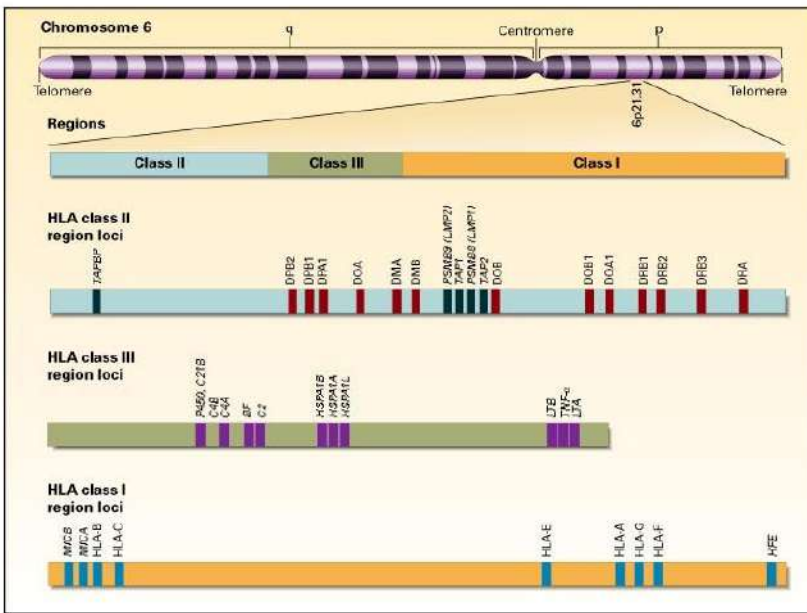


# HLA et la clé permettant les choix du donneur de CSH

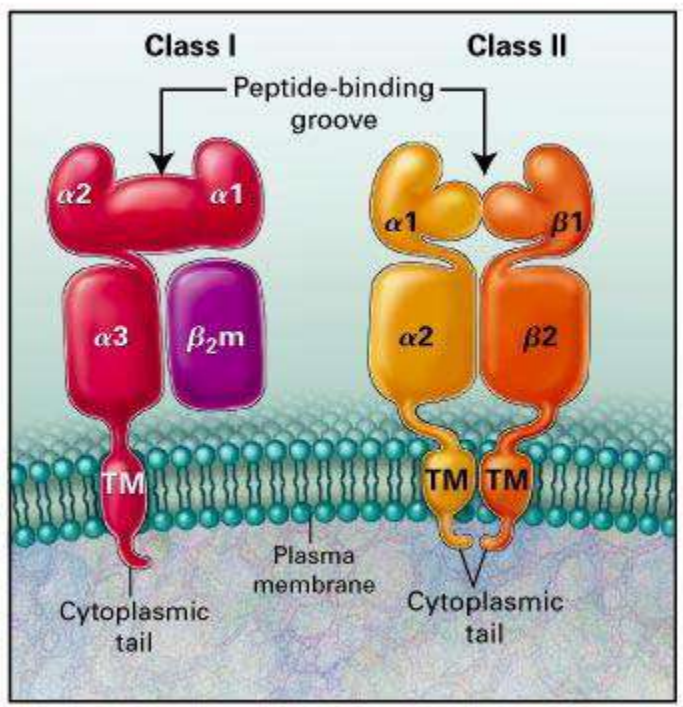
Pascale Loiseau  
Laboratoire Jean Dausset





# HLA (Human Leucocyte Antigen)

Gènes HLA: chromosome 6 (6p21)

