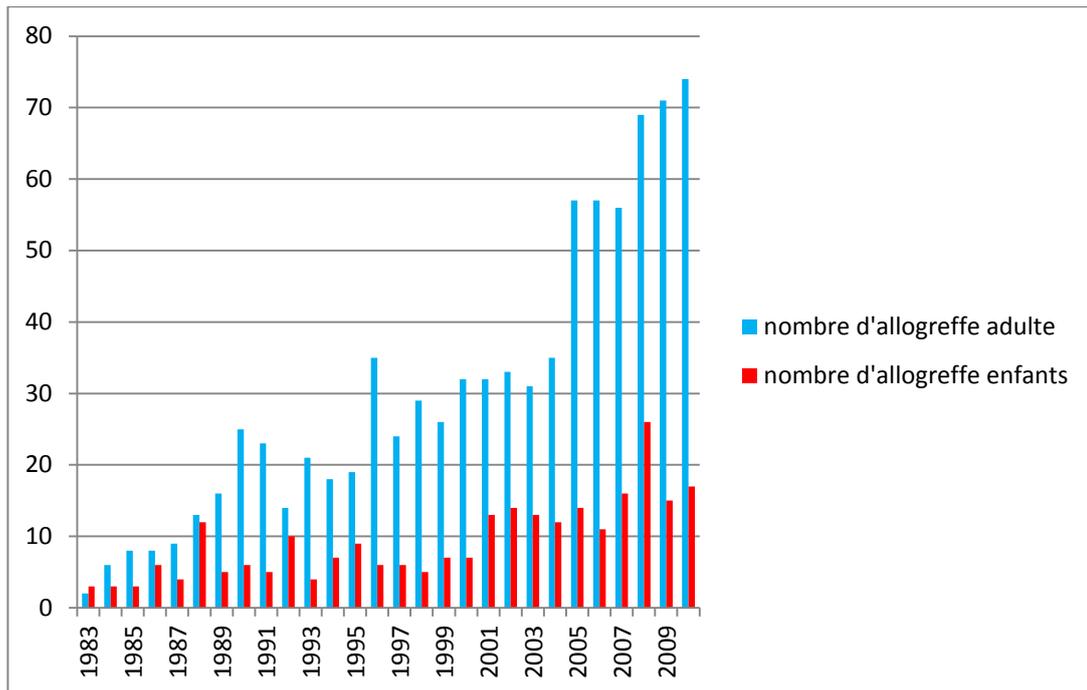


Figure 6: Nombre d'allogreffes réalisées en France en fonction du type de greffons (rapport d'activité de la SFGM-TC 2011).

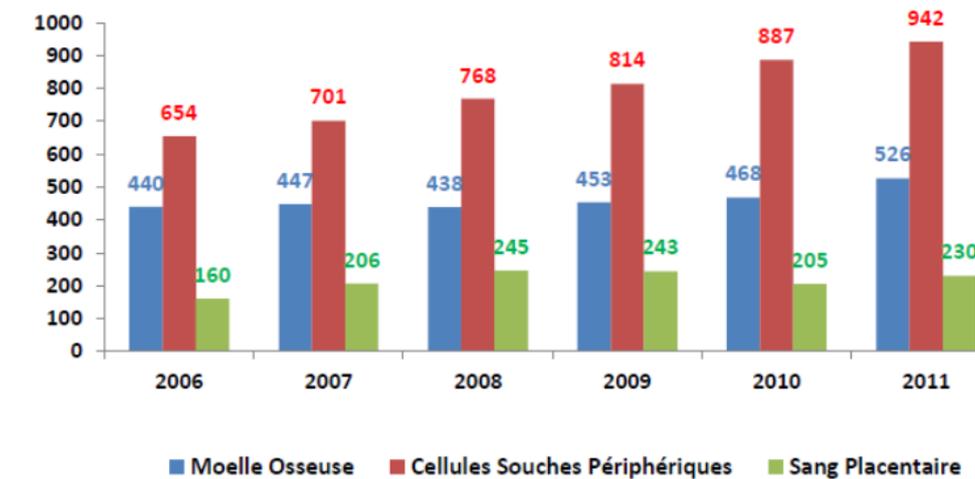
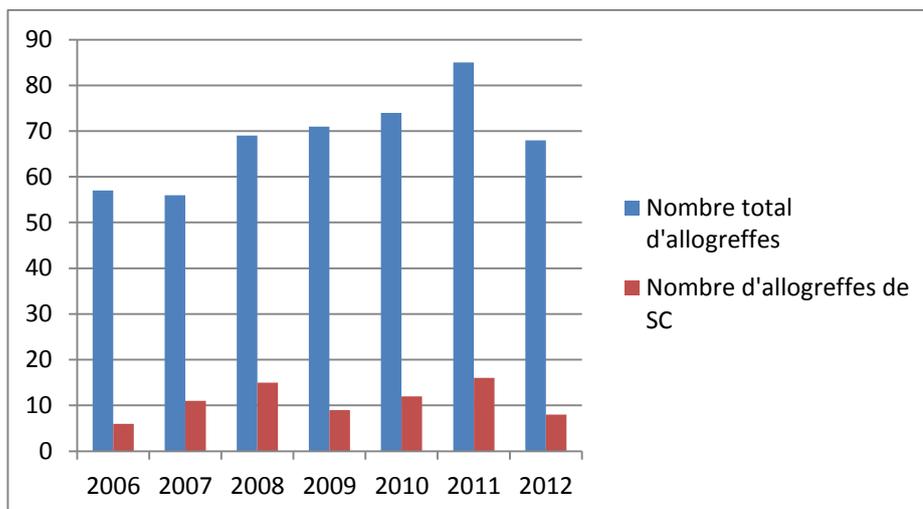
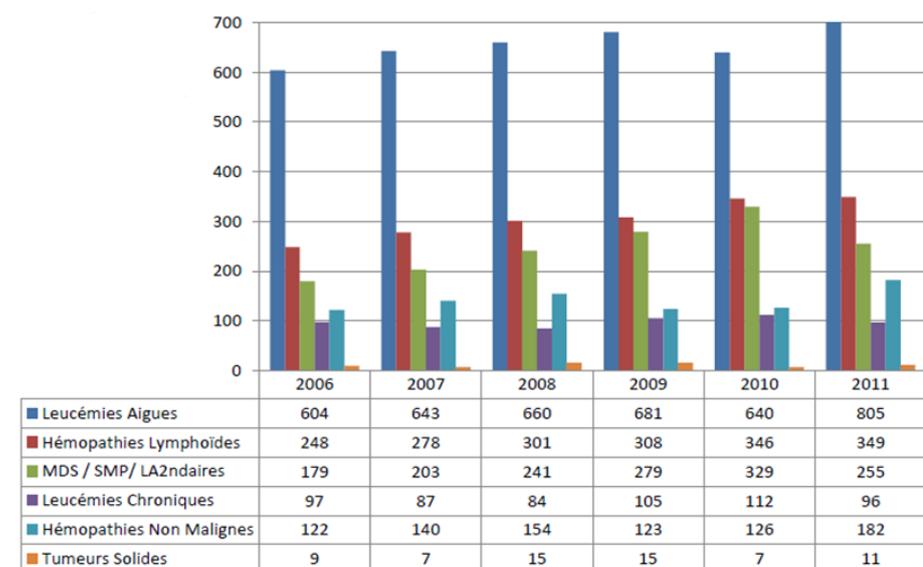


Figure 7: Proportion d'allogreffes de sang placentaire réalisées chez l'adulte au CHU de Nantes entre 2006 et 2012.



De plus, la répartition des allogreffes en fonction des différentes pathologies a évolué. Actuellement, on note une augmentation du nombre d'allogreffes réalisées pour des pathologies lymphoïdes. La proportion d'allogreffes pour des myélodysplasies est aussi en augmentation (**Figure 8**).

Figure 8: Répartition des allogreffes en fonction des pathologies en France (rapport de la SFGM-TC de 2011).



Partie 2 : L'allogreffe de sang placentaire

I : Introduction

Environ 70% des patients en attente d'allogreffe ont un donneur compatible 10/10^{ème} disponible dans leur fratrie ou dans les fichiers des donneurs volontaires. Pour les 30% restant, la recherche de donneurs alternatifs tels que le SC ou un donneur familial haploidentique permet de réaliser une allogreffe dans la majorité des cas. Pour 40 à 60% de ces patients, une allogreffe à partir de SC est possible. L'allogreffe à partir de SC est en pleine expansion et représente actuellement 13,5% des allogreffes réalisées en France (rapport d'activité de la SFGM-TC 2011).

L'allogreffe à partir de SC offre de nombreux avantages. Tout d'abord les USP sont des greffons rapidement disponibles car ils sont déjà typés et congelés. De plus il est possible de réaliser des greffes avec une moindre compatibilité HLA entre donneur et receveur sans majoration du risque de GvH (Majhail et al, 2008 ; Spellman et al, 2012). Ceci permet de greffer des patients appartenant à des minorités ethniques qui ne trouvent pas de donneurs dans les fichiers de donneurs volontaires.

Une des limites des allogreffes de SC est la faible richesse des greffons en cellules nucléées (CN), retardant la reconstitution hématologique et immunologique (Hamza et al, 2004). Afin d'augmenter la quantité de cellules infusées, plusieurs techniques, telles que l'allogreffe de dUSP, ont été développées. Après les allogreffes de SC, les complications infectieuses sont plus nombreuses (Hamza et al, 2004) et l'injection de lymphocytes issus du donneur est impossible en cas de rechute.

Malgré tout, l'allogreffe de SC est une procédure pour laquelle les études rétrospectives montrent des résultats en termes de survie globale et de survie sans progression comparables aux autres procédures d'allogreffe (Ponce et al, 2011 ; Brunstein et al, 2012 ; Le Bourgeois et al, 2013b).

II : Historique de l'allogreffe de sang placentaire

L'hématopoïèse chez le fœtus commence au niveau du sac vitellin dès la fin de la première semaine. Ensuite elle se développe dans la rate, le foie et les ganglions lymphatiques. On retrouve alors des CSH dans le sang périphérique du fœtus (Linch et al, 1982). La moelle osseuse se développe secondairement, devenant le site principal de l'hématopoïèse après la naissance.

Le potentiel thérapeutique des cellules souches fœtales a été étudié à partir de 1970. Les études des CSH fœtales ont montré qu'elles pouvaient permettre une reconstitution hématologique et qu'elles étaient faiblement immunogènes (Harrison et al, 1989). Les recherches sur les donneurs alternatifs se sont intensifiées après la catastrophe de Tchernobyl en 1986. Broxmeyer et al ont mis en évidence la présence de CSH dans le SC et la possibilité de conservation de greffons issus du SC par congélation (Broxmeyer et al, 1989).

La première allogreffe de SC a été réalisée avec succès en 1988 par Gluckman et al à partir d'une USP d'origine familiale (frère du receveur), pour le traitement d'une patiente atteinte d'une anémie de Fanconi (Gluckman et al, 1989).

En 1996, les premières allogreffes à partir de SC non apparentées ont été réalisées (Kurtzberg et al, 1996). A cause de la faible richesse en CSH, la greffe de SC était initialement réservée aux enfants ou aux jeunes adultes. En 1996, la première allogreffe de SC non apparentée chez un adulte a été réalisée (Laporte et al, 1996). Cependant chez l'adulte, l'allogreffe à partir d'une USP était responsable d'une mortalité non liée à la rechute élevée et d'une incidence de prise de greffe faible, liée à la pauvreté des greffons en CSH au prorata du poids du receveur. A partir de la fin des années 90, différentes techniques afin d'augmenter la richesse cellulaire des greffons ont été développées, telles que l'allogreffe à partir de 2 USP (=dUSP) (Weineb et al, 1998), l'injection directement en intra-médullaire du greffon (Frassoni et al, 2008), l'expansion ex-vivo du greffon, ou la co-infusion d'un boost de cellules CD34+ à partir d'un donneur haploidentique (Fernandez et al, 2003).

En 1995, a été créé EUROCORD, association regroupant la majorité des partenaires impliqués dans l'allogreffe de SC. Son but est d'assurer la gestion et le suivi qualité des SC à l'échelle mondiale, ainsi que d'étudier les résultats de la greffe de SC (Gluckman et al, 1997). En 1998, le groupe Netcord, organisme privé à but non lucratif, a été créé afin de

réguler la conservation des USP et de standardiser les critères de sélection des greffons (Hakenberg et al, 1998). Ces deux organismes travaillent en collaboration.

III : Techniques de prélèvement et de conservation des greffons de sang placentaire

En France, la collecte et la conservation du sang placentaire par les banques publiques sont régis par l'agence de biomédecine. En 2011, on recensait 16000 USP congelées en France. Le don de SC est anonyme, gratuit et volontaire. Le SC ne peut être conservé en France que dans le but d'une allogreffe ; son usage à titre privé (pour une utilisation autologue ou intra-familiale) est interdit sauf exception (loi de bioéthique de 07/2011). Le don peut être proposé à toutes les femmes accouchant dans les maternités agréées (plus de 70 maternités en France, 1 en dans la région Pays de la Loire : polyclinique de l'atlantique). A la naissance, une fois que le clampage du placenta a été réalisé, environ 80cc de sang de la veine ombilicale est prélevé. Cet échantillon sanguin est acheminé dans les 24 heures dans un centre agréé. L'échantillon sanguin est ensuite analysé pour évaluer sa qualité. On extrait la partie leucocytaire (buffi-coat) qui est la seule à être conservée. L'extrait est ensuite mélangé à du DMSO (Dimethylsulfoxide) puis cryoconservé à une température de -150°C. Les USP sont ensuite placées dans un congélateur d'azote liquide. Une USP peut être conservée jusqu'à 25 ans après congélation (Broxmeyer et al, 2013). Au final seul 30% des sangs placentaires prélevés remplissent l'ensemble des critères de qualité en termes de richesse cellulaire et de sécurité d'emploi pour être conservés.

IV : Caractéristiques des greffons de sang placentaire

La principale particularité des greffons d'origine placentaire est leur faible richesse en CN et plus particulièrement en cellules souches CD34+. Le nombre de cellules CD34+/kg est environ 10 fois plus faible dans les greffons placentaires que dans les greffons de CSP ou de moelle osseuse (Theilgaard-Mönch et al, 2011 ; Chevallier P, 2013). La faible richesse en

cellules souches est responsable d'une incidence plus faible de prise de greffe. Augmenter la richesse des greffons est un enjeu majeur dans ce type de greffe notamment pour les patients adultes.

De plus la composition des greffons de SC diffère par rapport aux autres greffons (Theilgaard-Mönch et al, 2011). Par exemple, le nombre de lymphocytes T et B naïfs est plus important proportionnellement aux lymphocytes matures dans les USP (Chevallier et al, 2013). Ceci est un facteur pouvant expliquer la plus faible incidence de GvH et l'augmentation des infections opportunistes dans les allogreffes de SC.

V : Conditionnements actuels dans les allogreffes de sang placentaire

Les premières allogreffes de SC ont été réalisées en pédiatrie. Les conditionnements initialement utilisés étaient myéloablatifs, tel que l'association du cyclophosphamide (120mg/kg) avec une ICT (12 Gy). Chez les adultes, ce type de conditionnement est responsable d'une mortalité non liée à la rechute importante (Ruggeri et al, 2013) et est réservé aux adultes jeunes sans comorbidité (Cutler et al, 2009). Des conditionnements myéloablatifs à toxicité réduite ont été développés tel que celui associant du Thiotepa, du busulfan, de la fludarabine et du SAL (Sanz et al, 2012), qui fait actuellement l'objet d'une évaluation prospective (protocole THIOCORD).

Les conditionnements d'intensité réduite ont rapidement été développés et représentent maintenant la majorité des conditionnements dans les allogreffes de SC. Actuellement, le débat se situe entre l'utilisation des conditionnements basés sur l'ICT à faible dose, tel que le conditionnement de l'équipe de Minneapolis, dit « TCF » (fludarabine 200 mg/m² sur 5 jours (jour -6 à -2), cyclophosphamide 50 mg/Kg pendant 1 jour (jour-6) et une ICT de 2 Gy (jour-1) (Brunstein et al, 2007) et les conditionnements basés sur l'utilisation du SAL. Le SAL, grâce à son action de lymphodépletion T, a un rôle essentiel dans la prophylaxie de la GvH (MacMillan et al, 2009) et dans la prise de greffe (Mohty et al, 2010). Cependant, son utilisation est responsable d'une augmentation des infections opportunistes, et des lymphoproliférations EBV induites (Brunstein et al, 2006). Aucune étude ne permet à l'heure actuelle de privilégier l'utilisation du SAL par rapport à l'ICT.

Cependant, le protocole de Minneapolis (TCF) est actuellement considéré comme le conditionnement de référence.

VI : Avantages et inconvénients des allogreffes de sang placentaire.

VI-a : Une moindre compatibilité HLA nécessaire entre receveur et donneur

Une des particularités des allogreffes de SC est la possibilité de réaliser des greffes avec une moindre compatibilité HLA entre donneur et receveur. En effet, contrairement aux greffes réalisées à partir de donneurs adultes où une compatibilité d'au moins 9/10^{ème} est recommandée afin de limiter l'incidence de GvH ; les allogreffes de SC reposent sur une compatibilité ne prenant en compte actuellement que 6 locus HLA (2 loci A, 2 loci B, 2 loci DR). Une compatibilité \geq à 4/6^{ème}, entre donneur et USP, permet d'obtenir une prise de greffe et une mortalité non liée à la rechute convenable. La meilleure tolérance aux mismatches dans ce type de greffe peut être expliquée par une plus faible quantité de lymphocytes T matures dans les greffons et par leurs réponses préférentiellement de type T helper (Th1) (Spellman et al, 2012 ; Stavropoulos-Giokas et al, 2012). Grâce à la possibilité d'une moindre compatibilité HLA, les patients issus de minorités ethniques ont une plus grande chance d'être compatibles avec une USP qu'avec un donneur non familiale.

