



HAL
open science

Immunorégulation de l'alloréactivité après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

Lama Siblany

► **To cite this version:**

Lama Siblany. Immunorégulation de l'alloréactivité après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Immunothérapie. Sorbonne Université, 2023. Français. NNT : 2023SORUS332 . tel-04323464

HAL Id: tel-04323464

<https://theses.hal.science/tel-04323464v1>

Submitted on 5 Dec 2023

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

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

Sorbonne Université

Ecole doctorale 394 : Physiologie et Physiopathologie

Centre de Recherche Saint-Antoine / Equipe Mohty

Immunorégulation de l'alloréactivité après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

Par Lama Siblany

Thèse de doctorat de biologie

Dirigée par Florent Malard

Présentée et soutenue publiquement le 26 Septembre 2023

Devant un jury composé de :

Stéphanie Nguyen, PU-PH, Président du Jury

Ali Bazarbachi, PU-PH, Rapporteur

Philippe Saas, PU-PH, Rapporteur

Delphine Sauce, CR INSERM, Examinatrice

Katia Gagne, Maître de recherche, Examinatrice

Florent Malard, PU-PH, Directeur de thèse

Béatrice Gaugler, CR INSERM, Membre invité

Dédicace

À ma très chère mère, à l'amour inconditionnel, à la tendresse qui assure ma tranquillité,

À une âme qui ne m'a jamais quitté, à des souvenirs sculptés dans ma mémoire et qui m'accompagnent toujours dans chaque pas, à mon père qui, j'espère, serait fier de moi,

À mon amour, à mon espoir, à celui qui j'espère continuer toute ma vie avec lui, à une personne sans lui ce travail et cette réussite n'aurait pas pu être achevé,

À mon grand frère, mon pilier, qui a sacrifié sa vie pour ma réussite,

À mes chers frères et à ma sœur, pour leurs soutiens indéfectibles tout au long de mon parcours,

Aux personnes qui sont parties, mes grands-parents, ma tante, aux cieux,

Aux tantes et oncles, amis et cousins, avec qui la vie est devenue plus belle,

Je présente ce travail.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Professeur Ali Bazarbachi, Professeur Philippe Saas, Professeur Stéphanie Nguyen, Docteur Katia Gagne et Docteur Delphine Sauce pour avoir accepté de participer à mon jury de thèse et évaluer ce travail.

Je voudrais remercier Professeur Mohamad Mohty pour m'avoir accueillie dans son laboratoire pour la réalisation de mon stage fin d'étude puis de cette thèse. Merci pour sa confiance et sa gentillesse. Je suis extrêmement reconnaissante pour ses conseils, ses encouragements et son avis d'experts.

Je voudrais également exprimer mes sincères remerciements à mon directeur de thèse Professeur Florent Malard et à mon encadrante Docteur Béatrice Gaugler, pour leurs conseils et leurs orientations. Je les remercie sincèrement d'avoir consacré une grande partie de leur temps au suivi de ce travail malgré leurs nombreuses responsabilités, pour la correction attentive apportée à ce manuscrit. Je suis très reconnaissant pour les discussions que nous avons eues et grâce auxquelles j'ai pu bénéficier de leurs expériences et leurs connaissances scientifiques. Au-delà, je les remercie profondément pour leur gentillesse et leur attitude humaine durant ces années.

J'exprime aussi mon remerciement à mes collègues du laboratoire, médecins, doctorants, stagiaires, techniciens. Un grand merci à Yishan pour m'avoir aidée et m'encouragée durant mes premiers mois au laboratoire. Merci pour ces précieux conseils. Merci à Karen, Pauline, Nicolas, Frédéric, Maxime et Najoua, pour toutes nos discussions, tous les conseils et tous les moments inoubliables qu'on a vécus ensemble.

J'exprime également mon sincère remerciement à tous qui ont contribué dans la réalisation de ce travail, particulièrement à l'ensemble des médecins, pharmaciens et biologistes de service d'Hématologie Clinique et de Thérapie Cellulaire du Centre Hospitalier Universitaire Saint-Antoine.

Mes derniers remerciements à mes précieuses amis Mariam, Doha et Malak. Merci de m'avoir soutenu et me supporter durant ces années. Merci pour votre amour et nos précieux moments de bonheur qu'on a passés ensemble et à venir.

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique	GRFS : Survie sans GvHD et sans rechute (GvHD-Free Relapse-Free Survival)
AHM : Agents hypométhylants	GvHD : Réaction du greffon contre l'hôte (Graft- <i>versus</i> -Host Disease)
Allo-CSH : Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques	Haplo-CSH : Greffe haploidentique de cellules souches hématopoïétiques
Bcl-2 : B Cell Lymphoma-2	HLA : Antigènes des leucocytes humains (Human Leucocyte Antigen)
CAR-T : Chimeric Antigen Receptor T-Cell	HMB-PP : (E)-4-hydroxy-3-méthyl-but-2-ényl pyrophosphate
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité	INF : Interféron
CMV : Cytomégalovirus	IPP : Pyrophosphate d'isopentényle
CSH : Cellules souches hématopoïétiques	LAL : Leucémies aiguës lymphoïdes
CSP : Cellules souches périphériques	LAM : Leucémies aiguës myéloïdes
CPA : Cellules présentatrices d'antigènes	LB : Lymphocyte B
CTGF : Facteur de croissance du tissu conjonctif	LT : Lymphocyte T
DAMPs : Motifs moléculaires associés aux dégâts cellulaires (Damage Associated Molecular Patterns)	MAIT : Cellules T invariantes associées aux muqueuses
DFS : Survie sans maladie (Disease-Free Survival)	MM : Myélome multiple
DLI : Injection de lymphocytes T du donneur	MO : Moelle osseuse
DMAPP : Pyrophosphate de diméthylallyle	NIH : Institut National de la Santé (National Institute of Health)
EBV : Virus d'Epstein-Barr	NK : Natural killer
Effet GvL : Effet du greffon contre la leucémie (Graft <i>versus</i> Leukemia)	NKR : Récepteurs Natural Killer (Natural Killer Receptors)
FDA : Food and Drug Administration	NRM : Mortalité non liée à la rechute (Non Relapse Mortality)
G-CSF : Facteur de croissance hématopoïétique granulocytaire (Granulocyte Colony-Stimulating Factor)	OS: Survie globale (Overall Survival)

PAMPs : Motifs moléculaires associés aux pathogènes (Pathogen Associated Molecular Patterns)

PLZF : Promyelocytic Leukemia Zinc Finger

PTCy : Administration intraveineuse de cyclophosphamide post-greffe

ROR γ t : Retinoic acid-related orphan receptor gamma t.

TCR : Récepteur des lymphocytes

TGF β : Facteur de croissance transformant bêta (Transforming Growth Factor Beta)

Th : T auxiliaire (T Helper)

TNF: Facteur de nécrose tumorale (Tumor Necrosis Factor)

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

Table des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques des cellules MAIT chez l'homme et la souris	33
Tableau 2. Gènes de TCR $\gamma\delta$ et $\alpha\beta$ murins et humains	39
Tableau 3. Distribution tissulaire des populations T $\gamma\delta$	41

Table des illustrations

Figure 1. Procédure de l'allogreffe de CSH	14
Figure 2. Risque des infections après allo-CSH.....	16
Figure 3. Schéma des effets GvL/GvHD	18
Figure 4. Classification de la GvHD aiguë et chronique.....	21
Figure 5. Physiopathologie de la GvHD aiguë.....	22
Figure 6. Pathogénèse et traitement de la GvHD aiguë	24
Figure 7. Reconstitution immunologique après allo-CSH	26
Figure 8. Des lymphocytes T à l'interface entre immunité innée et adaptative.....	30
Figure 9. Distribution des cellules MAIT chez l'homme et la souris	32
Figure 10. Activation des cellules MAIT	35
Figure 11. Les différentes familles de ligands pour les lymphocytes T TCR $\gamma\delta$	43
Figure 12. Reconnaissance des cellules cibles par les lymphocytes T $\gamma\delta$	44
Figure 13. Sécrétion des cytokines par les lymphocytes T $\gamma\delta$	46
Figure 14. Stratégies d'immunothérapie utilisant les LT V γ 9V δ 2.	49
Figure 15. Rôle des cellules MAIT dans la reconnaissance des métabolites microbiens régulant la GvHD intestinale.....	93

Sommaire

Remerciements	2
Liste des abréviations	3
Table des tableaux	5
Table des illustrations	6
Sommaire	7
INTRODUCTION	9
Préambule	10
I. Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : panorama de la procédure	11
1. Définition	11
2. Procédure de l’allo-CSH	11
II. Effet anti-leucémique de l’allo-CSH	17
1. Principe.....	17
2. Prévention et traitements de la rechute	18
III. La maladie du greffon contre l’hôte : description et mécanismes physiopathologiques	20
1. GvHD aiguë.....	21
2. GvHD chronique	24
IV. Reconstitution immunitaire après allo-CSH	26
1. Les Cellules NK	26
2. Les lymphocytes T	27
3. Les lymphocytes B	28
V. Les lymphocytes T non conventionnels	29
1. Les cellules T invariantes associées aux muqueuses	30
2. Les lymphocytes T $\gamma\delta$	39
VI. Un nouveau paramètre dans l’allo-CSH : le microbiote intestinal	50
RESULTATS	52
I. Première partie : prévention des rechutes après allo-CSH pour la LAM : rôle du venetoclax	53
1. Venetoclax : inhibiteur de Bcl-2	53
2. Le Venetoclax dans le traitement de la LAM	54
3. Article.....	56
4. Données supplémentaires : “Materials and methods”	60

II. Deuxième partie : rôle des cellules MAIT et des lymphocytes T $\gamma\delta$ après allo-CSH	62
Article.....	63
DISCUSSION	89
1. Le venetoclax, une stratégie thérapeutique prometteuse qui n'impacte pas l'effet GvL ..	
.....	90
2. Les LT non conventionnels et leur rôle en allo-CSH.....	91
BIBLIOGRAPHIE	95
ANNEXES.....	121
A. Rôle du microbiote fongique dans l'allo-CSH	122
B. Article 'Weak immunogenicity of SARS-CoV-2 vaccine in patients with hematologic malignancies'	127

INTRODUCTION

Préambule

La greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) est l'une des procédures de la médecine développée au cours des deux dernières décennies, pour le traitement des hémopathies malignes, des hémoglobinopathies ou des maladies auto-immunes. En général, la greffe de CSH peut être divisée en deux types, la greffe de CSH autologue, où la source de cellules souches est la moelle osseuse (MO) du patient lui-même, et l'allogreffe de CSH (allo-CSH), qui est un processus plus élaboré et plus complexe, où le patient reçoit le greffon de cellules souches d'un donneur.

Depuis la première allo-CSH réalisée en 1956 (1), l'amélioration de la procédure au cours des années permet désormais de réaliser plus de 50 000 allo-CSH chaque année dans le monde (2), (3). Cependant, l'allo-CSH reste associée à une morbidité et une mortalité élevées principalement en raison de complications comme la maladie du greffon contre l'hôte (GvHD), les infections ou encore la rechute de l'hémopathie sous-jacente après allo-CSH (4). Par conséquent, la prévention de ces complications reste un défi majeur après allo-CSH. En particulier, le développement de stratégies thérapeutiques sûres et efficaces pour prévenir ou traiter la rechute est essentielle. La réinjection de lymphocytes du donneur (DLI) est un type d'immunothérapie qui permet de renforcer l'effet du greffon contre la leucémie (GvL) et peut contribuer à prévenir ou traiter la rechute (5). Plus récemment, un grand nombre de nouveaux agents ciblés et immunomodulateurs sont apparus et sont testés dans ce cadre après allo-CSH (6).

Enfin, une des problématiques majeures dans le contexte de l'allo-CSH est la reconstitution d'un système immunitaire fonctionnel robuste capable de prévenir les complications infectieuses et d'assurer un effet GvL adéquat pour la survie à long-terme des patients (7). Alors que les lymphocytes conventionnels sont étudiés depuis longtemps dans le contexte de l'allo-CSH, les lymphocytes T non conventionnels ont fait l'objet d'un intérêt plus récent. Nous aborderons ces différents aspects dans l'introduction.

I. Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : panorama de la procédure

1. Définition

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (Allo-CSH) est un traitement curatif pour de nombreuses maladies hématologiques malignes et non malignes (8). Elle consiste à injecter des CSH saines à des patients ayant une moelle osseuse dysfonctionnelle ou déplétée. Cela permet d'augmenter la fonction de la MO et permet, selon la maladie traitée, soit de détruire les cellules tumorales malignes, soit de générer des cellules fonctionnelles qui peuvent remplacer les cellules dysfonctionnelles dans des cas comme les syndromes d'immunodéficience, les hémoglobinopathies et d'autres maladies (9,10).

Grâce à l'évolution des techniques de transplantation et à une meilleure compréhension du système immunitaire, des progrès remarquables réalisés dans le domaine de la greffe de CSH sont observés et ont conduit à une augmentation progressive du nombre d'allo-CSH réalisées, à tel point qu'en l'espace d'un demi-siècle, plus d'un million de greffe de CSH ont été réalisées dans le monde, dont environ 40 % étaient des allo-CSH (11). La pratique actuelle des allo-CSH évolue rapidement pour tenir compte de la complexité de cette procédure.

Cependant, malgré les améliorations majeures apportées à l'allo-CSH, celle-ci reste limitée par les complications associées qui représentent une cause majeure de morbidité et de mortalité chez les patients (12). Ces complications sont dues à plusieurs paramètres tels que les toxicités associées au type de conditionnement, le déficit immunitaire prolongé et les lésions des organes et des tissus. Parmi ces complications, la GvHD, les infections post-greffe et la rechute de la maladie hématologique sous-jacente influencent la réussite du traitement par allo-CSH (13, 14).

2. Procédure de l'allo-CSH

L'allo-CSH est réalisée en plusieurs étapes qui sont représentées schématiquement ci-dessous (Figure 1).

a. Conditionnement

L'allo-CSH est précédée d'un conditionnement qui détruit ou réduit les cellules tumorales du receveur par l'administration d'une chimiothérapie et/ou d'une radiothérapie, avant de transplanter le greffon d'un donneur, avec pour but d'éviter le rejet du greffon et de favoriser la prise de greffe (15). Les conditionnements ont généralement été classés ainsi : myélo-ablatifs, à intensité réduite et non myélo-ablatifs. En effet, le conditionnement myélo-ablatif consiste en l'administration d'agents alkylants avec ou sans irradiation corporelle totale. Son utilisation est limitée chez les patients âgés et /ou présentant des morbidités. Le conditionnement à intensité réduite est caractérisé par une myélo-suppression transitoire, avec une dose d'agents alkylants ou de radiothérapie généralement réduite de $\geq 30\%$ par rapport au conditionnement myélo-ablatif, permettant leur utilisation chez les patients âgés ou ayant de nombreuses comorbidités (16,17). Plus récemment, des conditionnements myélo-ablatifs à toxicité réduite ont été mis en place qui peuvent être utilisés chez les patients âgés et/ou ayant des comorbidités, même s'ils présentent des propriétés myélo-ablatives (18).

b. Choix des donneurs

Le greffon de cellules souches (CS) est administré à partir d'un donneur approprié sélectionné sur la base de l'appariement des antigènes leucocytaires humains (HLA). Le système HLA est un système comprenant plus de 200 gènes situés sur une région du bras court du chromosome 6 et divisée en 3 parties, le HLA de classe I, II et III (19). La compatibilité entre donneur et receveur pour les molécules HLA de classe I (exprimées par une grande majorité des cellules nucléées de l'organisme et par les plaquettes) et classe II HLA-DRB1 et HLA-DQB1 (exprimées par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA), les lymphocytes B (LB) et les lymphocytes T (LT) activés) joue un rôle capital dans le bon déroulement de l'allo-CSH en respectant une histocompatibilité 10/10 (2 allèles A, B, C, DRB1 et DQB1) (19,20).

Il existe plusieurs types de donneurs, les donneurs apparentés au receveur géno-identiques (frères, sœurs), avec une compatibilité HLA 10/10 sont la référence lors de la réalisation de l'allo-CSH (21). Cependant, moins de 30% des patients disposent d'un donneur HLA-géno-identique. En l'absence d'un donneur familial HLA géno-identique, il existe des donneurs apparentés haplo-identiques qui partagent avec le patient une seule copie identique du chromosome 6 contenant le locus HLA. Ces donneurs sont les parents, les enfants ou les frères et sœurs, mais également des membres de la famille plus éloignés des patients et qui partagent

le même haplotype avec une compatibilité au moins de 5/10 (22). Enfin, en l'absence de donneur familial, les donneurs non-apparentés au receveur sont recherchés dans un registre international qui dénombrait en 2022 plus de 40 millions de donneurs (23).

En dehors de la compatibilité du HLA, l'âge du donneur, le sexe, le groupe sanguin et le statut CMV sont aussi pris en compte pour le choix du donneur (24).

c. Sources de greffon

Il existe plusieurs sources de greffons. Les greffons de cellules souches peuvent être obtenus à partir de la moelle osseuse (MO) ou du sang périphérique (CSP) après mobilisation par injection de facteurs de croissance (Granulocyte Colony-Stimulating Factor ou G-CSF) (25). La facilité de recueil de CSP ainsi que leur richesse en CSH expliquent leur utilisation majeure comme source de greffon en France. En outre, les unités de sang de cordon ombilical (UCB) peuvent également être utilisées comme source de greffe mais restent très minoritaires.

d. Indication

Initialement, l'allo-CSH était indiquée dans le traitement des hémopathies malignes (88% des allo-CSH), notamment la leucémie myéloïde aiguë (LAM), la leucémie lymphoïde aiguë, et d'autres hémopathies malignes. L'allo-CSH est également indiquée dans des pathologies bénignes, telles que l'aplasie médullaire, les déficits immunitaires primitifs, la thalassémie ou la drépanocytose (10).

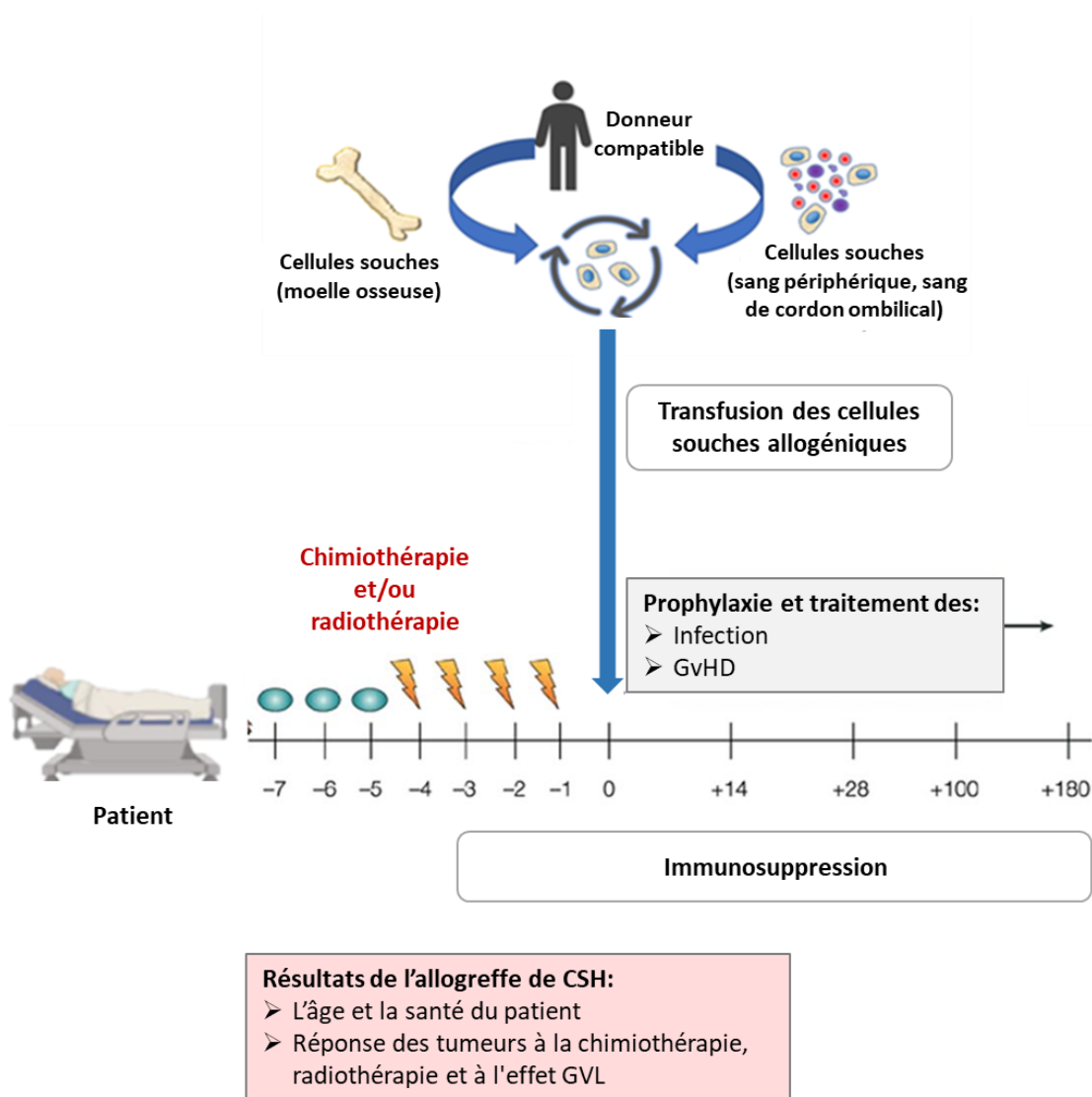


Figure 1. Procédure de l'allogreffe de CSH

e. Complications de l'allo-CSH

Malgré les progrès réalisés dans le domaine de l'allo-CSH, il existe toujours des complications à court et long terme qui augmentent la mortalité et la morbidité liée à l'allo-CSH, comme les infections post-transplantation schématisées dans la (Figure 2), la GvHD aiguë et chronique (qui seront détaillées dans le chapitre II de cette introduction). Le rejet de greffe reste une complication rare après allo-CSH.

Pendant la période d'aplasie avant la prise de greffe, les infections bactériennes (cocci gram positif, bacilles gram négatif) et fongiques (*Candida spp.* et *Aspergillus spp.*) sont fréquentes, en lien avec la neutropénie après transplantation et avec la rupture de la barrière cutanée suite

au conditionnement (26,27). La majorité des infections bactériennes peut être prévenue par l'utilisation d'antibiotiques prophylactiques. Ainsi, la prévention des infections fongiques est nettement préférable en raison de la difficulté à traiter les infections établies (28).

Les infections virales, notamment par le virus de l'herpès simplex peuvent survenir entre une à deux semaines après la transplantation chez 80% des patients séropositifs qui ne reçoivent pas de prophylaxie par acyclovir, provoquant des lésions muco-cutanées de l'oropharynx, de l'œsophage ou de l'appareil génital (28).

Puis, au cours des 3 premiers mois après allo-CSH, les infections sont principalement liées à l'affaiblissement de l'immunité à médiation cellulaire et au développement d'une GvHD. Les agents infectieux courants pendant cette période sont les herpès virus, en particulier le cytomégalovirus (CMV) et le virus Epstein Bar (EBV). Les autres agents pathogènes dominants durant cette phase sont *Pneumocystis jiroveci* et les espèces d'*Aspergillus* (29) .

Dans les temps plus tardifs après l'allo-CSH, les patients restent toujours très exposés au risque d'infections. Les infections virales peuvent être associées à des taux élevés de mortalité en raison de la reconstitution des LT altérée, qui peut persister pendant des mois, voire des années, après allo-CSH (30). Les agents pathogènes fréquemment rencontrés sont le CMV, le virus de la varicelle et du zona (VZV) qui peuvent également être à l'origine d'infections pulmonaires (28). Le CMV est l'agent pathogène viral le plus fréquemment associé aux infections des voies respiratoires, l'infection par le CMV restant une cause importante de morbidité et de mortalité dans la période post-transplantation tardive (31). De plus, le risque d'infection bactérienne par des bactéries encapsulées (par exemple *Streptococcus pneumoniae*) est important (32).