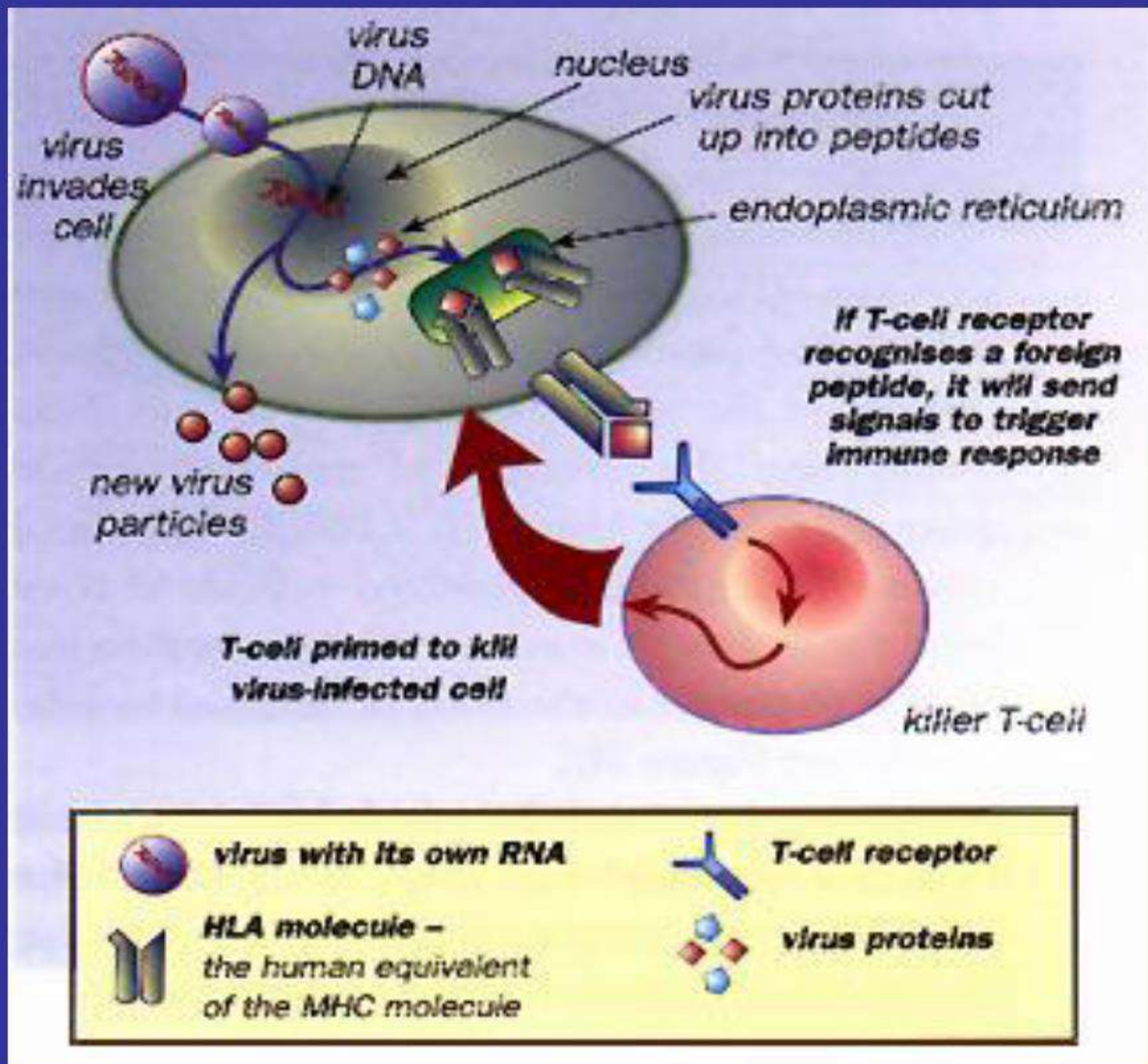


Molécules HLA classe I (HLA-A, B, C) et classe II (HLA-DR, DQ, DP)

Les molécules HLA sont exprimées à la surface des cellules, fixées dans la membrane cellulaire

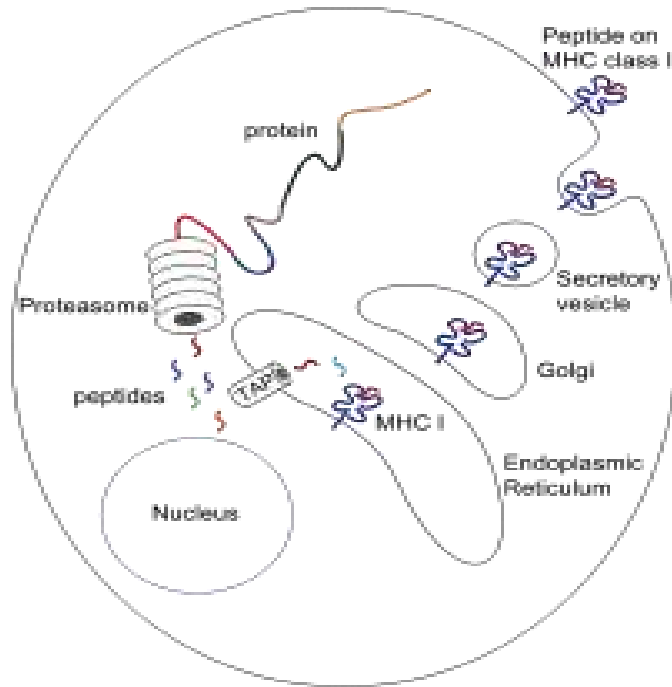
From J Klein, N Engl J Med. 2000;343:702-9

La fonction des molécules HLA est de présenter des peptides (fragments de protéines) aux récepteurs des lymphocytes T

