



Journée régionale du réseau P.O.H.O

Jeudi 8 décembre 2011

Place de la Greffe de Sang Placentaire en pédiatrie

Pr V. Gandemer
CHU Rennes-Université Rennes1

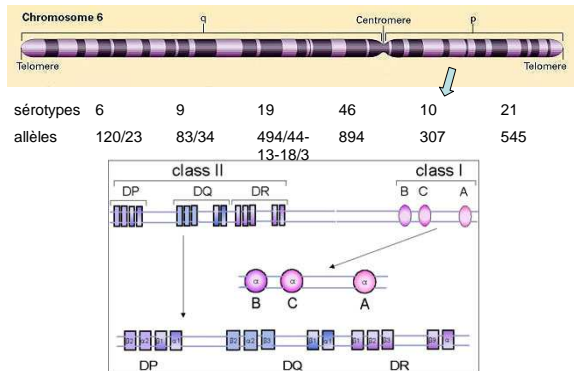
Plan

- Introduction
- Historique du concept de greffe de sang placentaire
- Avantages et Inconvénients
 - Caractéristiques biologiques
- Etudes cliniques chez l'enfant
- Sélection du greffon
- Perspectives
 - Surmonter le nombre de CNT
 - Surmonter le délai de reconstitution immunitaire et le risque viral
- Conclusion

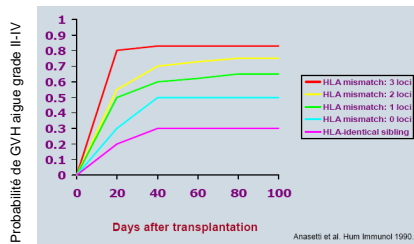
Introduction

- **Greffe de CSH comme seul traitement efficace**
 - Pour remplacer un système hématopoïétique déficient
 - ex: DIP, aplasie, drépanocytose
 - Pour obtenir un effet allogénique (**Greffon Versus Leucémie**) dans une maladie maligne
 - Ex: LA à haut risque
- Les **Cellules Souches Hématopoïétiques** sont habituellement extraites de la MO ou du sang périphérique (++) adulte) après stimulation par G-CSF

La greffe est soumise à une compatibilité tissulaire « parfaite » entre donneur et receveur dans le système HLA



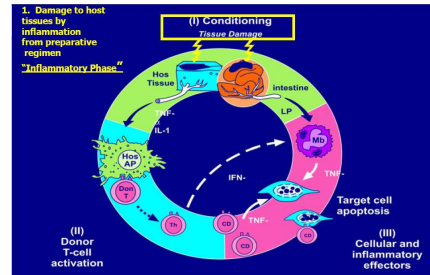
En absence de compatibilité : exposition au risque mortel de GVHa



- Diversité ++++/polymorphisme

GVH

Processus pathologique dans lequel les lymphocytes T du donneur sont activés et entraînent des lésions sur les organes cibles du receveur par des effets directs ou indirects »



Greffon compatible

- **25%** des patients ont un donneur HLA identique dans **la fratrie**
- **Pour les autres**, il faut avoir recours à des donneurs non apparentés inscrits sur des **registres** (nationaux et internationaux)
- mais
 - Ceux-ci regroupent surtout des caucasiens (et leurs haplotypes ancestraux!)
 - Délai entre inscription et identification du greffon

Historique du concept de Sang Placentaire, source de CSH

1. Modèles in vitro et modèles animaux

- **Progénéiteurs hématopoïétiques** peuvent croître à partir du SP (Granulocyte Colony Forming cells) Kudson S, Blood 1974
Testé chez la souris en 1984-85
- SP contient un nombre suffisant de progénéiteurs et/ou cellules souches pour **une reconstitution** Broxmeyer HE, PNAS 1989
- Méthode pour collecter les cellules pour les conserver stérilement pour les cryopréserver (viabilité et capacité proliférative) Boyse, 1991

2. Chez l'homme

Oct 1988= 1^{ère} greffe de SP réalisée par E Gluckman à St Louis, Paris France

chez un enfant de 6 ans atteint d'une anémie de Fanconi après un diagnostic prénatal de compatibilité HLA et de non atteinte de la maladie