Il est établi qu'un nombre de mismatch \geq 3 entre donneur et USP est responsable d'une majoration de la mortalité. Ainsi une USP ne doit pas être recrutée en cas de compatibilité HLA avec le receveur \leq à 3/6^{ème} (Rocha et al, 2008). Pour une compatibilité comprise entre 4/6^{ème} et 6/6^{ème}, il est recommandé de choisir l'USP la plus compatible à condition d'avoir une richesse convenable (Barker et al, 2010 ; Stavropoulos-Giokas et al, 2012). Dans les allogreffes de dUSP, une compatibilité d'au moins 4/6^{ème} entre les deux USP est recommandée (Spellman et al, 2012).

Cependant l'impact de la compatibilité HLA semble gommé par la richesse cellulaire. En effet, les patients greffés avec un greffon 4/6^{ème} ayant une richesse en CN $> 5.10^7$ CN/kg ont une mortalité non liée à la rechute comparable à ceux greffés à partir d'un greffon 5/6^{ème} de richesse comprise entre 2 et 5.10^7 CN/kg (Barker et al, 2010).

Dans les allogreffes de SC, la majorité des patients ont au moins un mismatch avec l'USP. Les études se concentrent actuellement sur l'identification de mismatches HLA dit « permissifs », c'est-à-dire de mismatches entre donneur et receveur n'augmentant pas les complications post-allogreffe. Ce type de mismatch s'oppose aux mismatches « non permissifs ». Différentes pistes sont actuellement étudiées (Steven et al, 2011 ; de Lima et al, 2011 ; Cunha et al, 2013).

Tout d'abord, plusieurs travaux se sont concentrés sur l'impact du sens du mismatch sur les complications post greffe. Un mismatch bi-directionnel est défini par la présence d'une hétérozygotie pour un locus HLA donné, à la fois chez le donneur et le receveur, contrairement au mismatch unirectionnel où l'hétérozygotie n'est présente que chez le donneur ou chez le receveur. Il existe deux types de mismatches unidirectionnels. Lorsque le donneur est homozygote pour un locus HLA et que le receveur est hétérozygote pour ce même locus, le mismatch favorise la GvH. Inversement lorsque le receveur est homozygote pour un locus HLA et que le donneur est hétérozygote pour ce même locus, le mismatch favorise le rejet. Les résultats sur l'impact du sens du mismatch sont discordants. Pour certains auteurs, le mismatch dans le sens GvH est « permissif » avec une augmentation de l'incidence de prise de greffe, une diminution de la mortalité non liée à la rechute et une diminution de l'incidence de rechute (Stevens et al, 2011 ; de Lima et al, 2011). Récemment une étude rétrospective d'EUROCORD-EBMT (European Bone Marrow Transplantation) n'a pas retrouvé d'impact du sens des mismatches sur les complications post allogreffe de SC (Cunha et al, 2013).

La présence d'alloanticorps anti-HLA chez le receveur dirigé contre le donneur est un facteur augmentant l'incidence de non prise de greffe et de retard à la prise de greffe dans les allogreffes de SC (Takanashi et al, 2010). De plus il est décrit une augmentation de l'incidence de rechute et une augmentation de la mortalité en cas d'alloanticorps anti-HLA (Cutler et al, 2011a). Ainsi il est recommandé de rechercher la présence d'anticorps anti-HLA chez le receveur et de ne pas choisir d'USP pour laquelle le patient aurait un anticorps anti-HLA dirigé contre elle (Spellman et al, 2012).

Actuellement le choix des greffons de SC en fonction de leur compatibilité HLA avec le patient ne prend pas en compte l'antigène HLA-C. Plusieurs études ont montré que l'existence d'un mismatch au locus C augmente la mortalité non liée à la rechute, diminue la survie, de façon indépendant à la présence d'autres mismatches (Flomenberg et al, 2004 ; Eapen et al, 2011 ; Malard et al, 2013b).

Les NIMA (non-inherited maternal antigens) correspondent aux allèles du système HLA maternel non transmis au fœtus. Il est décrit qu'en cas de mismatch entre le receveur et

l'USP, si l'antigène maternel non transmis est compatible avec le receveur, il y a moins de rechute, et une meilleure survie (Rocha et al, 2012a). Il s'agit d'une piste intéressante qui pourrait modifier à l'avenir la stratégie de choix des USP (Spellman et al, 2012).

Même en cas de compatibilité HLA, il existe un risque de GvH et de rejet. En effet, d'autres facteurs immunologiques sont impliqués dans l'alloréactivité. Les KIR (killer cell immunoglobulin-like receptor) sont des récepteurs, majoritairement inhibiteurs, situés à la surface des lymphocytes NK. Ils reconnaissent les antigènes HLA de classe I présents à la surface des cellules permettant aux lymphocytes NK de différencier les cellules du soi et du non soi et ainsi d'activer ou non leur activité cytotoxique. Les gènes KIR, comme les gènes HLA, sont caractérisés par un fort polymorphisme. La plupart des travaux menés sur l'impact des KIR dans l'allogreffe ont été réalisés dans le cadre des greffes haploidentiques (Ruggeri et al, 2002). Il apparaît qu'un mismatch KIR dans le sens GvH (présence d'un KIR inhibiteur chez le donneur ne reconnaissant pas le ligand HLA de classe I des cellules du receveur) diminue l'incidence de GvH (hypothèse d'une destruction des cellules présentatrices de l'antigène du receveur ayant un rôle dans la phase initiale de la GvH), augmente l'effet GvL (destruction des cellules tumorales résiduelles) et augmente la prise de greffe (destruction des lymphocytes T résiduels du receveur) (Ruggeri et al, 2002). Cependant l'impact des KIR reste débattu et les études sont parfois contradictoires. Vis-à-vis des greffes de SC, deux études rétrospectives ont été réalisées ; leurs résultats sont discordants. L'étude réalisée par EUROCORD retrouve un effet bénéfique sur l'incidence de rechute et la survie en cas d'incompatibilité KIR (Willemze et al, 2009), alors que l'étude de Minneapolis ne retrouve pas d'impact sur la rechute mais une augmentation de l'incidence de GvH (Brunstein et al, 2009).

VI-b : Moins de réaction du greffon contre l'hôte

Bien qu'une compatibilité HLA plus faible soit permise dans les allogreffes de SC par rapport aux allogreffes réalisées à partir de CSP ou de moelle osseuse, l'incidence de GvH aiguës et chroniques est faible (Majhail et al, 2008 ; Chen et al, 2012 ; Le Bourgeois et al, 2013b). Ceci peut être expliqué par la plus faible quantité de lymphocytes T présents dans les greffons et l'immaturation du système immunitaire du donneur (Chevallier et al, 2011 ; Cunha et al, 2013).

Les facteurs retrouvés comme favorisant l'incidence de GvH aiguës, après allogreffe de SC sont l'absence d'utilisation de SAL, l'utilisation de conditionnement d'intensité réduite, les patientes de sexe féminin, le nombre élevé de mismatches HLA et les allogreffes de dUSP (Kurtzberg et al, 2008 ; MacMillan et al, 2009 ; Brunstein et al, 2012 ; Ruggeri et al, 2013).

Les hypothèses proposées pour expliquer l'augmentation du risque de GvH après allogreffe de dUSP sont liées à une augmentation de la quantité de lymphocytes T CD3 et un possible double effet greffon contre l'hôte et « greffon contre greffon » des deux USP (MacMillan et al, 2009).

La prophylaxie de la GvH après allogreffe de SC est basée sur l'association de ciclosporine A avec une autre molécule telle que le MMF, le MTX, les corticoïdes, le sirolimus, le tacrolimus ou le SAL (Narimatsu et al, 2007 ; Cutler et al, 2011b ; Sanz et al, 2013). A l'heure actuelle, aucune étude ne permet de privilégier une association plutôt qu'une autre.

VI-c : Augmentation du risque infectieux

Les complications infectieuses après les allogreffes de SC sont nombreuses et responsables d'une mortalité non liée à la rechute importante (Laughlin et al, 2004). Plusieurs facteurs sont impliqués dans l'accroissement du risque infectieux. Tout d'abord, la durée de l'aplasie est plus longue dans les allogreffes de SC en lien avec la pauvreté des greffons en cellules progénitrices (Hamza et al, 2004). De plus, le nombre de lymphocytes T et B naïfs transfusés est plus important proportionnellement aux lymphocytes matures dans les USP comparativement aux autres sources de greffon (Chevallier et al, 2013). Comme dans les allogreffes réalisées à partir d'autres sources de greffon, les immunosuppresseurs en prévention de la GvH sont administrés pendant plusieurs mois. L'ensemble de ces facteurs fait que la reconstitution immunologique est plus lente après l'allogreffe de SC. En plus d'une augmentation des risques infectieux bactériens (Hamza et al, 2004), on observe une majoration des risques infectieux viraux, fongiques et parasitaires. De plus après allogreffe de SC on observe des infections à certains agents infectieux non décrits habituellement dans d'autres situations d'allogreffe telles que des toxoplasmoses (Bautista et al, 2012) et des encéphalites à herpès virus humain de type 6 (HHV-6) (Scheurer et al, 2012).

L'HHV-6 est un bêta-herpès virus, ayant un tropisme pour les lymphocytes T CD4+. Ce virus a été découvert en 1986 (Salahuddin et al, 1986). Il existe 2 espèces de virus HHV-6 : HHV-6A et HHV-6B. La primo-infection à HHV-6 est ubiquitaire ; plus de 95% de la population adulte a des anticorps anti-HHV-6 (sans distinction entre espèce A ou B). Après allogreffe de SC la majorité des patients présente une réactivation du virus HHV-6 (Chevallier et al, 2010). Cette réactivation a préférentiellement lieu dans le premier mois suivant l'allogreffe (Illiaquer et al, 2013). Dans la majorité des cas la réactivation du virus HHV-6 est asymptomatique, cependant le virus peut être responsable d'encéphalites

limbiques, de diarrhées, d'éruptions cutanées ainsi que de retards de prise de greffe (Yamane et al, 2007 ; Chevallier et al, 2010). L'influence du virus HHV-6 sur le rejet primaire n'est jusqu'à présent pas démontré après allogreffe de SC.

VI-c : Pas de possibilité d'immunothérapie post greffe

En cas de rechute en post allogreffe, la prise en charge des patients est le plus souvent basée sur une association de chimiothérapie (afin de réduire la masse tumorale) et d'immunothérapie (afin de renforcer l'effet GvL). La principale immunothérapie post-allogreffe est l'injection de lymphocytes du donneur. Une des limites de l'allogreffe de SC est l'impossibilité de réaliser des injections de lymphocytes du donneur en cas de rechute. En effet, les greffons de SC sont des sources de cellules limitées : l'ensemble du greffon est injecté au jour zéro de la greffe. D'autres immunothérapies, telles que l'administration d'interféron α (Samuelson et al, 2012), d'IL 2 (Goldberg et al, 2000), de GM-CSF recombinant (Worth et al, 2002), ont été développées pour des patients en rechute après allogreffes de SC. Cependant, ces différentes expériences ne concernent que peu de patients et actuellement ne sont pas utilisées en pratique quotidienne.

Partie 3 : Les problématiques liées à la prise de greffe dans les allogreffes de sang placentaire

I : Comment augmenter la prise de greffe dans les allogreffes de sang placentaire

Les premières allogreffes de SC, réalisées avec une seule USP, étaient réservées aux enfants ou aux jeunes adultes. Chez l'adulte, la prise de greffe était médiocre et la mortalité non liée à la rechute était élevée, liée à la faible richesse en cellules souches de l'USP au prorata du poids du receveur (Rubinstein et al, 1998). La richesse minimale recommandée d'une USP est de $2,5 \cdot 10^7$ CN/kg pour une allogreffe simple cordon; cette quantité cellulaire est difficile à atteindre chez un adulte avec une seule USP (Barker et al, 2010). Afin d'augmenter la richesse en CN plusieurs procédures ont été développées.

I-a : L'allogreffe de double unité de sang placentaire

Historiquement les premières allogreffes combinant plusieurs donneurs ont été réalisées par Mathé et ses collaborateurs (Mathé et al, 1969). En associant des prélèvements issus de plusieurs moelles osseuses, ils ont pu augmenter la richesse des greffons et accroître l'incidence de prise de greffe, mais avec un risque plus important de GvH. Dans les années 90, les premières allogreffes à partir de plusieurs SC ont été réalisées (Shen et al, 1994 ; Weinreb et al, 1998).

L'allogreffe de dUSP est basée sur l'injection de deux USP partiellement compatibles entre elles et avec le receveur. La richesse en CN est augmentée puisqu'elle correspond à la somme des richesses en CN de chacune des deux USP. Cette technique a permis d'améliorer la prise de greffe et la reconstitution hématologique chez les adultes pour

lesquels la richesse en CN/kg était souvent insuffisante avec une seule USP (Barker et al, 2005). Cette technique est actuellement largement utilisée, et répond à certaines règles dans le recrutement des USP. Les critères de choix des USP reposent sur la compatibilité HLA des deux SC avec le donneur ainsi que sur la richesse en CN (cf partie III).

La plupart des études ayant comparé le devenir des adultes allogreffés avec une USP (taux minimal de CN généralement fixé à $2.5 \cdot 10^7$ CN/kg) vs 2 USP, ne retrouvent pas de différences en termes de survie globale, d'incidence de prise de greffe, de mortalité non liée à la rechute et de rapidité de reconstitution hématologique (Brunstein et al, 2007 ; Rocha et al, 2012b). Cependant, l'étude publiée récemment par Labopin et al, sur une cohorte de 134 patients allogreffés pour une leucémie aigue (allogreffe à partir d'une USP : n=61 ; à partir de 2 USP : n=73), a montré une amélioration de survie globale chez les patients allogreffés à partir de dUSP (survie globale à 2 ans de 62% après allogreffe à partir de 2 USP vs 42% à partir d'une USP ; p=0,03) (Labopin et al, 2013).

Vis-à-vis de l'incidence de GvH, l'allogreffe de dUSP, par rapport à 1 USP, est un facteur de risque d'augmentation de GvH aigue (Rocha et al, 2012b), (Labopin et al, 2013) et chronique (Brunstein et al, 2007). Plusieurs études ont montré une diminution de l'incidence de rechute et une augmentation de la survie sans maladie chez les patients allogreffés avec deux USP comparativement à ceux greffés avec une USP, faisant suspecter un renforcement de l'effet GvL dans les allogreffes dUSP (Brunstein et al, 2007 ; Verneris et al, 2009 ; Rocha et al, 2012b ; Labopin et al, 2013).

En France, le coût financier dans la première année suivant une allogreffe de dUSP est supérieur à celui d'une allogreffe à partir d'une USP que ce soit après un conditionnement d'intensité réduite ou myéloablatif : 191827€ vs 165253€ et 213050€ vs 192566€ respectivement (Labopin et al, 2013). Lorsque l'on analyse la qualité de vie des patients après une allogreffe de SC, les patients allogreffés à partir de deux USP ont une meilleure qualité de vie. Ainsi dans l'étude de Labopin et al, bien que l'allogreffe de dUSP soit plus chère, lorsque ce coût est intégré à un facteur de qualité de vie, l'allogreffe de dUSP représente une économie. De plus, lorsque l'on étudie le nombre de jours médians de ré-hospitalisation, on observe un avantage chez les patients allogreffés à partir de 2 USP (Labopin et al, 2013).

Dans les premières semaines suivant les allogreffes de dUSP, le chimérisme est souvent mixte ; on détecte alors des cellules des 2 USP et du receveur. Puis rapidement, en dehors de rare cas (de Lima et al, 2002 ; Eldjerou et al, 2010), une seule des 2 USP devient majoritaire (Ballen et al, 2007). Les facteurs déterminant la prise d'une USP par rapport à

une autre restent encore flous. La mise en évidence des facteurs de prise de greffe d'une USP par rapport à l'autre fait l'objet entre autre de ce travail.

I-b : L'expansion ex-vivo des greffons placentaires

Un des moyens permettant d'augmenter la richesse des USP en CSH, consiste en une stimulation de la prolifération de ces cellules, ex-vivo, avant injection chez le receveur.

In vivo, la croissance et la prolifération des CSH sont régulées par la production de cytokines et de facteurs de croissance produits par des cellules non hématopoïétiques environnementales, notamment les cellules stromales mésenchymateuses (CSM).

Actuellement plusieurs techniques d'expansion ex-vivo sont en développement (Kelly et al, 2009 ; Dahlberg et al, 2011):

1. La technique utilisant un liquide de suspension. Le but de cette technique est de recréer un environnement cytokinique artificiel stimulant la multiplication des CSH placentaires. Après avoir isolé les cellules souches CD34+, celles-ci sont incubées dans un milieu de culture riche en différents facteurs de prolifération (G-CSF, thrombopoïétine, IL3, IL6, Notch ligand...) pendant deux à trois semaines.

Une des limites de la méthode d'expansion ex-vivo par liquide de suspension est la difficulté à recréer un milieu de culture proche de la situation in-vivo

2. La mise en culture avec des CSM. Cette technique consiste à mettre en contact des CSM avec des CSH en présence de cytokines et de facteurs de croissance, afin de stimuler la prolifération des CSH. En reproduisant des conditions de cultures plus « naturelles », les scientifiques espèrent une meilleure viabilité des CSH. Les CSM sont recueillies chez un donneur partiellement compatible. L'utilisation de CSM en clinique n'est malheureusement pas autorisée en France actuellement.

En fonction des protocoles, le processus d'expansion prend entre 10 et 21 jours (Kelly et al, 2009 ; Dahlberg et al, 2011). Ces différentes techniques permettent d'accroître de façon significative le nombre total de CN et de cellules CD34+ contenues dans le greffon placentaire.

De façon générale, lors de l'expansion ex-vivo, seule la partie contenant les cellules progénitrices d'une USP est sélectionnée pour être stimulée. La fraction de cellules stimulées est constituée exclusivement de cellules CD34+. Elle est ensuite associée à

d'autres cellules non manipulées comprenant des cellules CD34+ et des lymphocytes, correspondant à la fraction non expandue, afin qu'il y ait une reconstitution immunitaire et un effet GvL du greffon. La fraction cellulaire expandue est soit couplée avec la fraction non expandue et injectée au jour zéro de la greffe (Shpall et al, 2002), soit utilisée comme boost, et infusée plus tardivement (Jaroscak et al, 2003). Une autre procédure consiste à injecter une USP dite « manipulée » (contenant les fractions cellulaires expandues et non expandues) associée à une 2^{ème} USP dite « non manipulée » ; le patient bénéficie alors d'une allogreffe de dUSP modifiée.