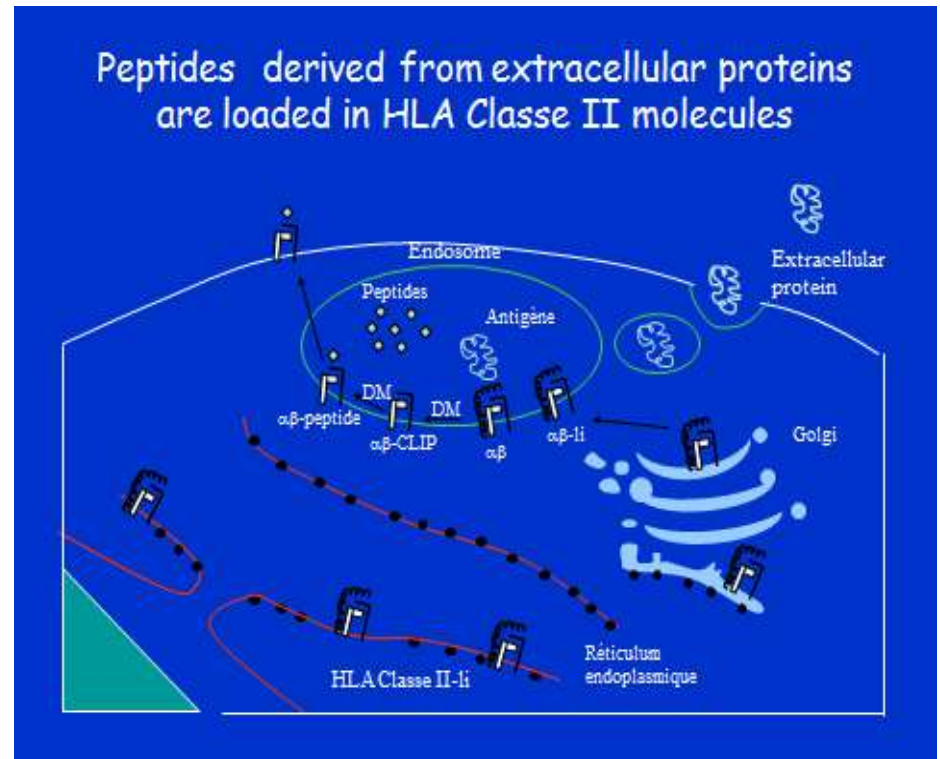


# D'où proviennent les peptides? Chargement des peptides dans les molécules HLA

Les peptides provenant de la  
dégradation des protéines intra  
et extra cellulaires



By Scray - Own work, CC BY-SA 3.0,  
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=6251017>



Toutes les molécules HLA ont un peptide dans leur cavité



# Fonction des molécules HLA

- ❖ Dans les conditions physiologiques, les molécules HLA sont chargées avec des peptides dérivés des **protéines du soi** et les **lymphocytes T sont éduqués pour tolérer** les complexes HLA+peptide du soi. Il n'y a pas d'activation T et de réponse immunitaire
- ❖ Dans les conditions pathologiques (infections bactériennes ou virales ou processus tumoral), les molécules HLA présentent des peptides dérivés des **protéines virales, bactériennes ou tumorales**. Les lymphocytes T **ne sont pas tolérants** aux complexes HLA+ peptide exogène et **déclenchent une réponse immunitaire** aboutissant à cytotoxicité ou de production d'anticorps

# Polymorphisme

Système hautement polymorphe

- Plus de 28 938 allèles en décembre 2020!

Protéines

A: 3929      B: 4885      C: 3719

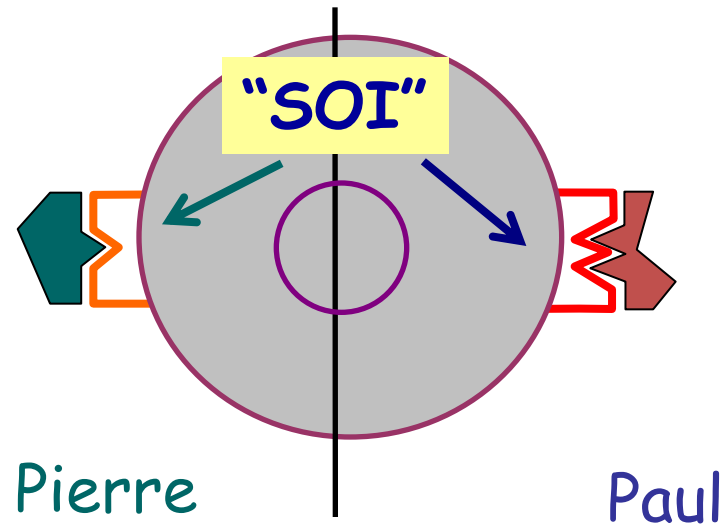
DRB: 2504    DQB1: 1288    DPB1: 1081

- Localisation : au niveau du site de fixation du peptide
- Affecte la liaison du peptide: Les peptides doivent être adaptés à la poche des molécules HLA pour être fortement liés à HLA et efficacement présentés aux lymphocytes T

# Conséquences du polymorphisme

- Molécules HLA différentes  
→ peptides différents  
répertoire peptidique différent =

- Molécules HLA identiques  
→ peptides identiques  
répertoire peptidique identique =



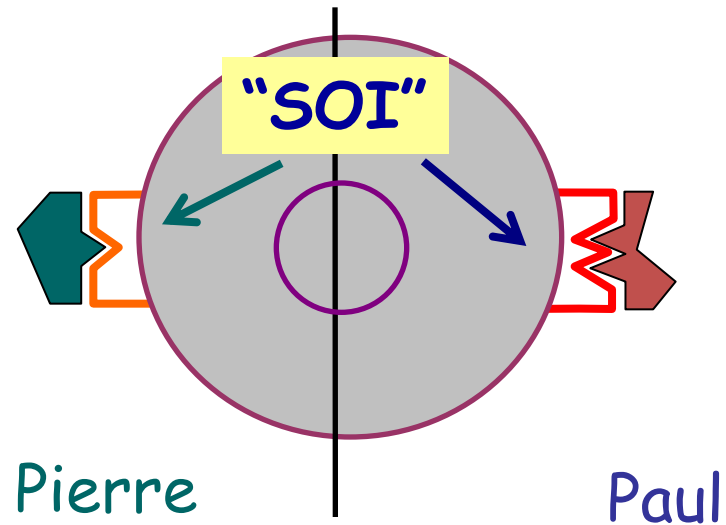
# Conséquences du polymorphisme

Si 2 individus ont des molécules HLA différentes, celles-ci présentent différents peptides et leurs lymphocytes T sont tolérants à différents répertoires peptidiques. En cas de greffe: réponse allogénique

A l'opposée, si 2 individus sont identiques pour HLA, leurs molécules HLA présentent les mêmes peptides dérivés d'une même protéine et leurs lymphocytes T tolérants aux mêmes répertoires peptidiques.