Grace à collaboration internationale:

- Prélèvement de SP par Douglas
- Congélation par Broxmeyer et Boyse
- Transporté à Paris (car meilleurs résultats obtenus par cette équipe dans cette maladie)

= preuve définitive que le SP contient des CSH

Oct 1988

Gluckman E, NEJM 1989



Avantages et Inconvénients

Table 1 Umbilical cord blood versus bone marrow or mobilized stem cell transplantation (HSC)

	UCB	HSC
Advantages		
Availability of donor grafts	Large supply	Limited supply
Availability of graft	Rapid	Prolonged
Optimal degree of match	4/6 or higher	9/10 or 10/10
Risk of GvHD	Lower risk	Higher risk
Risk of viral transmission	Very low risk	Higher risk
Risk to donor	No risk	Higher risk

Brown J, JCI 2008

Avantages et Inconvénients

Table 1 Umbilical cord blood versus bone marrow or mobilized stem cell transplantation (HSC)

	UCB	HSC
Disadvantages		
Number of nucleated cells	Limited numbers	Higher numbers (1-2 logs)
Risk of infection	Higher than HSC	High
Speed of neutrophil/platelet recovery	Prolonged	Faster than UCB
Possibility of donor lymphocyte infusion	Not possible	Possible
Risk of genetic disease transmission	Higher than HSC	Very low

mais capacité proliférative +++

Caractéristiques biologiques

	UCB	HSC
T-cell response to alloantigens/mitogens	Modest response	Vigorous response
Proportion of CD4+ CD45RA+ cells	Majority of T-cells	Dual population of CD45RA+/CD45RO+
Proportion of hematopoietic progenitor cells	Greater than HSC	Reduced
CD34+ proliferation rate in response to cytokines in vitro	Greater than HSC	Reduced
Production of hematopoietic factors* from activated mononuclear cells	Significantly less than HSC	Higher amounts
Production of IL-2, IFN- γ , TNF- α from activated T-cells	Significantly less than HSC	Higher amounts
Allogeneic cytotoxic activity of activated T-cells	Significantly less than HSC	Higher amounts
Expression of NFAT1	Reduced	Higher
Natural killer cell activity	– Comparable –	

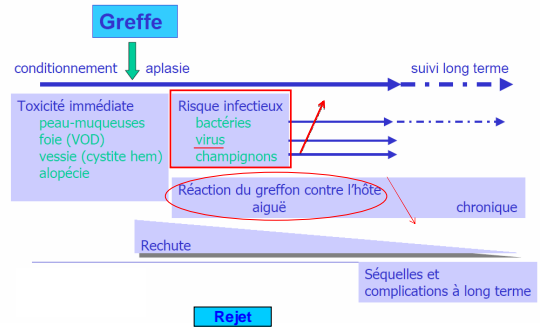
Les lymphocytes du SP ont un potentiel alloréactif moindre que la MO ou CSP

Permet disparité HLA plus grande

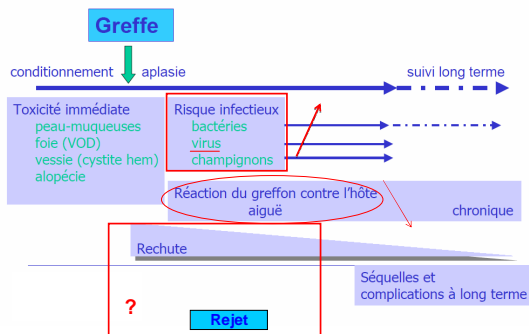
Mais aussi une immaturité exposant au risque infectieux