Les facteurs de risque d'infection incluent les caractéristiques individuelles comme par exemple, l'indication de l'allo-CSH et le statut de la maladie au moment de la greffe, les infections antérieures, le statut sérologique CMV, l'histocompatibilité donneur/hôte, le type de greffe, la source de greffon, l'intensité du conditionnement et la prise de greffe des neutrophiles ou encore la présence ou l'absence de GvHD. Par ailleurs, le traitement de la GvHD par la corticothérapie et des agents immunosuppresseurs renforce l'immunodépression du patient et augmente les risques d'infections (32).

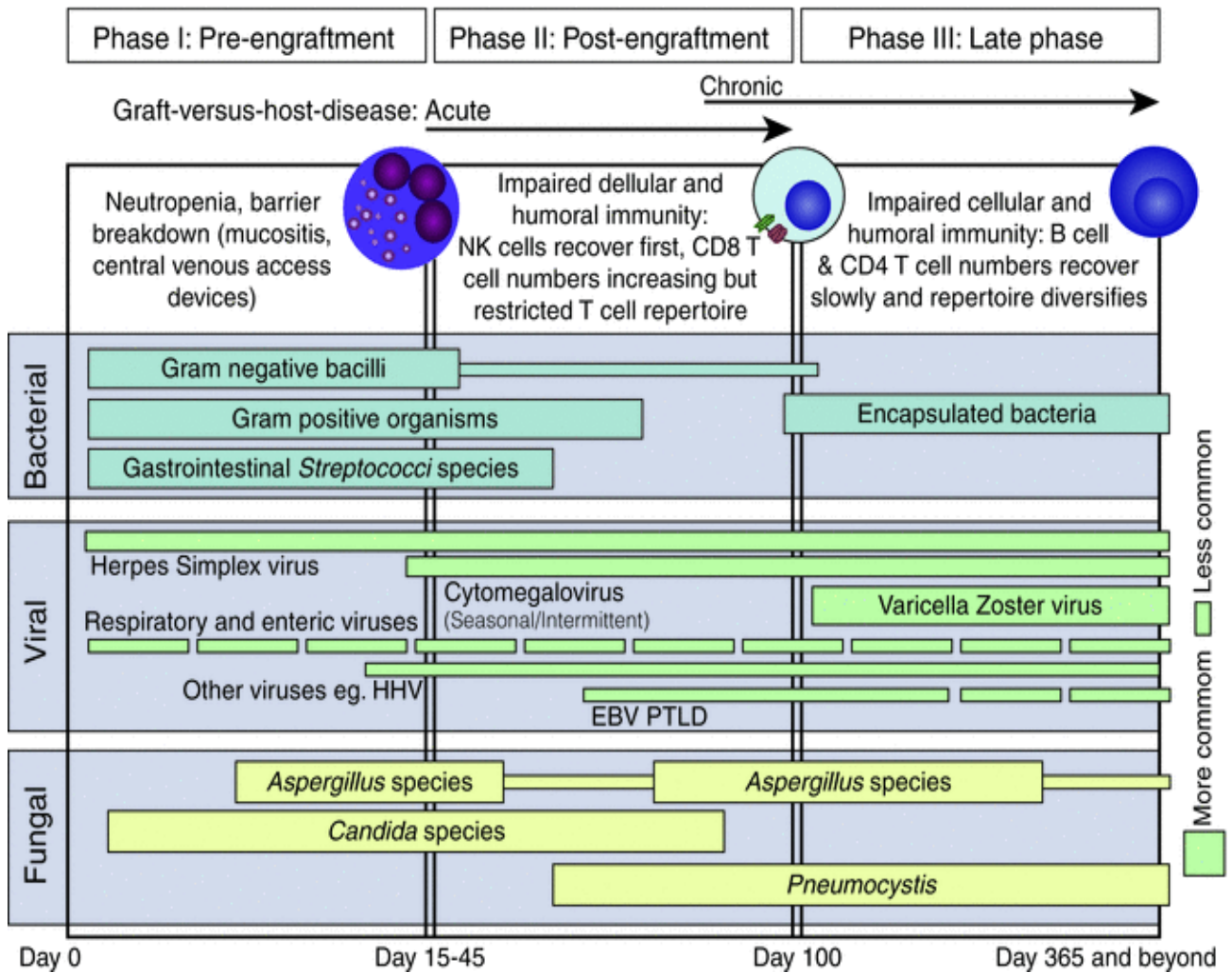


Figure 2. Risque des infections après allo-CSH
 Tomblyn *et al.* Biol Blood Marrow Transplant 2009

II. Effet anti-leucémique de l'allo-CSH

1. Principe

L'effet anti-leucémique de l'allo-CSH repose à la fois sur la cytotoxicité antitumorale du conditionnement et sur un effet immunologique. En effet, dans le contexte de l'allo-CSH, les cellules immunitaires transplantées provenant du donneur forment un nouveau système immunitaire fonctionnel chez le patient qui va reconnaître et détruire les cellules tumorales, c'est l'effet « Graft *versus* Leukemia » (GvL) qui peut être contrebalancé par la GvHD (33) (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Les mécanismes physiopathologiques et les traitements de la GvHD seront détaillés dans le chapitre suivant.

La première suggestion de l'effet GvL a été décrite dès 1956, dans un modèle de transplantation chez la souris, où les cellules leucémiques étaient éliminées par la MO lorsque l'irradiation était retardée (1). Cela a conduit à l'idée que les LT de la MO du donneur pouvaient être responsables de l'éradication de la leucémie. Cette observation a été appliquée à la clinique en 1965 par Mathé *et al.* qui a montré que les cellules leucémiques dans le cas de l'allo-CSH étaient éliminées par l'effet GvL (34). En 1990, Kolb *et al.* a apporté une preuve directe de l'effet GvL en obtenant des résultats favorables après l'administration de lymphocytes du donneur (DLI « donor lymphocyte infusion ») au moment de la rechute d'une leucémie après allo-CSH (35). Ces travaux initiaux ont montré le rôle prépondérant des LT, mais de nombreux travaux par la suite ont également montré le rôle de toutes les cellules immunitaires pouvant contribuer à la réponse GvL, notamment les cellules Natural Killer (NK), les LT non conventionnels, les LB et les cellules dendritiques (36).

Les antigènes ciblés par l'effet GvL sont essentiellement des antigènes mineurs d'histocompatibilité et des peptides polymorphiques présentés par les molécules HLA des cellules du receveur. Lorsque les LT sont activés par un antigène mineur d'histocompatibilité exprimé uniquement à la surface des cellules hématopoïétiques du receveur, seul l'effet GvL est induit sans promouvoir de GvHD (37).

Des études ont montré que la production d'anticorps dirigés contre des antigènes exprimés sur le chromosome Y de patients masculins allogreffés avec un donneur féminin est également associée à l'effet GvL, à une diminution du risque de rechute et à une augmentation du risque de GvHD chronique (38). Le résultat clinique sera donc dépendant de cette balance entre l'effet GvHD et GvL comme schématisé sur la (Figure 3) (39).

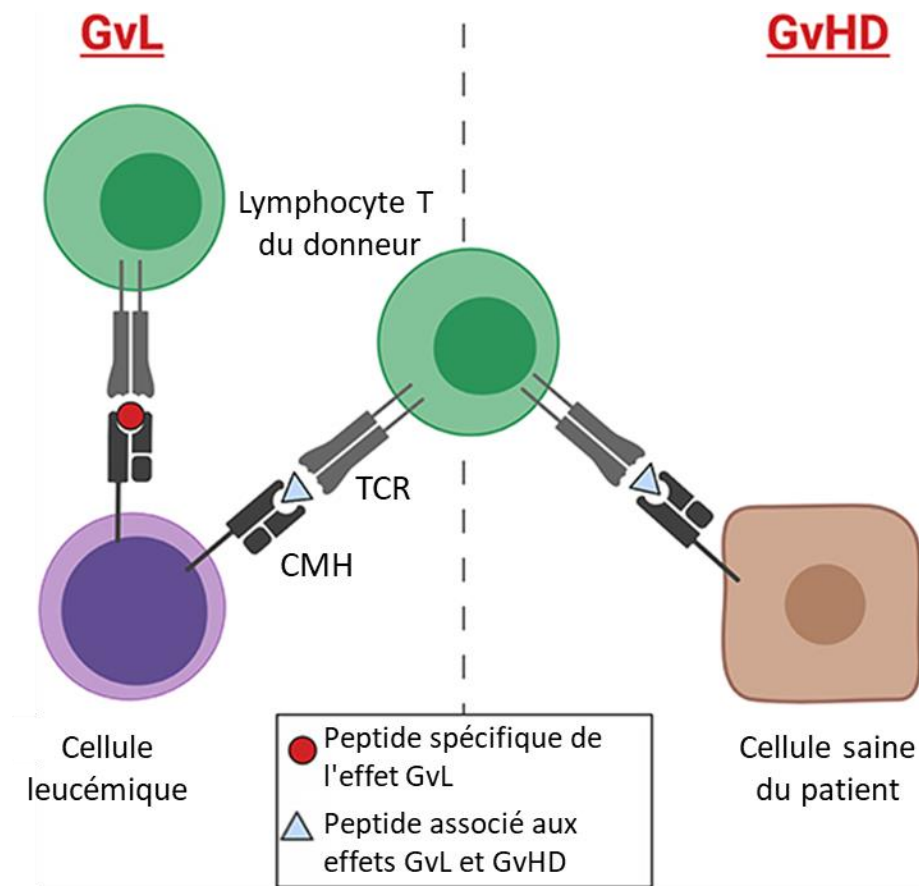


Figure 3. Schéma des effets GvL/GvHD

Modifié d'après Sweeney *et al.* *Frontiers in oncology* 2019

2. Prévention et traitements de la rechute

L'allo-CSH est le traitement de consolidation standard pour les patients atteints de LAM à risque intermédiaire ou élevé. Cependant, une proportion significative de patients atteints de LAM rechutent après allo-CSH (40). Si un effet GvL efficace peut être obtenu dans le cadre de l'utilisation de DLI qui peut produire une rémission chez 29 % des patients atteints de LAM qui rechutent après allo-CSH (41,42), le pronostic pour ces patients reste sombre, avec une probabilité de survie à long terme inférieure à 20% d'où la nécessité de stratégies thérapeutiques post-transplantation pour réduire le risque de rechute (43).

Le traitement d'entretien après allogreffe a donc été développé dans le but d'exploiter un effet anti-leucémique direct et/ou renforcer l'effet GvL sans augmenter le risque de GvHD (44). La

stratégie optimale dépend de la disponibilité du donneur, des caractéristiques du patient et de la maladie, et des avantages du traitement par rapport à la mortalité liée au traitement.

L'association de DLI avec un agent hypométhylant (AHM) tel que l'azacitidine, semble être un traitement prophylactique efficace contre la rechute dans la LAM (45). En effet, les AHM et notamment l'azacitidine et la décitabine, constituent des traitements de prévention de la rechute post-transplantation, des données précliniques suggérant que l'azacitidine peut potentiellement renforcer l'effet GvL sans exacerber la GvHD (46). En effet, il a été démontré que les AHM augmentent l'expression des antigènes tumoraux, des antigènes HLA de classe I et des molécules de costimulation sur les cellules tumorales (47,48). Ces changements renforcent la capacité des LT allogéniques à reconnaître les cellules leucémiques et les éliminer. Cependant, une étude prospective randomisée de phase III n'a pas montré de bénéfice sur la survie sans rechute d'un traitement par azacitidine (49).

D'autres traitements tels que les inhibiteurs de FLT3 semblent être efficaces pour réduire le risque de rechute de la LAM avec la mutation FLT3-ITD, comme le sorafénib, un inhibiteur pan-kinase inhibiteur de FLT3 et qui est la première thérapie ciblée à s'avérer efficace en prévention de la rechute de la LAM après allo-CSH (50). D'autres thérapies tels que celles ciblant la mutation du gène suppresseur de tumeur TP53 constituent une autre possibilité, ces mutations étant fréquentes chez les patients atteints de LAM (51).

Cependant, la capacité des cellules leucémiques à échapper à la détection ou à la destruction par les LT pourrait être à l'origine des rechutes post-transplantation, et une meilleure compréhension de ces mécanismes pourrait permettre d'augmenter l'effet GvL sans exacerber la GvHD (52). Pour cela, il est nécessaire de développer de nouvelles stratégies de maintenance post-allogreffe telles que l'utilisation du venetoclax, un inhibiteur de Bcl-2, qui sera détaillée dans la partie résultat.

III. La maladie du greffon contre l'hôte : description et mécanismes physiopathologiques

La maladie du greffon contre l'hôte après allo-CSH est un processus déclenché par une dérégulation du système immunitaire, conduisant à un dysfonctionnement des organes. La GvHD implique des mécanismes physiopathologiques complexes et multiples que nous présenterons dans ce chapitre (53).

Malgré des progrès importants en matière de sélection des donneurs, des régimes de conditionnement et de sources de greffons, la GvHD reste l'une des principales causes de morbidité et de mortalité liées à l'allo-CSH (54). Il est estimé qu'environ 50 % des patients ayant subi une allo-CSH développent un certain degré de GvHD (55). Les morbidités causées par la GvHD sont dues à plusieurs facteurs, notamment les lésions organiques et tissulaires, la suppression immunitaire due à l'utilisation prolongée de médicaments immunosuppresseurs et le risque accru d'infections qui en résulte (56).

La GvHD se présente classiquement sous une forme aiguë (GvHDa) et/ou chronique (GvHDc) (10). Historiquement, la GvHDa a été définie comme une manifestation survenant dans les 100 premiers jours suivant l'allo-CSH, tandis que la GvHDc se référait aux signes survenant après 100 jours (57). Toutefois, la distinction entre ces deux pathologies a été modifiée suite à la reconnaissance de signes cliniques de GvHDa et de GvHDc en dehors de ces périodes délimitées (Figure 4) (58).

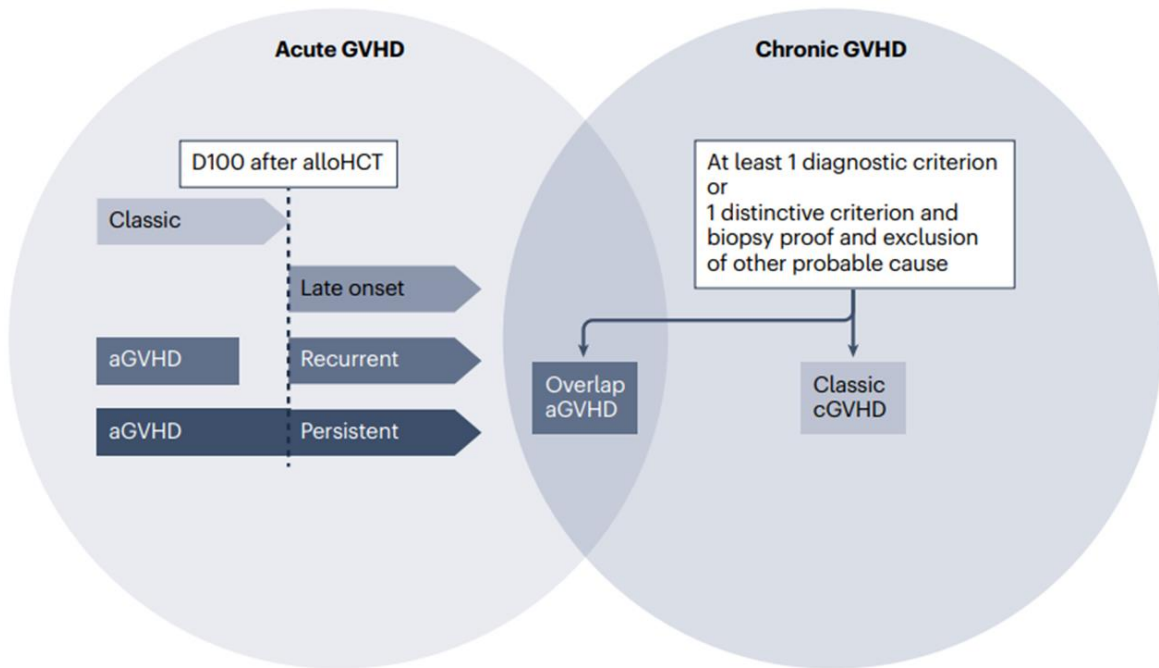


Figure 4. Classification de la GvHD aiguë et chronique
 Malard *et al.* Nature Reviews Disease Primers, 2023

Une meilleure compréhension de la physiopathologie de la GvHD et une prise en charge thérapeutique rapide et adaptée sont donc essentielles pour réduire les effets indésirables après allo-CSH.

1. GvHD aiguë

Le diagnostic de la GvHDA est basé sur l'évaluation des organes cibles par des analyses cliniques et biologiques. La GvHDA est la deuxième cause de décès après la rechute chez les patients ayant subi une allo-CSH (59). Les principaux organes cibles concernés sont la peau, le tube digestif et le foie. Les principaux signes cliniques sont une éruption cutanée, la diarrhée, les nausées et/ou vomissement, les douleurs abdominales et l'ictère. La GvHDA est classée en quatre grades de I à IV, selon la sévérité des atteintes d'organes, allant de légère à très sévère (60).

Il existe plusieurs facteurs de risques de GvHDA dont les principaux sont le degré d'incompatibilité HLA entre le donneur et le receveur et la prophylaxie de la GvHD utilisée. Les autres facteurs de risque comprennent aussi le type de greffon (utilisation de CSP), l'âge des patients et l'intensité du traitement de conditionnement (61).

La physiopathologie de la GvHDA est classiquement décrite en un processus en trois étapes principales définies par les travaux pionniers de Reddy et Ferrara dans des modèles murins et schématisées en (Figure 5) (62,63).

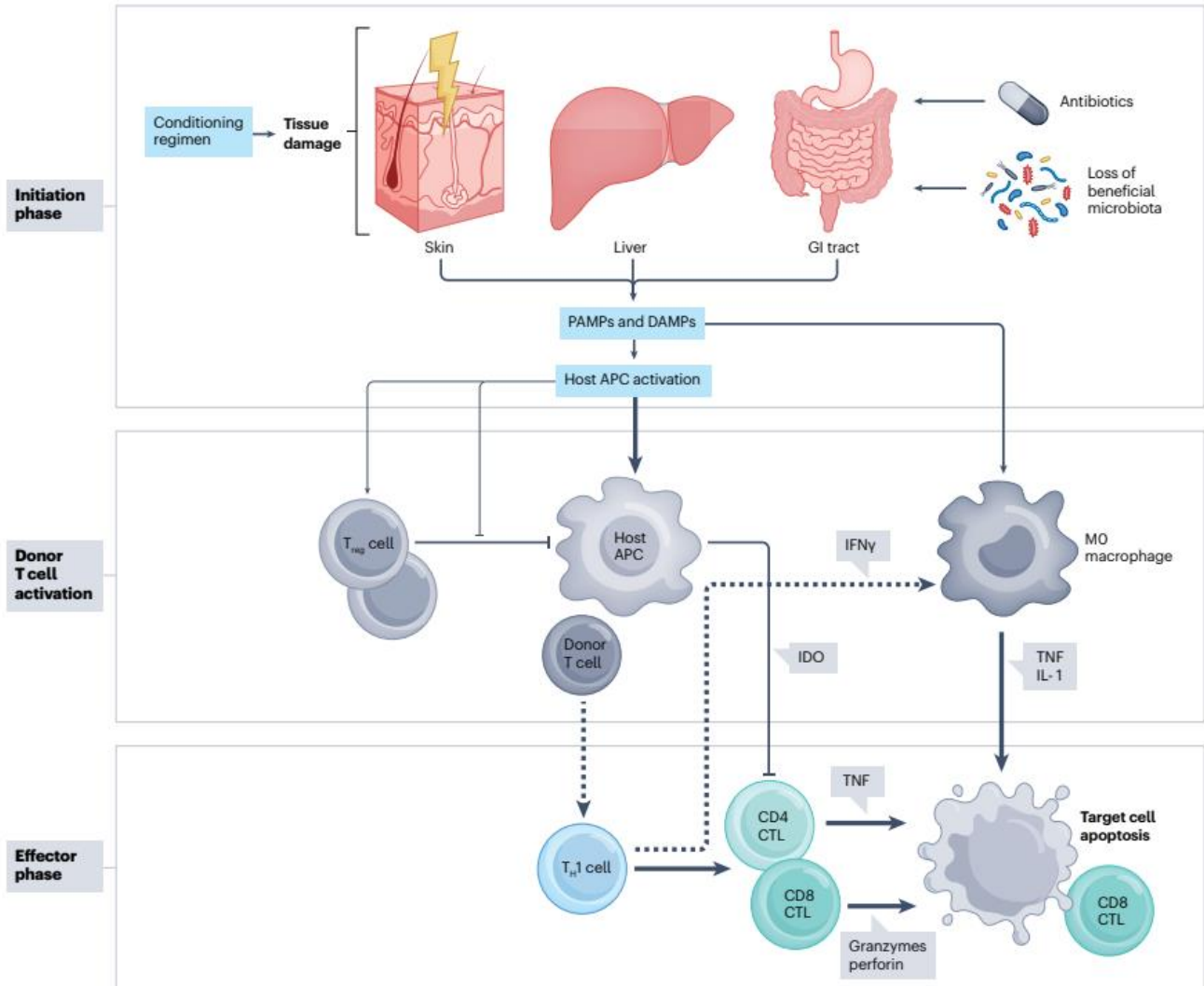


Figure 5. Physiopathologie de la GvHD aiguë
 Malard *et al.* Nature Reviews Disease Primers, 2023

- Phase 1 d'initiation : lésions tissulaires induites par le conditionnement

Des lésions tissulaires et une altération de l'intégrité intestinale induites par le conditionnement prégreffe entraînent la libération de molécules endogènes comme l'ATP, l'acide urique qui sont des motifs moléculaires associés au danger (DAMPs) (64,65), mais aussi des composants exogènes dérivés des bactéries qui transitent par la muqueuse intestinale ou la peau endommagée. Ces composés comprennent notamment des lipopolysaccharides (LPS) et des peptido-glycanes qui vont stimuler les monocytes/macrophages et DC via les récepteurs TLR

(Toll-like récepteurs)(66). Ces signaux endogènes et exogènes vont considérablement amplifier l'activation des CPA de l'hôte et provoquer la libération de cytokines inflammatoires créant un « orage cytokinique » et la production de facteur de nécrose tumorale (TNF- α), d'interleukine (IL) IL-1 β , IL-6, IL-12, et IL-23 qui vont activer les CPA de l'hôte et initier la cascade d'activation des effecteurs notamment les LT et cellules NK (67,68).

- Phase 2 : activation des cellules du système immunitaire

La stimulation des LT par les alloantigènes ou antigènes mineurs d'histocompatibilité présentés par les CPA favorise le développement d'une réponse dominée par les LT Th1 et Th17, et les LT cytotoxiques (CTL) (69–71). Les LT Th1 vont produire de l'IFN- γ qui va en retour promouvoir l'expression des molécules de classe I et classe II sur les cellules épithéliales et favoriser leur destruction par les cellules effectrices au cours de la dernière phase.

- Phase 3 : Amplification des fonctions effectrices

Durant cette dernière phase, une boucle d'amplification des réponses effectrices a lieu, les médiateurs cellulaires, tels que les CTL et les cellules NK, induisent des lésions de l'épithélium des tissus cibles (72,73). De plus, les cellules myéloïdes sont aussi activées et produisent des cytokines inflammatoires, ce qui aggrave les lésions tissulaires et peut entraîner un dysfonctionnement des organe cibles (37).

- **Prophylaxie et traitement de la GVHDa**

La prophylaxie de la GVHDa se fait classiquement par l'utilisation d'immunosuppresseurs au cours du conditionnement et aux temps précoces après la greffe. Un inhibiteur de la calcineurine tel que la ciclosporine, et un antimétabolite, le méthotrexate ou mycophenolate mofetil, sont utilisés chez la majorité des patients recevant des greffes allogéniques (74). L'administration de sérum anti-lymphocytaire dans le conditionnement de l'allo-CSH contribue également à la prévention de la GvHDa (75). Plus récemment, l'utilisation de cyclophosphamide post-greffe, développé initialement dans les greffes haploidentiques, s'est élargie aux autres greffes (76).