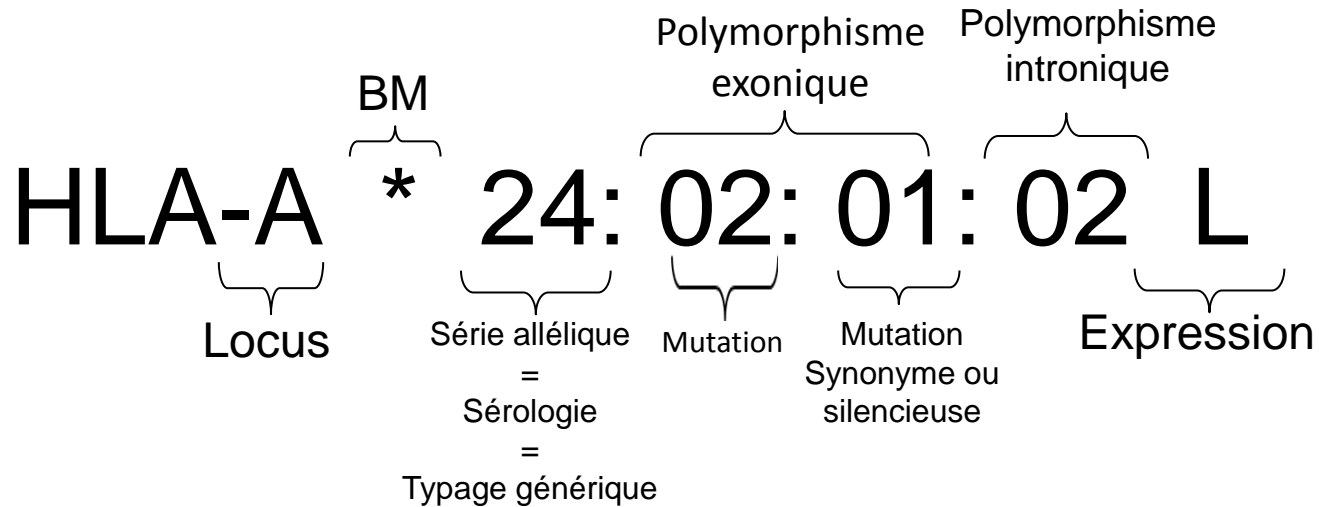
En cas de greffe: pas de réponse allogénique

C'est pourquoi l'identité HLA entre receveur et donneur de CSH est un facteur très important d'évolution favorable de la greffe en réduisant le risque de réponse allogénique (GVH)





# Nomenclature HLA



Mise en place à partir du 1er avril 2010

# NGS

## Next Generation Sequencing

= séquençage à haut débit et allèle par allèle

C'est la technique utilisée actuellement par les laboratoires HLA.

Elle permet un typage HLA sans ambiguïté des 3 premiers champs

Ex: HLA-A \* 24:02:01

# HLA et greffe de cellules souches hématopoiétiques

Identité HLA entre receveur et donneur de CSH est un facteur très important d'évolution favorable de la greffe en réduisant le risque de réponse allogénique (GVH)

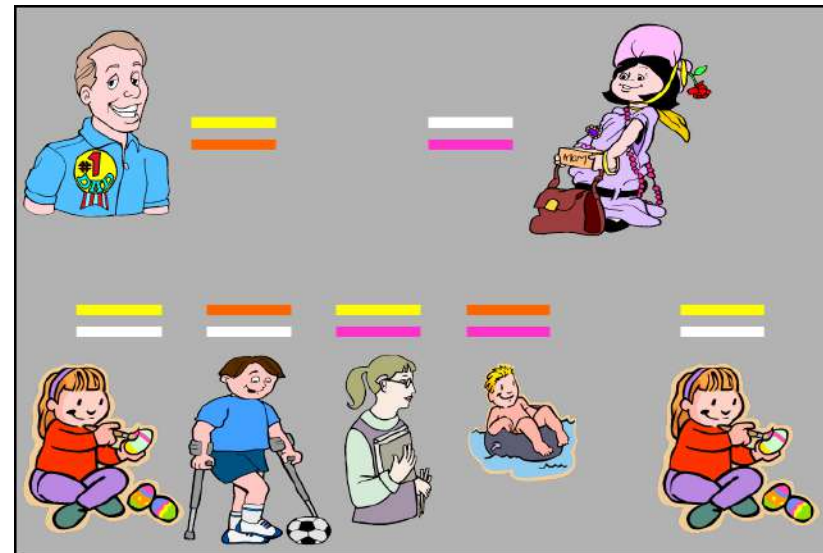
Comment trouver un donneur identique pour HLA avec le receveur?