Brown J, JCI 2008

Les événements et risques au cours de l'allogreffe



Les événements et risques au cours de l'allogreffe



Etudes cliniques chez l'enfant

1. Quelques données générales

	Gluckman et al. [7]	Rocha et al. [8]	Rubinstein et al. [9]	Wagner et al. [10]	Dalle et al. [11]	Rocha et al. [12]
Dates of clinical trial (years)	1986–1996	1986–1997	1992–1998	1994–1995	1996–2002	1994–1998
Patients enrolled	143	113	652	18	368	59
Age in years (median) (range)	0.2–4.5 ^c	5 (1–15)	<2–18	2.7 (0.1–21.3)	7.5 (0.1–19.5)	6 (2.5–10)
Patients with hematologic malignancies	95	61	378	13	30	99
Patients without hematologic malignancies	48	52	154	5	6	0
Hypodiploidy (II) or nonreciprocal (II)	II	II	II	II	II	II
Degree of HLA match (%)	69	100 (HLA-D siba)	7	7	6	6
Matched (6/6)	62	66	10	94	84	84
3/6 or more	12	7	7	1	8	8
Median cell dose (range)	0.37 (0.07–2.0)	0.47 (1.0–3.6)	Range: 0.07–1.0	0.41 (0.14–4.0)	0.25 (na)	0.35 (0.24–3.6)
Nucleated cells/kg ($\times 10^8$)	na	na	na	na	na	na
CD34+ cells/kg ($\times 10^5$)	2 (0–45)	na	na	na	na	na
Days to neutrophil recovery (median) (range)	20 (8–56)	28 (na)	28 (16–120)	24 (16–53)	28 (16–49)	32 (11–58)
Days to platelet recovery (median) (range)	58 (9–150)	44 (na)	90 (15–250)	54 (36–130)	43 (18–59)	81 (16–159)
No. given hematopoietic growth factor	194	45	na	7	23	54
Incidence of acute GVHD	In 143 patients Related = 13, unrelated = 12/29	In 107 patients Related = 6, unrelated = 0/3	In 399 patients Related = 13, unrelated = 22/158	In 13 patients Related = 0, unrelated = 0/13	In 36 patients Related = 14, unrelated = 0/14	In 99 patients Related = 14, unrelated = 45/51
Incidence of chronic GVHD	Related = 14, unrelated = 0/14	Related = 14, unrelated = 45/51	Related = 14, unrelated = 45/51	Related = 14, unrelated = 45/51	Related = 14, unrelated = 45/51	Related = 14, unrelated = 45/51
Treatment-related mortality (TRM) (%)	63 (related donor)	46 (malignant)	61% at 100 days	65% at 6 months	59	35
Overall survival (2–3 years) (%)	73 (unrelated; 6/6 match)	66 (normal graft)				

Etudes cliniques chez l'enfant

1. Quelques données générales

	Gluckman et al. [7]	Rocha et al. [8]	Rubinstein et al. [9]	Wagner et al. [9]	Dalle et al. [10]	Rocha et al. [12]
Dates of clinical trial (years)	1985-1996	1995-1997	1992-1998	1994-1995	1996-2002	1994-1998
Patients enrolled	143	113	582	18	36 ^a	99
Age in years (median) ^b (range)	0.2-45 ^c	5 (1-15)	<2->18	2.7 (0.1-21.3)	7.5 (0.1-19.5)	6 (2.5-10)
Patients with hematologic malignancies	95	61	378	13	30	59
Patients without hematologic malignancies	48	52	194	5	6	0
Myeloablative (M) or nonmyeloablative (N)	M	M	M	M	M	M
Degree of HLA match (%)	69	100 (HLA-D alpha)	7	7	6	8
1 or 2/6	62	86	10	10	94	84
3/6 or more	12	7	7	1	0	0
Median cell dose (range)	0.37 (0.07-3.0)	0.47 (1.0-3.6)	Range: 0.07-1.0	0.41 (0.14-4.0)	0.25 (na)	0.38 (0.24-3.6)
Nucleated cells/kg (x 10 ⁸)	2 (0-45)	na	na	na	na	na
CD34+ cells/kg (x 10 ⁷)	na	na	na	na	na	na
Days to neutrophil recovery (median) (range) 30 (8-56)	26 (na)	28 (10-120)	24 (16-53)	23 (16-25)	32 (11-56)	32 (11-56)
Days to platelet recovery (median) (range) 55 (9-180)	44 (na)	30 (16-250)	54 (35-130)	43 (19-95)	61 (16-159)	61 (16-159)
No. given hematopoietic growth factor	104	45	na	7	23	54
Incidence of acute GVHD	In 143 patients	In 107 patients	In 399 patients	In 13 patients	In 36 patients	In 99 patients
Grades I-IV (%)	Related = 12, unrelated = 122 ^b	75	61	3	38	30
Grades II-IV (%)	Related = 5, unrelated = 20	22	11	11	21	21
Patients with cGVHD/surviving patients	Related 8/56, unrelated 0/23/5/3	59/158	na	3/08	5/43	na
Incidence of relapse (%)	Related = 14, unrelated = 5	na	25	11	17	35
Treatment related mortality (TRM) (%)	Related = 14, unrelated = 4/51	39	28	27 at day 100	39 at day 100	39 at day 100
Overall survival (2-3years) (%)	63 (related donor) 73 (unrelated, 6/6 match)	46 (malignant) 66 (nonmalignant)	61% at 100days 65% at 6months	69	39	39