Différentes études, à la fois dans des modèles animaux (McNiece et al, 2002) et chez l'homme (de Lima et al, 2008), montrent que l'expansion ex-vivo permet une reconstitution hématologique plus rapide. Cependant, il est observé une augmentation du risque de perte secondaire de greffon, laissant suspecter un épuisement des cellules stimulées. Lorsque l'on étudie le chimérisme des patients ayant bénéficiés de l'infusion de deux USP (une « manipulée » et une « non manipulée »), le cordon qui prend, est généralement le cordon non « manipulé ». L'hypothèse est que les cellules stimulées n'aient qu'une action transitoire puis disparaissent (de Lima et al, 2008).

Actuellement, un protocole français étudie de façon prospective l'expansion ex-vivo de CSH dans les allogreffes de SC (protocole GRAPA, Bordeaux).

I-d : L'injection intra-médullaire du greffon de sang placentaire

Lorsque l'on réalise une allogreffe, le greffon de CSH est injecté dans la circulation périphérique au moyen d'un cathéter veineux central. Les cellules progénitrices vont alors circuler dans le système sanguin et se nicher secondairement dans la moelle osseuse : il s'agit du phénomène de « homing ». Cependant une partie des CSH va être piégée dans les organes périphériques, diminuant ainsi le nombre de cellules arrivant jusqu'à la moelle osseuse. Une étude expérimentale a montré que seulement 10% des cellules injectées dans la circulation périphérique allaient se nicher dans la moelle osseuse (Van Hennik et al, 1999). Un des moyens développés afin de limiter cette perte cellulaire est l'injection intra-médullaire du greffon.

Cette technique a montré sa faisabilité et son efficacité, notamment sur la rapidité de reconstitution hématologique (Frassoni et al, 2008). En 2013 est paru une étude rétrospective d'EUROCORD, comparant des patients ayant reçu une allogreffe à

conditionnement myéloablatif réalisée avec soit une USP injectée en intra-médullaire (USP-IM, 87 patients) avec des patients greffés soit deux USP injectées en périphérie (149 patients) (Rocha et al, 2013). Dans cette étude, bien que la médiane de CN/kg était inférieure dans le groupe USP-IM ($2,5 \cdot 10^7$ CN/kg vs $3,9 \cdot 10^7$ CN/kg), la reconstitution hématologique aussi bien de la lignée granuleuse que de la lignée plaquettaire, était plus rapide dans le groupe USP-IM. De plus, l'incidence de GvH était inférieure dans ce même groupe. Il est suspecté que la diminution de GvH soit due à la moindre proportion de lymphocytes T du donneur circulants, diminuant ainsi la réaction allogénique au niveau des organes lymphatiques.

Cette technique permet donc d'envisager une allogreffe chez des patients adultes n'ayant qu'une USP disponible avec une richesse cellulaire faible (Rocha et al, 2013).

Cependant cette procédure n'est pas dénuée de conséquences pour le patient. En effet, elle nécessite d'être réalisée au bloc opératoire, sous anesthésie générale. Le greffon est injecté directement dans l'os iliaque postérieur au moyen de multiples ponctions à l'aide d'un trocart. Le patient est alors exposé à des risques infectieux, anesthésiques et hémorragiques.

I-d : Le boost par un donneur haploidentique

Les SC sont pauvres en CSH comparativement aux greffons de type CSP. La majorité des patients a un donneur familial haploidentique potentiel. Cependant ce type de greffe était jusqu'à peu pourvoyeuse d'un taux de GvH important. Les études actuelles montrent une diminution de l'incidence de GvH notamment grâce à l'administration de cyclophosphamide dans les jours suivant directement l'injection du greffon. Afin d'augmenter la prise de greffe, la technique de co-injection d'un boost de cellules CD34+ issues d'un donneur haploidentique après allogreffe de sang placentaire a été développée. Le greffon est obtenu après stimulation d'un donneur apparenté semi-identique par du G-CSF et est recueilli par cytophérèse. Le greffon de CSP subit ensuite un tri des cellules CD34+, afin de ne pas injecter de lymphocytes T pourvoyeurs de GvH. Le boost riche en cellules CD34+ est ensuite injecté au patient au jour zéro de la greffe comme l'USP.

Actuellement aucune étude n'a comparé cette technique par rapport à d'autres. Lui et al ont publié une cohorte de 45 adultes allogreffés, après un conditionnement d'intensité réduite, avec une USP (médiane de CN : $1,55 \cdot 10^7$ CN/kg) et un boost de cellules CD34+ (médiane de cellules CD34+ : $3,5 \cdot 10^6$ CN/kg) issu d'un donneur familial haploidentique (Liu

et al, 2011). L'incidence de prise de greffe était de 95%, suivie d'une reconstitution hématologique rapide (délai médian de sortie d'aplasie : 11 jours ; délai médian d'obtention d'un taux de plaquettes $> 20000/\text{mm}^3$: 19 jours). Les incidences de GvH aigue et chronique étaient respectivement de 25% et de 5%. La survie globale à 1 an était de 55%. La survie sans maladie et la mortalité non liée à la rechute, à 1 an, étaient estimées à 42% et 28% respectivement. Parallèlement, il a été montré dans d'autres études, que la reconstitution hématologique était plus rapide avec un boost de cellules CD34+ (Fernandez et al, 2003 ; Martin-Donaine et al, 2009). Il semble que le boost de cellules CD34+ permette d'accélérer la prise de greffe. Cependant l'analyse du chimérisme à distance de la greffe montre que c'est le greffon de SC qui prend et non les cellules du boost (Fernandez et al, 2003 ; Liu et al, 2011).

II : Les facteurs influençant la prise de greffe dans le cas des allogreffes de double unité de sang placentaire.

II-a : Introduction

Comme pour toutes les allogreffes, il existe de nombreux facteurs influençant la prise de greffe : des facteurs liés au patient (type de pathologie, statut à la greffe, traitements antérieurs), des facteurs liés au greffon (compatibilité HLA, richesse en cellules), des facteurs liés à la procédure de greffe (type de conditionnement, utilisation du SAL). Enfin la prise de greffe est influencée par les complications précoces après l'injection du greffon, notamment les infections virales.

Dans les allogreffes de dUSP, la richesse cellulaire et la compatibilité HLA sont les facteurs les plus importants influençant la prise de greffe.

II-b : Les différents facteurs influençant la prise de greffe

II-b-1 : La richesse des greffons

La quantité cellulaire minimale recommandée après allogreffe de dUSP varie en fonction des sources littéraires: elle est soit basée sur la somme de richesse en CN des 2 USP qui doit être $> 3.10^7$ CN/kg, soit sur la richesse de chacune des 2 USP qui doivent être $> 2.10^7$ CN/kg chacune (Rocha et al, 2009 ; Barker et al, 2011). L'impact d'une forte quantité de CN sur l'incidence de prise de greffe en cas de richesse totale $> 3.10^7$ CN/kg, reste débattu. Pour Avery et al, plus la richesse en CN/kg est élevée plus les chances de prise de greffe sont importantes et meilleure est la reconstitution hématologique (Avery et al, 2011). Alors que pour Brunstein et al, lorsque la compatibilité HLA entre donneur et receveur est \geq à $4/6^{\text{ème}}$ pour chacune des USP, l'incidence de prise de greffe n'est pas augmentée lors que la richesse en CN est très augmentée ($>4.4.10^7$ CN/kg) (Brunstein et al, 2007).

Avery et al ont retrouvé un impact positif d'une plus grande richesse totale des 2 USP en lymphocytes T CD3+ et en unités CFU-GM (colony-forming unit granulocyte/macrophage) sur l'incidence de prise de greffe (Avery et al, 2011).

II-b-2 : La compatibilité HLA

Concernant la compatibilité HLA, il est recommandé de choisir des USP ayant une compatibilité HLA minimale de $4/6^{\text{ème}}$ avec le receveur (Barker et al, 2011). Il a été montré que, dans les allogreffes simple cordon, une compatibilité HLA inférieure à $4/6^{\text{ème}}$ retardait la prise de greffe et augmentait la mortalité non liée à la rechute (Rocha et al, 2008). De plus, moins il y a de mismatch, meilleur est le taux de prise de greffe (Rubinstein et al, 1998). Les études qui se sont intéressées à l'impact de la compatibilité HLA entre les USP et le receveur, sur la prise de greffe après allogreffes de dUSP, montrent qu'à partir du moment où la compatibilité entre les USP et le receveur est \geq à $4/6^{\text{ème}}$, le nombre total de mismatch n'est pas un facteur influençant la prise de greffe (Brunstein et al, 2007 ; Avery et al, 2011 ; Wallet et al, 2013). Cependant, au vu des résultats montrant l'influence de la compatibilité HLA dans les allogreffes à partir d'une USP, il est recommandé de choisir les 2 USP les plus compatibles avec le receveur, tout en respectant le taux minimal de CN recommandé (Barker et al, 2011).

Une seule étude s'est intéressée à l'impact de la compatibilité HLA des 2 USP entre elles (Avery et al, 2011). Ces résultats montrent que la compatibilité HLA entre les 2 unités ne semble pas influencer la prise de greffe (Avery et al, 2011). Cependant, il est recommandé que la compatibilité HLA entre les 2 unités soit \geq à 4/6^{ème} (Spellman et al, 2012)

Comme précédemment décrit, la présence d'alloanticorps chez le receveur spécifiquement dirigés contre le système HLA de l'USP augmente le risque de non prise de greffe et retarde la reconstitution hématologique (Takanashi et al, 2010 ; Culter et al, 2011).

La place des mismatches HLA permissifs, des mismatches KIR-ligand, du mismatch HLA-C (Malard et al, 2013b) et des NIMA dans la prise de greffe reste à définir dans les allogreffes de dUSP.

II-b-3 : Les autres facteurs

Les infections virales notamment à HHV-6 sont plus fréquentes après allogreffes de SC et sont responsables d'un retard à la prise de greffe (Chevallier et al, 2010). L'impact de la réactivation du virus HHV-6 sur l'incidence de prise de greffe elle-même n'a, jusqu'alors, jamais été étudié.

Le SAL favorise la prise de greffe mais la lymphodéplétion T induite est responsable d'une augmentation du risque infectieux (Mohty et al, 2010).

III : Les facteurs prédictifs de la prédominance d'une unité de sang placentaire par rapport à l'autre dans les allogreffes de double unité de sang placentaire

III-a : Introduction

En sortie d'aplasie, les deux USP sont le plus souvent détectables, puis progressivement, au cours des 100 premiers jours, une unité devient prédominante et l'autre

disparaît (Ballen et al, 2007). Les différents facteurs connus prédisposant à la prédominance d'une USP par rapport à l'autre sont détaillés ci-dessous.

III-b : Les différents facteurs influençant la prise d'une unité de sang placentaire par rapport à l'autre

III-b-1 : Un effet « greffon versus greffon » ?

Au vu des données de la littérature, la prédominance d'une USP par rapport à une autre après l'allogreffe, semble liée à la présence d'un effet « greffon versus greffon », médié par des facteurs immunologiques.

Tout d'abord, la majorité des études s'accorde sur l'impact du taux de lymphocytes T CD3+ présents dans le greffon placentaire. En effet, l'unité prédominante est celle qui contient la quantité de lymphocytes T CD3+ la plus importante (Barker et al, 2005 ; Avery et al, 2011 ; Ramirez et al, 2012). Cependant, l'étude menée sur 110 patients allogreffés avec deux USP après un conditionnement d'intensité réduite par l'équipe de Minneapolis, n'a pas retrouvé de prédominance d'une unité vis-à-vis de l'autre en fonction du taux de lymphocytes T CD3+ (Brunstein et al, 2007); de même que celle de Newell et al, portant sur 46 patients après un conditionnement myéloablatif (Newell et al, 2012). D'autres facteurs doivent donc être en jeu.

Avery et al ont montré de façon rétrospective chez 79 patients, que lorsque les deux unités avaient un haut niveau de compatibilité entre-elles (5/6 ou 6/6 versus 1 à 4/6), les 2 USP persistaient ensemble chez l'hôte (Avery et al, 2011). Ceci pourrait être expliqué par une moindre réaction « greffon versus greffon » des USP entre-elles et à une meilleure tolérance des deux greffons entre eux en l'absence de mismatch HLA.

Un autre argument en faveur de l'effet « greffon versus greffon » est le rôle des lymphocytes T CD8+. En effet, Gutman et al ont montré qu'au moment de la prise de greffe, le taux de lymphocytes T CD8+ circulants issus de l'unité qui devient prédominante est plus important et que ces lymphocytes sécrètent de l'interféron γ dirigé contre l'unité minoritaire. De plus, dans les rares cas où il n'existe pas de prédominance d'une USP par rapport à l'autre, il n'est pas retrouvé de sécrétion d'interféron γ (Gutman et al, 2010). De même, Gertow et al. ont montré que chez les patients pour lesquels les deux USP restaient

présentes, la sécrétion cytokinique issue des lymphocytes T était moins importante (Gertow et al, 2010).

Newell et al ont montré sur 46 patients allogreffés après un conditionnement myéloablatif que l'étude du chimérisme à J7 après tri sur les cellules CD3+ et CD33+ pouvait prédire de l'unité majoritaire, renforçant l'idée d'un mécanisme immunologique précoce (Newell et al, 2012).

Pour finir, des études expérimentales renforcent l'idée d'un effet « greffon versus greffon » pour expliquer la prédominance d'une USP par rapport à l'autre (Eldjerou et al, 2010 ; Moretta et al, 2012).

III-b-2 : L'impact de la viabilité des greffons

Les résultats vis-à-vis de l'impact de la viabilité cellulaire des greffons sont discordants. Différentes études se sont intéressées à évaluer la viabilité des greffons en quantifiant le pourcentage de cellules vivantes par rapport au pourcentage de cellules mortes grâce à différentes techniques. Scaradavou et al ont étudié la viabilité des cellules CD34+ et CD3+ dans le greffon, en cytométrie de flux de façon prospective chez 46 patients. Pour 44 patients, une des deux unités était prédominante. Il a été retrouvé que l'unité prédominante était celle qui avait la meilleure viabilité en cellules CD34+ après décongélation ($p=0.016$). De plus, la viabilité en cellules CD3+ était corrélée à la viabilité en cellules CD34+ ($p=0.01$) et à l'unité prédominante ($p=0.0077$) (Scaradavou et al, 2010). Ces résultats n'ont pas été retrouvés après étude de la viabilité cellulaire des greffons à l'aide de l'acridine orange et du iodure de propidium (Barker et al, 2005 ; Ramirez et al, 2012).

III-b-3 : L'impact de l'ordre d'injection des greffons

Quatre études se sont intéressées au rôle de l'ordre d'infusion des greffons sur la prédominance de l'USP (Barker et al, 2005 ; Brunstein et al, 2007 ; Ramirez et al, 2012 ; Newell et al, 2012). Les résultats de ses études sont discordants. Seule l'étude de Barker et al, menée sur 23 patients ayant reçus un conditionnement myéloablatif, retrouve une tendance à la prédominance pour le premier greffon infusé ($p=0,09$). Cette différence pourrait être expliquée par le délai important entre l'infusion des deux USP ($> 4h$), permettant au premier greffon de migrer le premier et seul dans la moelle osseuse et de s'y installer.

III-b-4: Les autres facteurs

La richesse en CN ou en cellules CD34+ de chacune des unités ne semble pas influencer la prédominance d'une unité par rapport à l'autre (Barker et al, 2005 ; Brunstein et al, 2007 ; Ramirez et al, 2012 ; Newell et al, 2012 ; Wallet et al, 2013), sauf dans deux études menées sur de faibles effectifs de 39 et 61 patients (Haspel et al, 2008 ; Avery et al, 2011). De même la compatibilité sexuelle et la compatibilité des groupes sanguins ABO et HLA entre l'unité et le receveur ne paraissent pas jouer de rôle dans la prédominance de telle ou telle unité (Barker et al, 2005 ; Brunstein et al, 2007 ; Ballen et al, 2007 ; Newell et al, 2012), excepté dans une étude (Ramirez et al, 2012). Dans l'étude de Ramirez et al, menée sur 262 patients, on observe que chez les patients ayant bénéficié d'un conditionnement d'intensité réduite (61%), l'unité ayant une meilleure compatibilité HLA avec le receveur est plus souvent majoritaire ($p=0.05$). Ce résultat n'est pas retrouvé chez les patients ayant eu un conditionnement myéloablatif (Ramirez et al, 2012).

***Partie 4 : Etude rétrospective
monocentrique, s'intéressant aux facteurs
déterminant la prise de greffe et la
prédominance d'une unité de sang
placentaire dans les allogreffes de double
unité de sang placentaire : expérience
nantaise à partir de 77 patients.***

I: Les objectifs de l'étude

L'objectif principal de cette étude était de déterminer les facteurs de prise de greffe et de prédominance d'une USP par rapport à l'autre après allogreffe de dUSP. Ainsi nous avons réalisé une étude rétrospective, monocentrique, incluant l'ensemble des patients allogreffés à partir de 2 USP au CHU de Nantes.

Les objectifs secondaires étaient d'étudier la survie globale, la survie sans maladie, la mortalité non liée à la rechute, l'incidence de rechute, le taux de GvH aigue et chronique.

II : Patients et méthodes

II-a: Caractéristiques des patients

Dans cette étude, 77 patients ont été inclus, correspondant à l'ensemble des patients allogreffés avec 2 USP au CHU de Nantes entre Juin 2006 (date de la première allogreffe de dUSP) et Décembre 2012. L'âge médian des patients était de 53 ans (écart : 16 à 69 ans). Vingt-cinq patients avaient déjà été greffés auparavant (antécédent d'autogreffe : n=20, antécédent d'allogreffe : n=5). Le temps médian entre le diagnostic de la pathologie et l'allogreffe était de 11 mois (écart : 1.6-208 mois). La majorité des patients avait une pathologie myéloïde (56%). Soixante pourcent des patients étaient en rémission complète (RC) au moment de l'allogreffe (première RC: n=27, seconde RC: n=19). L'ensemble des patients en rémission partielle (n=17) avait un lymphome. Quatorze patients avaient une maladie active au moment de la greffe incluant 5 patients avec une LAM réfractaire. Les caractéristiques des patients sont regroupées dans le **Tableau 1**.