Le traitement de première ligne de la GvHDa repose toujours sur l'administration de corticoïdes systémiques. Pour les patients avec une GVHDa résistante à la corticothérapie, le ruxolitinib, un inhibiteur de Jak2, a récemment montré sa supériorité par rapport au meilleur traitement disponible dans une large étude randomisée de phase 3 (77). En revanche le traitement de la GVHDa résistante à la corticothérapie et au ruxolitinib demeure un besoin médical non satisfait. La (Figure 6) illustre les différentes stratégies de traitement de GvHD aiguë (78) .

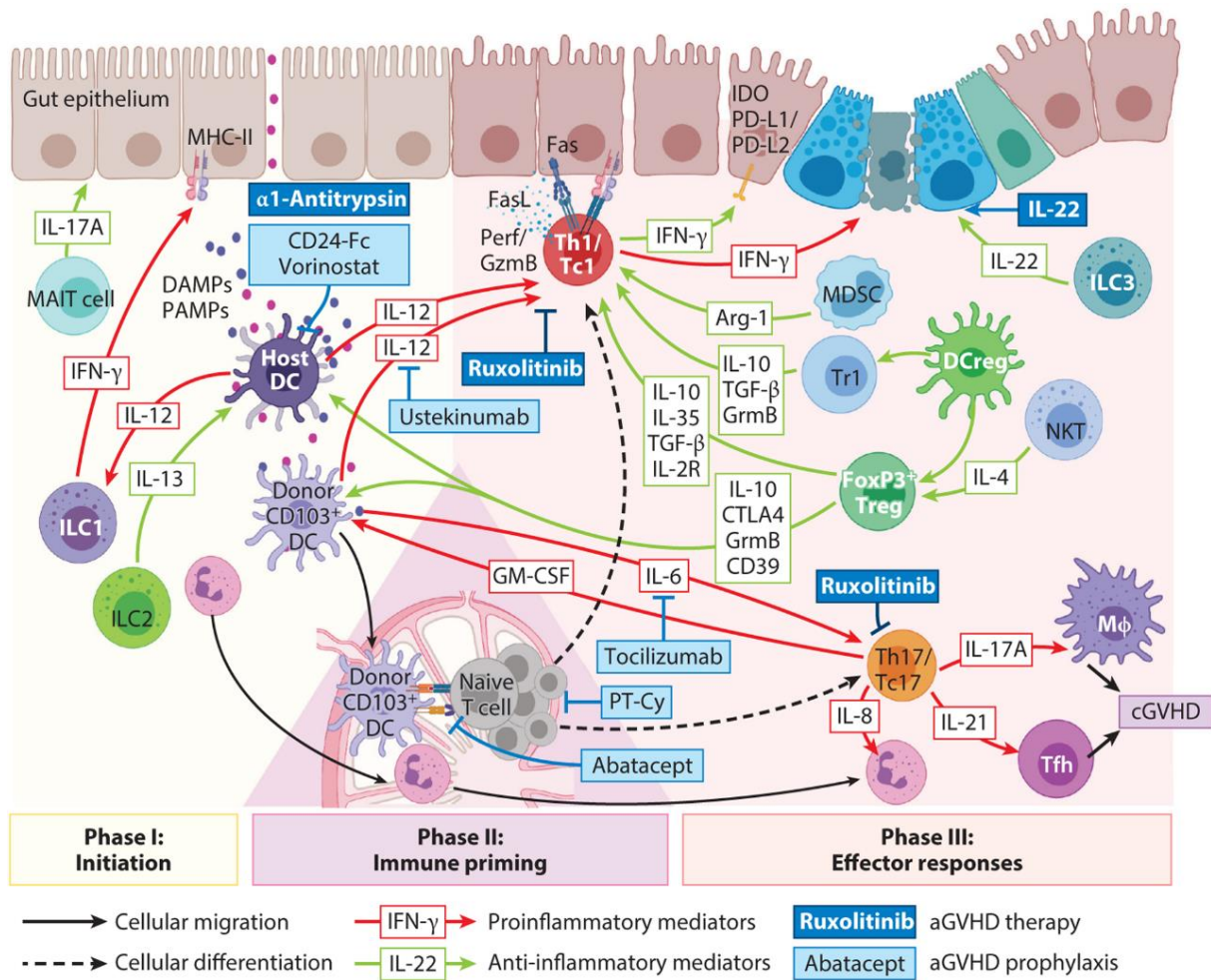


Figure 6. Pathogénèse et traitement de la GvHD aiguë

Hill et al. Annu Rev Immunol 2021

2. GvHD chronique

La GvHD chronique est également une complication majeure de l'allo-CSH, survenant chez environ 50 % des patients (79). La GvHDc se distingue par une réparation aberrante des tissus avec une formation caractéristique de fibrose (80), les manifestations cliniques de la GvHDc ressemblent à celles de plusieurs syndromes auto-immuns bien connus, tel que la sclérodémie, le lupus érythémateux ou encore la cirrhose primitive ce qui suggère des similitudes physiopathologiques (81). La GvHDc est caractérisée par des atteintes cutanées, hépatiques, buccales, et oculaires. Elle est la principale cause de mortalité sans rechute tardive après une allo-CSH. La GvHDc est associée à une diminution de la qualité de vie, à une altération des capacités fonctionnelles et à l'administration prolongée de médicaments immunosuppresseurs

(82,83). Selon les critères de consensus de 2014 du National Institute of Health (NIH), la GVHDc est classée en légère, modérée et sévère en se basant sur la gravité de la maladie pour chacun des organes concernés (84).

Les principaux facteurs de risque de la GVHD chronique sont un antécédant de GvHDA, l'incompatibilité HLA entre donneurs et receveurs, un donneur féminin pour un receveur masculin, un âge plus avancé du patient, un conditionnement de haute intensité et l'utilisation de CSP comme source de greffon et l'administration de DLI (85).

La physiopathologie de la GVHDc est très différente de la GvHDA et fait intervenir des anomalies des fonctions des LT et de l'homéostasie des lymphocytes B.

Le traitement de première ligne est la corticothérapie (1mg/kg/24h), l'utilisation de corticostéroïde à long terme est souvent associée à de nombreux effets secondaires, ce qui justifie le passage à une seconde ligne de traitement. Comme pour la GVHD aiguë, dans le cas d'une GVHDc résistante aux corticoïdes, le ruxolitinib, a également montré sa supériorité par rapport au meilleur traitement disponible dans une large étude randomisée de phase 3 (86).

IV. Reconstitution immunitaire après allo-CSH

La reconstitution immunitaire après allo-CSH est un facteur déterminant dans l'évolution clinique, la majorité des paramètres liés à l'allo-CSH, la GvHD, les infections et la rechute étant dépendants de la reconstitution des cellules immunitaires.

En raison du conditionnement de la greffe, les receveurs d'allo-CSH connaissent une période de neutropénie (87), 49). Les neutrophiles représentent le premier type de cellules immunitaires à se reconstituer après environ 2 semaines (88–90) (Figure 7).

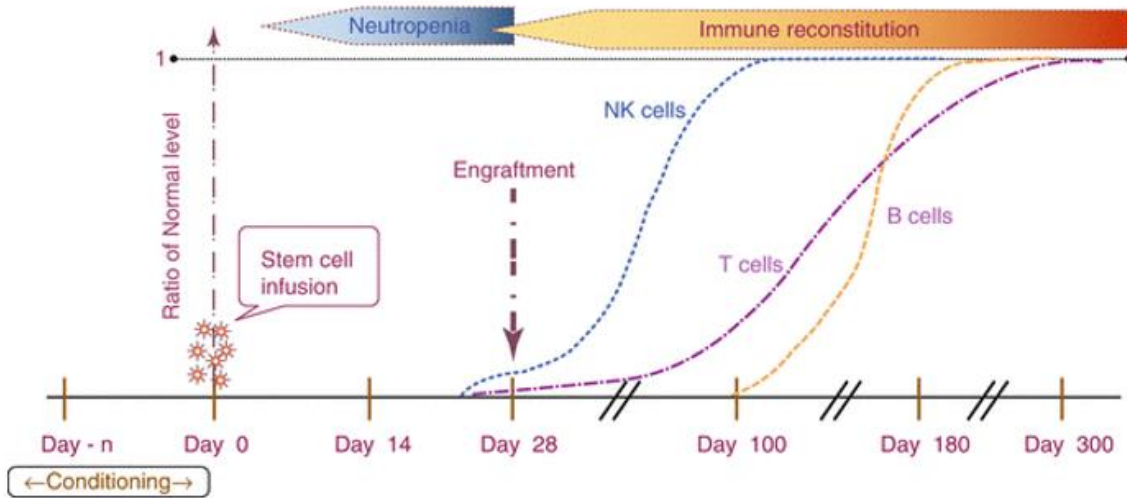


Figure 7. Reconstitution immunologique après allo-CSH
Talekar MK *et al.* Hematopoietic stem cell transplantation
for the pediatric hematologist/oncologist 2018

1. Les Cellules NK

Les cellules NK se rétablissent rapidement après allo-CSH (91). Cependant, les premières cellules NK qui se reconstituent présentent principalement un phénotype immature différent de celui présent dans le sang périphérique chez les adultes sains (92). La reconstitution quantitative des cellules NK se produit généralement un mois après la greffe, mais le déséquilibre proportionnel des cellules NK peut se poursuivre jusqu'à un an (93). Même si la récupération fonctionnelle des cellules NK après allo-CSH est retardée, les cellules NK jouent un rôle dans la réduction des rechutes et la protection contre la GvHD et dans l'immunité contre les

infections après allogreffe, avant le rétablissement de la réponse immunitaire adaptative (94) (95) .

2. Les lymphocytes T

Contrairement à la récupération rapide des cellules immunitaires innées, la reconstitution des cellules immunitaires adaptatives, en particulier les LT est un processus de longue durée, ce qui signifie que les receveurs d'allo-CSH connaissent une période d'immunodéficience associée à un risque accru d'infections et de rechute (96).

La reconstitution des sous-populations de LT se fait dans les premiers mois par l'expansion périphérique des cellules matures présentes dans le greffon (97). Cette prolifération des LT homéostatique se produit au début de la période post-greffe, en réponse aux cytokines telles que l'IL-7 et IL-15 (98), (99). Il en résulte une prolifération de LT polyclonaux avec un répertoire de récepteurs de cellules T (TCR) restreint et une spécificité antigénique limitée, ou avec une alloréactivité pouvant provoquer une GvHD (100).

Dans un second temps, la reconstitution des LT se fait via la production thymique de LT naïfs. et permet la reconstitution d'un répertoire de LT plus large (101). Les LT CD4⁺ présentent une récupération lente après allo-CSH contrairement aux LT CD8⁺ qui se développent relativement rapidement et peuvent dépasser transitoirement les niveaux normaux en l'espace d'un an), ce qui se traduit par un rapport CD4/CD8 inversé qui peut persister pendant plusieurs années (102). La reconstitution des LT chez les receveurs d'allo-CSH âgés est retardée en raison de l'involution progressive du tissu thymique au cours du vieillissement (97). En outre, chez les patients souffrant de GvHD, une diminution de la production de LT est observée en raison des lésions thymiques liées à la GvHD et aux immunosuppresseurs (103).

Une récupération quantitative et fonctionnelle défectueuse des LT, en particulier des LT CD4⁺, a été directement liée à des risques accrus d'infections opportunistes, de rechute de l'hémopathie sous-jacente et à des résultats cliniques globalement défavorables (104).

Le schéma de reconstitution des lymphocytes T régulateurs (Treg) est influencé par l'étendue de la lymphopénie des LT CD4⁺ ainsi que par l'incidence et la sévérité de la GvHD (105,106). En effet, les lymphocytes Treg inhibent l'activation des LT effecteurs, et favorise l'homéostasie après allo-CSH (107). Les Treg jouent un rôle favorable chez les patients traités par allo-CSH en réduisant le risque de GvHD sans affecter l'effet GvL (108,109).

Il y a donc un intérêt considérable à développer des approches pour évaluer la quantité et la qualité des LT au cours des différentes formes d'immunothérapie afin de guider l'orientation

du traitement, de surveiller les réponses immunitaires et finalement identifier des biomarqueurs fonctionnels pour prédire les résultats cliniques.

3. Les lymphocytes B

Les LB sont presque indétectables au cours des deux premiers mois suivant l'allo-CSH, et les rares cellules présentes sont généralement d'origine du donneur (110). La reconstitution des LB après allo-CSH se fait principalement par régénération *de novo* à partir des progéniteurs de la moelle osseuse, l'expansion périphérique des LB matures dérivés du donneur étant considérée comme moins importante (111,112).

La récupération initiale des LB après allo-CSH rappelle l'ontogenèse des LB (112). Les LB transitionnels CD19⁺CD21^{low}CD38^{hi} sont les premiers à émerger après allo-CSH puis diminuent au cours des 12 premiers mois à mesure que la proportion de LB naïfs CD19⁺CD21^{hi}CD27⁻ matures augmentent (113). La récupération de la production d'IgM se produit en premier, suivie par la récupération de la production de la sous-classe d'IgG dans un délai entre 3 à 12 mois après l'allo-CSH (114,115). Le nombre de LB revient généralement à des niveaux normaux dans les 12 mois qui suivent l'allo-CSH. Cependant, même lorsque le nombre total de LB se rétablit, la reconstitution fonctionnelle de LB prend généralement 1 à 2 ans après allo-CSH (110).

Au cours de la première période suivant l'allo-CSH, en raison du manque d'aide des LT, les LB mémoires présentent une diversité limitée du répertoire de la région 3 déterminant la complémentarité de l'IgH par rapport aux LB naïfs (116). Il a ainsi été démontré que la récupération des LB mémoires était corrélée avec une bonne fonction humorale *in vivo* (117). La reconstitution des LB peut être retardée par un certain nombre de facteurs tels que les schémas de conditionnement, l'irradiation corporelle totale, le traitement par corticostéroïdes et la GvHD qui ont un impact négatif sur la reconstitution des LB (118). L'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-CD20 tels que le rituximab, retarde également de manière significative la reconstitution des LB (119).

A côté des lymphocytes conventionnels, il existe également les lymphocytes T dits non conventionnels, sur lesquels va se focaliser ce travail de thèse, et qui sont traités dans un chapitre dédié dans ce manuscrit.

V. Les lymphocytes T non conventionnels

La réponse du système immunitaire contre un agent pathogène fait intervenir l'immunité innée et l'immunité adaptative, qui sont différenciées selon le délai d'intervention, la spécificité contre un antigène et la mémoire immunitaire. Les lymphocytes T non conventionnels sont à l'interface entre ces deux types d'immunité (120) (Figure 8).

Contrairement aux LT conventionnels qui reconnaissent des peptides antigéniques présentés par les molécules classiques du complexe majeur d'histocompatibilité CMH de classe I (CMH-I) ou II (CMH-II), les LT non conventionnels expriment des TCR activés par des motifs antigéniques présentés par les molécules non classiques du CMH et exercent des fonctions effectrices des LT ou peuvent également avoir une fonction de type innée en répondant de façon rapide et non spécifique.

Les LT non conventionnels correspondent d'une part aux lymphocytes T Natural Killer invariants (iNKT), les lymphocytes invariants associés aux muqueuses (MAIT) et les lymphocytes T $\gamma\delta$.

Les lymphocytes iNKT sont des lymphocytes T rares ayant des fonctions immunomodulatrices, et qui expriment un TCR $\alpha\beta$ semi-invariant (V α 24-J α 18 associé à V β 11) reconnaissant des antigènes lipidiques présentés par les molécules CD1d (121). En général, leur fréquence est plus faible dans le sang humain (environ 0,01-0,1 %) que dans le sang de souris (0,2-0,5 % chez la souris), et leur fréquence est variable dans les tissus (122,123). Les iNKT jouent un rôle important dans de nombreuses réponses immunitaires et sont capables de sécréter de grandes quantités de cytokines lors de l'activation, de manière dépendante ou indépendante du TCR (104).

Dans cette partie, nous présenterons plus en détail les LT TCR $\gamma\delta$ et les cellules MAIT qui ont fait l'objet des travaux de thèse.

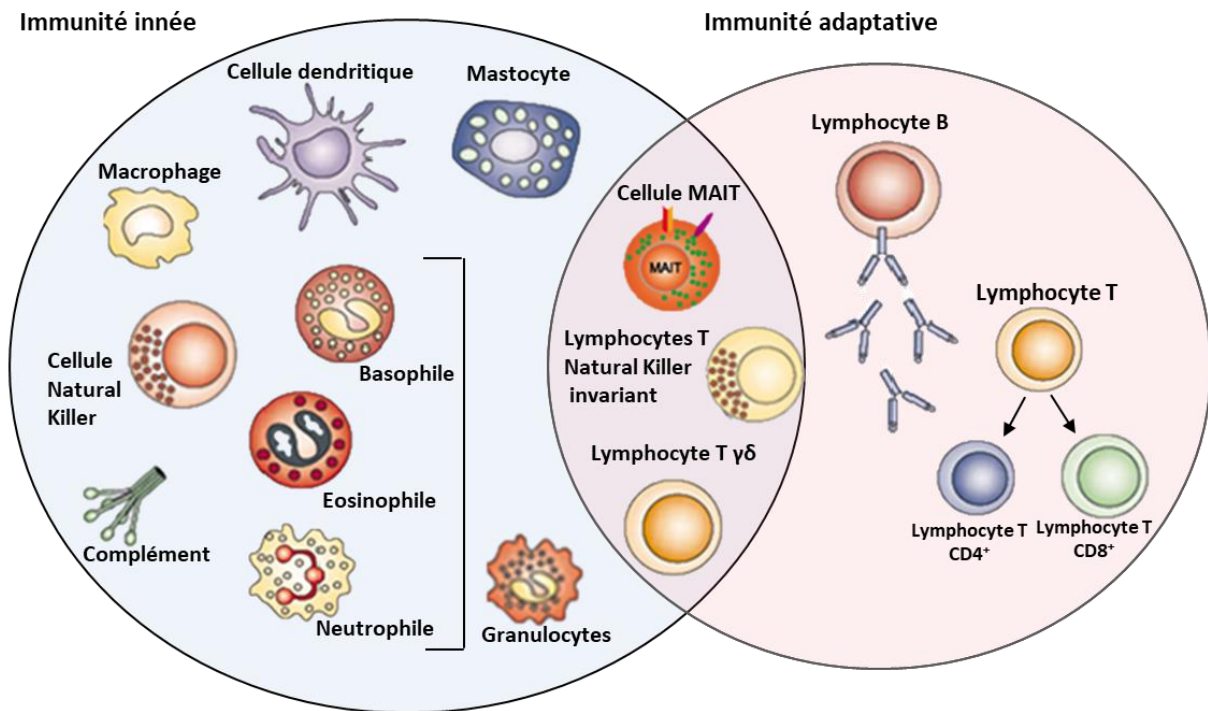


Figure 8. Des lymphocytes T à l'interface entre immunité innée et adaptative
 Modifié à partir de Dranoff et *al.* Nature Reviews Cancer 2004

1. Les cellules T invariantes associées aux muqueuses

En 1999, Tilloy *et al.* ont décrit pour la première fois les cellules T invariantes associées aux muqueuses (MAIT) (124). En 2010, leurs réponses à certains microbes ont été rapportées (125), (126), et plus tard en 2012, les antigènes qu'elles reconnaissent ont été caractérisés (127). Depuis ces développements, l'intérêt pour les cellules MAIT s'est rapidement accru et leur rôle a été étudié dans de nombreuses maladies comme l'auto-immunité, les troubles métaboliques et le cancer (128).

a. Caractéristiques des MAIT

Les cellules MAIT sont caractérisées par l'expression d'une chaîne alpha du récepteur des lymphocytes T (TCR α) semi-invariante (129). La majorité des cellules MAIT humaines expriment la chaîne TCR α V α 7.2-J α 33, bien que V α 7.2-J α 12 ou V α 7.2-J α 20 soient également utilisées par une minorité de cellules MAIT, associée de manière prédominante aux chaînes V β 2 ou V β 13 (130). Chez la souris, les cellules MAIT expriment V α 19-J α 33 qui sont appariées à V β 6 ou V β 8 (131,132).

b. Distribution et phénotype des cellules MAIT

Les cellules MAIT représentent jusqu'à 10 % de la population totale de LT dans le sang (133). Elles sont majoritairement CD8⁺ (70%), une fraction d'entre elles sont CD4-CD8⁻ (15%), et une minorité des MAIT sont CD4⁺ (132,134,135).

Dans le sang adulte, elles présentent un phénotype de type mémoire effectrice, CD45RO⁺, CD62L⁻, CD95⁺ et présentent un profil unique de récepteurs de chimiokines qui facilite leur migration vers les tissus périphériques (136), comme CCR2, CCR5, CCR6, CXCR6, CCR9, mais n'expriment pas CCR7 (130,137). Les cellules MAIT de souris sont CCR6^{+/-} CCR9^{+/-} CXCR6^{hi} mais négatives pour CCR4, CCR7, CXCR1, CXCR3 et CXCR4 (138). Dans le thymus et le sang de cordon ombilical, les cellules MAIT présentent un phénotype naïf et sont présentes en très petit nombre (139).

Les fréquences les plus élevées de cellules MAIT se trouvent dans le foie (45% des LT hépatiques), et sont enrichies dans les tissus et les muqueuses en contact avec l'environnement extérieur et le microbiote commensal (136). Il s'agit notamment de l'intestin, des poumons, de la peau, de la muqueuse buccale et du tractus génital féminin (140–143). Chez la souris, les cellules MAIT sont présentes à des fréquences beaucoup plus faibles que chez l'homme (144,145). La (Figure 9) donne un aperçu de la distribution tissulaire des cellules MAIT(146).

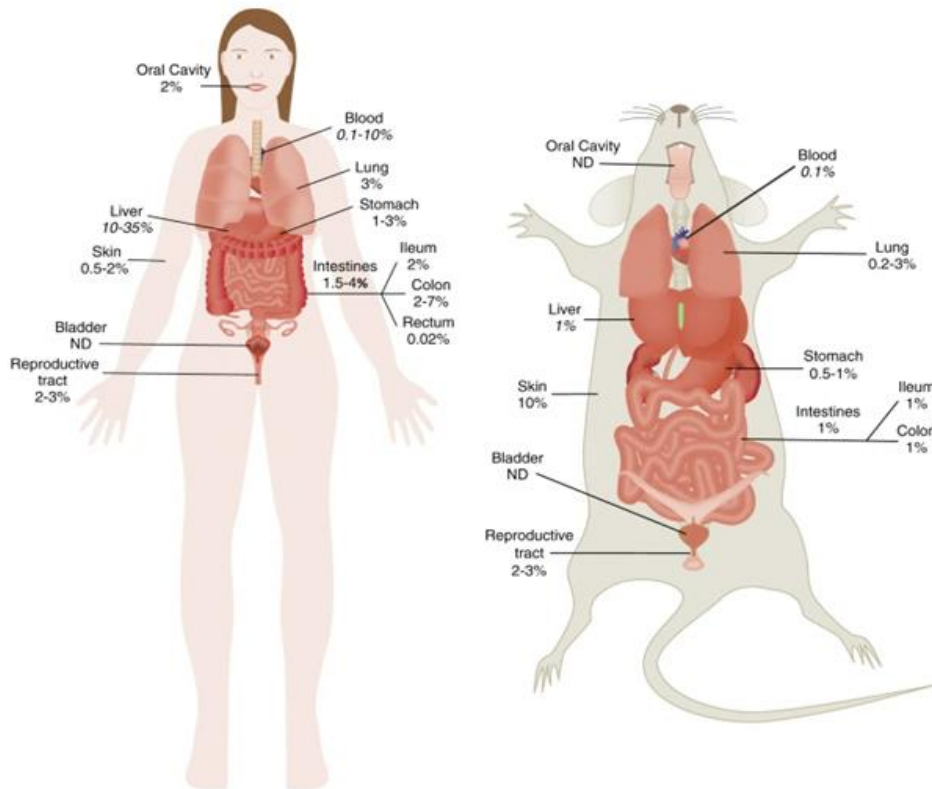


Figure 9. Distribution des cellules MAIT chez l'homme et la souris

Nel, et *al.* Mucosal immunology 2021

D'autre part, les cellules MAIT sont également identifiées par d'autres molécules de surface et facteurs de transcription (147) et notamment par l'expression élevée de CD161, un récepteur de lectine de type C exprimé aussi par la majorité des cellules NK et une proportion (~25%) des LT périphériques (148). CD161 est l'un des premiers marqueurs exprimés sur les cellules MAIT, dont le taux est déjà élevé dans le thymus et les organes fœtaux, ainsi que dans le sang du cordon ombilical (134,149). La molécule CD26, une dipeptidase qui peut cliver et inactiver un certain nombre de chimiokines, a été proposée pour identifier avec précision les cellules MAIT humaines réactives aux bactéries (150). En outre, les cellules MAIT expriment des niveaux élevés du récepteur IL-18R α (137), mais aussi d'autres récepteurs de cytokines, tels que IL-12R β , IL-23R et IL-7R α (151).