# Recherche d'un donneur de CSH

Dans la famille: Frère ou sœur identique pour HLA

- le meilleur donneur
- 30% des receveurs

= greffe géno-identique  
car le R et le D ont reçu le  
haplotype maternel et  
paternel



# Recherche d'un donneur de CSH

- Si pas de donneur familial identique en HLA  
➔ recherche d'un donneur non apparenté dans les **fichiers des donneurs volontaires de moelle (DVM)**
- 32 Millions de DVM** inscrits dans les 75 registres internationaux
- DVM identique=identité allélique pour HLA-A, B, C, DRB1, DQB1  
=Greffe phéno-identique 10/10

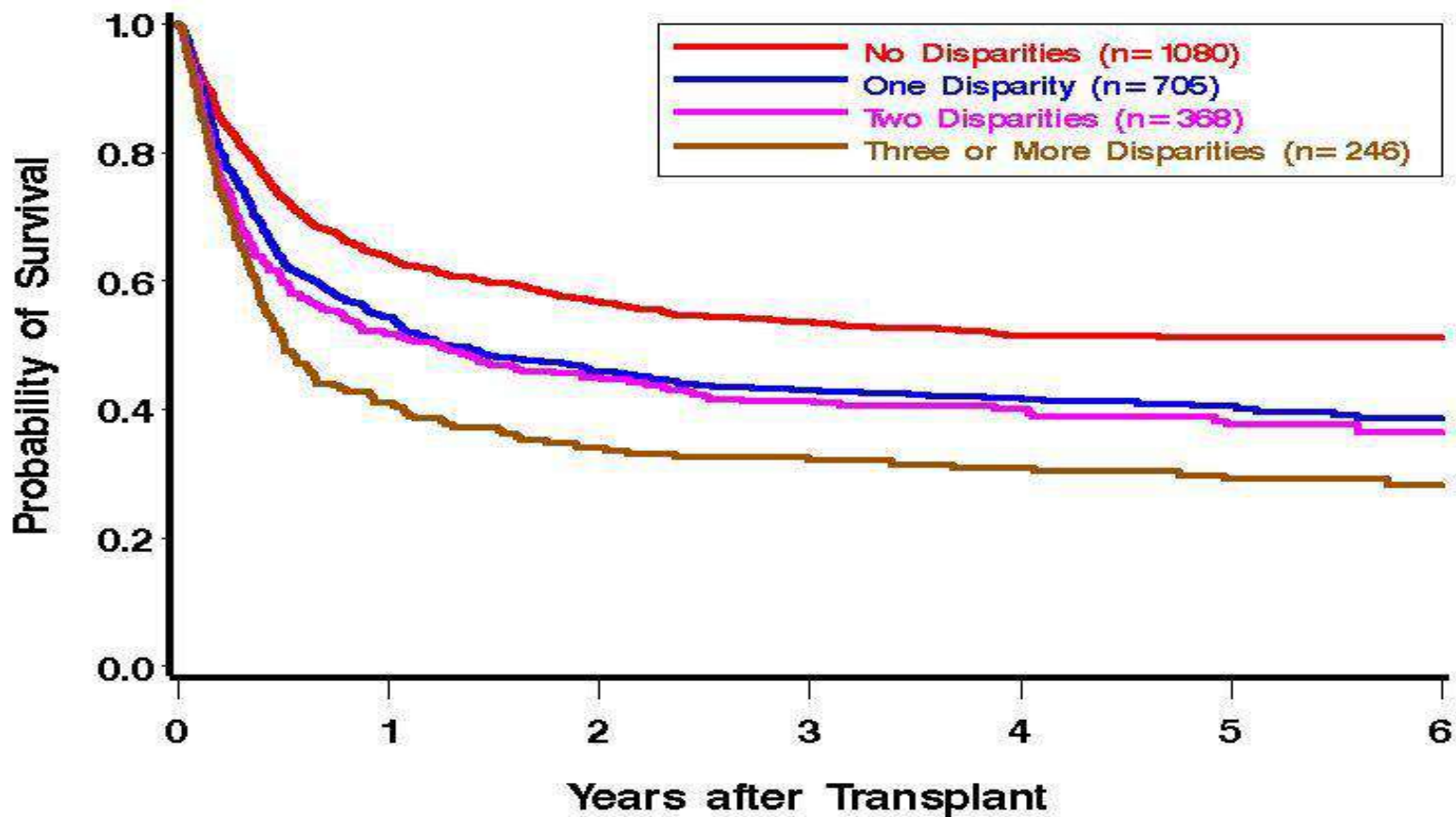
# HLA et greffe de cellules souches avec un Donneur non apparenté

- 40 à 60% des patients ont un DVM identique
- Peut-on faire des greffes incompatibles?
  - Combien d' incompatibilités ?
  - Incompatibilités HLA classe I ou classe
  - Quel locus HLA-A, -B, -C, -DRB1,-DQB1 or -DPB1?



# HLA et greffe de cellules souches avec un Donneur non apparenté

Impact d'une seule incompatibilité HLA sur l'évolution des greffes (greffe 9/10)

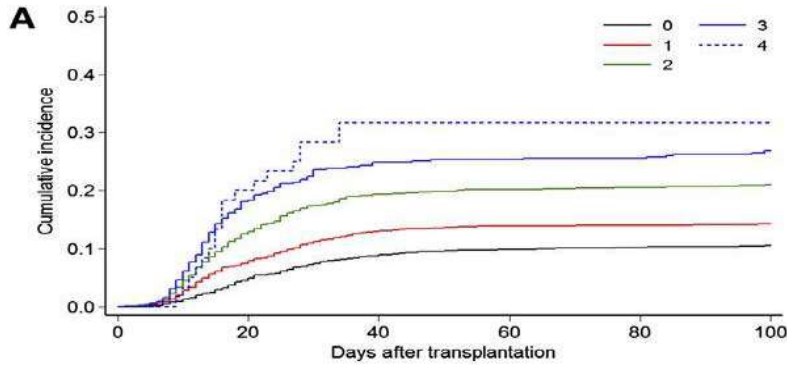


Courbe de survie en fonction du nombre d'incompatibilité HLA-A, B, C, DRB1 and DQB1. *Petersdorf et al. Workshop report 2002*