Tableau 1: Caractéristiques de la population.

Caractéristiques des patients	N= 77
Sexe: Masculin	40 (52%)
Âge médian des patients à la greffe: années (intervalle)	53 (16-69)
Poids médian des patients à la greffe: Kg (intervalle)	67 (43-105)
Type de pathologies:	
-Pathologie myéloïde	43 (56%)
LAM	32
Myélodysplasie	8
Myélofibrose	2
Leucémie myéloïde chronique	1
-Pathologie lymphoïde	32 (42%)
LAL	5
Leucémie lymphoïde chronique	3

Maladie de Waldenstrom	2
Lymphome	22
*lymphome B diffus à grandes cellules	8
*lymphome T périphérique	4
*maladie de Hodgkin	4
*lymphome à cellule du manteau	2
*lymphome folliculaire	1
*lymphome T angio-immunoblastique	1
*leucémie à HTLV-1	1
*leucémie pro-lymphocytaire T	1
-Aplasia médullaire	2 (2%)
Statut du patient à la greffe:	
-Rémission complète	46 (60%)
-Rémission partielle	17 (22%)
-Maladie active	14 (18%)
Présence d'une greffe antérieure	
-Antécédent d'autogreffe	20 (26%)
-Antécédent d'allogreffe	5 (6.5%)
Année médiane de transplantation (intervalle)	2009 (2006-2012)
Intervalle médian entre le diagnostic de la pathologie et la greffe: mois (intervalle)	11 (1.6-212)
Statut sérologique du patient pour le CMV: positif	32 (42%)
Statut sérologique du patient pour l'EBV : positif	72 (95%)
Groupe sanguin ABO du patient:	
-A	29 (38%)
-B	12 (15%)
-AB	7 (9%)
-O	29 (38%)
Groupe Rh-D du patient: positif	69 (90%)

CMV: cytomégalovirus, EBV: Epstein barr virus, HTLV-1 : virus T-lymphotropique humain, LAL : leucémie aigue lymphoblastique, LAM : leucémie aigue myéloblastique, Rh-D: rhésus-D.

II-b: Types de conditionnements et prophylaxie de la réaction du greffon contre l'hôte

L'ensemble des patients ayant reçu une allogreffe à partir de 2 USP dans notre institution ont été inclus, quelque soit leur type de conditionnement. La majorité des patients (90%, n=69), a bénéficié d'un conditionnement d'intensité réduite. Le conditionnement d'intensité réduite majoritairement administré (n=58) était celui de l'équipe de Minneapolis (ICT 2 Gy + cyclophosphamide 50 mg/kg + fludarabine 200 mg/m²) (Brunstein et al, 2007). Les différents types de conditionnement sont détaillés dans le **Tableau 2**. Vingt-et-un pourcent des patients ont reçu du SAL dans leur conditionnement. La majorité des patients a aussi reçu une ICT (88%). L'ensemble des patients a bénéficié d'une prophylaxie de la GvH par ciclosporine-A et MMF, excepté les patients ayant reçu une ICT forte dose qui ont reçu une prophylaxie par ciclosporine-A et MTX.

Tableau 2: Caractéristiques des conditionnements.

Caractéristiques des conditionnements	N=77
Conditionnements d'intensité réduite	69 (90%)
-ICT 2 Gy + cyclophosphamide 50 mg/kg + fludarabine 200 mg/m ²	58
- cyclophosphamide 100 mg/Kg + fludarabine 150 mg/m ² + SAL 5mg/Kg	4
-clofarabine 150 mg/m ² + aracytine 5g/m ² + cyclophosphamide 60mg/Kg + busulfan 6.4 mg/Kg + SAL 5mg/Kg	3
-clofarabine 150 mg/m ² + aracytine 5g/m ² + cyclophosphamide 60mg/Kg + ICT 4 Gy	2
- fludarabine 120 mg/m ² + cyclophosphamide 1200 mg/m ² + ICT 2 Gy + SAL 5mg/Kg	2
Conditionnements myéloablatifs	8 (10%)
-thiotepa 10 mg/Kg, fludarabine 200 mg/m ² + busulfan 9.6 mg/Kg+ SAL 5mg/Kg	2
- cyclophosphamide 120 mg/kg + ICT 12 Gy	6
Administration de SAL : oui	16 (21%)
Administration d'ICT : oui	68 (88%)

Gy : gray ; ICT : irradiation corporelle totale, SAL : sérum anti lymphocytaire,

II-c: Caractéristiques liées à la greffe

L'ensemble des patients inclus dans cette étude a bénéficié d'une allogreffe de 2 USP. La compatibilité HLA recommandée entre chaque USP et le patient était \geq à 4/6^{ème}, basée sur l'analyse des antigènes HLA-A et B et sur le typage de l'allèle HLA DRB1. Dans 1 cas ces conditions n'ont pas été remplies (compatibilité HLA 3/6^{ème}). Les quantités médianes de CN et de cellules CD34+ par patient (somme des 2 USP) avant décongélation étaient respectivement de 4.9 10^7 /Kg du receveur (intervalle: 2.9-7.8) et 1,67 10^5 /Kg du receveur (intervalle : 0.5-5.8). Pour un seul patient la quantité de CN avant décongélation était $<$ 3 10^7 /Kg. Après décongélation, les taux de CN et de cellules CD34+ étaient respectivement de 4.02 10^7 /Kg (intervalle: 2.2-7.8) et 1.09 10^5 /Kg (intervalle : 0.2-3.9) (**Tableau 3**). Le taux de CN était $<$ 3 10^7 /Kg pour 7 patients après décongélation. Les taux de lymphocytes T CD3+ et d'unités CFU-GM n'ont pas été étudiés. De plus, il n'a pas été réalisé d'analyse de viabilité des greffons après décongélation.

Tableau 3: Caractéristiques des richesses des unités de sang placentaire.

Caractéristiques des richesses cellulaires des greffons (combinaison des 2 USP)	N=77
Nombre de CN (10^7 /Kg) (Σ des 2 USP): médiane (intervalle)	
-Avant décongélation	4.9 (2.9-7.8)
-Après décongélation	4.02 (2.2-7.8)
Nombre de cellules CD34+ (10^5 /Kg) (Σ des 2 USP): médiane (intervalle)	
-Avant décongélation	1.67 (0.5-5.8)
-Après décongélation	1.09 (0.2-3.9)

CN : cellules nucléées, Σ : somme.

II-d: Définition de la reconstitution hématologique, de la prise de greffe et du chimérisme

La sortie d'aplasie et la reconstitution plaquettaire étaient définies respectivement par le premier des 3 jours consécutifs pour lequel le taux de PNN était \geq à 500/mm³ et le taux de plaquette était \geq 20000/mm³ (sans support transfusionnel). La reconstitution allogénique ou autologue était évaluée grâce à l'étude du chimérisme sur les lymphocytes T CD3 au jour

+60, jour +100 et 1 an après allogreffe, chez les patients vivants, par RQ-PCR selon la méthode de Schichman (Schichman et al, 2002). Le chimérisme complet donneur (reconstitution allogénique) était défini par la présence d'au moins 95% de lymphocytes T CD3 issus des donneurs (somme des chimérismes des 2 USP). Le chimérisme complet receveur (reconstitution autologue) était défini par un taux de lymphocytes T CD3+ issus des donneurs < 5%. Un chimérisme mixte était caractérisé par un taux de lymphocytes T CD3+ issus des donneurs compris entre 5% et 95%. La non prise de greffe était caractérisée par l'absence de sortie d'aplasie après le soixantième jour après la greffe ou par la présence d'un chimérisme complet receveur. La perte secondaire du greffon était définie par une reconstitution autologue après qu'il ait été identifié une prise de greffe initialement.

II-e: Caractéristiques des soins de support

L'ensemble des patients a bénéficié d'une prophylaxie contre le *pneumocystis jiroveci* par triméthoprime-sufaméthoxazole (Bactrim®) de la sortie d'aplasie jusqu'à la récupération d'un taux de lymphocytes T CD4+ supérieur à 200/mm³. Un traitement antiviral par valaciclovir (500mgx2/jour) a été administré en prévention des infections à HSV et VZV chez tous les patients pendant au moins 1 an. En cas de réplication du virus CMV (2 PCR sanguines consécutives > à 3 log/ml) ou de maladie à CMV, les patients ont bénéficié d'un traitement antiviral par ganciclovir, valganciclovir, foscavir ou cidofovir. Un traitement par Rituximab 375 mg/m²/semaine, pendant 4 semaines, a été administré en cas de réplication du virus EBV (2 PCR sanguines consécutives > à 3 log/ml), de lymphoprolifération EBV induite ou dans certains cas de GvH chronique cortico-résistante. Une prophylaxie des infections fongiques a été réalisée par fluconazole (400mg/j, pendant 3 mois) chez tous les patients. En cas de GvH aigüe grade 2-4 ou de GvH chronique, le fluconazole était arrêté et relayé par du posaconazole, poursuivi jusqu'à l'arrêt de la corticothérapie. L'ensemble des patients a reçu un traitement pas G-CSF durant la période d'aplasie. Les patients ont bénéficié d'une faible dose d'héparine (100 UI/kg/jour, jusqu'à la sortie d'aplasie) en prophylaxie de la maladie veino-occlusive.

II-f: Caractéristiques liées au virus HHV-6

L'étude de la réplication du virus HHV-6, à partir de l'extraction d'ADN viral contenu dans les leucocytes (machine MagNAPure LC et kit d'isolation MagNAPure LC DNA, Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany), a été réalisée à différents moments après la

greffe. L'ADN viral a été quantifié en utilisant une procédure de PCR en temps réel validée en interne (Chevallier et al, 2010). Le taux de réplication virale était exprimé en nombre de copies d'ADN viral par millilitre de sang. Une infection à HHV-6 a été définie par la présence, dans le sang, d'une PCR >3 log/ml ou de 2 PCR consécutives comprises entre 2 et 3 log/ml (Chevallier et al, 2010).

II-g: Analyses statistiques

Nous avons étudié les données suivantes : la survie globale, la survie sans maladie, l'incidence de rechute et la mortalité non liée à la rechute. La survie globale était caractérisée par le temps entre le J0 de l'allogreffe et le jour du décès ou de perte de vue du patient. La survie sans maladie était définie par le temps écoulé entre le J0 de l'allogreffe et la rechute ou la progression de la maladie, censurée à la date de décès ou de perte de vue du patient en l'absence de rechute ou de progression. La survie globale et la survie sans maladie ont été calculées en utilisant la méthode de Kaplan-Meier et le test du log-rank. La rechute était définie par tout événement en lien avec la réapparition de la maladie. La mortalité non liée à la rechute correspondait au décès du patient quelque en soit l'origine, en l'absence de rechute ou de progression de la pathologie initiale. Le calcul de l'incidence de rechute et de la mortalité non liée à la rechute était réalisé en incidence cumulative (Gooley et al, 1999). Les grades de GvH aigue et chronique ont été stratifiés selon les classifications standards (Glucksberg et al, 1974 ; Shulman et al, 1980). Le décès a été considéré comme un risque compétitif dans le calcul de l'incidence cumulative de GvH.

Notre principal objectif était de déterminer les facteurs associés à la prise de greffe et à la prédominance d'une unité de SC par rapport à l'autre, après allogreffe de dUSP. Pour l'étude des facteurs de prise de greffe, nous avons inclus l'ensemble des patients ayant reçu une allogreffe de dUSP au CHU de Nantes (n=77, le décès du patient étant considéré comme un risque compétitif). Les facteurs considérés pour cette analyse ont, tout d'abord, été des caractéristiques liées au patient : âge, sexe, poids, type de pathologie, statut de la maladie à la greffe, antécédent de greffe, année de réalisation de l'allogreffe, intervalle entre le diagnostic et l'allogreffe, type de conditionnement (myéloablatif vs d'intensité réduite), utilisation d'ICT ou de SAL dans le conditionnement, statut sérologique CMV et EBV, réactivation du virus HHV-6 avant la prise de greffe, groupe sanguin ABO, groupe Rhésus-D (Rh-D), quantité totale (somme des 2 USP) de CN et de cellules CD34+ contenues dans les greffons avant et après décongélation. Nous avons aussi étudié les caractéristiques entre les USP et le patient en lien avec des disparités liées au sexe, à la compatibilité HLA, au groupe

sanguin ABO, au groupe Rh-D, au statut sérologique EBV et CMV. De plus nous avons analysé les disparités des 2 USP entre elles, en ce qui concerne le sexe, l'âge des USP, le typage HLA, les groupes sanguins ABO et Rh-D, le statut sérologique EBV et CMV. Les quantités de cellules CD3+ et d'unités CFU-GM contenues dans les greffons ainsi que la viabilité des greffons n'ont pu être étudiées faute de données.

Afin d'analyser les facteurs influençant la prédominance d'une USP, nous avons pris uniquement en compte les 120 USP des patients ayant eu une prise de greffe (n=60). Les facteurs pris en considération ont été, en premier lieu, des caractéristiques liées aux USP : âge, sexe, groupes sanguins ABO et Rh-D, statut sérologique CMV et EBV, quantité de CN et de cellules CD34+ contenues dans les greffons avant et après décongélation, ordre d'infusion de l'USP. Nous avons aussi étudié des facteurs liés aux disparités entre l'USP et le patient : sexe, compatibilité HLA, groupes sanguins ABO et Rh-D, statut sérologique EBV et CMV. Il n'a pas été possible d'analyser le délai entre l'infusion des 2 USP faute de données suffisantes.

Le test du Log-rank a été utilisé pour les analyses univariées et le test de Gray pour les courbes d'incidence cumulative. Les analyses multivariées ont été réalisées en utilisant le test de Fine-Gray pour déterminer les facteurs influençant la prise de greffe et le modèle de régression logistique pour déterminer les facteurs influençant la prédominance d'une USP. L'ensemble des facteurs associés à une p-value inférieure à 0.10 en analyse univariée ont été inclus dans l'analyse multivariée. Les analyses statistiques ont été réalisées à partir des logiciels SPSS 19 (SPSS Inc, Chicago, IL) et R 3.0.1 (Core Team, Vienne, Autriche).

III : Résultats

III-a: Analyse des disparités entre les unités de sang placentaire et le receveur

Les caractéristiques des disparités entre les USP et le receveur sont résumées dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : Analyse des disparités entre les unités de sang placentaire et le receveur.

Analyses des disparités entre les USP et le receveur	N=77
Compatibilité sexuelle entre chaque USP et le patient :	
-compatibilité/compatibilité	23
*absence d'USP de sexe masculin pour un patient de sexe féminin	16
*absence d'USP de sexe féminin pour un patient de sexe masculin	7
-compatibilité/incompatibilité	35
*présence d'une USP de sexe féminin pour un patient de sexe masculin	21
*présence d'une USP de sexe masculin pour un patient de sexe féminin	14
-incompatibilité/incompatibilité	19
*présence de 2 USP de sexe féminin pour un patient de sexe masculin	12
*présence de 2 USP de sexe masculin pour un patient de sexe féminin	7
Compatibilité HLA entre chaque USP et le patient :	
-3/6 et 4/6	1
-4/6 et 4/6	19
-4/6 et 5/6	16
-5/6 et 5/6	39
-5/6 et 6/6	1
-6/6 et 6/6	1
Compatibilité des groupes sanguins ABO entre chaque USP et le patient :	
-compatibilité/compatibilité	18
-incompatibilité/compatibilité	30
-incompatibilité/incompatibilité	29
Compatibilité des Rh-D entre chaque USP et le patient :	
-compatibilité/compatibilité	55
-compatibilité/incompatibilité	12
-incompatibilité/incompatibilité	10
Compatibilité des sérologies CMV entre chaque USP et le patient :	
-compatibilité/compatibilité	24

-compatibilité/incompatibilité	40
-incompatibilité/incompatibilité	13
Compatibilité des sérologies EBV entre chaque USP et le patient :	
-compatibilité/compatibilité	60
-compatibilité/incompatibilité	11
-incompatibilité/incompatibilité	5

CMV: cytomégalovirus, EBV: Epstein barr virus, HLA: human leukocyte antigen, Rh-D: rhésus-D, USP : unité de sang placentaire.

III-b: Analyse des disparités entre les couples d'unités de sang placentaire

La somme des « âges » médians des USP (intervalle de temps entre la congélation et la décongélation) (n=154) pour chaque receveur était de 9.33 années (intervalle: 1.5-23). La somme des âges des USP d'un même patient était respectivement, < à 5 ans, entre 5 et 10 ans et > à 10 ans, dans 11, 32 et 34 cas. Le nombre de patients pour lesquels les 2 USP avaient chacune un âge < à 5 ans ou > à 5 ans étaient respectivement de 25 et 18. Une compatibilité sexuelle entre les 2 USP a été observée dans 41 cas : 14 cas de compatibilité masculine/masculine et 27 cas de compatibilité féminine/féminine. La compatibilité HLA entre les 2 USP était respectivement de 3/6, 4/6, 5/6 et 6/6 pour 2, 35, 30 et 10 paires d'USP. De même, l'analyse de la compatibilité ABO retrouvait 31 paires compatibles (17 O/O, 12 A/A, 2 B/B). La compatibilité Rh-D était observée chez 65 paires d'USP (63 +/+ , 2 -/-). La compatibilité des sérologies virales CMV et EBV entre les 2 USP était présente dans respectivement 36 (26 +/+ et 10 -/-) et 66 (64+/+ et 2 -/-) paires d'USP.

III-c: Prise de greffe et analyse des facteurs influençant la prise de greffe

L'incidence cumulative de prise de greffe était de 78±4% au jour 60 (**Figure 9**). Les délais médians de reconstitution en PNN (>500/mm³) et en plaquettes (>20000/mm³) étaient respectivement de 18 jours (intervalle : 6-59) et 35 jours (intervalle : 0-212). Parmi les 17 patients ayant eu un échec primaire de prise de greffe, 4 patients sont décédés précocement avant le trentième jour et 13 patients ont eu une reconstitution autologue. Deux patients ont

eu une perte secondaire de greffon, respectivement au 73^{ème} et au 208^{ème} jour post greffe. Un chimérisme complet donneur était observé respectivement dans 57%, 78% et 85% des patients vivants au 60^{ème} jour (n=42/73), 100^{ème} jour (n=50/64) et à un an (n=40/47) après l'allogreffe.