Les cellules MAIT humaines expriment le facteur de transcription PLZF (Promyelocytic leukemia zinc finger) et ROR γ t (retinoic acid-related orphan receptor gamma t). Conformément à leur phénotype naïf, de faibles niveaux de PLZF ont été observés dans le thymus fœtal (149), ce qui suggère que PLZF pourrait jouer un rôle dans le développement des cellules MAIT.

Parmi les cellules T CD8⁺, les cellules MAIT représentent la majorité des cellules exprimant ROR γ t (152). ROR γ t a été initialement décrit comme un facteur de transcription clé des cellules Th17, connu pour diriger le programme de différenciation de ces cellules et pour induire des gènes codant pour l'IL-17 (153). Une augmentation de l'expression du facteur de transcription T-bet (T-box expressed in T cells) a également été observée dans les cellules MAIT humaines stimulées par *E. coli* (154). Le Tableau 1 montre de manière schématique le phénotype des cellules MAIT chez l'homme et la souris (155).

Tableau 1. Caractéristiques des cellules MAIT chez l'homme et la souris

Toubal et al. Nature Reviews Immunology 2019

Feature	Human MAIT cells	Refs	Mouse MAIT cells
T cell receptor expression	V α 7.2-J α 33 V β 2, V β 13	2,20	V α 19-J α 33 V β 8.1, V β 8.2, V β 6
Percentage of total T cells	1–35%, depending on the tissue (blood 5%, oral mucosa 2%, lung 3%, spleen 1%, liver 35%, adipose tissue 2%, ileum 2%, colon 2–7%, female genital tract 2–3%)	11–19	0.01–5%, depending on the tissue and mouse strain (excluding transgenic mice) (blood 0.5%, lung 3%, spleen 0.08%, pancreatic lymph nodes 0.4%, liver 5%, adipose tissue 2%, ileum 1%, colon 1%)
Transcription factor expression	PLZF, ROR γ t, T-bet	4,35	PLZF, ROR γ t, T-bet
Activation and/or maturation marker expression	CD69, CD25, CD161, CD95, CD62L ^{low} , CD45RO, CD27	20,113	CD69, CD25, CD38, CD62L, CD44
Cytokine receptor expression	IL-7R, IL-12R, IL-15R, IL-18R, IFNAR	28,50	IL-7R, IL-12R, IL-15R, IL-18R
Chemokine receptor expression	CCR2, CCR5, CCR6, CCR9, CCR10, CXCR3, CX ₃ CR1, CXCR6	70,152	CCR2, CCR5, CCR6, CCR9, CXCR3, CXCR6
Cytokines produced	IFN γ , IFN α , TNF, IL-17A, IL-2, IL-4, IL-10, IL-22	5,16,50,73	IFN γ , TNF, IL-17A, IL-2, IL-4, IL-10, IL-13, IL-22, GM-CSF
Cytotoxic mediator expression	Granzyme A, granzyme B, granzyme K, perforin	34,70	Granzyme B, perforin
Natural killer cell and adhesion marker expression	PD-1, NKG2D, NKP80, NKP30, α L integrin, CD56, CD43, CD49a, CD103, CLA, α 4 β 1 integrin, PSGL1, sLex	18,70,91,98,113,153–156	NK1.1

CLA, cutaneous lymphocyte-associated antigen; GM-CSF, granulocyte–macrophage colony-stimulating factor; IFN, interferon; MAIT, mucosal-associated invariant T; PD-1, programmed cell death 1; PSGL1, P selectin glycoprotein ligand 1; sLex, sialyl–Lewis X motif; TNF, tumour necrosis factor. ^aA.T., B. Kiaz and A.L. unpublished data.

b.i. Les ligands de MR1

En 2003, Lantz et ses collègues ont montré que contrairement aux LT conventionnels, les cellules MAIT reconnaissent les antigènes présentés par la protéine MR1, qui est une molécule du CMH non classique, associée à la β 2-microglobuline (156), (157) .

Les cellules MAIT réagissent à une grande variété de bactéries, de mycobactéries et de levures et à certains virus (125,126,158). Les ligands présentés par MR1 comprennent des dérivés de la vitamine B9 (folate) ainsi que des intermédiaires pyrimidiques relativement instables dérivés de la voie de synthèse de la vitamine B2 (riboflavine). Alors que les dérivés du folate, tels que le 6-FP (6-formylptérine), peuvent inhiber l'activation des cellules MAIT, les dérivés de la voie

de la riboflavine, tels que le 5-(2-oxopropylideneamino)-6-d-ribitylaminouracil (5-OP-RU) les activent (158,159). L'activation des cellules MAIT par des espèces microbiennes se fait uniquement par la voie de la riboflavine intacte, et les organismes qui sont dépourvus de cette voie n'activent pas les cellules MAIT (127).

b.ii. Activation des cellules MAIT

Les cellules MAIT possèdent un phénotype de cellules effectrices, et peuvent être activées soit par le TCR, soit de manière indépendante du TCR par des cytokines inflammatoires. Les cellules MAIT sont activées par le déclenchement de la cascade d'activation du TCR pendant une infection bactérienne qui permet la synthèse de la riboflavine (126,154). Par contre, leur activation indépendante du TCR peut se produire pendant les infections virales et les infections bactériennes quand les bactéries ne synthétisent pas de riboflavine, ainsi que dans toutes les conditions pro-inflammatoires (160). Les deux voies d'activation fonctionnent en synergie pour une activation optimale. Cette activation entraîne une augmentation de l'expression des marqueurs d'activation CD69 et CD25, du marqueur de dégranulation CD107a, de la production de substances cytotoxiques comme des granzymes et de la perforine qui induisent l'apoptose et la formation de pores dans les cellules cibles, respectivement (161), la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires interféron- γ (IFN- γ), TNF- α et IL-17, la libération de chimiokines (162–164), et une augmentation de l'expression de ROR γ t (134) (Figure 10).

En l'absence de reconnaissance antigénique médiée par le TCR, les cellules MAIT peuvent aussi être activées par des cytokines, telles que l'IL-7, l'IL-12, l'IL-15, l'IL-18 et les interféron (IFN) de type I, ce qui leur permet de répondre aux agents infectieux (165). Les IFN de type I potentialisent l'activation des cellules MAIT médiée par IL-12 et IL-18 (166). L'activation indépendante du TCR des cellules MAIT semble induire une réponse cytokinique modeste dominée par la production d'IFN- γ , ce qui est cohérent avec l'augmentation de facteur de transcription T-bet dans les cellules MAIT sanguines (167).

Ces caractéristiques fonctionnelles font que les cellules MAIT n'ont pas que des activités antibactériennes et immunomodulatrices, mais peuvent également avoir des propriétés antitumorales.

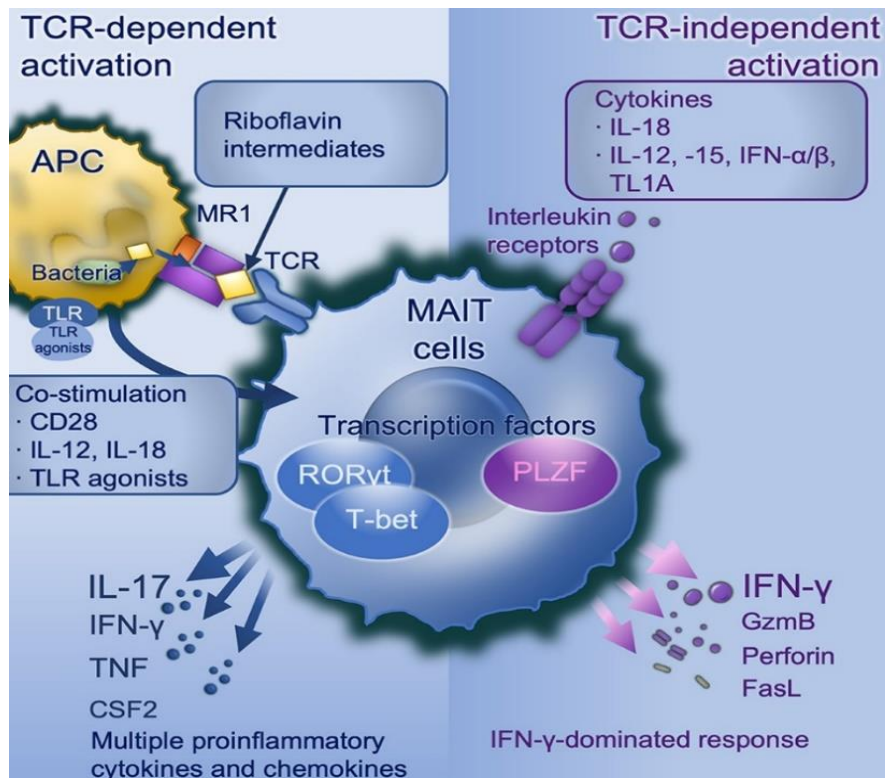


Figure 10. Activation des cellules MAIT
Hinks *et al.* Frontiers in immunology 2020

c. Rôle des cellules MAIT dans les pathologies

c.i. Défense antibactérienne

Compte-tenu de leur spécificité antigénique, de leur capacité à être directement activées par certaines cytokines et de leur réponse polyfonctionnelle rapide, les cellules MAIT représentent la sous-population de LT la plus abondante capable de réagir contre les bactéries chez l'homme. L'activation et les fonctions des cellules MAIT ont été étudiées dans diverses maladies infectieuses bactériennes (168). Les données à l'appui de la fonction antibactérienne des cellules MAIT ont été obtenues dans des modèles expérimentaux d'infection chez la souris. En effet, les souris déficientes en MR1 et donc dépourvues de cellules MAIT matures présentent une clairance bactérienne défectueuse ou retardée. Les souris MR1^{-/-} sont plus sensibles aux infections bactériennes que leurs homologues MR1⁺ (169).

L'étude de Le Bourhis *et al.* en 2010 a été l'une des premières à mettre en évidence l'importante contribution des cellules MAIT à la réponse immunitaire contre les infections bactériennes. Cette étude a montré que les cellules MAIT répondent aux CPA infectés par *E. coli* de manière

dépendante de MR1 (126). La réponse des cellules MAIT à de multiples souches bactériennes a depuis été étudiée de manière beaucoup plus détaillée.

Les cellules MAIT sont capables de répondre à de nombreuses autres bactéries via l'engagement du TCR avec MR1, telles que *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *M. tuberculosis*, *P. aeruginosa* (125,164). En outre, il a été démontré que les cellules MAIT humaines réagissaient contre *Enterococcus faecalis*, une bactérie qui ne produit pas de 5-A-RU. Dans ce cas, seule la sécrétion d'IL-12 et d'IL-18 par les cellules infectées est impliquée (166,170).

Chez l'homme, la fréquence des cellules MAIT dans le sang est diminuée dans plusieurs infections bactériennes et au contraire s'accumulent dans des sites inflammatoires (171). L'infection par *Salmonella enterica Typhi* ou une réponse vaccinale contre une souche de *Shigella* avec une augmentation concomitante sur les sites infectés soutient l'hypothèse d'une migration des cellules MAIT vers les sites inflammatoires (126,172).

c.ii. Défense antivirale

Les cellules MAIT sont aussi impliquées dans la défense antivirale notamment via l'activation des cytokines. Des études ont montré que les cellules MAIT sont réduites dans le sang des patients atteints de maladies virales telles que la dengue, l'hépatite C et la grippe (160), chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (173), ou de patients infectés par le SARS-CoV-2 (174).

c.iii. Réparation tissulaire

Les cellules MAIT sont aussi impliquées dans la réparation tissulaire, notamment par la sécrétion d'IL-17 en cas de stimulation par des signaux dépendants ou indépendants du TCR (141,175). En effet, l'IL-17 joue un rôle dans le maintien de l'intégrité de la muqueuse intestinale (176). Des études *in vivo* ont montré que la colonisation de la peau de souris dépourvue de germes avec un commensal cutané commun, le *Staphylococcus epidermidis*, induisait une expansion des populations de cellules MAIT cutanées et une activation du programme de réparation tissulaire dans les cellules MAIT cutanées localisées dans le derme (177).

d. Rôle des cellules MAIT dans le cancer

Comme les cellules MAIT peuvent migrer vers les tissus périphériques et les sites d'inflammation, il n'est pas surprenant que les cellules MAIT aient été détectées dans les cancers primaires et les lésions métastatiques (178,179). L'analyse de divers types de cancer a montré la déplétion des cellules MAIT dans le sang des patients chez les patients atteints de cancer colorectal, de carcinome hépatocellulaire et de cancer du poumon (178,180–182), tandis qu'elles s'accumulent dans les tissus tumoraux des patients atteints d'adénocarcinome du côlon et de cancer colorectal, et dans les lésions métastatiques hépatiques chez les patients atteints de cancer colorectal (183,184). Des fréquences élevées de cellules MAIT infiltrant la tumeur sont associées à de mauvais pronostics chez les patients atteints de carcinome hépatocellulaire. La production d'INF- γ par les cellules MAIT infiltrant la tumeur chez les patients atteints de carcinome hépatocellulaire, ou provenant d'adénocarcinomes coliques, est diminuée par rapport aux contrôles (178,183). En outre, les cellules MAIT infiltrant les tumeurs pourraient être modifiées par des facteurs micro-environnementaux tumoraux.

Les cellules MAIT ont également été étudiées dans le contexte des hémopathies malignes, il a été montré qu'il existe moins de cellules dans le sang et la MO des patients atteints de myélome multiple (MM) comparé aux contrôles sains (185). Les cellules MAIT de patients atteints de MM nouvellement diagnostiqués ont une production d'IFN- γ et une expression de CD27 réduites, suggérant un phénotype épuisé (186). Chez les patients récemment diagnostiqués pour une LAM, les MAIT circulantes sont affectées, suggérant un lien entre les cellules MAIT et la progression de la LAM (187).

Toutes ces études suggèrent que les cellules MAIT pourraient représenter des cibles thérapeutiques intéressantes, toutefois, leur rôle précis dans le cancer doit faire l'objet d'études plus approfondies.

e. Rôle des cellules MAIT dans l'allo-CSH

Le rôle des MAIT en allo-CSH a été démontré dans un modèle expérimental murin de greffe allogénique, dans lequel la fréquence des MAIT est importante dans les tissus, notamment dans le colon où elles exercent un rôle de maintien de la barrière intestinale via la production d'IL-17. Dans cette étude, la comparaison avec des animaux déficients en IL-17 et MR1 montre qu'ils développent une GvHD de façon accélérée, associée à une altération du microbiote fécal et des défauts d'expression des molécules des jonctions serrées (188). Chez l'homme, plusieurs

études montrent que les cellules MAIT se reconstituent rapidement dans le sang après allo-CSH, en atteignant un plateau après le premier mois suivant la greffe, tout en restant inférieures à la fréquence des cellules MAIT d'individus sains pendant au moins un an après allo-CSH (189,190).

La localisation des cellules MAIT dans les organes affectés par la GvHD, notamment la muqueuse intestinale, suggère leur rôle dans ce phénomène immunitaire (190,191). L'effet protecteur des cellules MAIT de la GvHD a été bien établi dans plusieurs études. Kawaguchi *et al.* ont montré qu'une augmentation des cellules MAIT dans le sang périphérique au début de l'allo-CSH a été associée à une réduction du risque de développement de la GvHD (191). D'autres études ont montré que la diminution de la proportion de LT et de MAIT CD161hiCD8⁺ périphériques pouvait être associée à la GvHD aiguë et chronique, cela pourrait être dû à leur recrutement vers les lésions inflammatoires (192,193).

D'autre part, une étude a montré qu'un nombre élevé de cellules MAIT dans les greffons était associé à une incidence plus faible de GvHDa intestinale après allo-CSH, et que le nombre de cellules MAIT dans les greffons était associé à l'abondance et la composition du microbiote intestinal précocement après allo-CSH (189).

Les cellules MAIT peuvent influencer la GvHD aussi via la production de cytokines protectrices de la muqueuse intestinale comme l'IL-17 et l'IL-22, toutes deux impliquées dans la réparation des tissus épithéliaux (194,195). Une étude a montré que la procédure de mobilisation des CSH chez les donneurs favoriserait la sécrétion d'IL-17 par les cellules MAIT CD8⁺ circulantes du donneur (195). Ceci doit être pris en considération étant donné que l'IL-17 a un double rôle dans l'homéostasie intestinale (196).

L'exploitation des cellules MAIT pour l'immunothérapie du cancer est un domaine émergent. Il est intéressant de noter que les cellules MAIT présentent une résistance aux effets cytotoxiques de certains médicaments de chimiothérapie (197). Le traitement des hémopathies malignes par des LT à récepteur antigénique chimérique (CAR-T) constitue une percée dans le domaine de l'immunothérapie du cancer (198). Le recours aux cellules MAIT reste un nouveau domaine de développement des CAR-T. En effet, comme les cellules MAIT expriment des TCR semi-invariants et indépendants de la reconnaissance classique du CMH, elles ont donc une activité allogénique restreinte, ce qui incite à les utiliser comme nouvelle source de cellules effectrices universelles pour la thérapie allogénique par cellules CAR-T sans inactiver leur TCR endogène (199).

2. Les lymphocytes T $\gamma\delta$

Les lymphocytes T $\gamma\delta$ interviennent précocement dans la défense de l'organisme contre les pathogènes. Leur localisation principalement tissulaire leur permet une détection *in situ* des cellules infectées ou tumorales grâce à leur capacité à reconnaître les cellules infectées ou tumorales indépendamment d'une présentation antigénique par les CPA.

a. Répertoire des LT $\gamma\delta$

Les lymphocytes T $\gamma\delta$ constituent une sous-population de LT non conventionnels, caractérisée par l'utilisation des chaînes γ et δ au lieu des chaînes α et β du TCR (200).

Tableau 2. Gènes de TCR $\gamma\delta$ et $\alpha\beta$ murins et humains

Girardi *et al.* J invest Dermatol 2006

	$\gamma\delta$ Segments		$\alpha\beta$ Segments	
	Mouse	Human	Mouse	Human
V δ	11	3	V α	23
D δ	2	3	J α	61
J δ	2	4		
			V β	31
V γ	7	5	D β	2
J γ	4	3	J β	14

¹Total number of genes that are available for recombination for both mouse and human TCRs.

Le TCR $\gamma\delta$ humain est codé par deux segments de gène distincts : le segment de TRG situé sur le chromosome 7 codant pour 6 gènes V γ fonctionnels : 5 appartiennent à la famille V γ I (V γ 2, 3, 4, 5, 8) et le dernier (V γ 9) appartient à la famille V γ II, et le segment TRD intégré dans le locus TRA sur le chromosome 14 codant pour 8 gènes V δ fonctionnels (201) (Tableau 2).

Il existe plusieurs sous-populations distinctes de LT $\gamma\delta$ chez la souris et l'homme. Les sous-populations de LT $\gamma\delta$ sont nommées en fonction des segments variables (V) du TCR utilisés, en mettant l'accent sur l'utilisation de la chaîne TCR γ chez la souris et de la chaîne TCR δ chez l'homme. Il n'existe pas toujours de correspondance entre le répertoire de ces différentes espèces. En effet, les sous-populations de la souris et de l'homme ont notamment une utilisation du TCR, une réactivité à l'antigène et des schémas de localisation dans les tissus différentes.

b. Distribution tissulaire des LT $\gamma\delta$

La proportion de LT $\gamma\delta$ varie en fonction du type de tissu. Alors qu'ils représentent 1 à 10% des LT dans le sang périphérique d'un Homme adulte, ils constituent généralement 10 à 70% des LT résidents dans d'autres compartiments tissulaires tels que la peau, la muqueuse intestinale et le tractus génital (202). Ils sont également fortement représentés dans les organes lymphoïdes comme le thymus, la rate et les ganglions lymphatiques.

En fonction du sous-type de chaîne γ , les LT $\gamma\delta$ vont avoir des localisations préférentielles dans certains tissus (Tableau 3). Chez l'homme, il existe trois principales sous-populations de LT $\gamma\delta$ qui sont les LT V δ 1, V δ 2 et V δ 3. Les LT V γ 9V δ 2 que l'on trouve principalement dans le sang adulte, peuvent représenter jusqu'à 95 % des LT $\gamma\delta$ (203). Cette association n'est pas exclusive, il existe aussi des LT V δ 2⁺V γ 9⁻ (204).

Les LT V δ 1 et V δ 3 sont plus abondants dans les tissus et les organes tels que le gros intestin, le foie, la rate et le thymus. Au contraire, les LT V δ 1 ne représentent que 10 à 30 % des LT $\gamma\delta$ dans le sang périphérique d'un Homme sain mais constituent la majorité des LT $\gamma\delta$ dans le derme (202).

Chez la souris, les sous-populations de LT $\gamma\delta$ qui sont présents dans des sites tissulaires distincts, comme la peau, sont les LT V γ 5V δ 1 tandis que dans l'intestin, on trouve les LT V γ 7 et V γ 1, dans le foie les LT V γ 4 et V γ 6, dans l'épithélium pulmonaire les LT V γ 4 et V γ 6 et dans les organes génitaux les LT V γ 6V δ 1 (205).

Tableau 3. Distribution tissulaire des populations T $\gamma\delta$.
Bonneville *et al.* Nat Rev Immunol 2010

Species	Peripheral location	Predominant V gene segment usage	V(D)J diversity
Mouse	Adult thymus	Diverse	High
	Spleen	V γ 1 and V γ 4	High
	Lymph nodes	Diverse	High
	Epidermis	V γ 5V δ 1	Invariant
	Liver	V γ 1V δ 6.3, V γ 4 and V γ 6	Intermediate
	Gut epithelia	V γ 7V δ 4, V γ 7V δ 5 and V γ 7V δ 6	Intermediate
	Uterovaginal epithelia	V γ 6V δ 1	Invariant
	Lung epithelia	V γ 4 and V γ 6	Intermediate
Human	Thymus	V δ 1	High
	Peripheral blood	V γ 9V δ 2	Intermediate
	Spleen	V δ 1	High
	Liver	V δ 1 and V δ 3	High
	Gut epithelia	V δ 1 and V δ 3	High
	Dermis	V δ 1	High

Compte-tenu des différences importantes existantes entre les différentes espèces animales pour les LT $\gamma\delta$, nous nous concentrerons uniquement sur les sous-populations de LT $\gamma\delta$ humains dans le reste de ce chapitre.

b.i. Les antigènes reconnus par les LT $\gamma\delta$

Depuis la découverte des cellules T $\gamma\delta$ dans les années 1980, la question de savoir quels types d'antigènes ils reconnaissent s'est posée. De nombreuses molécules ont été identifiées pouvant interagir avec le TCR $\gamma\delta$, bien que leur nature ou leur structure soient très diversifiées (206,207). Ainsi, on retrouve des antigènes non peptidiques, et notamment des antigènes produits en cas d'infections par des champignons ou des bactéries, tels que les phosphates monoalkyles (MEP) ou les phosphoantigènes impliqués dans l'activation des TCR V γ 9V δ 2 (207).

D'autre part, les LT $\gamma\delta$ sont activés par des lipides associés à des molécules apparentées au CMH comme CD1c ou CD1d (208) ou encore MICA et MICB (209,210). Certaines protéines solubles sont également reconnues par les LT $\gamma\delta$, comme les protéines bactériennes, y compris l'entérotoxine staphylococcique A non apparentée, les peptides viraux, les haptènes, et l'insuline B (206,207,211,212), (Figure 11).

D'autres antigènes non peptidiques comme le sulfatide, un glycosphingolipide dérivé de la myéline, peut également être reconnu par les LT $\gamma\delta$ humains (206).