Etudes cliniques chez l'enfant

1. Quelques données générales

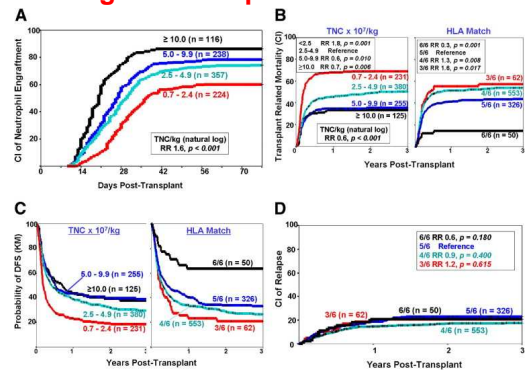
	Gluckman et al. [7]	Rocha et al. [8]	Rubinstein et al. [9]	Wagner et al. [9]	Dalle et al. [10]	Rocha et al. [12]
Dates of clinical trial (years)	1985-1996	1995-1997	1992-1998	1994-1995	1996-2002	1994-1998
Patients enrolled	143	113	582	18	36 ^a	99
Age in years (median) ^b (range)	0.2-45 ^c	5 (1-15)	<2->18	2.7 (0.1-21.3)	7.5 (0.1-19.5)	6 (2.5-10)
Patients with hematologic malignancies	95	61	378	13	30	59
Patients without hematologic malignancies	48	52	194	5	6	0
Myeloablative (M) or nonmyeloablative (N)	M	M	M	M	M	M
Degree of HLA match (%)	69	100 (HLA-D alpha)	7	7	6	8
1 or 2/6	62	86	10	10	94	84
3/6 or more	12	7	7	1	0	0
Median cell dose (range)	0.37 (0.07-3.0)	0.47 (1.0-3.6)	Range: 0.07-1.0	0.41 (0.14-4.0)	0.25 (na)	0.38 (0.24-3.6)
Nucleated cells/kg (x 10 ⁸)	2 (0-45)	na	na	na	na	na
CD34+ cells/kg (x 10 ⁷)	na	na	na	na	na	na
Days to neutrophil recovery (median) (range) 30 (8-56)	26 (na)	28 (10-120)	24 (16-53)	23 (16-25)	32 (11-56)	32 (11-56)
Days to platelet recovery (median) (range) 55 (9-180)	44 (na)	30 (16-250)	54 (35-130)	43 (19-95)	61 (16-159)	61 (16-159)
No. given hematopoietic growth factor	104	45	na	7	23	54
Incidence of acute GVHD	In 143 patients	In 107 patients	In 399 patients	In 13 patients	In 36 patients	In 99 patients
Grades I-IV (%)	Related = 12, unrelated = 122 ^b	75	61	3	38	30
Grades II-IV (%)	Related = 5, unrelated = 20	22	11	11	21	21
Patients with cGVHD/surviving patients	Related 8/56, unrelated 0/23/5/3	59/158	na	3/08	5/43	na
Incidence of relapse (%)	Related = 14, unrelated = 5	na	25	11	17	35
Treatment related mortality (TRM) (%)	Related = 14, unrelated = 4/51	39	28	27 at day 100	39 at day 100	39 at day 100
Overall survival (2-3years) (%)	63 (related donor) 73 (unrelated, 6/6 match)	46 (malignant) 66 (nonmalignant)	61% at 100days 65% at 6months	69	39	39