En analyse univariée (**Tableau 5**), les facteurs, liés aux patients, identifiés comme favorisant la prise de greffe étaient les suivants : l'absence de réactivation HHV-6 durant l'aplasie (p=0.01), l'âge élevé du patient (≥ 53 ans) (p=0.03) De plus, le type de conditionnement est retrouvé comme impactant la prise de greffe. En effet, la présence d'une ICT dans le conditionnement (p=0.04) était associé avec une meilleure prise de greffe, ainsi que l'absence d'administration de SAL (p=0.03). Lors de l'étude des caractéristiques entre les 2 USP, seule une meilleure compatibilité HLA entre les 2 USP (5/6-6/6 vs 3/6-4/6) (p=0.01), s'est révélée être un facteur prédictif de prise de greffe en analyse univariée. Il n'a été retrouvé aucun facteur impactant la prise de greffe lié à des caractéristiques entre le patient et les 2 USP réunies. En analyse multivariée, les facteurs indépendants augmentant l'incidence de prise de greffe étaient : l'absence de réactivation HHV-6 durant l'aplasie, une meilleure compatibilité HLA entre les 2 USP (5/6 ou 6/6) et l'âge élevé du receveur (≥ 53 ans) (**Tableau 7**).

Figure 9: Incidence cumulative de prise de greffe.

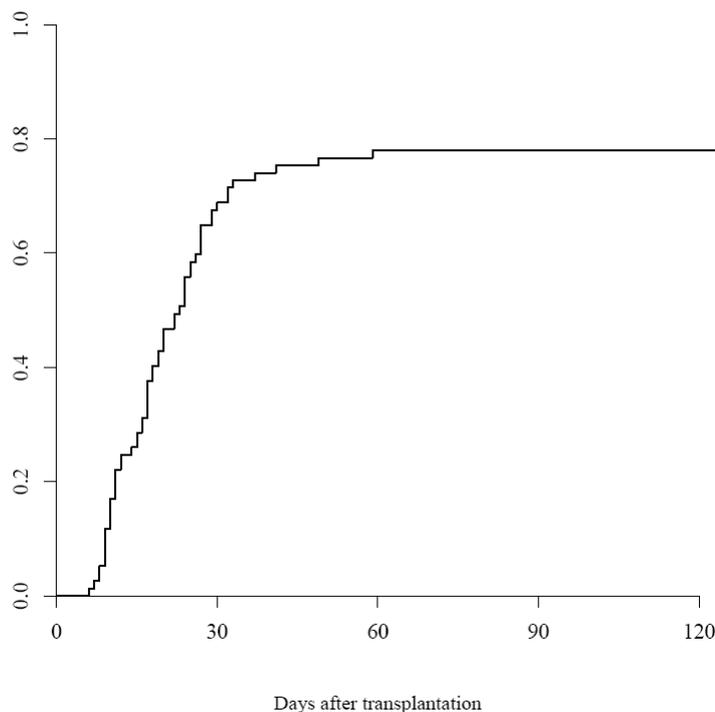


Tableau 5: Analyses univariées des facteurs influençant la prise de greffe après allogreffe de double unité de sang placentaire.

Facteurs relatifs au receveur	Pourcentage de prise de greffe	P-value
Sexe: masculin vs féminin	80+/-7% vs 76+/-7%	0.99
Age à la greffe: < ou ≥ à la médiane	66+/-8% vs 89+/-5%	0.03
Poids à la greffe: < ou ≥ à la médiane	79+/-7% vs 76+/-7%	0.35
Type de pathologie: myéloïde vs lymphoïde	71+/-7% vs 69+/-8%	0.67
Statut du patient à la greffe: rémission complète ou rémission partielle vs maladie active	82±5 vs 57±14	0.06
Présence d'une greffe antérieure: non vs oui	77+/-6% vs 80+/-8%	0.29
Année médiane de greffe: < ou ≥ à la médiane	76±7 vs 81±7	0.69
Intervalle médian entre le diagnostic et la greffe : < ou ≥ à la médiane	74±7 vs 82±6	0.18
Type de conditionnement		
- myéloablatif vs d'intensité réduite	88+/-15% vs 77+/-5%	0.39
-ICT vs absence d'ICT	82+/-5% vs 44+/-18%	0.04
-SAL vs absence de SAL	56+/-13% vs 77+/-5%	0.03
Statut sérologique CMV: positif vs négatif	72±8 vs 82±6	0.17
Statut sérologique EBV: positif vs négatif	Non évalué (4 patients négatifs)	
Présence d'une réactivation HHV-6 avant la prise de greffe: oui vs non	63+/-9% vs 81+/-6%	0.001
Groupe sanguin ABO et statut Rh-D		
-A vs B vs AB vs O	79±7 / 83±12 / 71±20 / 77±8	0.79
-O vs autres groupes sanguins ABO	77±6 vs 79±8	0.45
- Rh-D + vs Rh-D -	78±5 vs 75±19	0.44
Dose totale de CN (10^7 /Kg) (Σ des 2 USP) :		
-avant décongélation :		
< ou ≥ à la médiane	79±7 vs 76±7	0.77
< ou ≥ à 4	79±12 vs 78±5	0.76
Au moins 1 USP ≤ 2 (n=43) vs aucune (n=34)	77±7 vs 82±7	0.61
-après décongélation		

< ou ≥ à la médiane	74±7 vs 82±6	0.11
Dose de cellules CD34+ (10 ⁵ /Kg) (∑ des 2 USP)		
-avant décongélation: < ou ≥ à la médiane	82±7 vs 76±7	0.71
-après décongélation: < ou ≥ à la médiane	81±7 vs 75±7	0.98
Facteurs relatifs aux disparités entre les 2 USP		
Age des 2 USP: (en années)		
-<5/<5 vs < 5/>5 vs >5 />5	76±9 vs 73±8 vs 89±8	0.31
-∑ des âges de 2 USP : >10 vs 5-10 vs <5	79±7 vs 75±8 vs 80±15	0.30
Compatibilité sexuelle entre les 2 USP:		
-Compatibilité vs incompatibilité	76±7 vs 81±7	0.86
-Masculin/masculin vs masculin/féminin vs féminin/féminin	85±11 vs 80±7 vs 70±9	0.47
Compatibilité HLA entre les 2 USP:		
-3/6 ou 4/6 vs 5/6 ou 6/6	65±8 vs 90±5	0.01
Compatibilité ABO entre les 2 USP:		
-Compatibilité vs incompatibilité	81±7 vs 76±7	0.91
Compatibilité Rh-D entre les 2 USP:		
-Compatibilité vs incompatibilité	80±5 vs 67±15	0.36
Compatibilité de la sérologie CMV entre les 2 USP:		
-Compatibilité vs incompatibilité	75±7 vs 80±6	0.67
Compatibilité de la sérologie EBV entre les 2 USP:		
-Compatibilité vs incompatibilité	79±5 vs 73±15	0.64
Facteurs relatifs aux disparités entre les 2 USP et le patient		
Compatibilité sexuelle entre chaque USP et le patient :		0.85
-compatibilité vs compatibilité	74±10	
-compatibilité vs incompatibilité	83±7	
-incompatibilité vs incompatibilité	74±11	
Compatibilité HLA des USP (∑ des incompatibilités HLA des USP1 + USP2) avec le patient :		0.32
-≤ 2 incompatibilités HLA	88±5	
	67±8	

->2 incompatibilités HLA		
Compatibilité ABO entre chaque USP et le patient :		
-compatibilité/compatibilité vs autres combinaisons	89 vs 75	0.28
Compatibilité Rh-D entre chaque USP et le patient :		
- compatibilité/compatibilité vs autres combinaisons	84 vs 68	0.9
Compatibilité des sérologies CMV entre chaque USP et le patient :		0.94
-compatibilité vs compatibilité	75±9	
-compatibilité vs incompatibilité	80±7	
-incompatibilité vs incompatibilité	77±13	
Compatibilité des sérologies EBV entre chaque USP et le patient :		0.88
- compatibilité/compatibilité vs autres combinaisons	80 vs 75	

CN: cellules nucléées, CMV: cytomégalovirus, EBV: Epstein barr virus, HHV-6 : herpès virus humain de type 6, HLA: human leukocyte antigen, ICT : irradiation corporelle totale, Rh-D: rhésus-D, SAL : sérum anti-lymphocytaire, USP : unité de sang placentaire, vs : versus, Σ : somme.

III-d: Analyse des facteurs influençant la prédominance d'une unité de sang placentaire par rapport à l'autre

En analyse univariée (**Tableau 6**), les facteurs associés à la prédominance d'une USP vis à vis de l'autre étaient les suivants: un taux élevé de cellules CD34+ contenues dans l'USP après décongélation ($\geq 0.8 \cdot 10^5/\text{Kg}$, $p=0.04$) et une compatibilité des groupes sanguins ABO entre l'USP et le receveur ($p=0.04$). Ces deux facteurs restent significativement associés à la prédominance de l'IUSP en analyse multivariée. L'âge plus élevé de l'USP a aussi été retrouvé comme un facteur indépendant, prédictif de la prédominance d'une USP, en analyse multivariée (**Tableau 7**).

Tableau 6: *Analyses univariées des facteurs déterminants la prédominance d'une unité de sang placentaire par rapport à l'autre après allogreffe de double unité de sang placentaire.*

	USP prédominante (N=60)	USP non prédominante (N=60)	P value
Facteurs liés aux caractéristiques des USP			
Sexe masculin	27 (45%)	26 (43%)	0.85
Age median: années (intervalle)	5.1 (0.8-13.8)	4.1 (0.5-12.5)	0.06
Groupe sanguin ABO: O	22 (37%)	30 (50%)	0.14
Groupe Rh-D: positif	54 (90%)	56 (93%)	0.51
Statut sérologique CMV: positif	25 (42%)	24 (40%)	0.85
Statut sérologique EBV: positif	54 (90%)	54 (90%)	1
Nombre de CN avant décongélation (10 ⁷ /Kg): médiane (intervalle)	2.25 (1,3-3,9)	2.17 (1,5-4,4)	0.08
Nombre de CN après décongélation (10 ⁷ /Kg): médiane (intervalle)	2.17 (1.0-4.9)	2.31 (1.0-3.6)	0.31
Nombre de cellules CD34+ avant décongélation: (10 ⁵ /Kg): médiane (intervalle)	0.76 (0,2-4,6)	0.73 (0,3-3,4)	0.61
Nombre de cellules CD34+ après décongélation: (10 ⁵ /Kg):			
-médiane (intervalle)	0.55 (0.1-3.4)	0.415 (0-3.3)	0.12
-≥troisième quartile (≥0.8 10 ⁵ /Kg)	21 (35%)	11 (18%)	0.04
Ordre d'infusion du greffon: premier	32 (53%)	28 (47%)	0.47
Facteurs liés aux caractéristiques entre USP et receveur			
Compatibilité sexuelle	31 (52%)	32 (53%)	0.86
Compatibilité HLA: 5/6 ou 6/6	43 (72%)	40 (67%)	0.55
Groupe sanguin ABO:			
-compatibilité	32 (53%)	21 (35%)	0.04
-O/O	22 (37%)	30 (50%)	0.14
Groupe Rh-D: compatibilité	47 (78%)	50 (83%)	0.49
Statut sérologique CMV: compatibilité	31 (52%)	37 (62%)	0.27

Statut sérologique EBV: compatibilité	51 (86%)	51 (86%)	1
---------------------------------------	----------	----------	---

CN: cellules nucléées, CMV: cytomégalovirus, EBV: Epstein barr virus, HLA: human leukocyte antigen, Rh-D: rhésus-D, USP : unité de sang placentaire.

Tableau 7: Analyses multivariées.

	Hazard Ratio	Intervalle de confiance à 95%	P value
Facteurs prédisposant à la non prise de greffe			
Age du patient < à la médiane (53 ans)	1.97	1.16-3.35	0,012
Faible compatibilité HLA entre les 2 USP: 3/6 ou 4/6	2.09	1.22-3.59	0,013
Réactivation HHV-6 avant la prise de greffe	2.63	1.64-4.17	<0,001
Facteurs prédisposant l'unité « perdante »			
Jeune âge de l'USP	1.01	1-1.02	0.035
Dose de cellules CD34+ $\leq 0.8 \times 10^5$ /Kg après décongélation	2.55	1.05-6.16	0.04
Absence de compatibilité ABO entre l'USP et le receveur	2.53	1.15-5.53	0.02

HHV-6 : herpès virus humain de type 6, HLA : human leukocyte antigen, USP : unité de sang placentaire.

III-e: Analyses des survies et divers résultats

Le suivi médian des patients de l'étude était de 40 mois (intervalle : 3.2-76;3). A 3 ans, la survie globale, la survie sans maladie, les incidences de rechute et de mortalité non liée à la rechute étaient respectivement de 55±6% (**Figure 10**), 44±6% (**Figure 11**), 33±5% et 23±4%. Les incidences cumulatives de GvH aiguës grade II-IV et III-IV étaient de 27±5% et 9±3% respectivement. L'incidence cumulative de GvH chronique à 3 ans était de 26±5% (forme limitée n=14 cas; forme extensive n=5 cas). Dans cette étude, 23 patients sont décédés. Les causes de décès étaient les suivantes : la rechute (n=14), une infection (n=10), une lymphoprolifération EBV induite (n=2), une défaillance multi-viscérale (n=2), une GvH aiguë (n=2), une hémorragie (n=1), une défaillance respiratoire (n=1), une défaillance neurologique (n=1).

Figure 10: Etude de la survie globale (Overall Survival) en fonction du temps exprimé en années (years after transplant).

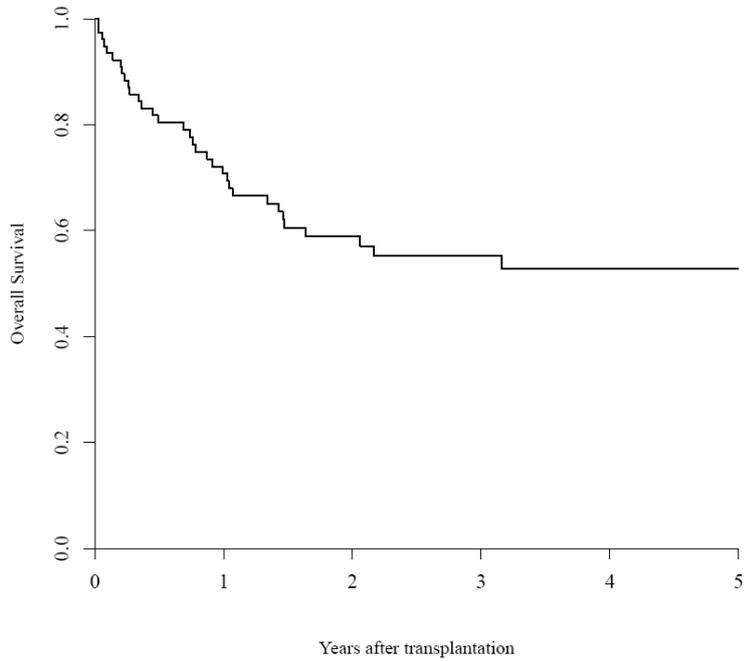
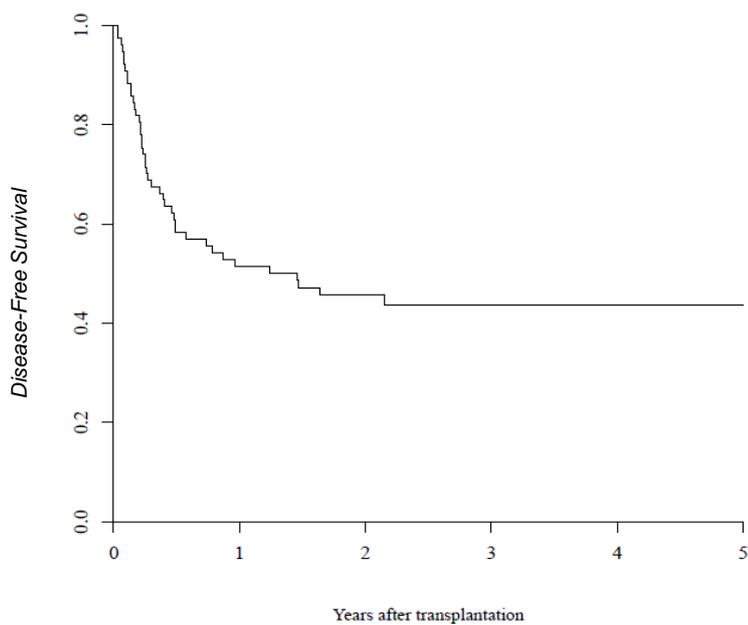


Figure 11: Etude de la survie sans maladie (Disease-Free Survival) en fonction du temps exprimé en années (years after transplant).



III-g: Impact de la réactivation HHV-6

Au total, 59 patients sur 73 (données manquantes chez 4 patients) ont présenté une réactivation du virus HHV-6 (81%) après la greffe, que ce soit avant ou après la prise de greffe. Le délai médian entre le jour de la greffe et le début de la réactivation était de 22 jours (intervalle : 0-112 jours). Un patient a été documenté ayant un virus HHV-6 intégré au génome (Weinberg et al, 2005). Sur les 27 patients ayant réactivés le virus HHV-6 pendant l'aplasie (délai médian d'aplasie : 13 jours, intervalle : 0-36 jours), 9 patients ont eu un échec de prise de greffe (33%). Sur les 44 patients n'ayant pas réactivé le virus HHV-6 durant la période d'aplasie, seulement 6 patients ont eu un échec de prise de greffe (14%). La réactivation du virus HHV-6 durant la période d'aplasie est un facteur indépendant associé à l'échec de prise de greffe (**Tableaux 5 et 7**). Il n'a pas été retrouvé d'impact de la réactivation du virus HHV-6 sur la survie globale, la survie sans maladie, la mortalité non liée à la rechute, ou sur l'incidence de GvH aigue.