Depuis les années 1990, des études ont clairement démontré que les LT V γ 9V δ 2 réagissaient à de petits antigènes non peptidiques. Ces antigènes ont été détectés chez *Mycobacterium tuberculosis* (213). Ces petites molécules contiennent un groupement pyrophosphate nécessaire pour leur fonction activatrice, et ont alors été nommées phosphoantigènes (PAG) (214,215). Les PAG sont produits par un grand nombre de bactéries et de parasites, ce qui explique en partie la réactivité des LT V γ 9V δ 2 contre un large panel de pathogènes.

Les PAG représentent des métabolites de la biosynthèse des isoprénoïdes ou des analogues synthétiques de ceux-ci (216). Parmi les PAGs, le plus puissant est le (E)-4-hydroxy-3-méthylbut-2-ényl pyrophosphate (HMB-PP). Il s'agit d'un intermédiaire de la voie du non-mévalonate qui stimulerait sélectivement les LT V γ 9/V δ 2 d'une manière non restreinte au CMH (213). Il n'est pas présent chez l'homme mais dans la majorité des bactéries Gram-négatives et de nombreuses espèces Gram-positives, ainsi que dans les protozoaires apicomplexes tels que le *Plasmodium falciparum* et le *Toxoplasma gondii*. Dans ces organismes, le HMB-PP est converti en pyrophosphate d'isopentényle (IPP) et en pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP), deux autres phosphoantigènes qui sont générés par la voie du mévalonate et dont l'activité est environ 10 000 fois inférieure à celle du HMB-PP (217). L'IPP est utilisé pour la synthèse en aval du cholestérol, des protéines prénylées et de l'ubiquinone. Dans des conditions physiologiques normales, les cellules de mammifères contiennent une faible concentration d'IPP intracellulaire et n'activent donc pas les LT V γ 9V δ 2. Cependant, les cellules accumulent de l'IPP en cas de détresse cellulaire et, par conséquent, de dérèglement de la voie du mévalonate et du métabolisme dans les cellules tumorales. Cette concentration plus élevée permet alors aux LT V γ 9V δ 2 de différencier les cellules stressées et/ou tumorales des cellules saines. Ainsi, l'accumulation d'IPP représente un DAMP et le HMB-PP, métabolite exclusivement bactérien, représente un motif moléculaire associé aux agents pathogènes (PAMP) (pathogen associated molecular pattern) pour les LT V γ 9V δ 2. Comme le HMB-PP présente une bioactivité très largement supérieure à celle de l'IPP (Figure 13), cela permet aux LT V γ 9V δ 2 de discriminer plus facilement les cellules infectées des cellules saines (218).

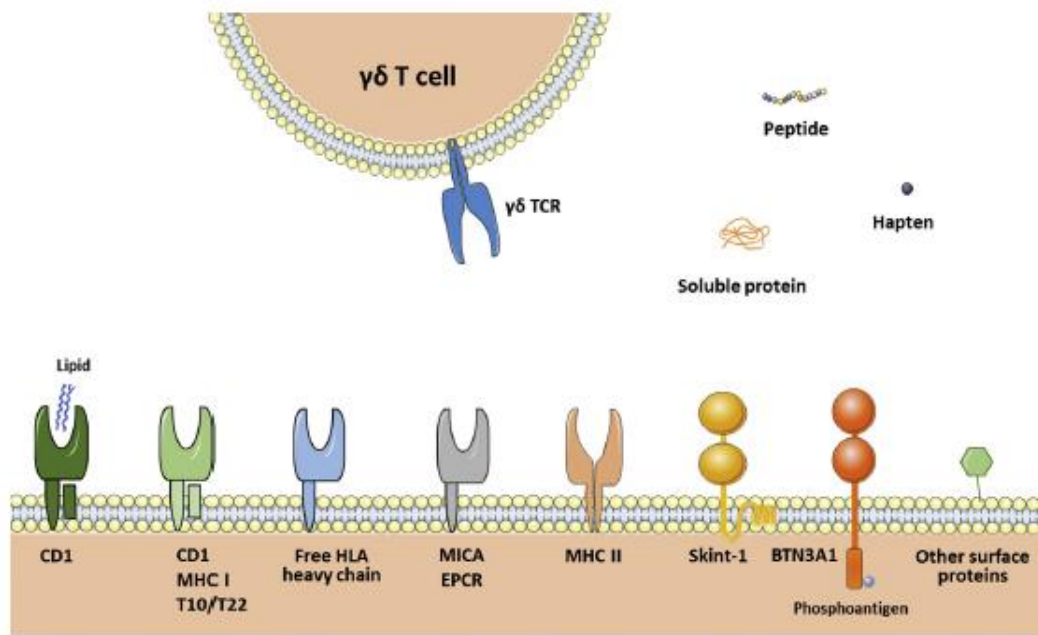


Figure 11. Les différentes familles de ligands pour les lymphocytes T TCR $\gamma\delta$
 Vermijlen *et al.* Seminars in cell & developmental biology 2018

b.ii. Activation des LT $\gamma\delta$

Les LT $\gamma\delta$ expriment des récepteurs capables de détecter des molécules induites par le stress tels que des récepteurs activateurs et inhibiteurs de type NKR (Natural Killer Receptors) ou encore des récepteurs de la famille des TLR (Toll like receptor) (205,219). Ces récepteurs agissent généralement en tant que costimulateurs.

(Figure 17). L'engagement du TLR par les PAMPs déclenche des réponses inflammatoires précoces médiées par les LT $\gamma\delta$ (220) et la libération de cytokines inflammatoires et d'IFN de type 1 pour la défense de l'hôte (219).

Les LT $\gamma\delta$ ont la capacité de tuer les cellules malignes via l'expression de différents NKR tel que le récepteur activateur DNAM-1, le récepteur Fc CD16 et le récepteur NKG2D semblable à une lectine de type II (221). Ces récepteurs peuvent induire des signaux activateurs ou inhibiteurs (222). NKG2D joue un rôle clé dans la réponse anti-tumorale en raison de sa large expression par les LT $\gamma\delta$ et de sa réactivité contre des ligands apparentés au CMH comme les protéines de liaison UL16 dont l'expression est augmentée par les cellules malignes ou infectées (209,210). NKG2D fonctionne généralement en synergie avec le TCR $\gamma\delta$ en tant que costimulateur, mais il peut également déclencher des réponses cytotoxiques par certains LT $\gamma\delta$

humains contre des cibles infectées par des virus sans engagement concomitant du TCR (209,222).

La reconnaissance des différentes cibles par les LT $\gamma\delta$ pourrait jouer un rôle important dans la surveillance immunitaire, car elle permet à ces dernières de reconnaître rapidement les cellules cibles via les marqueurs de stress indiquant une éventuelle infection ou une transformation cellulaire maligne. Dans le cas des LT V γ 9V δ 2, l'association des TLR, des NKR et du TCR induit des signaux séparés, synergiques ou additifs déclenchant les fonctions effectrices de ces LT V γ 9V δ 2 (205).

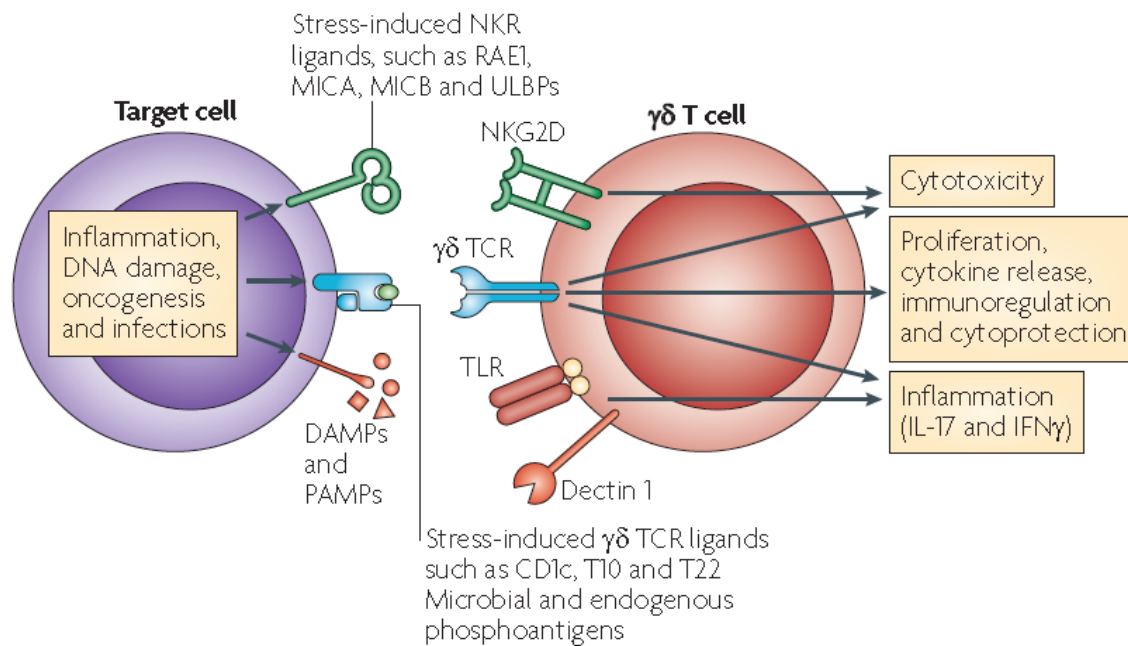


Figure 12. Reconnaissance des cellules cibles par les lymphocytes T $\gamma\delta$

Bonneville *et al.* Nature Reviews Immunology. 2010

c. Fonction effectrice des LT $\gamma\delta$

Les LT $\gamma\delta$ sont capables de s'activer rapidement afin de défendre l'hôte contre les infections, les transformations cellulaires malignes et les dommages tissulaires. Étant donné que la population de LT $\gamma\delta$ comprend des sous-populations hétérogènes avec des phénotypes différents, des spécificités antigéniques et des répartitions tissulaires variables, les fonctions effectrices de ces cellules sont différentes selon les différentes populations.

c.i. Activité cytotoxique

Les LT $\gamma\delta$ sont des puissants effecteurs cytotoxiques. Ils sont capables de détruire d'une façon directe des cellules infectées ou malignes par la libération de granules lytiques contenant de la perforine et du granzyme (223). Ainsi, les molécules de perforine sont libérées en premier et vont perforer la membrane plasmique de la cellule cible. Ensuite, des enzymes lytiques telles que les granzymes vont pouvoir entrer au sein de la cellule cible et induire son apoptose par clivage des caspases (224,225). Les LT $\gamma\delta$ peuvent aussi produire de la granulysine, une protéine antimicrobienne, qui contribue ainsi à l'élimination des pathogènes directement (224). A côté de la lyse directe, les LT $\gamma\delta$ exercent une activité cytotoxique qui implique l'engagement de récepteurs induisant la mort, comme CD95 et les ligands respectifs : FAS-L/FAS (CD95) , TRAIL-R et son ligand TRAIL (TNF related apoptosis induced ligand) (226,227). L'activation de ces récepteurs conduit à l'apoptose des cellules cibles. Enfin, ils peuvent également tuer leurs cibles indirectement par le biais de la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) dans un mécanisme dépendant du CD16 (228). Cette activation contribue à une augmentation à la fois de la cytotoxicité des LT V γ 9V δ 2 et de la production de TNF- α et à une maturation en LT effecteurs (229,230). D'autres molécules telles que DNAM-1 (DNAX accessory molecule-1), LFA-1 (leukocyte function-associated antigen-1) et le récepteur de costimulation CD27 sont également impliquées dans l'activation et la cytotoxicité des LT $\gamma\delta$ (231).

Ces différents mécanismes permettent aux LT $\gamma\delta$ de tuer des cellules tumorales ainsi qu'un large spectre de cellules infectées par des pathogènes de diverses origines (bactéries, champignons, parasites) (207).

c.ii. Sécrétion cytokinique

Les LT $\gamma\delta$ peuvent produire des cytokines immunomodulatrices qui sont impliquées dans l'immunité protectrice contre différents pathogènes et sont une source précoce et importante de cytokines inflammatoires comme IFN- γ et le TNF- α dans de nombreuses infections (232). Le TNF- α et l'IFN- γ ont un effet synergique, conférant une fonction antivirale accrue aux LT $\gamma\delta$. Les LT $\gamma\delta$ produisent également des cytokines Th2 comme l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13 en cas de présence de parasites extracellulaires. De plus, en présence de bactéries extracellulaires et de champignons, les LT $\gamma\delta$ peuvent sécréter de l'IL-17 (Figure 13) (233). Ainsi, il a été démontré que les LT $\gamma\delta$ peuvent se différencier en cellules productrices d'IL-17 en réponse à certaines cytokines telles que l'IL-1 β , l'IL-23, l'IL-6 et le TGF β (Transforming growth factor- β) (234–

236). D'autre part, les LT $\gamma\delta$ peuvent sécréter des cytokines immunorégulatrices comme l'IL-10 et le TGF β qui permet aux LT $\gamma\delta$ de contrôler la réponse des cellules effectrices (237). En outre, certains LT $\gamma\delta$ produisent des facteurs comme le facteur de croissance kératinocytaire (KGF) et le facteur de croissance du tissu conjonctif (CTGF), impliqués dans la cicatrisation des tissus et la régénération des cellules épithéliales. Enfin comme d'autres cellules sentinelles, les LT $\gamma\delta$ sécrètent également des chimiokines, notamment CCL2, CCL3, CCL4, CCL5 et CCL22 pour recruter des effecteurs pro-inflammatoires (233).

Ces caractéristiques de sécrétion cytokinique jouent un rôle dans la réponse des LT V γ 9V δ 2 contre de nombreuses infections virales, bactériennes et parasitaires.

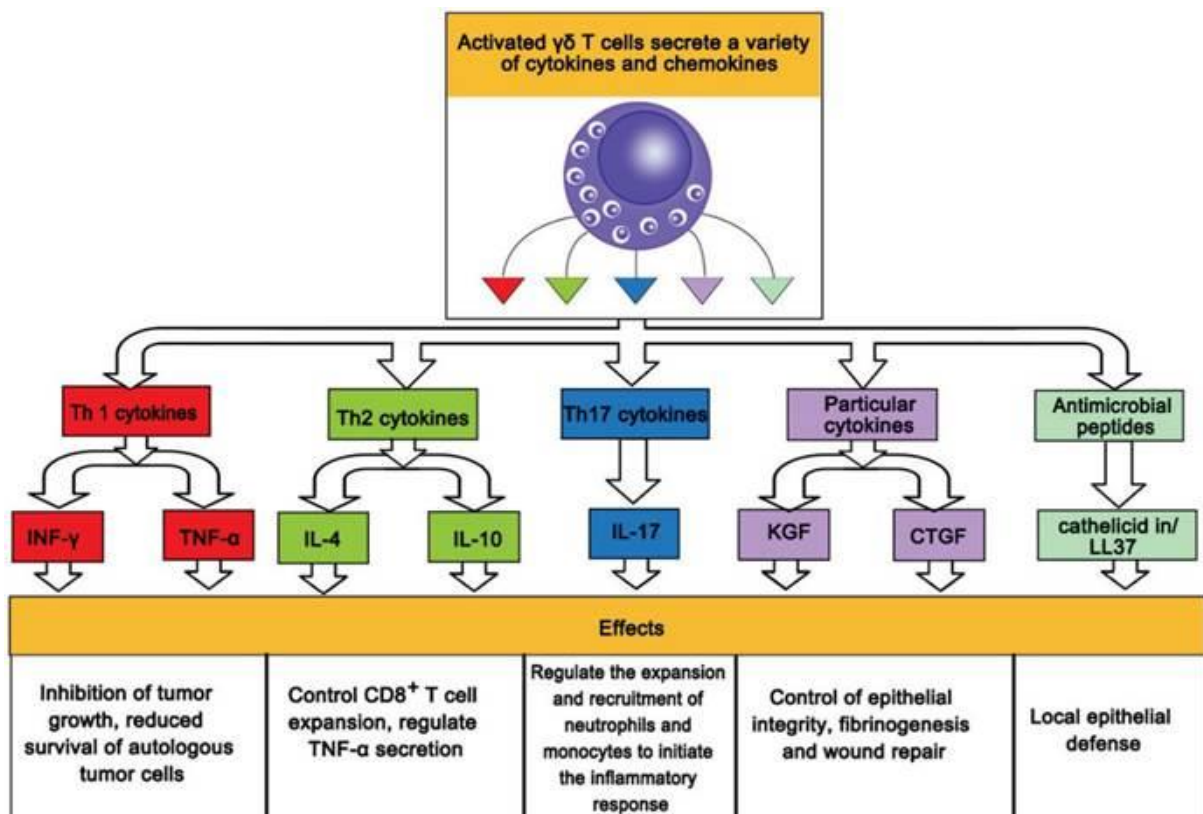


Figure 13. Sécrétion des cytokines par les lymphocytes T $\gamma\delta$
 Wu *et al.* International journal of biological sciences 2014

d. Les lymphocyte T $\gamma\delta$ dans l'allo-CSH

Les caractéristiques antitumorales et antivirales ont fait des LT $\gamma\delta$ un sujet de grand intérêt dans l'allo-CSH, car ils pourraient contribuer à l'effet bénéfique GvL en l'absence de GvHD (238).

Les études de la reconstitution précoce après allo-CSH ont montré que le répertoire TCR $\gamma\delta$ était presque complètement reconstitué quelques mois après la transplantation (239). L'effet de différents facteurs liés à la transplantation, tels que le type de donneur ou le type de conditionnement, sur la fréquence et la diversité des TCR reste mal connu. Une reconstitution précoce des LT $\gamma\delta$ a été corrélée à une issue favorable après allo-CSH. En effet, plusieurs groupes ont montré qu'un taux élevé de LT $\gamma\delta$ précocement après allo-CSH était associé à une amélioration de la survie sans maladie (DFS) et de la survie globale (OS) (240). De même, Perko *et al.* ont étudié la récupération des LT $\gamma\delta$ chez 102 patients pédiatriques atteints de leucémie aiguë traités par allo-CSH (241). Ils ont rapporté une diminution de l'incidence des infections et une amélioration de la survie sans événement chez les patients ayant un taux élevé de LT $\gamma\delta$. Godder *et al.* ont confirmé l'avantage de survie à long terme sans incidence accrue de GvHD aiguë chez les patients ayant un nombre plus élevé de LT $\gamma\delta$ (240). Une autre étude a rapporté qu'un niveau plus élevé de LT $\gamma\delta$ dans le sang périphérique après allo-CSH était corrélé à une diminution de la rechute et des infections virales et à une meilleure OS et DFS, alors qu'il n'y avait pas d'association avec l'incidence de la GvHDa (242).

Il a été proposé que les LT $\gamma\delta$, qui se reconstituent après l'allogreffe, jouent un rôle important dans l'effet GvL (243). L'analyse du répertoire V δ du TCR a révélé que les cellules V δ 1 circulantes sont prédominantes chez les patients ayant un nombre élevé de LT $\gamma\delta$, alors que les patients ayant un faible nombre de LT $\gamma\delta$ et les individus sains présentent principalement des LT V δ 2 (243).

Des données indiquent que les niveaux de LT $\gamma\delta$ du donneur ne sont pas associés à une augmentation de la sévérité ou de l'incidence de la GvHD (238,244,245). Cependant, quelques études réalisées sur des modèles murins ont montré que les LT $\gamma\delta$ contribuent à la pathogenèse de la GvHD (246,247). D'autre part, Pabst *et al.* ont montré une augmentation de l'incidence cumulative de la GvHD aiguë de grade II-IV chez les patients ayant reçu des greffons de CSP avec un contenu plus élevé en LT $\gamma\delta$ (65). Cependant, dans cette étude, ils ont examiné les LT $\gamma\delta$ totaux et l'impact des différentes sous-populations n'a pas été étudié. Récemment, Andrlóvá *et al.* ont étudié les LT V γ 9V δ 2 dans une cohorte de 174 patients ayant reçu une allo-CSH, ils ont montré qu'une prévalence des LT V γ 9V δ 2 était associée à une moindre GvHDa et était étroitement corrélée à la fréquence des cellules MAIT. Ils ont montré un lien immunologique entre la diversité microbienne intestinale, les ligands dérivés des microbes et le maintien des LT V γ 9V δ 2 (248).

Un nombre plus élevé de LT $\gamma\delta$ après la transplantation est aussi associé à une incidence plus faible d'infections bactériennes, fongiques et virales (241). Le rôle antiviral est bien décrit. Une corrélation entre un nombre élevé de LT V δ 2 et une diminution de la virémie EBV a été rapportée (249). De plus, plusieurs études ont mis en évidence le rôle des LT V δ 1 dans la protection contre la réactivation du CMV après allo-CSH (250,251).

Une littérature abondante décrit le rôle bénéfique des LT $\gamma\delta$ dans la période post-transplantation, mais les facteurs influençant leur reconstitution, en dehors de la réactivation virale, n'ont pas été décrits de manière détaillée. Il convient de noter que les LT $\gamma\delta$ semblent extrêmement sensibles à l'administration de PTCy après allo-CSH haplo-identique. Dans ce contexte, les LT $\gamma\delta$, et surtout les LT V δ 2, sont significativement plus faibles au début de la période post-transplantation (252,253). Cette baisse persiste jusqu'à un an après la transplantation et est corrélée avec des virémies EBV plus fréquentes (253).

Enfin, vu le rôle antitumoral des LT $\gamma\delta$, un modèle murin de souris SCID humanisées avec un système immunitaire humain a permis de montrer l'activité antitumorale des LT V γ 9V δ 2 *in vivo* (254). Les LT V γ 9V δ 2 humains ont préalablement été amplifiés par des aminobisphosphonates et de l'IL-2. Les LT V γ 9V δ 2 infiltrent les tumeurs, et réduisent la progression de la tumeur, induisant une augmentation de la survie des souris traitées (255,256).

Ces expériences montrent l'utilisation potentielle des LT V γ 9V δ 2 pour l'immunothérapie chez l'homme (Figure 14) (257). Des essais cliniques de phase précoce ont étudié le potentiel des LT V γ 9V δ 2 en tant qu'immunothérapie dans une variété d'hémopathies et de tumeurs solides, en utilisant le zolédronate ainsi que l'IL-2 à faible dose pour l'expansion *in vivo* ou *ex vivo* des LT V γ 9V δ 2 (258). Ces essais cliniques ont démontré que les LT $\gamma\delta$ peuvent avoir un grand potentiel dans l'immunothérapie du cancer. Néanmoins, l'activation ou le transfert de LT $\gamma\delta$ polyclonaux en dehors du contexte d'allo-CSH, pour contrôler les tumeurs s'est avéré plutôt insatisfaisant. (259,260). Ainsi, une meilleure compréhension de la biologie des LT V γ 9V δ 2 est nécessaire pour améliorer l'immunothérapie utilisant les LT V γ 9V δ 2 en vue d'applications futures.

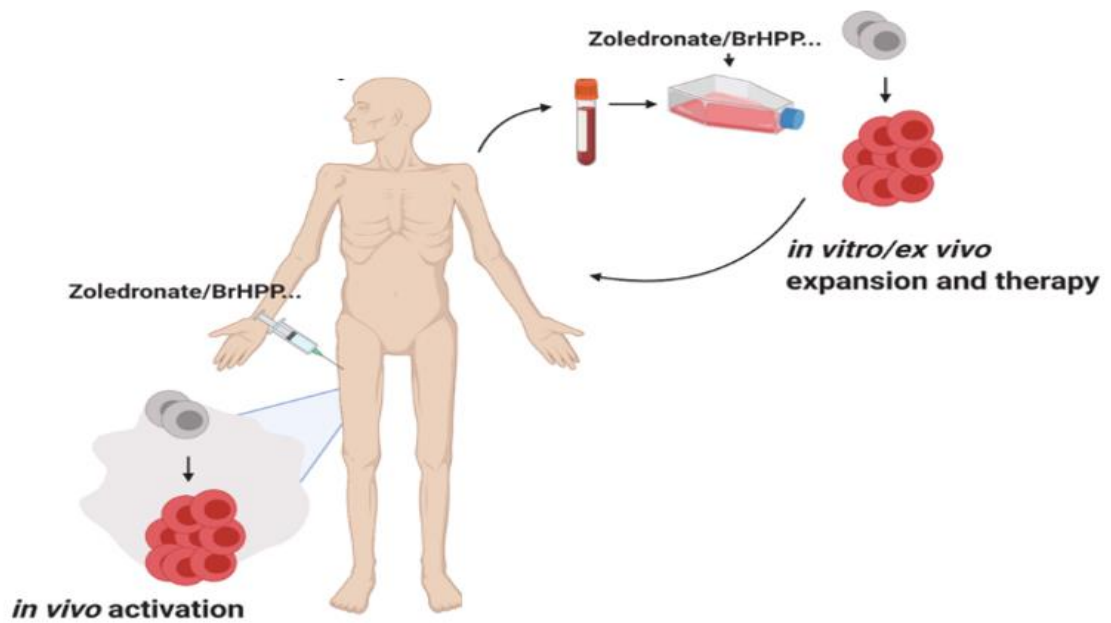


Figure 14. Stratégies d'immunothérapie utilisant les LT $V\gamma 9V\delta 2$.
 Modifié à partir de Park *et al.* Experimental & Molecular Medicine 2021

VI. Un nouveau paramètre dans l'allo-CSH : le microbiote intestinal

Le microbiome est une communauté complexe et dynamique d'organismes divers pouvant inclure des bactéries, des virus, des champignons, des archées et d'autres eucaryotes.