En résumé

- Prise de greffe : OK
- Sortie des plaquettes retardée d'une semaine/PN
- Risque GVH faible/ disparité HLA
- Mortalité liée à la greffe = 30% (infections)
- Pas plus de rechute (pour les LA par ex)

Rocha V, Blood 2001(enfants) et NEJM 2004 (adultes)

prise de greffe = disparité HLA + dose CNT



Scaradavou A, Seminars in hematology 2010

2. Comparaison MO vs USP

Leucémies aiguës

503 greffes de SP vs 282 greffes de MO
 35 6/6 (ABDRB1) 116 HLA id (ABCD1B1)
 201 5/6 166 HLA MM
 267 4/6

LFS SP idem qq soit MM, 1 ou 2 Ag/ MO
TRM sup si 2 Ag MM (ou 1 et peu de cellules)
 Rechutes inf si 2 Ag MM

Eapen M, Lancet 2007

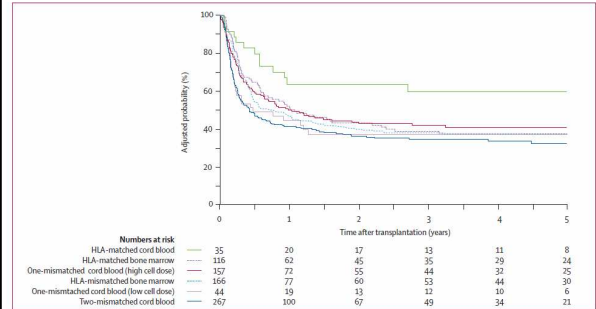
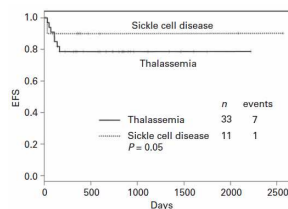


Figure: Probability of leukaemia-free survival after bone-marrow and cord-blood transplantation adjusted for disease status at transplantation

Maladies non malignes

- intérêts :
 - effet direct par repopulation hématologique ou immunitaire
 - effet indirect par synthèse d'enzymes ou molécules

• Hémoglobinopathie (drépanocytose, thalassémies)



Problème de la TRM /conditionnement myéloablatif : switché vers des conditionnements atténués (fludarabine)

Prasad VK, BMT 2009

• Déficit immunitaire primitif

- DICS vs les greffes haploidentiques
- Sd de Wiscott Aldrich
- Granulomatose chronique septique

n=32 dont 17 MUD

Fluda/Bu/SAL

6% de non prise

OS 97% à 2 ans (vs TRM 35%)

Très peu GVH

T Güngör EBMT 2011

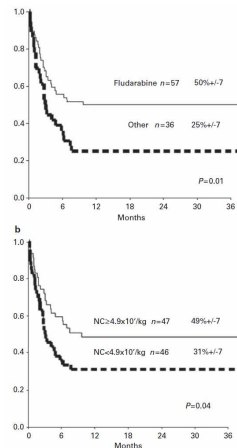
• Aplasie médullaire

Fanconi

- Fluda 25 mg/m²/J x 4j
- Endoxan 10 mg/kg/j x 4 j
- TBI 2 Gy
- CsA + Pred

- OS 40 % fonction de fluda , CNT/kg, CMV neg receveur

Eurocord Gluckman E, BBMT 2007



Non constitutionnelle

n=71

DC: 32% rejet,
38% infection

Influence of Nucleated Cell Dose on Overall Survival of Unrelated Cord Blood Transplantation for Patients with Severe Acquired Aplastic Anemia: A Study by Eurocord and the Aplastic Anemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation