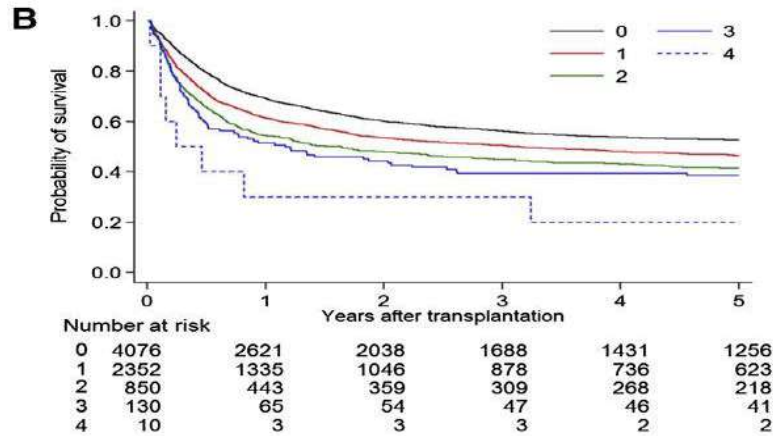
# Biological significance of HLA locus matching in unrelated donor bone marrow transplantation

Y Morishima BLOOD, 2015, 125, (7): 1189-1197

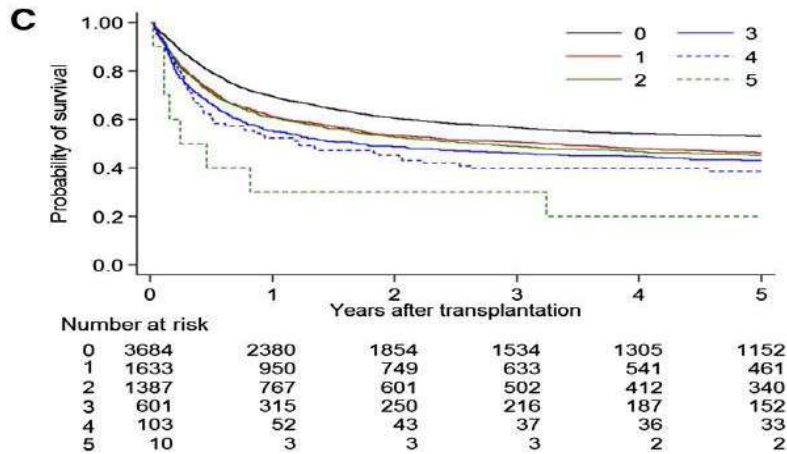
Cohorte=7898 greffes japonaises avec donneur non apparenté



**GVHD aiguë 3-4 en fonction des incompatibilités A, B, C, DRB1+DQB1, DPB1**



**Survie en fonction des incompatibilités HLA-A, B, C, DRB1+DQB1 (double incompatibilité)**



**Survie en fonction des incompatibilités HLA-A, B, C, DRB1, DQB1**

Une incompatibilité HLA fait perdre environ 10% de chance de survie: une greffe incompatible n'est réalisée que pour les maladies à haut risque sans autre thérapeutique possible.

# HLA et greffe de cellules souches avec un Donneur non apparenté

Impact des incompatibilités des  
différents locus

# HLA et greffe de cellules souches avec un Donneur non apparenté

## Impact des incompatibilités aux locus HLA-A, B, C ou DRB1

Quelque soit le locus: augmentation du risque de GVH aigue et de la mortalité

Etude japonaise de 2015 sur une cohorte de 7898 montre l'impact de HLA-A ou B ou C ou DR+DQ (double incompatibilité) sur GVH aigue et survie

Y Morishima BLOOD, 2015, 125, (7): 1189-1197

## Impact des incompatibilités au locus HLA-DQB1

Plusieurs études ont montré le peu d'impact de l'incompatibilité DQB1 sur la GVH et la survie

Mais impact de l'incompatibilité DQB1 si associée à une incompatibilité HLA classe I ou HLA-DRB1



# Impact des incompatibilités HLA-DPB1 sur l'évolution des greffes de CSH

# Impact des incompatibilités HLA-DPB1

- Une incompatibilité DPB1 et surtout 2 DPB1 sont associées à un risque plus élevé
- de GVH aigue,
- de mortalité
- à un moindre risque de rechute dans les greffes pour maladie maligne.

(13 th IWH, 2002, étude japonaise 2015 and étude française 2017)

# Impact des incompatibilités HLA-DPB1

En se basant sur la reconnaissance d'épitopes par les lymphocytes T (TCE), il a été possible de classer les incompatibilités DPB1 en «permissives» et «non permissives»

Cela permet, en l'absence de donneurs DPB1 identiques, la sélection de donneurs avec des incompatibilités DPB1 « permissives ».

# Incompatibilité permissive/ non permissive

**Incompatibilité permissive:** absence d'alloréactivité en cas d'incompatibilités

- B\*44:02 vs B\*44:27 (B\*44:02:01G ou B\*44:02P)
- DRB1\*14 :01 vs 14 :54 (DRB1\*14:01:01G ou DRB1\*14:01P)
- C\*03:03 vs 03:04,

Les différences en acides aminés des incompatibilités permissives citées au-dessus sont situées en dehors de la poche à peptides ou en position sans contact avec le peptide ou le TCR.