L'impact du microbiote sur l'allo-CSH a été suggéré dès 1974 lorsque van Bekkum a montré dans un modèle murin d'allo-CSH avec incompatibilité majeure, que les souris receveuses « germ-free » ne développaient pas de GvHD et avaient une survie prolongée. De plus, la réintroduction des bactéries était associée à une GvHD létale (261).

Ces résultats ont été confirmés ensuite chez des patients recevant une allo-CSH pour une aplasie médullaire (262). Les patients bénéficiant d'un environnement stérile et d'une décontamination digestive avaient un taux de GvHDa de grade II-IV significativement inférieur aux patients traités dans des conditions standards. Cependant, les études suivantes n'ont pas permis de confirmer le bénéfice de la décontamination digestive, probablement en raison de difficultés à obtenir une décontamination digestive complète (263). Une étude plus récente a confirmé que la décontamination digestive n'était pas efficace pour environ la moitié des patients et que l'incidence de GvHDa était significativement plus faible chez les patients pour lesquels la décontamination digestive avait fonctionné (264).

Les patients traités par allo-CSH peuvent être exposés simultanément à des chimiothérapies cytotoxiques, à une irradiation corporelle totale, à des immunosuppresseurs et à des antibiotiques à large spectre qui entraînent des altérations importantes du microbiote intestinal (265,266). Ainsi, la perte de diversité bactérienne au moment de la prise de greffe a été corrélée à un résultat plus défavorable après l'allogreffe (267). Plus précisément, une plus grande abondance de *Gammaproteobacteria* (y compris *Enterobacteriaceae*) a été associée à une mortalité plus élevée (268), tandis qu'une plus grande abondance de *Lachnospiraceae* et d'*Actinomycetaceae* a été associée à une issue plus favorable sur la survie (267). Il est important de noter que la découverte d'une association entre une grande diversité du microbiote intestinal et un risque plus faible de mortalité liée à la transplantation a été confirmée par la suite dans une large étude multicentrique (269).

Plusieurs études ont rapporté que l'augmentation de la diversité microbienne au moment de la sortie d'aplasie après allo-CSH est associée à une diminution du risque de mortalité liée à la GvHD (270). Ainsi, les membres des familles *Lachnospiraceae* et *Ruminococcaceae*, tels que *Blautia*, *Clostridium* et *Lachnoclostridium*, sont associés à une protection contre la mortalité liée à la GvHD (271,272). Une abondance relative élevée de *Lachnospiraceae* et de

Ruminococcaceae a également été corrélée à un ratio accru de cellules Treg/Th17, ce qui pourrait maintenir l'équilibre entre les réponses anti-inflammatoires et pro-inflammatoires au cours de la GvHD (273,274).

Une étude a analysé l'impact des modifications du microbiote intestinal sur la rechute après allo-CSH. Ainsi, une plus grande abondance d'*Eubacterium limosum* dans les selles prélevées entre le jour 0 et le jour 21 chez des patients traités par allo-CSH est associée à un risque de rechute plus faible (275). Enfin, compte-tenu des récentes découvertes sur le rôle du microbiote dans l'homéostasie immunitaire, il est possible que le microbiote intestinal affecte la reconstitution immunitaire après allo-CSH et qu'il puisse être ciblé comme stratégie pour augmenter l'immunité après allo-CSH (276). Dans une étude récente, la diminution de la diversité microbienne était associée à une altération de la récupération des neutrophiles et des lymphocytes (277).

L'ensemble de ces études ont incité à développer la transplantation de microbiote fécal (FMT) pour reconstituer le microbiote intestinal chez les receveurs d'une allogreffe (278). Dans le cadre d'un essai contrôlé randomisé, une FMT autologue (auto-FMT), dans laquelle les selles du patient ont été administrées après allo-CSH, a permis de rétablir la dysbiose (278).

D'autres types de microorganismes colonisent le tube digestif, notamment les champignons. Nous présenterons en Annexe une étude portant sur le rôle du microbiote fongique dans l'allo-CSH, et nos travaux préliminaires réalisés sur ce sujet.

RESULTATS

I. Première partie : prévention des rechutes après allo-CSH pour la LAM : rôle du venetoclax

La prévention des rechutes hématologiques, des infections post-transplantation et de la GvHD est un défi majeur après allo-CSH. Par conséquent, le développement de stratégies thérapeutiques sûres et efficaces pour prévenir ou traiter les rechutes est essentielle. Le venetoclax, un inhibiteur de Bcl-2, associé à un agent hypométhylant a montré son efficacité dans la LAM en rechute ou réfractaire (279). Etant donné que Bcl-2 est important pour les réponses des LT effecteurs et mémoires et que le venetoclax peut entraîner une réduction du nombre de LT (280,281), la question de l'impact du venetoclax sur l'effet GvL médié par les LT après allo-CSH s'est posée. Nous développerons dans une première partie notre travail sur le rôle du venetoclax dans l'effet GvL et le traitement de la LAM après allo-CSH.

1. Venetoclax : inhibiteur de Bcl-2

Le venetoclax est un médicament anticancéreux de petite taille, hautement sélectif et biodisponible par voie orale, qui cible en particulier le domaine BH3 de Bcl-2 (282). En tant que mimétique de BH3, le venetoclax présente une grande affinité pour le sillon de liaison BH3 de Bcl-2 et est capable de déplacer les protéines pro-apoptotiques BH3 uniquement (par exemple BIM) liées à Bcl-2. Par conséquent, les protéines BH3 libres peuvent activer les effecteurs apoptotiques (BAX et BAK) ou inhiber d'autres membres anti-apoptotiques (MCL-1). Ainsi, le venetoclax déclenche et rétablit l'apoptose dans les cellules tumorales en libérant les protéines pro-apoptotiques de Bcl-2 (283).

L'une des propriétés communes des tumeurs malignes est une survie cellulaire inappropriée et des programmes apoptotiques dérégulés (284). C'est pourquoi, depuis son identification il y a plus de 30 ans, Bcl-2 a été considéré comme une cible thérapeutique dans le cancer (285). Le venetoclax s'est révélé actif dans les hémopathies malignes dépendantes de Bcl-2, en particulier dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC) (286). La Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis lui a accordé une autorisation accélérée pour la LLC avec délétion 17p en avril 2016, puis en juin 2018 pour la LLC avec ou sans délétion 17p, après au moins un traitement antérieur (287,288).

Par ailleurs, plusieurs études ont mis en évidence une efficacité du venetoclax dans le traitement du MM, notamment lorsque la translocation t(11 ;14) est présente (289).

Depuis 2017, il y a eu de grandes avancées et plusieurs nouveaux médicaments, dont le venetoclax semblent remodeler le paysage thérapeutique de la LAM (290). Les premières études précliniques montrent que le venetoclax peut conduire à une apoptose rapide des cellules de LAM dont la survie dépendent de l'expression de Bcl-2 (291). En outre, l'activité anti-leucémique synergique des agents hypométhylants et de la chimiothérapie, a été démontrée dans des modèles précliniques, justifiant l'association en clinique.

2. Le Venetoclax dans le traitement de la LAM

Les données précliniques confirment le rôle des agents hypométhylants dans l'amélioration de l'effet GvL, mais l'impact potentiel de l'inhibition de Bcl-2 sur l'effet GvL n'est pas clair.

Les premières études n'ont montré qu'une efficacité modeste du venetoclax en monothérapie dans le traitement de la LAM en rechute ou réfractaire (R/R) (292).

L'efficacité du venetoclax dans le traitement de la LAM nouvellement diagnostiquée chez les personnes âgées a été démontrée dans un essai randomisé de phase III dans lequel l'association du venetoclax à des HMA, a permis d'obtenir un taux de rémission complète (CR) ou de rémission complète avec récupération incomplète de la numération (Cri) de ~70% chez des patients âgés atteints de LAM non traités et inaptes à recevoir une chimiothérapie intensive conventionnelle (279,293). Ces résultats ont permis au venetoclax associé à l'azacitidine, ou la décitabine d'obtenir l'autorisation de la FDA dans ce contexte.

Des études précliniques ont montré une induction synergique de la mort cellulaire entre les AHM et les inhibiteurs de Bcl-2. L'azacitidine peut diminuer le niveau de MCL-1 qui peut être un médiateur de la résistance aux inhibiteurs de Bcl-2 (294). Grâce à l'induction de NOXA, l'azacitidine peut également sensibiliser les cellules de la LAM à l'apoptose induite par le venetoclax (295). De plus, l'azacitidine et l'inhibiteur de Bcl-2 activent en synergie BAX et l'apoptose mitochondriale dans les cellules de LAM (296).

Dans le contexte post-transplantation, Schuler *et al.* ont analysé rétrospectivement 32 patients atteints de LAM qui ont rechuté après une allo-CSH et ont rapporté un taux de réponse globale de 47% après une thérapie combinée venetoclax/HMA. Cependant, 72% des patients ont souffert d'infections sévères et 78% des patients sont décédés après un suivi médian de 8,4 mois (297). De plus, il a été rapporté récemment que le traitement de sauvetage par venetoclax/HMA chez des patients atteints de LAM et présentant une rechute après allo-CSH a permis d'obtenir une incidence de CR/CRi de 34,1% (298).

Afin d'élargir la thérapie et les indications des combinaisons AHM + venetoclax, le venetoclax a été évalué en association avec la décitabine à faible dose dans une étude prospective pour prévenir les rechutes après allo-CSH chez les patients à haut risque atteints de LAM ou de SMD (299). Aucun effet indésirable de grade \geq III n'a été observé. La OS à 2 ans était respectivement de 85,2 % et les taux de GvHD aiguë et chronique à 100 jours étaient respectivement de 55% et 20%. En outre, le traitement de la GvHD n'a pas affecté le traitement d'entretien (299). Ces études montrent que l'ajout du venetoclax à un AHM pour prévenir les rechutes est faisable et sûr.

De futures études randomisées de plus grande envergure sont nécessaires pour confirmer ces résultats, établir le meilleur calendrier de traitement et identifier les patients qui bénéficieraient d'une approche d'entretien combinée.

Néanmoins, étant donné que la protéine Bcl-2 est importante pour les réponses effectrices et mémoires des LT et que le venetoclax peut provoquer une réduction du nombre de LT, il est important d'évaluer soigneusement son impact sur la prise de greffe et la rechute, en particulier après une allo-CSH HLA non appariée, car il pourrait atténuer l'effet GvL. Nous présentons les résultats dans l'article 1 obtenus sur l'effet du venetoclax sur les LT activés *in vitro*.

3. Article

Venetoclax does not impair activated T cells proliferation

Lama Siblany^{1,2}, Béatrice Gaugler^{1,2}, Nicolas Stocker^{1,2}, Laure Ricard^{1,2}, Yishan Ye¹,
Mohamad Mohty^{1,2} Florent Malard^{1,2}.

¹ Sorbonne Université, INSERM, Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA), F-75012 Paris, France

² AP-HP, Hôpital Saint-Antoine, Service d'Hématologie Clinique, F-75012, Paris, France

Published in Bone Marrow Transplantation (2021)

2021 Jul;56(7):1740-2. <https://doi.org/10.1038/s41409-021-01245-6>



Venetoclax does not impair activated T-cell proliferation

Lama Siblany^{1,2} · Béatrice Gaugler^{1,2} · Nicolas Stocker^{1,2} · Laure Ricard^{1,2} · Yishan Ye¹ · Mohamad Mohty^{1,2} · Florent Malard^{1,2}

Received: 3 November 2020 / Revised: 1 February 2021 / Accepted: 15 February 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Limited 2021

To the Editor:

Allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT) is the standard consolidation therapy for patients with intermediate or high-risk acute myeloid leukemia (AML). However, while patients' outcomes after allo-HCT have significantly improved over the last decade, relapse of the underlying malignancy remains the leading cause of morbidity and mortality. Therefore, development of safe and effective therapeutic strategies to prevent or treat AML relapse is essential [1]. Donor lymphocyte infusion (DLI), a well-established treatment of relapsed AML, seems to be an effective prophylactic treatment alone or in combination with the hypomethylating agent azacytidine [2]. Furthermore, maintenance therapy with FLT3 inhibitors seems to be effective in reducing the risk of relapse of FLT3-ITD mutated AML [3].

The orally available Bcl-2 inhibitor venetoclax, combined with a hypomethylating agent has shown efficacy in newly diagnosed and relapsed or refractory AML [4]. Furthermore, Byrne et al. recently reported the use of venetoclax combined with a hypomethylating agent or low-dose aracytine in 21 patients with relapsed AML after allo-HCT [5]. Results were promising with an overall response rate of 42%, including five complete remissions and three complete remissions with incomplete count recovery, among 19 evaluable patients. Therefore, maintenance after allo-HCT with venetoclax + azacytidine is currently being evaluated

in large phase 2 and phase 3 studies (NCT04128501, NCT04161885).

Nevertheless, since Bcl-2 is important for effector and memory T-cell responses [6] and venetoclax can cause reductions in T-cell number [7], it raises the question of the impact of venetoclax on the T-cell mediated graft-versus-leukemia (GVL) effect after allo-HCT and after DLI. Thus, the aim of this study was to evaluate the in-vitro effect of venetoclax on alloreactive T cells in the graft-versus-host disease (GVHD)/GVL balance after allo-HCT.

We first evaluated the effect of venetoclax on activated T cells. T-cell activation was achieved by incubating peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) with anti-CD3 and anti-CD28 antibodies (Abs) in the presence of different clinically relevant concentrations of venetoclax or vehicle control for 24 h (online Supplemental methods, Fig. 1). The viability of the T-cell subpopulations (CD3+CD4+, CD3+CD8+) was evaluated by flow cytometry. No difference in viability was observed when the cells were treated with venetoclax or vehicle control for either CD4+ or CD8+ T cells (Fig. 1a, b). Furthermore, as a control we evaluated the effect of venetoclax on activated B cells. PBMCs were activated by CpG-B and exposed to the same concentrations of venetoclax or vehicle control for 24 h. A significant decrease in viability of CD19+ B cells was observed in the presence of the highest concentrations of 1 and 3 mM of venetoclax (Fig. 1c), in agreement with previously published data on B cells [8]. Overall, our findings indicate, that in contrast to activated B cells, venetoclax does not appear to have an effect on activated T cells. Furthermore, we did not find any effect of venetoclax, even at the highest concentration used compared to vehicle control on the proliferation of T cells activated by anti-CD3/CD28 evaluated by CFSE assay (Fig. 1d).

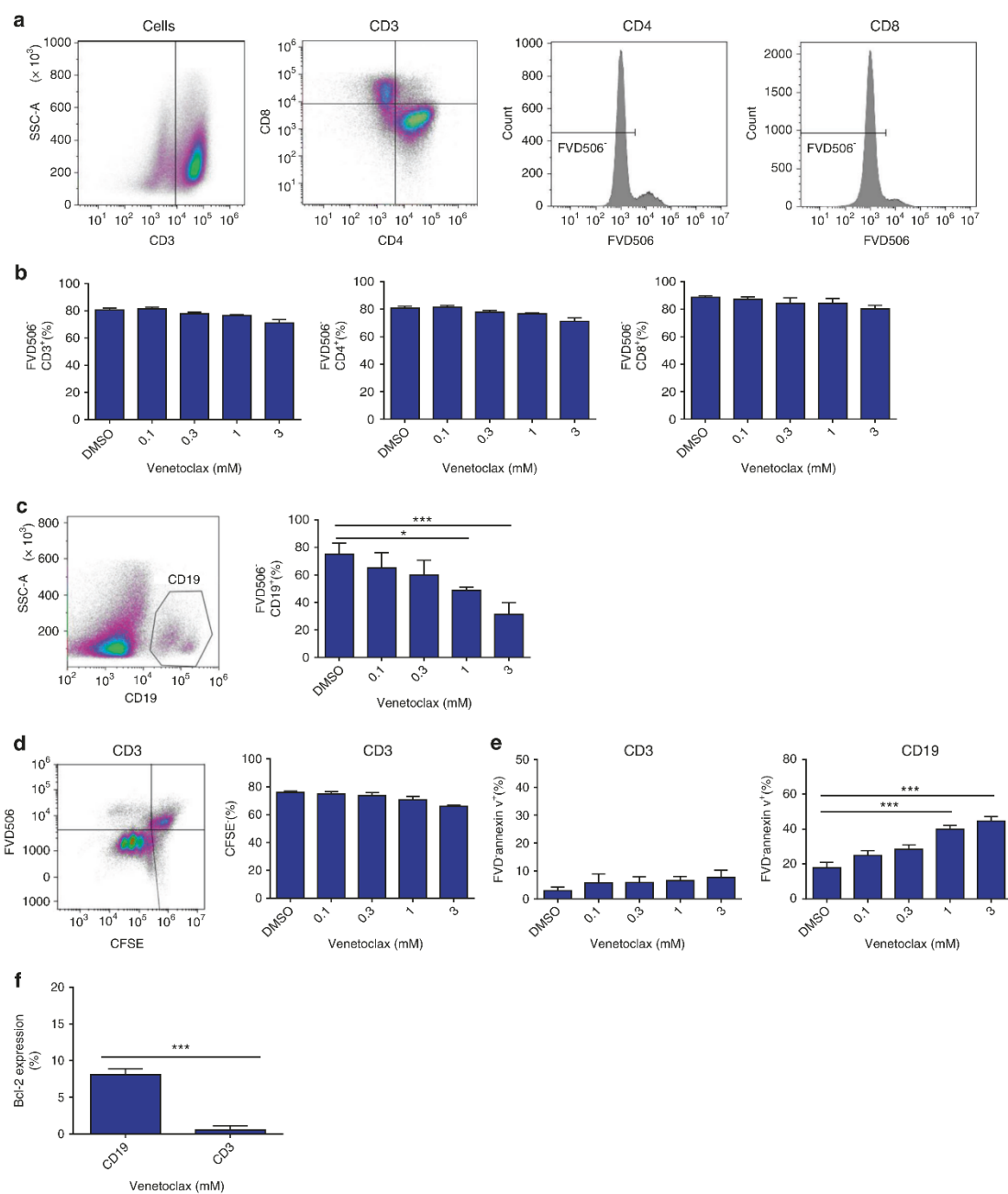
In addition, we evaluated the effect of venetoclax on the induction of apoptosis in T cells. For this purpose, cells were treated after activation for 24 h with different concentrations of venetoclax. Apoptosis was evaluated by labeling with annexin V and a viability marker. Venetoclax

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41409-021-01245-6>.

✉ Florent Malard
florent.malard@inserm.fr

¹ Sorbonne Université, INSERM, Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA), Paris, France

² AP-HP, Hôpital Saint-Antoine, Service d'Hématologie Clinique et Thérapie Cellulaire, Paris, France



did not induce T-cell apoptosis compared to the vehicle control, even at the highest concentrations (Fig. 1e). As a control, we also evaluated induction of apoptosis on B cells and found that the highest concentrations of venetoclax (1 and 3 mM) significantly increased B-cell apoptosis as compared to the vehicle control (Fig. 1e). Given the

established role of Bcl-2 in T-cell homeostasis [6] and the reduced T-cell number in venetoclax-treated patients [7], we compared Bcl-2 expression in activated T and B cells to account for the absence of effect of the Bcl-2 inhibitor venetoclax on T cells compared to B cells. Thus, we performed Bcl-2 intracellular labeling and found

Fig. 1 Effect of venetoclax on T cells and B cells. **a** Representative example of gating strategy for viability marker FVD506 analysis on CD4⁺ and CD8⁺ T cells. **b** The graphs represent the mean \pm SD of the % FVD506⁻ cells among the CD3 (left panel), CD4 (middle panel) or CD8 T cells (right panel) treated with the indicated doses of venetoclax for three independent experiments. **c** The graphs represent the mean \pm SD of the % FVD506⁻ cells among CD19⁺ B cells after treatment with the indicated doses of venetoclax for three independent experiments, the % of viable FVD506⁻ cells was obtained in the CD19⁺ B cells gate (left panel). **d** Effect of venetoclax on the proliferation of activated T cells. A cytometry plot showing CFSE dilution and FVD506 expression on CD3 T cells. The graph represents the mean \pm SD for three independent experiments of the % FVD506⁻ CFSE⁻ cells among the CD3⁺ T cells treated with the indicated doses of venetoclax (right panel). **e** Effect of venetoclax on apoptosis of T and B cells. The graphs represent the mean \pm SD for three independent experiments of the % apoptotic cells FVD-Annexin V⁺ cells among CD3⁺ T cells (left panel) and CD19⁺ B cells (right panel) after treatment with the indicated doses of venetoclax. **f** The graph represents the Bcl-2 expression in activated T and B cells (* $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$).

that Bcl-2 expression was significantly higher in activated B cells compared to T cells (Fig. 1f), explaining the differential effect of the Bcl-2 inhibitor on activated T and B cells.

Overall, our findings suggest that use of venetoclax to prevent or treat AML relapse after allo-HCT has no detrimental effect on the T-cell mediated GVL effect. Furthermore, DLI is an important strategy in the armamentarium of post allo-HCT AML management [1]. DLI consisted of the administration of a selected dose of CD3⁺ T cells to expand the T-cell repertoire and enhance the GVL effect. Therefore, based on our results, venetoclax will not impair DLI efficacy and they can be safely combined.

Regarding acute GVHD, we do not expect venetoclax to be protective and we cannot exclude that the enhanced GVL effect will come at the cost of an increased risk of acute GVHD. Nevertheless, as already known, we find that venetoclax induce activated B-cell depletion. Given the important role of B cells in chronic GVHD pathophysiology [9], this suggest that venetoclax may contribute to chronic GVHD prevention. We acknowledge that we did not evaluate the impact of venetoclax on other important immune cell subsets involved in the GVHD/GVL balance, in particular regulatory T cells and NK cells. Further studies will be necessary, including in-vivo studies, to decipher the exact effect of venetoclax on the different immune subsets involved in GVHD/GVL balance.

Overall, the use of venetoclax to prevent or to treat AML relapse after allo-HCT seems to be a promising therapeutic strategy that does not impair the GVL effect and may enhance the allogeneic effect. This paves the way for future clinical and immunological studies in these patients and will be important in understanding the possible immunomodulatory effect of venetoclax in the post allo-HCT setting.

Acknowledgements The authors acknowledge the clinical teams who provided care for the study patients, and the Tumortheque of Saint-Antoine Hospital.