Regis Peffault de Latour,¹ Duncan Purtil,² Annalisa Ruggeri,² Guillermo Sanz,³ Gerard Michel,⁴ Virginie Gandonner,⁵ Sebastian Maury,⁶ Joanne Kurtzberg,⁷ Carmen Bonfim,⁸ Mahmoud Aljurf,⁹ Elaine Gluckman,¹⁰ Gerard Soci,¹¹ Jakob Passweg,¹² Vanderson Rocha^{1,2}

Biol Blood Marrow Transplant 17: 78-85 (2011)

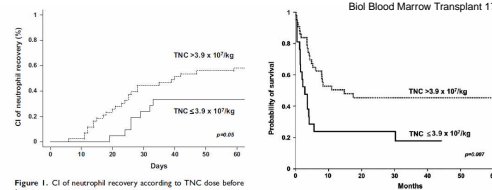


Figure 1. CI of neutrophil recovery according to TNC dose before freezing.

Figure 2. Estimated 3-year OS according to TNC dose.

• Maladies métaboliques

Attention au bon état général initial car aggravation secondaire++ (neuro)

– Intérêt : CSH peuvent se différencier :

- cellules de la microglie dans le cerveau
- macrophages alvéolaires dans le poumon
- Cellules de Kupffer dans le foie

+ capacité d'induire une correction croisée= les cellules nles de proximité peuvent corriger les conséquences biochimiques des déficits enz aux alentours

- Hurler, Hunter, Sanfilippo, Krabbe, adrenoleucodystrophie métachromatique

Sélection du greffon

1. Balance HLA et nombre CNT

– Cellules Nuclées Totales corrélées avec CFU et CD34+

= GB et erythroblastes

Reproductible

Standardisée

≥ 4/6

Avec > 2,5-3 10⁷ CNT/kg du receveur

(en terme de TRM plus que de rechute)

Si 4/6 : > 5 10⁷ CNT/kg

Rocha V, BJH 2009

2. Autres antigènes

➤ NIMA? Non Inherited Maternal Antigen
(échanges in utero: tolérance)

Ex:

Mère du SP : A1 A2 B7 B8

SP A1 A3 B7 B44

Patient A1 A2 B7 B44

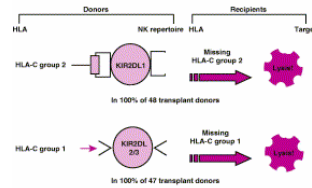
Si NIMA id : diminution TRM et augmentation DFS

Van Rood JJ, PNAS 2011

➤ HLA-C et KIR-L (killer cell immunoglobuline like receptor ligand)

• MM KIR-L : ↗survie

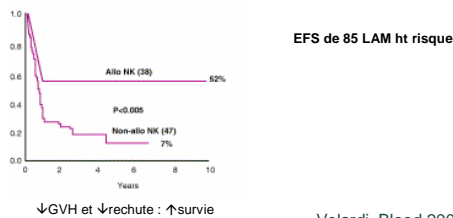
↘ GVH et rechute



KIR	HLA class I specificity
KIR2DL1	'Group 2' HLA-C alleles expressing <i>Ly80</i> (such as <i>-Cw2</i> , <i>-Cw4</i> , <i>-Cw5</i> , <i>-Cw6</i>)
KIR2DL2/3	'Group 1' HLA-C alleles expressing <i>A*80</i> (such as <i>-Cw1</i> , <i>-Cw3</i> , <i>-Cw7</i> , <i>-Cw8</i>)
KIR3DL1	HLA-B*47 alleles (eg. HLA-B*27)

Alloréactivité NK

- Greffe haploidentique
- Conditionnement intense nécessaire,
- T déplétion pour prévenir GVH,
- « Mégadose » CD34/barrière HLA
- LAM
- HLA haute résolution, génotypage Killer cell Ig-like Receptor (KIR)



Velardi, Blood 2003

3. Qualité

• « Banking »

- stérilité
- Cryopreservation
- Contrôle viabilité et CFU assays
- Contenu en CD34+

• « Age » des cordons (date recueil)

• Contenu en érythroblastes : « réduit » = sans GR (hémolyse, compatibilité ABO)