IV : Discussion

L'allogreffe est une immunothérapie de plus en plus utilisée dans la prise en charge des hémopathies malignes (Passweg et al, 2012). Elle a connue de nombreuses avancées ces dernières décennies (utilisation de donneurs alternatifs, utilisation de conditionnements d'intensité réduite) permettant à un plus grand nombre de patients de bénéficier de ce traitement (Passweg et al, 2012). Le SC est une source alternative de greffon utilisée actuellement dans 10 à 15% des allogreffes (Passweg et al, 2012). Une des principales limites de l'allogreffe de SC est la pauvreté des greffons en cellules progénitrices (Rubinstein et al, 1998). Ceci est responsable d'une incidence plus faible de prise de greffe. Afin d'augmenter l'incidence de prise, les allogreffes à partir des 2 USP se sont développées chez les patients adultes (Barken et al, 2010). Dans plus de 80% des cas, une seule des 2 USP devient prédominante, l'autre USP étant progressivement « éliminée » dans les premières semaines suivant l'allogreffe (Ballen et al, 2007).

Nous avons mené une étude rétrospective, monocentrique, portant sur 77 allogreffes de dUSP. Cette étude a permis d'identifier des facteurs influençant la prise de greffe et la prédominance d'une USP par rapport à l'autre.

La cohorte de patients étudiée ici correspond à l'ensemble des adultes allogreffés au CHU de Nantes à partir de 2 USP jusqu'en Décembre 2012. Cette étude permet donc de faire un état des lieux exhaustif de l'activité d'allogreffe de SC dans notre CHU depuis ses débuts. Entre 2006 et 2012, nous avons augmenté de façon croissante le nombre de patients allogreffés par an avec du SC. Les allogreffes de SC représentent entre 10 et 20% des allogreffes réalisées à Nantes par an (patients du service de pédiatrie et du service de médecine adulte confondus). Notre cohorte de patients est représentative des patients allogreffés en Europe selon les données de l'EBMT (Passweg et al, 2012), avec une médiane d'âge supérieur à 50 ans, une majorité de conditionnement d'intensité réduite (90%). De plus, on observe un accroissement au cours des années, de patients allogreffés pour une pathologie lymphoïde (44%), ce qui concorde avec les données françaises de la SFGM-TC (rapport d'activité de la SFGM-TC 2011). Le conditionnement d'allogreffe majoritairement utilisé est celui développé par l'équipe de Minneapolis, repris dans le protocole français Minicord : (fludarabine 200 mg/m² sur 5 jours (jour -6 à -2), cyclophosphamide 50 mg/Kg pendant 1 jours (jour-6) et une ICT de 2 Gy (jour-1) (Brunstein et al, 2007).

Cette étude comporte plusieurs biais, notamment liés à son caractère rétrospectif, monocentrique et au faible échantillon de patients inclus. De plus le nombre de variables analysées est important au prorata de l'effectif réduit, entraînant ainsi une inflation du risque α pour les analyses statistiques.

Dans notre étude, la survie globale, la survie sans maladie, la mortalité non liée à la rechute, l'incidence de rechute ainsi que les incidences cumulatives de GvH aigue et chronique sont comparables aux données de la littérature (Ballen et al, 2007 ; Brunstein et al, 2007 ; Wallet et al, 2013). Cependant l'incidence de prise de greffe est de 78±4% au jour 60 dans notre étude, ce qui est comparativement plus faible que les taux observés dans la littérature (85-90%) (Ballen et al, 2007 ; Brunstein et al, 2007 ; Cutler et al, 2009 ; Spellman et al, 2012 ; Wallet et al, 2013). Ce nombre plus élevé d'échec de prise de greffe n'est pas expliqué par un manque de compatibilité HLA entre les USP et le donneur, ni par un manque de richesses en CN des greffons. En effet, pour l'ensemble des patients, exépté pour un, les recommandations en matières de compatibilité HLA ($\geq 4/6^{\text{ème}}$ entre chaque USP et le receveur) et de richesse des greffons en CN/kg (\sum des richesses des cordons $> 3.10^7$ CN/kg) ont été respectées (Barker et al, 2011 ; Spellman et al, 2012).

Nous avons donc recherché de nouveaux facteurs pouvant être à l'origine du faible taux de prise de greffe dans notre cohorte de patients. Ainsi nous avons étudié à la fois des caractéristiques liées uniquement aux patients ou aux USP ainsi que des facteurs liés à la

compatibilité des USP entre elles avec le receveur. De plus nous nous sommes intéressés à l'impact d'une réactivation précoce du virus HHV-6 sur la prise de greffe.

Dans notre étude, l'analyse des facteurs influençant la prise de greffe a mis en avant l'impact de la réactivation du virus HHV-6 pendant l'aplasie. La proportion de patients présentant une réactivation du virus HHV-6 est beaucoup plus importante dans les allogreffes de SC que dans les allogreffes réalisées à partir de donneurs apparentés ou non apparentés (Chevallier et al, 2010 ; Illiaquer et al, 2013). Une des hypothèses pouvant expliquer cette disparité est liée à la différence de composition des greffons placentaires qui possèdent une proportion plus élevée de lymphocytes T CD4+ et un taux plus faible de cellules dendritiques plasmacytoïdes, comparativement aux autres sources de greffon (Chevallier et al, 2013). La réplication du virus HHV-6 a lieu principalement dans les lymphocytes T CD4+ (Dockrell et al, 2003). Les cellules dendritiques plasmacytoïdes sont des cellules professionnelles impliquées dans la défense anti-virale (Liu et al, 2005). Ainsi, le manque de cellules dendritiques plasmacytoïdes dans les greffons placentaires pourrait être un facteur favorisant l'augmentation de l'incidence de la réactivation du virus HHV-6 dans les lymphocytes T CD4+, plus largement représentés dans les greffons placentaires.

Les conséquences d'une infection à HHV-6 après allogreffe de SC restent débattues. En effet, après une allogreffe de SC, la majorité des patients présente une réactivation du virus HHV-6, définie par la détection du virus chez un patient connu séropositif auparavant (Chevallier et al, 2010 ; Illiaquer et al, 2013). Cependant peu d'entre eux développent une maladie à HHV-6, caractérisée par la détection du virus dans un organe cible grâce à une biopsie ou un prélèvement liquidien (lavage broncho-alvéolaire ou liquide céphalo-rachidien) (Chevallier et al, 2010 ; Illiaquer et al, 2013). Les manifestations cliniques directement liées au virus HHV-6 sont rares et d'importance variable (érythrodermies, diarrhées, encéphalites limbiques...) (Yamane et al, 2007 ; Chevallier et al, 2010). Différentes études se sont intéressées à l'impact du virus HHV-6 sur la reconstitution hématologique post allogreffe. Ces études ont montré qu'une réactivation précoce de ce virus était responsable d'un retard à la prise de greffe (Imbert-Marcille et al, 2000 ; Ljungman et al, 2000 ; Boutolleau et al, 2003, Chevallier P, 2010). Cependant, l'impact du virus HHV-6 sur l'incidence de prise de greffe, n'avait jamais été étudié jusqu'alors. Or, la réactivation du virus HHV-6 pendant la période d'aplasie apparait, dans notre étude, comme un facteur majeur, responsable d'une augmentation significative du risque d'échec de prise de greffe après allogreffe de SC. La réalisation d'une prophylaxie médicamenteuse anti-HHV-6 n'est actuellement pas recommandée. Cependant l'impact que semble avoir ce virus sur l'incidence de prise de greffe pourrait être un argument en faveur d'une prophylaxie anti-HHV-6 pendant la phase d'aplasie ou d'un traitement préemptif en cas de réactivation du virus HHV-6 chez les

patients recevant une allogreffe de SC. Les traitements antiviraux actuellement actifs sur le virus HHV-6 sont le ganciclovir et le foscarnet (Zaia et al, 2009). Ces traitements présentent une toxicité importante notamment médullaire et rénale. De nouvelles cibles thérapeutiques pourraient voir le jour, avec le développement d'anticorps monoclonaux anti-CD 46 et anti-CD 134 (Smith et al, 2003). En effet le CD 46 et le CD 134 sont des récepteurs de certaines souches du virus HHV-6 à la surface de lymphocytes T CD4+ (Santoro et al, 1999 ; Tang et al, 2013). Le CD 134 est le récepteur des virus HHV-6 de l'espèce B, espèce majoritairement impliquée dans les réactivations après allogreffe de SC. Le CD 46 est, quant à lui, seulement retrouvé dans certaines souches B et D de l'espèce A du virus HHV-6. Ainsi le développement d'un anticorps monoclonal anti-CD 46 paraît être moins intéressant.

Nous avons montré dans cette étude que les patients allogreffés à partir de 2 USP ayant une faible compatibilité HLA entre elles ($< 5/6^{\text{ème}}$) avaient plus de risque d'échec de prise de greffe. Notre hypothèse est qu'une moindre compatibilité HLA entre les 2 USP pourrait être à l'origine d'un conflit immunologique des 2 USP entre elles entraînant leur destruction. De plus ce conflit immunologique pourrait favoriser l'activation du système immunitaire du receveur contre les 2 USP. La seule étude ayant jusqu'à présent analysée l'impact de compatibilité HLA entre les 2 USP sur la prise de greffe n'a pas retrouvé nos résultats (Avery et al, 2011). Cependant, cette étude a mis en évidence que dans le cas où il existait une forte compatibilité HLA entre les 2 USP, on observait une plus grande proportion de patients gardant un chimérisme donneur représenté par les 2 USP, renforçant l'idée d'une moindre compétition immunologique des 2 USP entre elles (Avery et al, 2011).

Nous avons mis en évidence dans notre étude que les patients jeunes avaient une incidence plus faible de prise de greffe. Ceci pourrait être expliqué par une activité plus forte, liée à l'âge, de leur système immunitaire dirigée contre les greffons. Nous n'avons pas retrouvé d'études ayant étudié l'âge comme facteur influençant la prise greffe. Nos résultats seront donc à confirmer.

L'ensemble des USP choisies, sauf une, répondait aux recommandations de bonne pratique en termes de compatibilité HLA (Cutler et al, 2009 ; Spellman et al, 2012). En effet, seul une USP avait une compatibilité HLA $< 4/6^{\text{ème}}$ avec le patient. Comme mis en évidence dans la littérature, il n'a pas été montré que la compatibilité HLA des USP avec le donneur avait un impact sur la prise de greffe, dans la situation où une compatibilité minimale de $4/6^{\text{ème}}$ était respectée (Brunstein et al, 2007 ; Avery et al, 2011 ; Wallet et al, 2013).

L'étude des facteurs influençant la prédominance d'une USP vis-à-vis de l'autre dans les allogreffes de dUSP est intéressante. En effet connaître à l'avance l'USP « gagnante »

pourrait permettre à l'avenir de manipuler cette USP afin, par exemple, de renforcer l'effet GvL.

En accord avec les données de la littérature, il n'a pas été retrouvé d'impact de la richesse en CN, de la compatibilité HLA entre USP et receveur, de la compatibilité sexuelle entre USP et receveur ainsi que des sérologies virales EBV et CMV pour expliquer la prédominance d'une unité par rapport à l'autre, (Barker et al, 2005 ; Ballen et al, 2007 ; Brunstein et al, 2007 ; Ramirez et al, 2012 ; Newell et al, 2012 ; Wallet et al, 2013), Il n'a pas non plus été montré de différences en fonction de l'ordre d'injection des USP, en accord avec la majorité des données de la littérature (Barker et al, 2005 ; Brunstein et al, 2007 ; Ramirez et al, 2012 ; Newell et al, 2012).

Contrairement à d'autres études (Barker et al, 2005 ; Brunstein et al, 2007 ; Wallet et al, 2013), nous avons retrouvé dans cette étude que lorsqu'une USP avait le même groupe sanguin ABO que le receveur, celle-ci avait plus de chance d'être prédominante. Nous avons retrouvé que le taux de cellules CD34+ après décongélation avait aussi un impact sur la prédominance d'une USP. En effet, les USP ayant un taux de cellules CD34+ $\geq 8.10^5/\text{kg}$ (> 3^{ème} quartile) étaient majoritairement prédominantes. Ces résultats confirment ceux publiés par Avery et Haspel (Haspel et al, 2008 ; Avery et al, 2011).

Une des limites de notre travail est l'absence d'étude du potentiel effet « greffon contre greffon » des 2 USP en elles. En effet, nous ne disposons pas des données sur la richesse des greffons en cellules CD3+; alors que le taux de lymphocytes T CD3+/kg est le facteur le plus souvent retrouvé dans les articles comme influençant la prédominance d'une USP (Barker et al, 2005 ; Avery et al, 2011 ; Ramirez et al, 2012). De même nous n'avons pas étudié la viabilité des greffons avant et après décongélation faute de données.

Nous avons retrouvé, en analyse multivariée, que les USP ayant un âge élevé, c'est-à-dire les USP ayant une durée de congélation importante (médiane 5.1 ans), étaient majoritairement prédominantes. Ce résultat est surprenant car les cellules issues du sang placentaire ont toutes le même âge et la même immaturité immunitaire au moment de leur recueil (faible activité lytique et cytokinique des lymphocytes T) (Harris et al, 1994). Il a été montré que les cellules d'une USP pouvaient être congelées plus de vingt ans (Broxmeyer et al, 1989). Une seule étude, ayant inclus 38 patients, s'est intéressée à l'impact de l'âge des USP sur la prédominance. Cette étude n'a pas mis en évidence de lien entre ces deux facteurs (Haspel et al, 2008). Le contraste entre nos résultats et ceux de l'étude de Haspel et al, peut être expliqué par des différences en matière de stockage des USP en fonction des pays. Mais il reste à savoir si ces conditions de congélation ont un impact différent sur la maturation des cellules contenues dans les USP et notamment sur les lymphocytes T

responsables de l'effet immunologique « greffon versus greffon ». Il a été montré qu'une longue cryoconservation pouvait altérer la fonctionnalité des lymphocytes T CD4+ et CD8+ par rapport à une durée de stockage courte (Owen et al, 2007) ; ce qui suggère que l'effet de la durée de stockage doit être exploré pour expliquer la prédominance d'une USP. On peut ainsi envisager que les lymphocytes T contenus dans les USP stockées moins longtemps aient une meilleure réponse immunitaire et ainsi soient plus facilement identifiés par le système immunitaire du receveur qui les détruit, endommageant ainsi le greffon « jeune » et favorisant le greffon « âgé ».

Ici, nous avons donc mené une étude rétrospective, monocentrique, ayant inclus l'ensemble des patients allogreffés à partir de 2 USP au CHU de Nantes, afin de déterminer les facteurs de prise de greffe et de prédominance d'une USP vis-à-vis de l'autre. Nous avons mis en évidence que la prise de greffe était diminuée en cas de réactivation du virus HHV-6 durant la période d'aplasie, en cas de disparité HLA importante entre les 2 USP et chez les patients jeunes. La prédominance d'une USP par rapport à l'autre est favorisée par la compatibilité ABO de l'USP avec le receveur, la richesse élevée en cellules CD34+ et l'âge élevé de l'USP.

L'ensemble de ces résultats mérite d'être confirmé par une étude prospective.

Conclusion

L'allogreffe à partir de sang placentaire est devenue plus fréquente ces dernières années chez les patients adultes. Chez ces derniers, il est nécessaire de recourir à une allogreffe à partir de deux USP afin d'augmenter la quantité de cellules progénitrices au prorata du poids du receveur, pour favoriser la prise de greffe et de diminuer la mortalité non liée à la rechute. D'une manière générale, lors de la réalisation d'une allogreffe de dUSP, une seule des USP devient majoritaire alors que l'autre disparaît progressivement. Les facteurs impactant la prise de greffe et la prédominance d'une USP restent peu connus.

Nous avons mené une étude rétrospective, monocentrique, sur l'ensemble des patients allogreffés au CHU de Nantes entre Juin 2006 et Décembre 2012 à partir de deux USP afin de déterminer les facteurs de prise de greffe et de prédominance d'une USP par rapport à l'autre.

Cette étude a inclus 77 patients atteints d'une hémopathie maligne avec une moyenne d'âge de 53 ans. L'incidence cumulative de prise de greffe, définie par la sortie d'aplasie ($PNN \geq 500/mm^3$) du patient associée à une reconstitution hématologique d'origine allogénique, était de $78 \pm 4\%$ au soixantième jour.

Nous avons pu mettre en évidence l'impact d'une réactivation HHV-6 durant l'aplasie sur l'incidence de prise de greffe. Ce résultat, s'il était confirmé par une étude prospective pourrait être en faveur de l'introduction d'une prophylaxie médicamenteuse anti-HHV-6 pendant la phase d'aplasie ou d'un traitement préemptif en cas de répllication virale.

Nous avons aussi montré l'intérêt d'une compatibilité HLA $\geq 4/6^{ème}$ entre les 2 USP sur l'incidence de prise de greffe ; argument soutenant un effet « greffon versus greffon » entre les deux USP.

Concernant la prédominance d'une USP par rapport à l'autre, nos résultats montrent l'impact favorable de la compatibilité des groupes sanguins ABO entre l'USP et le patient, de l'âge plus élevé du greffon congelé ainsi que de la richesse élevée du greffon en cellules CD34+.

Notre étude comporte cependant de nombreux biais en lien avec son caractère rétrospectif, monocentrique et son faible effectif. Ainsi ces résultats doivent être validés par une étude prospective.

Références bibliographiques

Andersson BS, de Lima M, Thall PF et al. Once Daily i.v. Busulfan and Fludarabine (i.v. Bu-Flu) Compares Favorably with i.v. Busulfan and Cyclophosphamide (i.v. BuCy2) as Pretransplant Conditioning Therapy in AML/MDS. *Biol Blood and Marrow Transplantation* 2008; 14: 672-684.

Aoudjhane M, Labopin M, Gorin NC et al. Comparative outcome of reduced intensity and myeloablative conditioning regimen in HLA identical sibling allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for patients older than 50 years of age with acute myeloblastic leukaemia: a retrospective survey. *Leukemia* 2005; 19: 2304-12.

Atkinson K, Horowitz MM, Gale RP et al. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 75: 2459-2464.