Certaines équipes ne prennent pas en considération les incompatibilités entre allèles codant pour la même poche à peptide. (allèles de même groupe G ou P si on se réfère aux protéines).

**Incompatibilité non permissive** = incompatibilités à éviter en particulier les incompatibilités impliquant l'AA en position 116 des molécules HLA de classe I (sur le plancher de la poche à peptide et donc modifie le répertoire des peptides fixés).

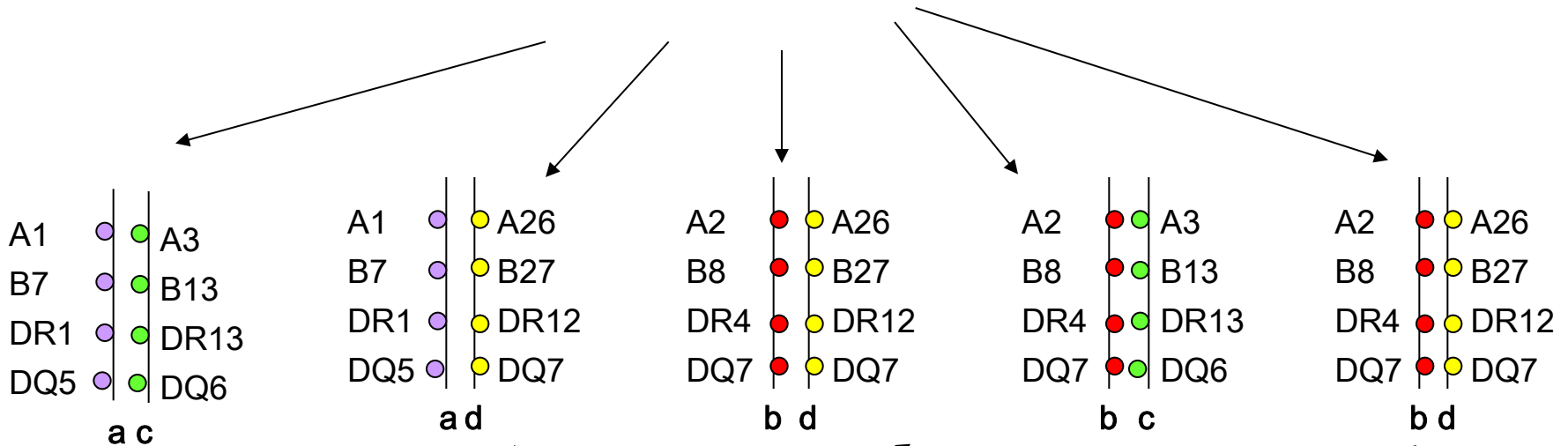
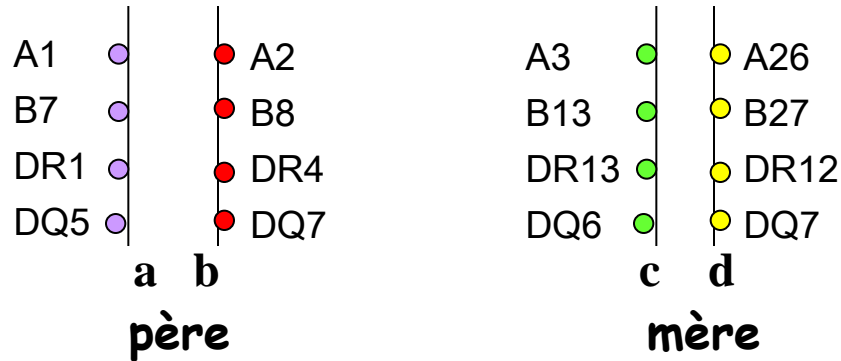
# Impact des incompatibilités HLA sur l'évolution des greffes de CSH- Conclusion

- Toutes les incompatibilités ne confèrent pas le même risque: permissive/non-permissive
- L'impact clinique d'une incompatibilité est défini par le locus et par la **spécificité des incompatibilités alléliques**
- Effet cumulatif des incompatibilités des locus HLA non pris en compte dans le choix du DVM (DP, DRB345) Cet effet est surtout marqué quand est associé à un mm HLA-A, -B, -C ou -DRB1, DQB1

# Les greffes haplo-identiques



# Greffe familiale haplo-identique



**Haplo identiques**

Le D et le R ont en commun un haplotype du père ou de la mère

différents

identiques

# Greffe Haplo-identique

- sont en plein développement
- Ce sont des greffes très incompatibles
- Elles sont possibles grâce à l'usage de fortes doses de cyclophosphamide en immédiat post greffe (3-5 jours) de façon à contrôler l'alloréactivité (la cyclophosphamide détruit les cellules en prolifération qui sont à cette date les lymphocytes alloréactifs)
- Mais il faut faire attention aux anticorps anti HLA pour éviter la non-prise de greffe.

# Anticorps anti-HLA et Greffe Haplo-identique

L'immunisation HLA intra familiale est fréquente (en particulier immunisation des mères contre les antigènes du père au cours des grossesses)

La présence d'anticorps anti-HLA dans le sérum du patient avant la greffe et dirigés contre les antigènes incompatibles du donneur (=DSA pour donor specific antibody) peut être responsable d'une non-prise de greffe.

La présence de DSA à haute affinité est une contre-indication à la greffe avec ce donneur.