Author contributions All authors listed on the manuscript have contributed substantially to this work. LS, BG, MM, and FM designed the study, LS, BG, LR, NS and YY contributed the flow cytometry data, and LS and FM performed the statistical analysis. LS, BG, and FM prepared the manuscript and figures for publication.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest MM reports grants and/or lecture honoraria from Janssen, Sanofi, MaaT Pharma, JAZZ Pharmaceuticals, Celgene, Amgen, BMS, Takeda, Pfizer, and Roche. FM reports lecture honoraria from Therakos/Mallinckrodt, Biocodex, Janssen, Keocyt, Sanofi, JAZZ Pharmaceuticals, and Astellas, all outside the submitted work. The other authors did not disclose any relevant conflict of interest in relation to this work.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

References

- Dholaria B, Savani BN, Hamilton BK, Oran B, Liu HD, Tallman MS, et al. Hematopoietic cell transplantation in the treatment of newly diagnosed adult acute myeloid leukemia: an evidence-based review from the American Society of Transplantation and Cellular Therapy. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2020. [Online ahead of print].
- Guillaume T, Malard F, Magro L, Labopin M, Tabrizi R, Borel C, et al. Prospective phase II study of prophylactic low-dose azacitidine and donor lymphocyte infusions following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant*. 2019;54:1815–26.
- Bazarbachi AH, Al Hamed R, Malard F, Mohty M, Bazarbachi A. Allogeneic transplant for FLT3-ITD mutated AML: a focus on FLT3 inhibitors before, during, and after transplant. *Ther Adv Hematol*. 2019;10:2040620719882666.
- DiNardo CD, Maiti A, Rausch CR, Pemmaraju N, Naqvi K, Daver NG et al. 10-day decitabine with venetoclax for newly diagnosed intensive chemotherapy ineligible, and relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a single-centre, phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2020;7:e724–36.
- Byrne M, Danielson N, Sengsayadeth S, Rasche A, Culos K, Gatwood K, et al. The use of venetoclax-based salvage therapy for post-hematopoietic cell transplantation relapse of acute myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 2020;95:1006–14.
- Wojciechowski S, Tripathi P, Bourdeau T, Acero L, Grimes HL, Katz JD, et al. Bim/Bcl-2 balance is critical for maintaining naive and memory T cell homeostasis. *J Exp Med*. 2007;204:1665–75.
- Lu P, Fleischmann R, Curtis C, Ignatenko S, Clarke SH, Desai M, et al. Safety and pharmacodynamics of venetoclax (ABT-199) in a randomized single and multiple ascending dose study in women with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2018;27:290–302.
- Khaw SL, Mérimo D, Anderson MA, Glaser SP, Bouillet P, Roberts AW, et al. Both leukaemic and normal peripheral B lymphoid cells are highly sensitive to the selective pharmacological inhibition of prosurvival Bcl-2 with ABT-199. *Leukemia*. 2014;28:1207–15.

4. Données supplémentaires : “Materials and methods”

a. Venetoclax Preparation

The different concentrations of venetoclax (ABT-199) (Euromedex) were prepared between 0.8 and 3 mM. The therapeutic concentration ranged from 0.05 mM to 2 mM (300). Venetoclax was dissolved in DMSO with a concentration of 0.1% in all experiments.

b. Activation of T cells *in vitro*

Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were obtained from healthy donors from “Etablissement Français du Sang”, Paris Saint-Antoine-Crozatier. PBMCs were isolated with a standard gradient centrifugation procedure on a lymphocyte separation medium (Lymphosep separation media, Dutscher, Issy-les-Moulineaux, France).

PBMCs were cultured at 500,000 cells/well in 96-well round bottom microplate) in RPMI medium (Eurobio) supplemented with 10% Fetal Bovine Serum (FBS), 2mM L-glutamine, 100 U/mL penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 1mM sodium pyruvate (Eurobio) and non-essential amino acids (MEM, Life Technologies). The wells were previously coated with anti-CD3 at 10 µg/ml (LEAF Purified anti-human CD3, clone OKT3, Biolegend). The PBMCs were activated in the presence of anti-CD28 (5µg/mL, Anti-Human CD28 Functional Grade Purified, clone CD28.2, eBioscience). After 3 days of culture, the cells were treated with the indicated concentrations of venetoclax ranging from 0.1 to 3 mM for 24 h and then analyzed.

c. Activation of B cells *in vitro*

PBMCs from healthy donors were cultured at 500,000 cells/well (96-well round bottom microplate, Sarstedt) in RPMI medium supplemented with 10% FBS, 2mM L-glutamine, 100 U/mL penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 1mM sodium pyruvate (Eurobio) and non-essential amino acids (MEM, Life Technologies). PBMCs were activated in the presence of 1µg/mL of CpG-B ODN 2006 (Miltenyi Biotec, Paris, France) for 24 hours, then treated with different doses of ventoclax and then analyzed by flow cytometry.

d. Proliferation analysis

PBMCs were incubated for 10 min with 1µM of CFSE (Invitrogen) in a light-free environment at room temperature. To stop the reaction, complete cold medium is added and the tube is placed

on ice. Then the cells are washed three times with the complete medium and placed in the wells for culture. T cell proliferation was assessed at day-4 of culture by flow cytometry.

e. Analysis of apoptosis and viability

The viability of cells was analyzed by labelling with Fixable Viability Dye eFluor™ 506 (FVD) (Invitrogen) according to the manufacturer's recommendations for 15 min at 4°C. After 2 washes in PBS, the cells were incubated with 1µl of AnnexinV FITC (Biolegend) in AnnexinV Binding Buffer (Biolegend). After 15 min incubation at room temperature and protected from light, the cells were washed with PBS and analyzed with a flowcytometer (Cytoflex, Beckman Coulter). FVD⁻ cells were regarded as viable, FVD⁺ cells as dead, and FVD-Annexin V⁺ cells as apoptotic.

f. Flow cytometry analysis

After culture, cells were harvested and washed in PBS (Dulbecco Saline Phosphate Buffer, Eurobio, France), then incubated with the different fluorochrome-conjugated monoclonal antibodies (mAb) in Staining Buffer (BD Biosciences) for 20 minutes, then the cells were washed with PBS and analysed with a flow cytometer (Cytoflex, Beckman Coulter, Villepinte, France). The used mAbs were as follow: CD4-PE, CD3-APC-Alexa 750, CD19-APC Alexa 750 (Beckman Coulter) and CD8-APC (BD Biosciences, Le Pont de Claix, France).

For Bcl-2 expression, we performed surface labeling with CD4-Pacific Blue), CD3-APC-Alexa 750, (both from Beckman Coulter) and CD8-APC (BD Biosciences) for T cells and CD19-APC Alexa 750 (Beckman Coulter) for B cells. Afterwards cells were stained with PE-Bcl-2 (BD Biosciences, Le Pont de Claix, France) or the corresponding isotype controls, using the Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer Set (Thermo Fisher Scientific).

Compensation beads were used for compensation parameters (VersaComp, Beckman Coulter). Data were analyzed with Kaluza Analysis v1.5a software (Beckman Coulter).

g. Statistical analysis

Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 6 software (GraphPad Software). Comparisons between groups were performed with the non-parametric test for the cell populations of interest. Observed differences were considered statistical for a p value < 0.05.

II. Deuxième partie : rôle des cellules MAIT et des lymphocytes T $\gamma\delta$ après allo-CSH

Malgré les avantages thérapeutiques de l'allo-CSH, l'immunodéficience profonde associée à la procédure de l'allogreffe reste un problème majeur qui rend les patients vulnérables aux complications. Aujourd'hui, il est bien établi qu'une reconstitution immunitaire rapide et efficace, en particulier du compartiment des LT, est essentielle pour obtenir un résultat favorable à court et long terme. La reconstitution de LT non conventionnels a été moins étudiée mais il semble qu'ils aient un rôle immunomodulateur important après allo-CSH. Dans le cadre de l'allo-CSH, un nombre de cellules MAIT élevé après allo-CSH a un impact favorable en diminuant la GvHD aiguë (248). Outre les cellules MAIT, les LT $\gamma\delta$ et notamment les LT V δ 2 jouent un rôle important après allo-CSH. L'activité anti-infectieuse et anti-tumorale des LT V δ 2 prédit un rôle protecteur après allo-CSH en ce qui concerne la rechute. Un nombre plus élevé de LT V δ 2 au 28^e jour après allo-CSH a été associé à un risque plus faible de GvHD aiguë (248). Dans ce contexte, nous avons voulu évaluer l'impact des cellules MAIT et LT V δ 2 dans la réussite de l'allo-CSH et nous présenterons les résultats dans cette seconde partie.

Article

Unconventional T cells influence clinical outcome after allogeneic hematopoietic cell transplantation

Lama Siblany^{1, 2}, Béatrice Gaugler^{1, 2}, Nicolas Stocker^{1, 2}, Laure Ricard^{1, 2}, Eolia Brissot^{1, 2}, Rémy Duléry^{1, 2}, Mohamad Mohty^{1, 2} and Florent Malard^{1, 2}

1. Sorbonne Université, INSERM, Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA), F-75012 Paris, France

2. AP-HP, Hôpital Saint-Antoine, Service d'Hématologie Clinique et Thérapie Cellulaire, Sorbonne Université, F-75012, Paris, France

Running title:

Word count:

Correspondence and reprint requests:

Florent Malard MD, PhD, Department of Clinical Hematology and Cellular Therapy, Saint-Antoine Hospital, 75012 Paris, France

E-mail address: florent.malard@inserm.fr

Competing interests' statement:

FM reports lecture honoraria from Therakos/Mallinckrodt, Janssen, Keocyte, Sanofi, JAZZ pharmaceuticals and Astellas, all outside the submitted work. MM reports grants and lecture honoraria from Janssen, Sanofi, Maat Pharma and JAZZ pharmaceuticals, lecture honoraria from Celgene, Amgen, BMS, Takeda, and Pfizer, grants from Roche, all outside the submitted work. The other authors declare no competing financial interests.

Abstract

We evaluated the impact of early recovery of mucosal-associated invariant T cells (MAIT) and $\gamma\delta$ T cells, especially $V\delta 2^+$ T cells, on the clinical outcomes of 76 patients who underwent allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT). MAIT cells were identified at day 20-30 post-transplant using flow cytometry and defined as $CD3^+ TCRV\alpha 7.2^+ CD161^+$. Two subsets of $V\delta 2^+$ T cells were analyzed according to the expression of CD26. Cytotoxicity profile of MAIT and $V\delta 2^+$ T cells was analyzed according to the intracellular expression of perforin and granzyme B, and intracellular IFN- γ was evaluated after *in vitro* activation. $CD26^+ V\delta 2^+$ T cells displayed higher intracellular levels of IFN- γ , whereas $CD26^- V\delta 2^+$ T were found more cytotoxic. Moreover, MAIT cell frequency was correlated to the frequency of $V\delta 2^+$ T cells with a better correlation observed with $V\delta 2^+ CD26^+$ than $V\delta 2^+ CD26^-$ T cells subset. By using the composite endpoint GvHD-free relapse-free survival (GRFS) as the primary endpoint, we found that patients with a higher MAIT cell frequency at day 20-30 after allo-HCT had a significantly increased GRFS and a better overall survival (OS) and disease-free survival (DFS). Moreover, patients with a low CD69 expression by MAIT cells had an increased cumulative incidence of grade 2-4 aGvHD. These results suggest that MAIT cells reconstitution may provide mitigated effects early after allo-HCT depending on their activation markers and functional status. Patients with a high frequency of $V\delta 2^+ CD26^+$ T cells had a significantly higher GRFS, OS and DFS, but no impact on cumulative incidence of grade 2-4 aGVHD, non-relapse mortality and relapse. These results revealed that the impact of $V\delta 2^+$ T cells on the success of allo-HCT may vary according to the frequency of the $CD26^+$ subset.

INTRODUCTION

Allogeneic hematopoietic cell transplantation (Allo-HCT) is the only curative treatment for many patients with malignant and non-malignant diseases. Immune reconstitution after allo-HCT is a critical parameter for successful allo-HCT. Unconventional T cells may have an important immunomodulatory role after allo-HCT, by making a bridge between innate and adaptive immunity ¹. In contrast to conventional T cells that recognize antigenic peptides presented by MHC molecules, unconventional T cells recognize lipid and metabolite antigens presented by non-conventional conserved antigen-presenting molecules ². Mucosal-associated invariant T cells (MAIT) express the semi-invariant TCR V α 7.2 and CD161 and recognize metabolites derived from the microbial riboflavin pathway presented by the non-classical MHC class I related molecule (MR1) ³. Activation of MAIT cells through infection increases the expression of CD69 activation marker, the production of cytotoxic granules such as perforin and granzyme, and the secretion of pro-inflammatory cytokines ^{2, 4}. Another type of unconventional T cells is $\gamma\delta$ T cells, among them, V δ 2⁺ T cells are predominant in the peripheral blood in most adults. V δ 2⁺ T cells are activated by phosphoantigens associated with butyrophilin ⁵. In the context of allo-HCT, it has been reported that increased numbers of MAIT cells in perfused grafts were associated with a lower incidence of acute intestinal graft-*versus*-host disease (GvHD) after allo-HCT ⁶. MAIT cells contained in the graft contribute to early MAIT cell reconstitution ⁷. Like MAIT cells, $\gamma\delta$ T cells play an important role after allo-HCT. $\gamma\delta$ T cells reconstitute early after allo-HCT and are influenced by infections and viral reactivation ⁸. We previously reported that early reconstitution of V δ 2⁺ T cells was significantly reduced by post-transplant cyclophosphamide which induced a delayed recovery following haploidentical HCT. Patients having the lowest $\gamma\delta$ and V δ 2⁺ T cell counts at day 30 after allo-HCT had a significantly higher risk of EBV reactivation ⁹. The anti-tumor activity of $\gamma\delta$ T cells predicts a protective role after allo-HCT with respect to relapse. Thus, enhanced $\gamma\delta$ T cells reconstitution 2 months after transplantation was associated to a reduced cumulative incidence of relapse and improved overall and relapse-free survival ¹⁰. The link between $\gamma\delta$ T cells and acute GvHD (aGvHD) has also been examined and higher numbers of $\gamma\delta$ T cells or only V δ 2 T cells subset on day 28 post-transplant was associated with a lower risk of aGvHD ¹⁰. A recent study identified two subsets of V δ 2⁺ T cells according to CD26 expression, which is an enzyme that participates to T cell activation. V δ 2⁺ T cells that express CD26 are characterized by higher cytokine production, whereas V δ 2⁺CD26⁻ T cells are oriented to a cytotoxic profile ¹¹.

In this context, we evaluated the influence of early recovery of MAIT cells and V δ 2⁺ T cells according to CD26 expression and function on patients' outcomes after allo-HCT, by studying the frequency, activation and cytotoxicity profile of these T cells.

RESULTS

MAIT cells from allo-HCT patients exhibit an activated phenotype and high cytotoxicity profile.

We studied a cohort of 76 consecutive patients undergoing allo-HCT with frozen PBMC collected at day 20-30 after allo-HCT and no history of acute GvHD before PBMC sampling. The demographics population and disease characteristics are described in Table 1. The median age was 56 years (range 19-73). The gender distribution was 39 men (51%) and 37 women (49%). 58 patients (76%) had myeloid malignancies, 16 patients (21%) lymphoid tumors, and 2 (3%) aplastic anemia. The large majority of patients (88%) received PBSC graft. Twenty-seven patients had a matched related donor, 36 a matched unrelated donor and 11 a haploidentical donor. All but 3 patients received *in vivo* T cell depletion using anti-thymocyte globulin. In addition, 13 patients received post-transplant cyclophosphamide (haploidentical donor n=11, 9/10 mismatched unrelated donor, n=1, other reason n=1).

PBMC from patients were analyzed by flow cytometry at day 20-30 after allo-HCT and before acute GvHD onset. Absolute counts of T cells, MAIT and $\gamma\delta$ T cells are provided in supplemental Table 1. MAIT cells were identified at day 20-30 post-transplant using flow cytometry and defined as CD3⁺ TCRV α 7.2⁺ CD161⁺ as previously described (Fig 1A). We observed a significant decrease in the percentage of MAIT cells among CD3⁺ T cells at day 20-30 post-transplant compared with healthy controls (Fig 1B, p=0.033). We then analyzed the cytotoxicity profile of MAIT cells from patients and healthy controls according to the intracellular expression of perforin and granzyme B. The results showed that MAIT cells from allo-HCT patients expressed significantly more Granzyme B and perforin as compared to MAIT cells from healthy controls (Fig 1C, D p < 0.0001, p=0.002), suggesting their higher cytotoxic potential. We also evaluated the expression of the activation marker CD69 by MAIT cells from patients and healthy controls. We observed a significant increase in the expression of CD69 by MAIT cells from allo-HCT patients compared to healthy controls (Fig 1E, p=0.0001). Furthermore, by evaluating the expression of CD69 in MAIT cells in allo-HCT patients according to aGvHD severity, we observed a significant decrease in the percentage of CD69 in patients who developed grade 2-4 aGvHD as compared to patients with grade 0-1

aGvHD (Fig 1F, $p=0.008$). In contrast, we did not observe a significant difference in the percentage of granzyme B and perforin in patients who developed grade 2-4 aGvHD (Supplementary Fig 1A, B, $p=0.9$, $p=0.8$). These results show that MAIT cells in allo-HCT patients at day 30 after transplantation presented an activated phenotype and a cytotoxic capacity.

Circulating MAIT cells early after allo-HCT were associated with clinical outcome and acute GvHD onset.

To further investigate the potential role of MAIT cells in the success of allo-HCT, we next performed an analysis of their impact on the outcome of allo-HCT using the composite endpoint GvHD-free relapse-free survival (GRFS) as the primary endpoint. ROC curve analysis was performed to determine a threshold for MAIT cells. First, we examined the relationship between the frequency of MAIT cells and patient's outcome. We observed that patients with a higher MAIT cell frequency at day 30 had significantly increased GRFS (Fig 2A, $p=0.0026$), a better overall survival (OS) (Fig 2B, $p=0.015$) and disease-free survival (DFS) (Fig 2C, $p=0.0036$). However, we did not observe an influence of the percentage of MAIT cells on the cumulative incidence of grade 2-4 aGvHD, relapse and NRM (Supplemental Fig 2 A-C). However, we observed that CD69 expression by MAIT cells had an impact on outcome. The group of patients with a low CD69 expression had an increased cumulative incidence of grade 2-4 aGvHD (Fig 2D $p=0.04$), but we did not find differences in OS, GRFS, DFS, and CI of NRM and relapse depending on CD69 expression (data not show). Finally, the analysis of the influence of cytotoxicity profile of MAIT cells on the outcome of allo-HCT in patients revealed that the group of patients having Granzyme B above the ROC threshold had a decrease of the cumulative incidence of grade 2-4 aGvHD (Fig 2E $p=0.01$), and an increase in relapse but no impact was observed on NRM (Supplemental Fig 2D, E $p=0.05$, $p=0.51$), whereas no impact of perforin was observed (data not show). These results suggest that MAIT cell reconstitution may provide mitigated effects early after allo-HCT depending on their activation markers and functional status.

V δ ²⁺ T cells from allo-HCT patients exhibit a high cytotoxicity profile, depending on the expression of CD26.

In addition to MAIT cells, we also evaluated the other subset of $\gamma\delta$ T cells, in particular the most frequently represented in the periphery the V δ ²⁺ T cells subset, early after allo-HCT. We

did not observe a significant difference in the frequency of $V\delta 2^+$ T cells between patients at day 20-30 post-transplant and healthy controls (Fig 3A, B). We next focused on the expression of CD26 by $V\delta 2^+$ T cells. In fact, the expression of CD26 by $\gamma\delta$ T cells has previously been shown to discriminate two functional subsets, those expressing CD26 producing higher levels of cytokines whereas the $CD26^-$ subset being more cytotoxic¹¹. Thus, the analysis of CD26 expression revealed a significant increase in the percentage of $V\delta 2^+$ T cells expressing CD26 (Fig 3C) at day 20-30 post-transplant compared to healthy controls. We next examined by flow cytometry, the intracellular expression of perforin and granzyme B by $V\delta 2^+$ T cells. As expected, a significant increase in perforin and granzyme B expression was detected in $V\delta 2^+CD26^-$ T cells compared to $V\delta 2^+CD26^+$ T cells (Fig 3D, E, $p=0.03$, $p=0.024$). Conversely, we observed a decrease in intracellular expression of $INF-\gamma$ in $V\delta 2^+CD26^-$ T cells as compared to $V\delta 2^+CD26^+$ T cells (Fig 3F). Perforin and granzyme B expression were significantly higher in both subsets of $V\delta 2^+$ T cells from allo-HCT patients compared to healthy controls (Fig 3G, H, I, J, $p=0.0062$, $p=0.0001$, $p=0.0003$, $p<0.0001$). However, $INF-\gamma$ expression by $V\delta 2^+$ T cells between allo-HCT patients ($n=18$) and healthy controls was not significantly different (Supplemental Fig 3A, B). These results suggest the presence of functionally different subsets of $V\delta 2^+$ T cells early after allo-HCT according to the expression of CD26, $V\delta 2^+CD26^+$ T cells having a profile oriented towards a high cytokine secretion and cytotoxic capacity.

Finally, we also found that MAIT cell frequency was correlated to the frequency of $V\delta 2$ T cells (Fig 4A, $R=0.49$, $p<0.0001$). Moreover, the correlation was stronger between MAIT cell frequency and the subset $V\delta 2^+CD26^+$ T cells (Fig 4B, $R=0.49$, $p<0.0001$) compared to $V\delta 2^+CD26^-$ T cells ($R=0.32$, $p= 0.0008$) (data not show), in line with the previous work showing a similar transcriptional profile between MAIT and $V\delta 2^+CD26^+$ T cells, suggesting that these cells are triggered by related activation signals¹¹.

Circulating $V\delta 2^+$ T cells frequency early after allo-HCT was associated with better clinical outcome and a lower risk of relapse.

We also evaluated the impact of $V\delta 2^+$ T cells at day 20-30 on clinical events in allo-HCT patients, especially $V\delta 2^+CD26^+$ T cells. As for MAIT cells, we used the composite endpoint GRFS as the primary endpoint. ROC curve analysis was performed to determine the threshold. We observed that patients with a frequency of $V\delta 2^+CD26^+$ T cells above the ROC threshold at day 20-30 had significantly a better GRFS (Fig 5A, $p=0.004$), OS (Fig 5B, $p=0.05$) and DFS (Fig 5C, $p=0.03$). In contrast, we did not observe any impact of $V\delta 2^+CD26^+$ T cell frequency

on the cumulative incidence of grade 2-4 aGvHD, NRM and relapse in allo-HCT patients (Fig 5D-F). We also evaluated the impact of V δ 2⁺ T cells, independently of CD26 expression, on clinical events in allo-HCT patients. We observed that patients with a frequency of V δ 2⁺ T cells above the ROC threshold at day 20-30 had a significantly better GRFS (Supplemental Fig 4A, p=0.008), OS (Supplemental Fig 4B, p=0.03) and DFS (Supplemental Fig 4C, p=0.01), and a significant decrease in relapse (Supplemental Fig 4D, p=0.03). However, we did not observe an impact of V δ 2⁺ T cell frequency on the cumulative incidence of grade 2-4 aGvHD and NRM in allo-HCT patients (Supplemental Fig 4E, F). Finally, the analysis of the influence of the cytotoxicity profile of V δ 2⁺T cells on the outcome of allo-HCT in patients revealed that the group of patients having perforin or granzyme B above the ROC threshold had a decrease in NRM (Supplemental Fig 5A, B, p=0.02, p=0.04 respectively), whereas no impact was observed on relapse (Supplemental Fig 5C, D) or on the cumulative incidence of aGvHD in allo-HCT patients (data not show).

These results revealed that the impact of V δ 2⁺ T cells on patients' outcomes after allo-HCT may vary according to the frequency of the CD26⁺ subset.

DISCUSSION

Our study on the role of unconventional T cells, MAIT and V δ 2 T cells, in allo-HCT patients indicated that these T cells may impact post-transplant outcomes. We demonstrated that both populations were involved in patient's outcome. In particular, we found that patients with higher MAIT cell frequency had improved OS, in accordance with previous works. In a mouse model, recipient MAIT cells can prevent GvHD in the colon by promoting intestinal barrier function and regulating gut microbiota composition¹². In a clinical setting, patients with a higher MAIT cell frequency after allo-HCT had a significantly increased OS and decreased relapse-free mortality^{7, 13, 14} and a high number of MAIT cells in the graft correlate with a decrease of gut GvHD⁶. In addition, it appears that MAIT cell reconstitution is linked to intestinal microbiota^{6, 7, 15}. A recent study reported that MAIT frequency early after allo-HCT was associated with the diversity of the intestinal microbiome and correlated with favorable outcome with less aGvHD¹. In our study, we found a decrease in the frequency of CD69⁺ MAIT cells in patients who experienced grade 2-4 aGvHD as well as an increased CI of grade 2-4 aGvHD for patients under the threshold for CD69⁺ MAIT. These data suggest that a high frequency of activated MAIT may be protective against aGvHD. The mechanism by which MAIT cells may protect against acute aGvHD remains to be clarified. In fact, CD69 has been

demonstrated as a reliable marker of the response of MAIT cells to viral infection, as a consequence of elevated circulating inflammatory cytokine levels⁷. MAIT cells are best known for their production of cytotoxic mediators and cytokines upon activation, such as perforin and granzymes, IFN γ , TNF, and IL-17, although the latter is not considered to be produced in abundance by circulating MAIT cells in the steady state¹⁷. In the context of acute GvHD, a preclinical study demonstrated that recipient MAIT cells protect against acute gut GvHD in an IL-17 dependent manner¹². We can hypothesize that CD69 can be expressed during the first month after allo-HCT due to the general pro-inflammatory state, as well as to recurrent bacterial or viral infections occurring during this period providing a protective role for MAIT cells in patients after allo-HCT.