Avery S, Shi W, Lubin M et al. Influence of infused cell dose and HLA-match on engraftment after double-unit cord blood allografts. *Blood* 2011; 117: 3277-3285.

Bacigalupo A. Management of acute GVHD. *Br J Haematol* 2007; 137: 87-98.

Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15: 1628-33.

Ballen KK, Spitzer TR, Yeap BY et al. Double Unrelated Reduced-Intensity Umbilical Cord Blood Transplantation in Adults. *Biol of Blood and Marrow Transplantation* 2007; 13: 82-89.

Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor T et al. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood* 2005; 105: 1343-7.

Barker JN, Scaradavou A, Stevens CE. Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplant outcome in 1061 cord blood recipients with hematological malignancies. *Blood* 2010; 115: 1843-1849.

Barker JN, Byam C, Scaradavou A. How I treat: the selection and acquisition of unrelated cord blood grafts. *Blood* 2011; 117: 2332-2339.

Barnes DWH, Corp MJ, Loutit JF et al. Treatment of murine leukaemia with X-rays and homologous bone marrow. *BMJ* 1956; 2: 626-627.

Bautista G, Ramos A, Forés R et al. Toxoplasmosis in cord blood transplantation recipients. *Transpl Infect Dis* 2012; 14: 496-50.

Bettens F, Passweg J, Schanz U et al. Impact of HLA-DPB1 haplotypes on outcome of 10/10 matched unrelated hematopoietic stem cell donor transplants depends on MHC-linked microsatellite polymorphisms. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 608-16.

Billingham RE. The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect* 1966; 62: 21-78.

Blaise D, Farnault L, Faucher C et al. Reduced-intensity conditioning with Fludarabin, oral Busulfan, and thymoglobulin allows long-term disease control and low transplant-related mortality in patients with hematological malignancies. *Exp Hematol* 2010; 38: 1241-50.

Bortin MM. A compendium of reported human bone marrow transplants. *Transplantation* 1970; 9: 571-587.

Boutolleau D, Fernandez C, André E et al. Human herpesvirus (HHV)-6 and HHV-7: two closely related viruses different infection profiles in stem cell transplantation recipients. *J Infect Dis* 2003; 187: 179-86.

Broxmeyer HE, Douglas GW, Hango G et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 3828-32.

Brunstein CG, Weisdorf DJ, Defor T et al. Marked increased risk of Epstein-Barr virus-related complications with the addition of antithymocyte globulin to a nonmyeloablative conditioning prior to unrelated umbilical cord blood transplantation. *Blood* 2006; 108: 2874-80.

Brunstein CG, Barker JN, Weisdorf DJ et al. Umbilical cord blood transplantation after nonmyeloablative conditioning: impact on transplantation outcomes in 110 adults with hematologic disease. *Blood* 2007; 110: 3064-70.

Brunstein CG, Wagner JE, Weisdorf DJ et al. Negative effect of KIR alloreactivity in recipients of umbilical cord blood transplant depends on transplantation conditioning intensity. *Blood* 2009; 113: 5628-34.

Brunstein CG, Eapen M, Ahn KW et al. Reduced-intensity conditioning transplantation in acute leukemia: the effect of source of unrelated donor stem cells on outcomes. *Blood* 2012; 119: 5591-8.

Cahn JY, Bordigoni P, Souillet G et al. The TAM regimen prior to allogeneic and autologous bone marrow transplantation for high-risk acute lymphoblastic leukemias : a cooperative study of 62 patients. *Bone Marrow Transplant* 1991; 7: 1-4.

Cahn JY, Klein JP, Lee SJ, et al. Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHD) grading systems: a joint Société Française de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI) and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study. *Blood* 2005; 106: 1495-500.

Chen YB, Aldridge J, Kim HT et al. Reduced-Intensity Conditioning Stem Cell Transplantation: Comparison of Double Umbilical Cord Blood and Unrelated Donor Grafts. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 805-812.

Chevallier P, Hebia-Fellah I, Planche L et al. Human herpes virus 6 infection is a hallmark of cord blood transplant in adults and may participate to delayed engraftment: a comparison with matched unrelated donors as stem cell source. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 1204-11.

Chevallier P, Szydlo RM, Blaise D et al. Reduced-intensity conditioning before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients over 60 years: a report from the SFGM-TC. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 289-94.

Chevallier P, Robillard N, Illiaquer M et al. Characterization of various blood and graft sources: a prospective series. *Transfusion* 2013; [Epub ahead of print].

Christ G., Schmidt H., Musslin F et al. TBI technique and clinical results of leukemia patients at the university of Tübingen. *Radiother Oncol* 1990; 18: 98-101.

Clift RA, Buckner CD, Appelbaum FR et al. Allogeneic marrow transplantation in patients with acute myeloid leukemia in first remission : a randomized trial of two irradiation regimens. *Blood* 1990; 76 : 1867-1871.

Clift RA, Buckner CD, Thomas ED et al. Marrow transplantation for chronic myeloid leukemia a randomized study comparing cyclophosphamide and total body irradiation with busulfan and cyclophosphamide. *Blood* 1994; 84: 2036-2043.

Clift RA, Radich J, Appelbaum FR et al. Long-term follow-up of randomized study comparing cyclophosphamide and total body irradiation with busulfan and cyclophosphamide for patients receiving allogeneic marrow transplants during chronic phase of chronic myeloid leukemia. *Blood* 1999; 94: 3960-3962.

Cunha R, Loiseau P, Ruggeri A et al. Impact of HLA mismatch direction on outcomes after umbilical cord blood transplantation for hematological malignant disorders: a retrospective Eurocord-EBMT analysis. *Bone Marrow Transplant* 2013; [Epub ahead of print].

Cutler C, et Ballen KK. Reduced-intensity conditioning and umbilical cord blood transplantation in adults. *Bone Marrow Transplantation* 2009; 44: 667–671.

Cutler C, Kim TH, Sun L et al. Donor-specific anti-HLA antibodies predict outcome in double umbilical cord blood transplantation. *Blood* 2011a; 118: 6691-7.

Cutler C, Stevenson K, Kim HT et al. Double umbilical cord blood transplantation with reduced intensity conditioning and sirolimus-based GVHD prophylaxis. *Bone Marrow Transplant* 2011b; 46:659-67.

Dahlberg A, Delaney C, Bernstein ID. Ex vivo expansion of human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 2011; 117: 6083-6090.

Deeg, HJ, Storb, R, Weiden, PL et al. Cyclosporin A and methotrexate in canine marrow transplantation: engraftment, graft-versus-host disease, and induction of intolerance. *Transplantation* 1982; 34: 30-35.

Deeg HJ, Sullivan KM, Buckner CD et al. Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission: toxicity and long term follow-up of patients conditioned with single dose or fractionated total body irradiation. *Bone marrow transplant* 1986; 1: 151-157.

De Lima M, St John LS, Wieder ED et al. Double-chimaerism after transplantation of two human leucocyte antigen mismatched, unrelated cord blood units. *Br J Haematol* 2002; 119: 773-6.

De Lima M, McMannis JD, Saliba R et al. Double cord blood transplantation (CBT) with and without ex-vivo expansion (EXP): a randomized, controlled study. *Blood (ASH)* 2008; abstract 112.

De Lima, M, Fernandez-Vina M, et Shpall EJ. HLA matching of CB: it's complicated. *Blood* 2011; 118: 3761-2.

Demiriz IS, Tekgunduz E, Altuntas F. What is the most appropriate source for hematopoietic stem cell transplantation? *Peripheral Stem Cell/Bone Marrow/Cord Blood*. *Bone Marrow Res* 2012; 834040.

Dockrell DH. Human herpesvirus 6: molecular biology and clinical features. *Journal of Medical Microbiology* 2003; 52: 5-18.

Eapen M, Klein JP, Sanz GF et al. Effect of donor-recipient HLA matching at HLA A, B, C and DRB1 on outcomes after umbilical-cord blood transplantation for leukemia and myelodysplastic syndrome/ a retrospective analysis. *Lancet Oncol* 2011; 12: 1214-21.

Eldjrou LK, Chaudhury S, Baisre-de Leon A et al. An in vivo model of double-unit cord blood transplantation that correlates with clinical engraftment. *Blood* 2010; 116: 3999-4006.

Epstein RB, Storb, R, Ragde H et al. Cytotoxic typing antisera for marrow grafting in littermate dogs. *Transplantation* 1968; 6: 45–58.

Fernández MN, Regidor C, Cabrera R et al. Unrelated umbilical cord blood transplants in adults: Early recovery of neutrophils by supportive co-transplantation of a low number of highly purified peripheral blood CD34 cells from an HLA-haploidentical donor. *Exp Hematol* 2003; 31: 535-44.

Ferrara GB, Bacigalupo A, Lamparelli T et al. Bone marrow transplantation from unrelated donors: the impact of mismatches with substitutions at position 116 of the human leukocyte antigen class I heavy chain. *Blood* 2001; 98: 3150-5.

Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet* 2009; 373: 1550-1561.

Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 945-56.

Flomenberg N, Baxter-Lowe LA, Confer D et al. Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. *Blood* 2004; 104: 1923-30.

Frasconi F, Gualandi F, Podesta M et al. Direct intrabone transplant of unrelated cord-blood cells in acute leukaemia: a phase I/II study. *Lancet Oncol* 2008; 9: 831-9.

Gertow J, Berglund S, Okas M et al. Characterization of long-term mixed donor–donor chimerism after double cord blood transplantation. *Clinical and Experimental Immunology* 2010; 1365-2249.

Giralt S, Ballen K, Rizzo D et al. Reduced-intensity conditioning regimen workshop: defining the dose spectrum. Report of a workshop convened by the center for international blood and marrow transplant research. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15: 367-9.

Girinsky T, Benhamou E, Bourhis JH et al. Prospective randomized comparison of single-dose versus hyperfractionated total-body irradiation in patients with hematologic malignancies. *J. Clin. Oncol* 2000; 18: 981-986.

Gladstone DE, Zachary A, Fuchs EF et al. Desensitization for Mismatched Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT). *Blood (ASH)* 2011; Abstract 1955.

Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989; 321: 1174-8.

Gluckman E, Rocha V, Boyer-chamard A et al. Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. Eurocord Transplant Group and the European Blood and Marrow Transplantation Group. *N Engl J Med* 1997; 337: 373-81.

Glucksberg H, Storb R, Fefer A. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18: 295-304.

Goldberg SL, Pecora AL, Rosenbluth RJ et al. Treatment of leukemic relapse following unrelated umbilical cord blood transplantation with interleukin-2: potential for augmenting graft-versus-leukemia and graft-versus-host effects with cytokines. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 353-5.

Gooley TA, Leisenring W, Crowley J. Estimation of failure probabilities in the presence of competing risks: new representations of old estimators. *Stat Med* 1999; 18: 695-706.

Gratwohl A, Brand R, Frasconi F et al. Cause of death after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in early leukaemias: an EBMT analysis of lethal infectious complications and changes over calendar time. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36: 757-69.

Gutman JA, Turtle CJ, Manley TJ et al. Single-unit dominance after double-unit umbilical cord blood transplantation coincides with a specific CD8+ T-cell response against the nonengrafted unit. *Blood* 2010; 115: 757-65.

Hakenberg P, Kogler G, Wernet P. NETCORD: a cord blood allocation network. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 17-8.

Hamza NS, Lisgaris M, Yadavalli G et al. Kinetics of myeloid and lymphocyte recovery and infectious complications after unrelated umbilical cord blood versus HLA-matched unrelated donor allogeneic transplantation in adults. *British Journal of Haematology* 2004; 124: 488–498.

Harris DT, LoCascio J, Besencon JF. Analysis of alloreactive capacity of human umbilical cord blood implications for graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 1994; 14: 545-53.

Harrison MR, Slotnick RN, Crombleholme TM et al. In-utero transplantation of fetal liver haemopoietic stem cells in monkeys. *Lancet* 1989; 2: 1425-7.

Haspel RL, Kao G, Yeap BY et al. Preinfusion variables predict the predominant unit in the setting of reduced-intensity double cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 523-9.

Herzig RH, Coccia PF, Lazarus HM et al. Bone marrow transplantation for acute leukemia and lymphoma with high-dose cytosine arabinoside and total body irradiation. *Semin Oncol* 1985; 12: 184-6.

Illiaquer M, Malard F, Guillaume T et al. Long-lasting HHV-6 reactivation and immune recovery in adult long-survivors after umbilical cord blood (UCB) allo-SCT: a comparison with PBSC as stem cell. *Blood (ASH)* 2013; Abstract 2065.

Imbert-Marcille BM, Tang XW, Lepelletier D et al. Human herpesvirus 6 infection after autologous or allogeneic stem cell transplantation: a single-center prospective longitudinal study of 92 patients. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 881-6.

Jacobson LO, Marks EK, Robson MJ et al. Effect of spleen protection on mortality following X-irradiation. *J. Lab. Clin. Med* 1949; 34: 1538-1543.

Jaroscak J, Goltry K, Smith A et al. Augmentation of umbilical cord blood (UCB) transplantation with ex vivo-expanded UCB cells: results of a phase 1 trial using the AastromReplicell System. *Blood* 2003; 101: 5061–506.

Kamani N, Spellman S, Hurley CK et al. State of the art review: HLA matching and outcome of unrelated donor umbilical cord blood transplants. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14: 1-6.

Kashyap A, Wingard J, Cagnoni P et al. Intravenous vs oral busulfan as part of a busulfan/cyclophosphamide preparative regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: decreased incidence of hepatic venoocclusive disease (HVOD), HVOD related mortality & overall 100 day mortality. *Biol. Blood marrow transplant* 2002; 8: 493-500.

Kelly SS, Sola CBS, de Lima M et al. Ex vivo expansion of cord blood. *Bone marrow transplant* 2009; 44: 673-681.

Kebridae P, Basset R, Ledesma C et al. Clofarabine combined with busulfan provides excellent disease control in adult patients with acute lymphoblastic leukemia undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 1819-26.

Khera N, Storer B, Flowers ME et al. Nonmalignant late effects and compromised functional status in survivors of hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol* 2012; 30: 71-7.

Klein J et Sato A. The HLA system: second of two-parts. *N Engl J Med* 2000; 343: 782-6.

Kolb HJ, Mittermüller J, Clemm CH et al. Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients. *Blood* 1990; 76: 2462-2465.

Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML et al. Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Engl J Med* 1996; 335: 157-66.

Kurtzberg J, Prasad VK, Carter SL et al. Results of the Cord Blood Transplantation Study (COBLT): clinical outcomes of unrelated donor umbilical cord blood transplantation in pediatric patients with hematologic malignancies. *Blood* 2008; 112: 4318-27.

Labopin M, Ruggeri A, Gorin NC et al. Cost-effectiveness and clinical outcomes of double versus single cord blood transplantation in adult with acute leukemia in France. *Haematologica* 2013; [Epub ahead of print].

Laporte JP, Gorin NC, Rubinstein P et al. Cord-blood transplantation from an unrelated donor in an adult with chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1996; 335: 167-70.

Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P et al. Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *N Engl J Med* 2004; 351: 2265-75.

Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004; 363: 1439-41.

Le Bourgeois A, Lestang E, Guillaume T et al. Prognostic impact of immune status and hematopoietic recovery before and after fludarabine, IV busulfan, and antithymocyte globulins (FB2 regimen) reduced-intensity conditioning regimen (RIC) allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT). *Eur J Haematol* 2013a; 90: 177-86.

Le Bourgeois A, Mohr C, Guillaume T et al. Comparison of outcomes after two standards-of-care reduced-intensity conditioning regimens and two different graft sources for allogeneic stem cell transplantation in adults with hematologic diseases: a single-center analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013b; 19:934-9.

Lee JH, Joo YD, Kim H et al. Randomised trial of meloablative conditioning regimens: busulfan plus cyclophosphamide versus busulfan plus fludarabine. *J Clin Oncol* 2013; 31: 701-9.

Linch DC, Knott LJ, Rodeck CH et al. Studies of circulating hemopoietic progenitor cells in human fetal blood. *Blood* 1982; 59: 976-9.

Lioure B, Béné MC, Pigneux A et al. Early matched sibling hematopoietic cell transplantation for adult AML in first remission using an age-adapted strategy: long-term results of a prospective GOELAMS study. *Blood* 2012; 119: 2943-8.

Little MT, Storb R. History of haematopoietic stem-cell transplantation. *Nature Reviews Cancer* 2002; 2: 231-38.

Liu H, Rich ES, Godley L et al. Reduced-intensity conditioning with combined haploidentical and cord blood transplantation results in rapid engraftment, low GVHD, and durable remissions. *Blood* 2011; 118: 6438-45.

Liu YJ. Professional type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 275-306.

Ljungman P, Wang FZ, Clark DA et al. High levels of herpesvirus 6 DNA in peripheral blood leucocytes are correlated to platelet engraftment and disease in allogeneic stem cell transplant patients. *Br J Haematol* 2000; 111: 774-81.

Lorenz E, Uphoff D, Reid TR et al. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injection. *J Natl Cancer Inst* 1951; 12: 197-201.

MacMillan ML, Weisdorf DJ, Brunstein CG et al. Acute graft-versus-host disease after unrelated donor umbilical cord blood transplantation: analysis of risk factors. *Blood* 2009; 113: 2410–2415.

Magro E, Regidor C, Cabrera R et al. Early hematopoietic recovery after single unit unrelated cord blood transplantation in adults supported by co-infusion of mobilized stem cells from a third party donor. *Haematologica* 2006; 91: 640-8.

Magro L, Mohty M, Cateau B et al. Imatinib mesylate as salvage therapy for refractory sclerotic chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2009;114: 719-22.

Main JM, Prehn RT. Successful skin homografts after the administration of high dosage X radiation and homologous bone marrow. *J Natl Cancer Inst* 1955; 15: 1023-1029.

Majhail NS, Brunstein CG, Tomblyn M et al. Reduced-intensity allogeneic transplant in patients older than 55 years: unrelated umbilical cord blood is safe and effective for patients without a matched related donor. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14:282-9.

Malard F, Fürst S, Loirat M et al. Effect of graft source on mismatched unrelated donor hemopoietic stem cell transplantation after reduced intensity conditioning. *Leukemia* 2013a; [Epub ahead of print].