Tout lavage entraîne perte cellulaire

Scaradovou A, Seminars in hematology 2010

Perspectives

1. Surmonter le problème du nombre de CNT

Prise de greffe et Reconstitution hématologique
Concerne plus l'adulte

– Augmenter le nombre de cellules

- **Expansion ex vivo** : faisable mais en évaluation
- **Double SP** : $\geq 4/6$ entre eux et avec le patient
dès 1^{er} mois: 70 % 1 seul cordon
J100 : 100% 1 seul cordon
Non lié à dose CD34+, ni ordre, ni HLA ...
Dose CD3+? Effet prolifératif dans les 2 cordons
⇒ Effet GVG médié par T et NK ?

Barker, Blood 2005

– Optimiser le homing

- **Cellules mésenchymateuses** (cellules de soutien de la MO)

Cotransplantation ↗ la prise de greffe sans effet adverse
Ball, Blood 2007

- **Injection intra-osseuse** (crête iliaque)
10-15% des cellules injectées migrent dans la MO

⇒ chez la souris: repopulation $\times 10$ si IO /IV

Frassoni, Lancet Oncol 2008

32 adultes LAM ou LAL

Seringue de 5ml

CNT = $1,9 \times 10^7/\text{kg}$ (0,98-4,2)

PN= 23j; pl= 36j et pas de GVH III et IV!

2. Surmonter le délai de la reconstitution immuno et le risque infectieux viral

= La reconstitution précoce T ou B vient de l'expansion des T et B matures du donneur, perfusés avec le greffon, mais SP naïf++

CTL pathogène spécifique : EBV, CMV, adéno

⇒ Cellules T du greffon expansées ex vivo et réinjectées si besoin

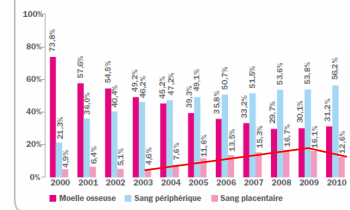
Hanley, Blood 2009

Conclusion

- La greffe de SP a montré depuis 15 ans
 - non seulement sa faisabilité
 - mais son intérêt
- Permet de greffer en situation « mismatch » et de trouver un greffon $\geq 4/6$ pour presque tous les enfants
- Pas de risque de rechute augmenté
- Rapidité d'accès
- Persiste des complications particulières /déficit immunitaire

Répartition des greffons allogéniques

Évolution de la répartition des sources de greffons de CSH allogéniques

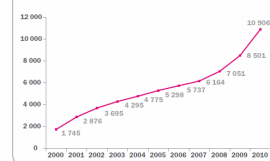


4,6 % en 2003 à 16% en 2009
Et utilisation croissante des doubles cordons

Intérêt de développer en France l'activité de banque de SP

Localisation des banques de sang placentaire en décembre 2010

Évolution du nombre d'unités de sang placentaire inscrites sur le registre France Greffe de Moelle de 2000 à 2010 (le 31 décembre)



- 410.000 USP dans le monde
- Pour 14 millions de donneurs
– 187519 en France!

Greffe de cellules souches hématopoïétiques 2010

Nombre de greffes autologues : 3 047 | Nombre de greffes allogéniques : 1 671
Âge moyen des adultes allogreffés : 48 ans

Origine des cellules

Type de greffe	Sang périphérique	Moelle osseuse	Sang placentaire	Total
Apparentée	417	295	7	723
Non apparentée	523	222	203	948
Total	940	521	210	1 671

Registre France Greffe de Moelle 2010

16 191 donneurs volontaires de moelle osseuse inscrits, ce qui porte le nombre total de donneurs à 187 519.	2 562 unités de sang placentaire (USP), ce qui porte le nombre total d'USP disponibles au 31/12/2010 à 10 906.	356 cessions d'USP et 737 prélèvements de donneurs de CSH réalisés pour constituer 960 greffons pour le bénéfice de patients nationaux.	51 cessions d'USP et 77 prélèvements de donneurs de CSH ont été réalisés pour le bénéfice de 128 patients internationaux.
---	--	---	---