# DSA et greffe haplo-identique

Le test de « Single Antigen » permet:

- l'identification des spécificités des anticorps
- la détermination de l'affinité et de la concentration via la MFI

(Median Fluorescence Intensity)

MFI > 10 000 très forte affinité

MFI 5000 à 10 000 forte affinité

Plus la MFI est élevée, plus grand est le risque de non prise

Mais le seuil de MFI considéré comme sûr pour la greffe n'a pas été déterminé à ce jour. Cela rend la gestion des DSA difficile pour les DSA de faible ou d'affinité intermédiaire.

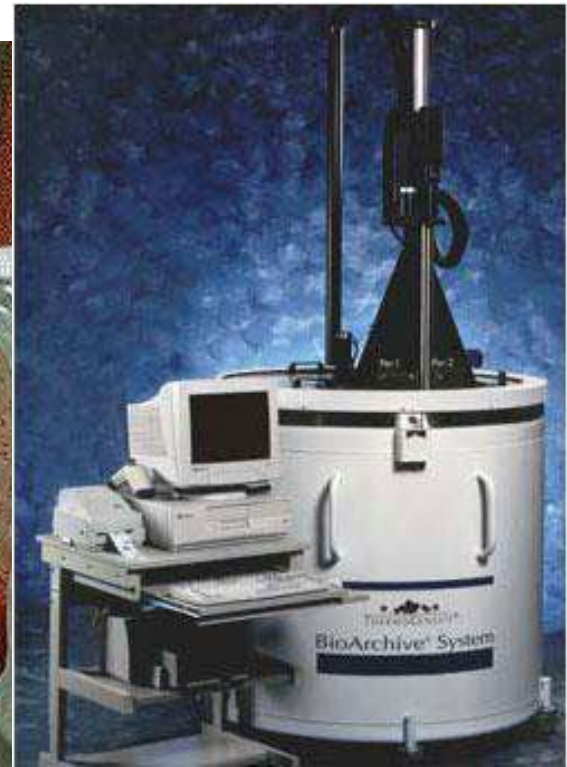
Recommandations of SFGM-TC (atelier septembre 2018)

- En présence de DSA: reconsidérer la greffe avec ce donneur quelque soit la valeur des MFI
- S'il n'y a pas de donneur alternatif
  - MFI > 10 000: contre-indication absolue (ou désensibilisation intensive)
  - 5000 à 10 000: la désensibilisation est recommandée
  - 1000 à 5000: la désensibilisation est discutée au cas par cas.

Grefe de CSH provenant de  
sang de cordon



**Collect of the  
cord blood and  
storage into CB  
banks**





# Choix d'un sang de cordon

Trois critères de choix principaux :

## 1) Compatibilité HLA

- basée sur HLA-A et B générique ou 1<sup>er</sup> champ et HLA-DRB1 allélique
- Greffes réalisées: 6/6, 5/6 ou 4/6
- Préférer les incompatibilités HLA-A et B aux DRB1
- Plus il y a de différences HLA, plus il faut augmenter le nombre de CNT

## 2) Nombre de cellules nucléées totales/kg

= nombre de cellules contenues dans la poche avant congélation

- Dose CNT/kg variable en fonction du nombre d'incompatibilité HLA et du type de greffe (simple ou double)
- Dans tous les cas  $>3 \times 10^7$  CNT/kg

# Compatibilité HLA pour une USP

- Compatibilité HLA moindre :
  - Identité sur 2 Ag HLA-A, 2 Ag HLA-B et 2 allèles HLA-DRB1

Receveur	A*01	A*03	B*08	B*35	DRB1*03:01	DRB1*15:02	
USP 1	A*01	A*03	B*08	B*35	DRB1*03:01	DRB1*15:02	USP 6/6 identique
USP 2	A*01	A*02	B*08	B*35	DRB1*03:01	DRB1*15:02	USP 5/6 identique
USP 3	A*11	A*03	B*08	B*07	DRB1*03:01	DRB1*15:02	USP 4/6 identique

# Choix d'un sang de cordon

Trois critères de choix principaux :

---

## 1) Compatibilité HLA

- basée sur HLA-A et B générique ou 1<sup>er</sup> champ et HLA-DRB1 allélique
- Greffes réalisées: 6/6, 5/6 ou 4/6
- Préférer les incompatibilités HLA-A et B aux DRB1
- Plus il y a de différences HLA, plus il faut augmenter le nombre de CNT

## 2) Nombre de cellules nucléées totales/kg

= nombre de cellules contenues dans la poche avant congélation

- Dose CNT/kg variable en fonction du nombre d'incompatibilité HLA et du type de greffe (simple ou double)
- Dans tous les cas  $>3 \times 10^7$  CNT/kg

# Choix d'un sang de cordon

## 3) AC anti-HLA en pré-greffe dirigés contre les antigènes incompatibles des USP (DSA)

Comme pour les greffes haplo-identiques, la présence d'anticorps anti-HLA dans le sérum du patient avant greffe et dirigés contre les antigènes du sang de cordon (DSA) peut être cause de non prise de greffe.

La présence de DSA de haute affinité est une contre-indication à la greffe avec cette unité de sang de cordon.

# Les différents types de greffes de cellules souches hématopoïétiques

- Plusieurs possibilités:

- Géno-identique
- Phéno-identique 10/10
- Phéno-identique 9/10
- Greffe de sang de cordon
- Greffe familiale haplo-identique

attention aux AC anti HLA

Greffe géno-identique= toujours préférée