Malard F, Gagne K, Chevallier P et al. HLA-A, -B, -C and DRB1 high resolution matching can improve patient outcome after double umbilical allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT). *Blood (ASH)* 2013b; Abstract 414.

Martín-Donaire T, Rico M, Bautista G et al. Immune reconstitution after cord blood transplants supported by coinfusion of mobilized hematopoietic stem cells from a third party donor. *Bone Marrow Transplant* 2009; 44: 213-25.

Martino R, De Wreede L, Fiocco M et al. Comparison of conditioning regimens of various intensities for allogeneic hematopoietic SCT using HLA-identical sibling donors in AML and MDS with <10% BM blasts: a report from EBMT. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48: 761-70.

Mathé G, Amiel JL, Schwarzenberg L et al. Bone marrow transplantation in man. *Transplant Proc* 1969; 1:16-24.

Matin PJ, Hansen JA, Buckner CD et al. Effect of in vitro depletion of T cells in HLA-identical allogeneic marrow grafts. *Blood* 1985; 66: 664-672.

Mattson J, Ringdén O, Storb R. Graft failure after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14: 165-170.

McNiece IK, Almeida-Porada G, Shpall EJ et al. Ex vivo expanded cord blood cells provide rapid engraftment in fetal sheep but lack long-term engrafting potential. *Exp Hematol* 2002; 30: 612–616.

Michallet M, Le QH, Mohty M et al. Predictive factors for outcomes after reduced intensity conditioning hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies: a 10-year retrospective analysis from the Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire. *Exp Hematol* 2008; 36: 535-44.

Miklos DB, Kim HT, Miller KH, et al. Antibody responses to H-Y minor histocompatibility antigens correlate with chronic graft-versus-host disease and disease remission. *Blood* 2005; 105: 2973-2978.

Mohty M, Kuentz M, Michallet M et al. Chronic graft-versus-host disease after allogeneic blood stem cell transplantation: long-term results of a randomized study. *Blood* 2002; 100: 3128-3134.

Mohty M, Gaugler B. Advances in umbilical cord transplantation: the role of thymoglobulin/ATG in cord blood transplantation. *Best Pract Res Clin Haematol* 2010; 23: 275-82.

Moretta A, Andriolo G, Lisini D et al. In vitro evaluation of graft-versus-graft alloreactivity as a tool to identify the predominant cord blood unit before double cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 1108-18.

Narimatsu H, Terakura S, Matsuo K et al. Short-term methotrexate could reduce early immune reactions and improve outcomes in umbilical cord blood transplantation for adults. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 31-9.

Newell LF, Milano F, Nicoud IB et al. Early CD3 Peripheral Blood Chimerism Predicts the Long-Term Engrafting Unit Following Myeloablative Double Cord Blood Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 1243–1249.

Nowell PC, Cole LJ, Habermeyer JG et al. Growth and continued function of rat marrow cells in x-radiated mice. *Cancer Res* 1956; 16: 258-261.

Olsson R, Remberger M, Schaffer M et al. Graft failure in the modern era of allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48: 537-43.

Ostankovitch M, Buzyn A, Bonhomme D et al. Antileukemic HLA-restricted T-cell clones generated with naturally processed peptides eluted from acute myeloblastic leukemia blasts. *Blood* 1998; 92: 19-24.

Owen RD. Immunogenetic consequences between vascular anastomoses between bovine twins. *Science* 1945; 102: 400-402.

Owen RE, Sinclair E, Emu B, et al. Loss of T cell responses following long-term cryopreservation. *J Immunol Methods* 2007; 326: 93-115.

Passweg JR, Baldomero H, Gratwohl et al. The EBMT activity survey: 1990-2010. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47: 906-923.

Peric Z, Cahu X, Chevallier P et al. Features of EBV reactivation after reduced intensity conditioning unrelated umbilical cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 2012; 43: 251-257.

Petersdorf EW. Optimal HLA matching in hematopoietic cell transplantation. *Curr Opin Immunol* 2008; 20: 588-93.

Ponce DM, Zheng J, Gonzales AM et al. Reduced late mortality risk contributes to similar survival after double-unit cord blood transplantation compared with related and unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17: 1316-26.

Porter DL, Antin JH. Donor leukocyte infusions in myeloid malignancies: new strategies. *Best Pract Res Clin Haematol* 2006; 19: 737-55.

Ramirez P, Wagner JE, DeFor TE et al. Factors predicting single-unit predominance after double umbilical cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47: 799-803.

Randolph SS, Gooley TA, Warren EH et al. Female donors contribute to a selective graft-versus-leukemia effect in male recipients of HLA-matched, related hematopoietic stem cell transplants. *Blood* 2004; 103: 347-352.

Remberger M, Kumlien G, Aschan J et al. Risk factors for moderate-to-severe chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; 8: 674-682.

Riddell SR, Berger C, Murata M et al. The graft versus leukemia response after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Rev* 2003; 17: 153-162.

Rocha V, Locatelli F. Searching for alternative hematopoietic stem cell donors for pediatric patients. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41 :207-14.

Rocha V, Gluckman E. Eurocord-Netcord registry and European Blood and Marrow Transplant. «Improving outcomes of cord blood transplantation: HLA matching, cell dose and other graft- and transplantation-related factors. *Br J Haematol* 2009; 147: 262-74.

Rocha V, Spellman S, Zhang MJ et al. Effect of HLA-matching recipients to donor noninherited maternal antigens on outcomes after mismatched umbilical cord blood transplantation for hematologic malignancy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012a; 18:1890-6.

Rocha V, Labopin M, Ruggeri A et al. Outcomes After Double Cord Blood Transplantation Compared to Single Cord Blood Transplantation in Adults with Acute Leukemia Given a Reduced Intensity Conditioning Regimen. *Blood (ASH)* 2012b; 120: Abstract 232.

Rocha V, Labopin M, Ruggeri L et al. Unrelated Cord Blood Transplantation: Outcomes After Single-Unit Intrabone Injection Compared With Double-Unit Intravenous Injection in Patients With Hematological Malignancies. *Transplantation* 2013; 95: 1284-1291.

Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med* 1998; 339: 1565-77.

Ruggeri A, Sanz G, Bittencourt H et al. Comparison of outcomes after single or double cord blood transplantation in adults with acute leukemia using different types of myeloablative conditioning regimen, a retrospective study on behalf of Eurocord and the Acute Leukemia Working Party of EBMT. *Leukemia* 2013; 259. [Epub ahead of print].

Ruggeri L, Capanni M, Casucci M et al. Role of natural killer cell alloreactivity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 1999; 94: 333-339.

Ruggeri L, Capanni M, Urbani E et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* 2002; 295: 2097-100.

Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* 1986; 234: 596-601.

Samuelson C, Dalley C, Ezaydi Y et al. Treatment of relapsed myelodysplastic syndrome following double umbilical cord blood transplantation with interferon alpha and 5-azacytidine. *Br J Haematol* 2012; 159: 602-4.

Santoro F, Kennedy PE, Locatelli G, et al. CD46 is a cellular receptor for human herpesvirus 6. *Cell* 1999; 99: 817-827.

Santos GW, Tutschka PJ, Brookmeyer R et al. Marrow transplantation for acute nonlymphocytic leukemia after treatment with busulfan and cyclophosphamide. *N Engl J Med* 1983; 309: 1347-1353.

Sanz J, Boluda JC, Martin C et al. Single-unit umbilical cord blood transplantation from unrelated donors in patients with hematological malignancy using busulfan, thiotepa, fludarabine and ATG as myeloablative conditioning regimen. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47: 1287-93.

Sanz J, Picardi A, Hernández Boluda JC et al. Impact of Graft-versus-Host Disease Prophylaxis on Outcomes after Myeloablative Single-Unit Umbilical Cord Blood Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; 19: 1387-92.

Scaradavou A, Smith KM, Hawke R et al. Cord Blood Units with Low CD341 Cell Viability Have a Low Probability of Engraftment after Double Unit Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16: 500-508 .

Scheurer ME, Pritchett JC, Amirian ES et al. HHV-6 encephalitis in umbilical cord blood transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Bone Marrow Transplant* 2012; [Epub ahead of print]

Schichman SA, Suess P, Vertino AM. Comparison of short tandem repeat and variable number tandem repeat genetic markers for quantitative determination of allogeneic bone marrow transplant engraftment. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: 243-8.

Shen BJ, Hou HS, Zhang HQ et al. Unrelated, HLA- unmatched human umbilical cord blood transfusion in four cases with advanced solid tumors. *Blood Cells* 1994; 20: 285–292.

Shimoni A, Hardan I, Shem-Tov N et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in AML and MDS using myeloablative versus reduced-intensity conditioning: the role of dose intensity. *Leukemia* 2006; 20: 322-8.

Shpall EJ, Quinones R, Giller R et al. Transplantation of ex vivo expanded cord blood. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; 8: 368–376.

Shulman H, Sullivan KM, Weiden PL. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med* 1980; 69: 204-17.

Sierra J, Martino R, Sanchez Bet al. Hematopoietic transplantation from adult unrelated donors as treatment for acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 425-37.

Smith A, Santoro G, Di Lullo L et al. Selective suppression of IL12 production by human herpesvirus 6. *Blood* 2003; 102: 2877-2884.

Socié G, Clift RA., Blaise D et al. Busulfan plus cyclophosphamide compared with total body irradiation plus cyclophosphamide before marrow transplantation for myeloid leukemia: long term follow up of 4 randomized studies. *Blood* 2001; 98: 3569-3574.

Socié G, Schmoor C, Bethge WA et al. Chronic graft-versus-host disease: long-term results from a randomized trial on graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globin ATG-Fesenius. *Blood* 2011; 117: 6375-6362.

Sorrer ML, Maris MB, Storer B et al. Comparing morbidity and mortality of HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative and myeloablative conditioning: influence of pretransplantation comorbidities. *Blood* 2004; 104: 961-8.

Speck B, Zwaan FE, Van Rood JJ et al. Allogeneic bone marrow transplantation in a patient with aplastic anemia using a phenotypically HLA-A-identical unrelated donor. *Transplantation* 1973; 16: 24-28.

Spellman SR, Eapen M, Logan BR et al. A perspective on the selection of unrelated donors and cord blood units for transplantation. *Blood* 2012; 120: 259-65.

Stavropoulos-Giokas C, Dinou A, Papassavas A. The role of HLA in cord blood transplantation. *Bone Marrow Res* 2012: 485160.

Stevens CE, Carrier C, Carpenter C et al. HLA mismatch direction in cord blood transplantation: impact on outcome and implications for cord blood unit selection. *Blood* 2011 ; 118: 3969-78.

Storb R, Epstein RB., Bryant J et al. Marrow grafts by combined marrow and leukocyte infusion in unrelated dogs by histocompatibility typing. *Transplantation* 1968; 4: 503-685.

Storb, R, Epstein, RB, Graham, TC et al. Methotrexate regimens for control of graft-versus-host disease in dogs with allogeneic marrow grafts. *Transplantation* 1970; 9: 240-246.

Storb R, Rudolph RH, et Thomas ED. Marrow grafts between canine sibling matched by serotyping and mixed leukocyte culture. *J Clin Invest* 1971; 50: 1272-1275.

Storb R, Deeg HJ et Whitehead J. Methotrexate and ciclosporine compared with ciclosporine alone for prophylaxis of acute GVHD after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med* 1986; 314: 729-35.

Storek J, Dawson MA, Storer B et al. Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation. *Blood* 2001; 97: 3380-89.

Syrjala KL, Langer SL, Abrams JR et al. Recovery and long-term function after hematopoietic cell transplantation for leukemia or lymphoma. *JAMA* 2004; 291: 2335-2343.

Takanashi M, Atsuta Y, Fujiwara K et al. The impact of anti-HLA antibodies on unrelated cord blood transplantations. *Blood* 2010; 116: 2839-2846.

Tang H, Serada S, Kawabata A et al. CD134+ is a cellular receptor specific for human herpesvirus-6B entry. *Proc Natl Acad USA* 2013; 28: 9096-9099.

Theilgaard-Mönch K, Raaschou-Jensen K, Palm H et al. Flow cytometric assessment of lymphocyte subsets, lymphoid progenitors, and hematopoietic stem cells in allogeneic stem cell grafts. *Bone Marrow Transplant* 2001; 28: 1073-82.

Thomas ED, Lochte HL, Lu WC et al. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med* 1957; 257: 491-6.

Thomas ED, Lochte HL, Cannon JH et al. Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *J Clin Invest* 1959; 38: 1709-1716.

Thomas ED, Ferrebee JW. Transplantation of marrow and whole organs: experiences and comments. *Can Med Assoc J* 1986; 435-444.

Tichelli A, Rovo A, Passweg J et al. Late complications after hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Rev Hematol* 2009; 2: 583-601.

Tichelli A, Labopin M, Rovó A et al. Increase of suicide and accidental death after hematopoietic stem cell transplantation: a cohort study on behalf of the Late Effects Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Cancer* 2013 ; 119: 2012-21.

Tuve S, Gayoso J, Scheid C et al. Haploidentical bone marrow transplantation with post-grafting cyclophosphamide: multicenter experience with an alternative salvage strategy. *Leukemia* 2011; 25: 880-3.

Van Hennik PB, De Koning AE, Ploemacher RE. Seeding efficiency of primitive human hematopoietic cells in nonobese diabetic/severe combined immune deficiency mice: implications for stem cell frequency assessment. *Blood* 1999; 94: 3055-61.

Verneris MR, Brunstein CG, Barker J et al. Relapse risk after umbilical cord blood transplantation: enhanced graft-versus-leukemia effect in recipients of 2 units. *Blood* 2009; 114: 4293-4299.

Wallet HL, Sobh M, Morisset S et al. Double umbilical cord blood transplantation for hematological malignancies: A long-term analysis from the SFGM-TC registry. *Exp Hematol* 2013 ; 2 [Epub ahead of print].

Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED et al. Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic marrow grafts. *N Engl J Med* 1979; 300: 1068-1073.

Weiden PL, Sullivan KM., Flournoy N et al. The seattle marrow transplant team. Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease. Contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med* 1981; 304: 1529-1533.

Weinberg A, Enomoto L, Li S, et al. Risk of transmission of herpesviruses through cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 35-38.

Weinreb S, Delgado J, Clavijo O et al. Transplantation of unrelated cord blood cells. *Bone Marrow Transplantation* 1998; 22: 193-196.

Willemze R, Rodrigues CA, Labopin M et al. KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host direction improves outcomes after umbilical cord blood transplantation for acute leukemia. *Leukemia* 2009; 23: 492-500.

Worth LL, Mullen CA, Choroszy M et al. Treatment of leukemia relapse with recombinant granulocyte-macrophage colony stimulating factor (rhGM-CSF) following unrelated umbilical cord blood transplant: Induction of graft-vs.-leukemia. *Pediatr Transplant* 2002; 6: 439-42.

Yamane A, Mori T, Suzuki S et al. Risk Factors for Developing Human Herpesvirus 6 (HHV-6) Reactivation after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Its Association with Central Nervous System Disorders. *Biol of Blood and Marrow Transplantation* 2007; 13: 100-106.

Zaia J, Baden L, Boeckh MJ et al. Viral disease prevention after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2009; 44: 471-82.

Titre de Thèse :

Etude des facteurs déterminant la prise de greffe et la prédominance d'une unité de sang placentaire dans les allogreffes de double unité de sang placentaire : à partir d'une cohorte nantaise de 77 patients.

RESUME

L'allogreffe est une immunothérapie utile dans le traitement de certaines hémopathies malignes. Afin de permettre à plus de patients de bénéficier de cette thérapeutique, les allogreffes à partir de donneurs alternatifs tels que le sang placentaire ont été développées. Dans les allogreffes de double unité de sang placentaire, une des deux unités de sang placentaire devient généralement majoritaire (unité « gagnante ») alors que l'autre est éliminée (unité « perdante »). Actuellement, les facteurs déterminants la prise de greffe et la prédominance d'une unité de sang placentaire par rapport à l'autre sont peu connus. Notre objectif était de mettre en évidence les facteurs prédisposants à la prise de greffe et à la prédominance d'une unité de sang placentaire. Afin de déterminer ces facteurs, nous avons mené une étude rétrospective sur 77 patients (âge médian 53 ans) ayant bénéficiés d'une allogreffe de double unité de sang placentaire entre juin 2006 et décembre 2013 au CHU de Nantes. Le suivi médian des patients était de 40 mois. A 3 ans, la survie globale, la survie sans maladie, l'incidence de rechute et la mortalité non liée au traitement étaient respectivement de 55±6%, 44±6%, 33±5% and 23±4%. L'incidence cumulative de prise de greffe, définie par un taux de polynucléaires neutrophiles supérieur à 500/mm³ chez le patient associée à une reconstitution hématologique d'origine allogénique caractérisé par le chimérisme, était de 78±4% au soixantième jour. En analyse multivariée, la présence d'une réactivation de herpès virus humain de type 6 (HHV-6) durant la période d'aplasie (HR=2.63; 95% CI: 1.64-4.17; p<0.001), un patient jeune (< 53 ans, HR=1.97; 95% CI: 1.16-3.35; p=0.012) et une moindre compatibilité HLA entre les 2 unités de sang placentaire (3/6 ou 4/6, HR=2.09; 95% CI: 1.22-3.59; p=0.013) étaient les 3 facteurs indépendants associés à un risque élevé de non prise de greffe. Vis-à-vis de la prédominance d'une unité de sang placentaire, en analyse multivariée, nous avons retrouvé qu'une unité de sang placentaire d'âge plus jeune (HR=1.01; 95% CI: 1-1.02; p=0.03), qu'un faible taux de cellules CD34+ infusé ($\leq 0.8 \cdot 10^5/\text{Kg}$) (HR=2.55; 95% CI: 1.05-6.16; p=0.04) et qu'une incompatibilité ABO entre l'unité de sang placentaire et le patient (HR: 0.39; 95% CI: 0.18-0.87; p=0.02) étaient des facteurs prédisant l'unité « perdante ». Ces résultats, s'ils étaient confirmés par une étude prospective, pourraient permettre de mieux sélectionner les unités de sang placentaire dans les allogreffes de double unité de sang placentaire.

MOTS-CLES

Allogreffe, sang placentaire, prise de greffe, adulte, herpès virus humain de type 6