In our study, we also investigated the role of V δ 2⁺ T cells in allo-HCT patients, and we focused on CD26 expression by V δ 2⁺ T cells given their related phenotype and function to MAIT cells¹¹. We showed an increase in V δ 2⁺ T cells expressing CD26 in patients compared to healthy controls, probably due to the conditions of patients after allo-HCT where they can be triggered by infections during the first months after allo-HCT. In this study, we confirmed the positive impact of a high frequency of V δ 2⁺ T cells during the first month after transplantation. We also reported the beneficial impact of the CD26⁺ subset with an improvement in OS, GRFS, and DFS. The positive effect of V δ 2⁺ CD26⁺ T cells on the success of allo-HCT may be due to the anti-infectious and anti-tumoral effects already reported. As for MAIT cells, V δ 2⁺ T cells frequencies were reported to correlate with peri-engraftment intestinal α -diversity after allo-HCT when matched stool samples were analyzed¹. Unfortunately, we were not able to correlate our data frequencies with intestinal microbiota in the absence of matched stool samples. It would be interesting to analyze whether MAIT cells and V δ 2⁺ T cells could be restored and correlated with microbiota diversity restoration after fecal microbiota transplantation for the treatment of corticoid resistant aGvHD patients.

This study provides new information on the influence of MAIT and V δ 2⁺ T cells in allo-HCT setting.

PATIENTS AND METHODS

Patients

This retrospective study included a cohort of 76 patients who underwent Allo-HCT for hematologic malignancies between April 2013 and November 2018 at Saint-Antoine University Hospital (AP-HP, Paris, France). All patients received allo-HCT with a PBSC or bone marrow

graft and had at least one frozen peripheral blood sample available at day 20-30 after allo-HCT. A group of 10 healthy controls [HD group, Etablissement Français du Sang (EFS, Paris Saint-Antoine-Crozatier, Paris, France)] was established to serve as a baseline reference. Written informed consent was obtained from each patient. For the analysis of relapse in allo-HCT patients, the two patients with aplastic anemia were excluded.

Biological samples

Peripheral blood samples were collected between Day 20 and Day 30 after Allo-HCT. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated using lymphocyte separation medium (MP Biomedicals, Illkirch-Graffenstaden, France) by density gradient centrifugation, and an aliquot was cryopreserved.

Phenotype analysis by Flow cytometry

After thawing of PBMCs, human Fc block (Miltenyi Biotec) was then added for 10 min at 4°C, followed by staining with the following antibody panel for 20 min at 4°C: anti-CD26 (FITC), anti-CD8 (AA700), anti-TCR V α 7. 2 (APC), anti-CD45 (BV605), anti-CD4 (BV650), anti-CD69 (BV785) (BioLegend, Ozyme, Saint-Quentin en Yvelines, France); anti-TCR $\gamma\delta$ (PECy5. 5), anti-CD3 (AA750), anti-TCR V δ 2 (PB) anti-CD8 (KRO) (Beckman Coulter, Villepinte, France); anti-CD161(PE) (Miltenyi, Bergisch-Gladbach, Germany). For intracellular flow cytometry analysis, surface staining was performed as described above according to the following panel: Anti-CD26 (FITC), anti-CD8(AA700), anti-TCR V α 7. 2 (PE /Dazzle 594), anti-CD45 (BV605), anti-CD4 (BV650), anti-CD69 (BV785) (BioLegend, Ozyme, Saint-Quentin en Yvelines, France); anti-TCR $\gamma\delta$ (PECy5. 5), anti-CD3 (AA750), anti-TCR V δ 2 (PB) (Beckman Coulter, Villepinte, France); anti-CD161 (PE) (Miltenyi, Bergisch-Gladbach, Germany). Cells were then fixed and permeabilized with BD Cytotfix/Cytoperm (BD) staining buffer kit according to the manufacturer's instructions. Cytotoxicity analysis was performed using anti-granzyme B (PC7) and anti-perforin (BV510) antibodies (Biolegend) for 30 minutes at 4°C. UltraComp eBeads (Invitrogen) were used for antibody compensation. Data were acquired on a Cytotflex flow cytometer (Beckman Coulter) and analyzed using Kaluza Analysis v2.1 software (Beckman Coulter).

Stimulation of PBMCs

After thawing of PBMCs, PBMCs were cultured in complete medium at 2x10⁶/mL and stimulated with 50ng/ml IL-12 and IL-18 for 24 hours with the addition of Golgi Stop and Golgi Plug (BD Biosciences) after 8 hours. For cytokine analysis, activated cells are stained with the following antibody panel for 20 min at 4°C: Anti-CD26 (FITC), anti-CD8(AA700), anti-TCR

V α 7. 2 (BV421), anti-TCR V δ 2 (BV605), anti-CD8 (BV650), anti-CD69 (BV785), CD161 (PC7) (BioLegend); anti-TCR $\gamma\delta$ (PECy5. 5), anti-CD3 (AA750), (Beckman Coulter). Cells were then fixed for and permeabilized with BD Cytotfix/Cytoperm (BD) staining buffer kit according to the manufacturer's instructions. Intracellular cytokine analysis was performed using anti-TNF- α (AA700) (Beckman Coulter), IL-17 (APC) (Biolegend) and anti-INF- γ (PE) (Miltenyi) antibodies for 30 minutes at 4°C. Only 18 patients were studied, due to the limited number of PBMCs available for some patients.

Statistical analysis

Differences between continuous variables were performed using Mann-Whitney Test. For analysis of two groups, Wilcoxon matched pairs test was employed. The cumulative incidence of aGvHD, relapse, and non-relapse mortality (NRM) was estimated, and the groups were compared using Gray's test. Relapse was defined as the competitive risk of NRM, and vice versa. OS was calculated from the date of allo-HCT to the time of death or last observation if the patient was still alive. Disease-free survival (DFS) was calculated from the date of allo-HCT to the time of relapse, progression or death whichever occur first. Refined GvHD- and relapse-free survival (GRFS) was defined as a combination of survival without evidence of relapse/progression, grade III-IV aGvHD, and extensive cGvHD¹⁶. Probabilities of DFS, GRFS, and OS were estimated using the Kaplan-Meier method, and groups were compared using the log-rank test. Cutoff values for cell concentrations at D30 after Allo-HCT were evaluated by constructing ROC curves and then calculating the area under the curve (AUC) for each to identify the best cutoff value across the cohort. For these analyses, only serial samples collected before aGvHD and relapse were considered. The type I error rate was set at 0.05. Statistical analyses were performed using graphPad Prism 8 and EZR version 1.37 (Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Japan), which is a graphical interface for R (The R Foundation for Statistical Computing; version 3.5.0).

References

1. Andrlova H, van den Brink MRM, Markey KA. An Unconventional View of T Cell Reconstitution After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Front Oncol* 2020; **10**: 608923. e-pub ahead of print 20210218; doi: 10.3389/fonc.2020.608923
2. Mori L, Lepore M, De Libero G. The Immunology of CD1- and MR1-Restricted T Cells. *Annu Rev Immunol* 2016; **34**: 479-510. e-pub ahead of print 20160225; doi: 10.1146/annurev-immunol-032414-112008
3. Treiner E, Duban L, Bahram S, Radosavljevic M, Wanner V, Tilloy F *et al.* Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nature* 2003; **422**(6928): 164-169. doi: 10.1038/nature01433
4. Rudak PT, Choi J, Haeryfar SMM. MAIT cell-mediated cytotoxicity: Roles in host defense and therapeutic potentials in infectious diseases and cancer. *J Leukoc Biol* 2018; **104**(3): 473-486. e-pub ahead of print 20180418; doi: 10.1002/JLB.4RI0118-023R
5. Sandstrom A, Peigne CM, Leger A, Crooks JE, Konczak F, Gesnel MC *et al.* The intracellular B30.2 domain of butyrophilin 3A1 binds phosphoantigens to mediate activation of human Vgamma9Vdelta2 T cells. *Immunity* 2014; **40**(4): 490-500. e-pub ahead of print 20140403; doi: 10.1016/j.immuni.2014.03.003
6. Gao MG, Hong Y, Zhao XY, Pan XA, Sun YQ, Kong J *et al.* The Potential Roles of Mucosa-Associated Invariant T Cells in the Pathogenesis of Gut Graft-Versus-Host Disease After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol* 2021; **12**: 720354. e-pub ahead of print 20210903; doi: 10.3389/fimmu.2021.720354
7. Bhattacharyya A, Hanafi LA, Sheih A, Golob JL, Srinivasan S, Boeckh MJ *et al.* Graft-Derived Reconstitution of Mucosal-Associated Invariant T Cells after Allogeneic

- Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; **24**(2): 242-251. e-pub ahead of print 20171009; doi: 10.1016/j.bbmt.2017.10.003
8. Ravens S, Schultze-Florey C, Raha S, Sandrock I, Drenker M, Oberdorfer L *et al.* Human gammadelta T cells are quickly reconstituted after stem-cell transplantation and show adaptive clonal expansion in response to viral infection. *Nat Immunol* 2017; **18**(4): 393-401. e-pub ahead of print 20170220; doi: 10.1038/ni.3686
 9. Stocker N, Gaugler B, Labopin M, Farge A, Ye Y, Ricard L *et al.* High-dose post-transplant cyclophosphamide impairs gammadelta T-cell reconstitution after haploidentical haematopoietic stem cell transplantation using low-dose antithymocyte globulin and peripheral blood stem cell graft. *Clin Transl Immunology* 2020; **9**(9): e1171. e-pub ahead of print 20200923; doi: 10.1002/cti2.1171
 10. Minculescu L, Marquart HV, Ryder LP, Andersen NS, Schjoedt I, Friis LS *et al.* Improved Overall Survival, Relapse-Free-Survival, and Less Graft-vs.-Host-Disease in Patients With High Immune Reconstitution of TCR Gamma Delta Cells 2 Months After Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol* 2019; **10**: 1997. e-pub ahead of print 20190822; doi: 10.3389/fimmu.2019.01997
 11. Wragg KM, Tan HX, Kristensen AB, Nguyen-Robertson CV, Kelleher AD, Parsons MS *et al.* High CD26 and Low CD94 Expression Identifies an IL-23 Responsive Vdelta2(+) T Cell Subset with a MAIT Cell-like Transcriptional Profile. *Cell Rep* 2020; **31**(11): 107773. doi: 10.1016/j.celrep.2020.107773
 12. Varelias A, Bunting MD, Ormerod KL, Koyama M, Olver SD, Straube J *et al.* Recipient mucosal-associated invariant T cells control GVHD within the colon. *J Clin Invest* 2018; **128**(5): 1919-1936. e-pub ahead of print 20180409; doi: 10.1172/JCI91646
 13. Solders M, Erkers T, Gorchs L, Poiret T, Remberger M, Magalhaes I *et al.* Mucosal-Associated Invariant T Cells Display a Poor Reconstitution and Altered Phenotype after

- Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol* 2017; **8**: 1861. e-pub ahead of print 20171221; doi: 10.3389/fimmu.2017.01861
14. Kawaguchi K, Umeda K, Hiejima E, Iwai A, Mikami M, Nodomi S *et al.* Influence of post-transplant mucosal-associated invariant T cell recovery on the development of acute graft-versus-host disease in allogeneic bone marrow transplantation. *Int J Hematol* 2018; **108**(1): 66-75. e-pub ahead of print 20180326; doi: 10.1007/s12185-018-2442-2
 15. Konuma T, Kohara C, Watanabe E, Takahashi S, Ozawa G, Suzuki K *et al.* Reconstitution of Circulating Mucosal-Associated Invariant T Cells after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Its Association with the Riboflavin Synthetic Pathway of Gut Microbiota in Cord Blood Transplant Recipients. *J Immunol* 2020; **204**(6): 1462-1473. e-pub ahead of print 20200210; doi: 10.4049/jimmunol.1900681
 16. Ruggeri A, Labopin M, Ciceri F, Mohty M, Nagler A. Definition of GvHD-free, relapse-free survival for registry-based studies: an ALWP-EBMT analysis on patients with AML in remission. *Bone Marrow Transplant* 2016; **51**(4): 610-611. e-pub ahead of print 20151214; doi: 10.1038/bmt.2015.305
 17. Hinks TS, Marchi E, Jabeen M, Olshansky M, Kurioka A, Pediongco TJ, Meehan BS, Kostenko L, Turner SJ, Corbett AJ, *et al.* Activation and In Vivo Evolution of the MAIT Cell Transcriptome in Mice and Humans Reveals Tissue Repair Functionality. *Cell Reports* 2019; **28**(12): 3249-3262. e-pub ahead of print 20190917; doi:10.1016/j.celrep.2019.07.039

Table 1: Patients' characteristic

	All patients n = 76
Patients age in years (median)	56 (19-73)
Patients sex	
Male	39 (51%)
Female	37 (49%)
Disease (%)	
Myeloid	58 (76%)
Acute myeloid leukemia	44 (58%)
Myelodysplastic syndromes	5 (6%)
Myeloproliferative neoplasms	9 (12%)
Lymphoid	16 (21%)
Precursor lymphoid neoplasms	10 (13%)
Non-Hodgkin lymphomas	4 (6%)
Hodgkin lymphomas	1 (1%)
Chronic lymphocytic leukemia	1 (1%)
Aplastic anemia	2 (3%)
Graft source (%)	
Bone Marrow	7 (9%)
Umbilical Cord Blood	2 (3%)
Peripheral Blood Stem Cells	67 (88%)
Conditioning intensity (%)	
RTC	56 (74%)
RIC	13 (17%)
MAC	4 (5%)
NMA	3 (4%)
Donor type (%)	
Matched sibling donor	27 (36%)
Matched-unrelated donor	36 (47%)
Haploidentical donor	11 (14%)
Umbilical cord blood	2 (3%)
GvHD prophylaxis	
CsA alone	15 (20%)
CsA-MTX	6 (8%)
CsA-MMF	55 (72%)
PTCy	
No	63 (83%)
Yes	13 (17%)
Antithymocyte globulin	
Median (range)	5 (2.5-12.5)
No	3 (4%)
Yes	73 (96%)
GvHD 2-4 (%)	23 (30%)
Relapse (%)	13 (17%)

CsA, cyclosporine A; MMF, mycophenolate mofetil; MTX, methotrexate; PTCy, post-transplant cyclophosphamide; RIC, reduced intensity conditioning; RTC, reduced toxicity conditioning; MAC, myeloablative conditioning; NMA, nonablative.

PTCy 50 mg kg⁻¹ day⁻¹ at Day 3 and Day 5 (5 patients received PTCy at D3 only).

Legends:

Figure 1: Frequency, activation and cytotoxicity profile of MAIT cells in allo-HCT patients and healthy controls

(A) A representative density plots analysis of MAIT cells, with expression of CD69, perforin and granzyme B in peripheral blood of allo-HCT patients at day 20-30 post-transplantation. (B) Frequency of MAIT cells among peripheral CD3⁺ T cells of allo-HCT patients at day 20-30 post-transplantation (n=76) and healthy controls (HC) (p=0.033). (C, D) Percentage of granzyme B⁺ and perforin⁺ MAIT cells of allo-HCT patients (n=53) and HC (p<0.0001 and p=0.0029 respectively). (E) Percentage of CD69⁺ MAIT cells for allo-HCT patients (n=71) and HC (p=0.0001). (F) Percentage of CD69⁺ MAIT cells according to GvHD grade of allo-CSH patients at day 20-30 post transplantation (n=71, p=0.008). Samples from healthy controls serve as baseline reference (HC n=11). Each dot represents a single patient; error bars represent median with interquartile range.

Figure 2: Circulating MAIT cells early after allo-HCT were associated with clinical outcome.

(A, B, C) Kaplan-Meier analysis for GRFS, OS, DFS of allo-HCT patients according to MAIT cells frequency (n=76, p=0.0026, p=0.015, p=0.0036 respectively). (D) Cumulative incidence of aGvHD in allo-HCT patients according to CD69 expression by MAIT cells (n=71, p=0.04). (E) Cumulative incidence of aGvHD in allo-HCT patients according to the granzyme B expression by MAIT cells (n=51, Gray's test p=0.01). For cumulative incidence of aGvHD, groups were compared using Gray's test. For DFS, GRFS and OS, groups were compared using the log-rank test. Cutoff values for cell frequencies at day 20-30 after allo-HCT were evaluated by constructing ROC curves of GRFS and then calculating the area under the curve. NRM: non-relapse mortality, OS: overall survival, DFS: Disease-free survival, GRFS: GvHD relapse-free survival, aGvHD: Acute graft *versus* host diseases.

Figure 3: Frequency, activation, and cytotoxicity profile of V δ 2⁺ T cells in allo-HCT patients and healthy controls

(A) A representative density plots analysis of V δ 2⁺ T cells and expression of CD26, perforin and granzyme B in peripheral blood of allo-HCT patients at day 20-30 post-transplantation. (B) Frequency of V δ 2⁺ T cells among peripheral CD3⁺ T lymphocytes of allo-HCT patients (n=76) and healthy controls (HC) (p=0.9). (C) Frequency of V δ 2⁺CD26⁺ T cells from allo-HCT patients (n=76) and HC (p=0.0004). (D) Percentage of perforin⁺ in CD26⁺ or CD26⁻ V δ 2 T cells from allo-HCT patients (n=48, p=0.03). (E) Percentage of Granzyme B⁺ in CD26⁺ or CD26⁻ V δ 2⁺ T cells from allo-HCT patients (n=48, p=0.024). (F) Percentage of IFN- γ ⁺ in CD26⁺ or V δ 2⁺CD26⁻ T cells from allo-HCT patients (n=18, p=0.0003). (G) Percentage of perforin⁺ among V δ 2⁺CD26⁻ T cells from allo-HCT patients (n=48) or HC (p=0.0062). (H) Percentage of granzyme B⁺ among V δ 2⁺CD26⁻ T cells from allo-HCT patients (n=48) or HC (p=0.0001 respectively). (I) Percentage of perforin⁺ among V δ 2⁺CD26⁺ T cells from allo-HCT patients (n=48) and HC (p=0.0003). (J) Percentage of granzyme B⁺ among V δ 2⁺CD26⁺ T cells from allo-HCT patients (n=48) and HC (p<0.0001). Samples from healthy controls serve as baseline reference (HC, n=11). Each dot represents a single patient; error bars represent median with interquartile range.

Figure 4: Correlation between MAIT cell frequency and V δ 2⁺ T cells or V δ 2⁺CD26⁺ T cells among peripheral blood CD3⁺ T lymphocytes from allo-HCT patients at day 20-30.

Frequency of MAIT cells and V δ 2⁺ T cells (A) or V δ 2⁺CD26⁺ T cells (B) analyzed as continuous variables, (Pearson correlation, n=76, R=0.499, p<0.0001 and R=0.479, p<0.0001 respectively).

Figure 5: Frequency of circulating V δ 2⁺CD26⁺ T cells early after allo-HCT was associated with better clinical outcome.

(A, B, C) Kaplan-Meier analysis of GRFS, OS, and DFS of allo-HCT patients according to CD26 expression by V δ 2⁺ T cells (n=76, p=0.004, p=0.05, p=0.03 respectively). (D) Cumulative incidence of aGvHD according to CD26 expression by V δ 2⁺ T cells in allo-HCT (n=73, p=0.99). (E) Cumulative incidence of NRM according to CD26 expression by V δ 2 T cells in allo-HCT (n=74, p=0.25). (F) Cumulative incidence of relapse according to CD26 expression by V δ 2⁺ T cells in allo-HCT (n=72, p=0.24). For cumulative incidence of aGvHD, relapse, and NRM, groups were compared using Gray's test. For DFS, GRFS, and OS groups

were compared using the log-rank test. Cutoff values were evaluated by constructing ROC curves of GRFS and then calculating the area under the curve. NRM: non-relapse mortality, OS: overall survival, DFS: Disease-free survival, GRFS: GvHD relapse-free survival, aGvHD: Acute graft *versus* host diseases.

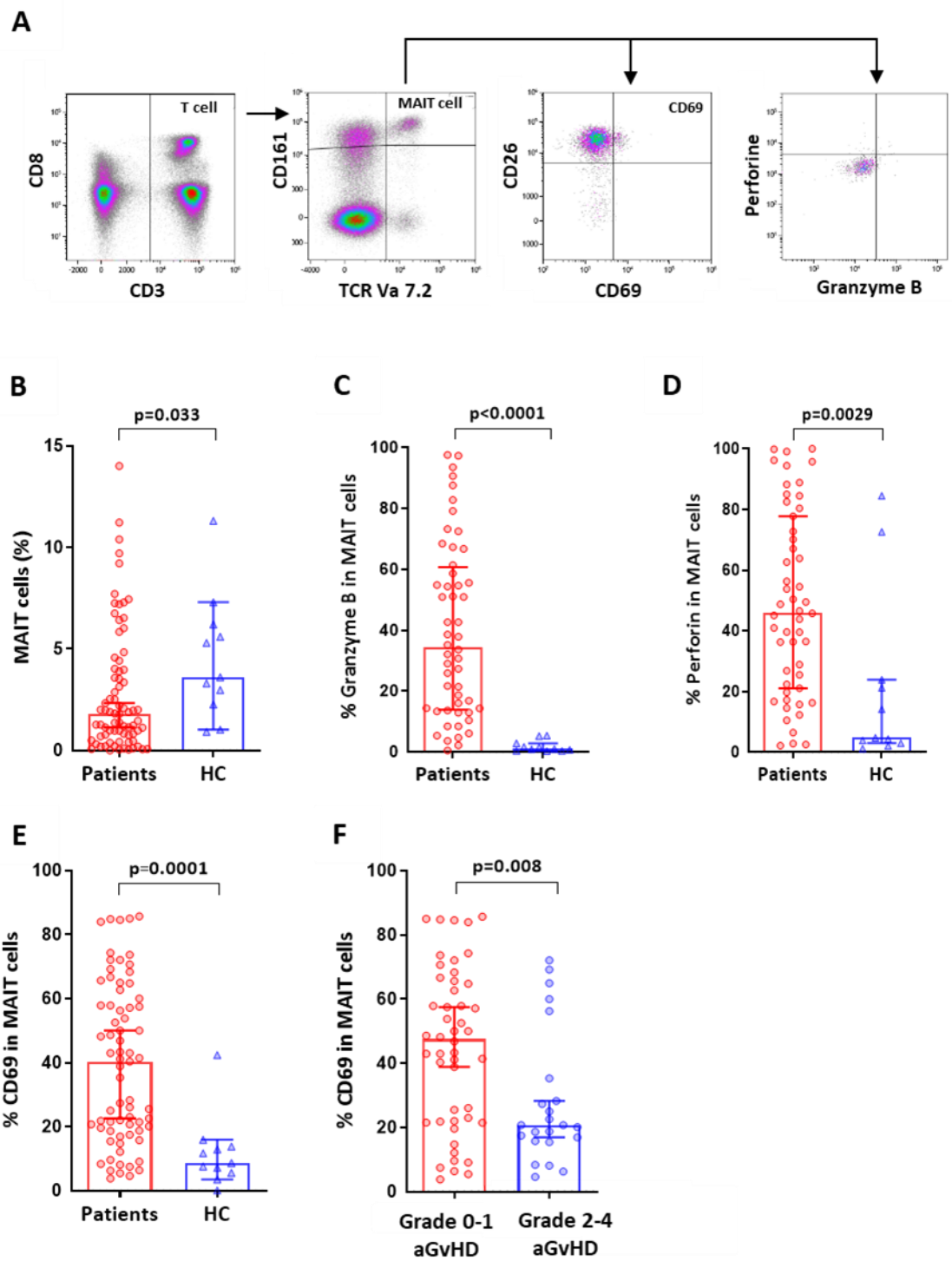


Figure 1

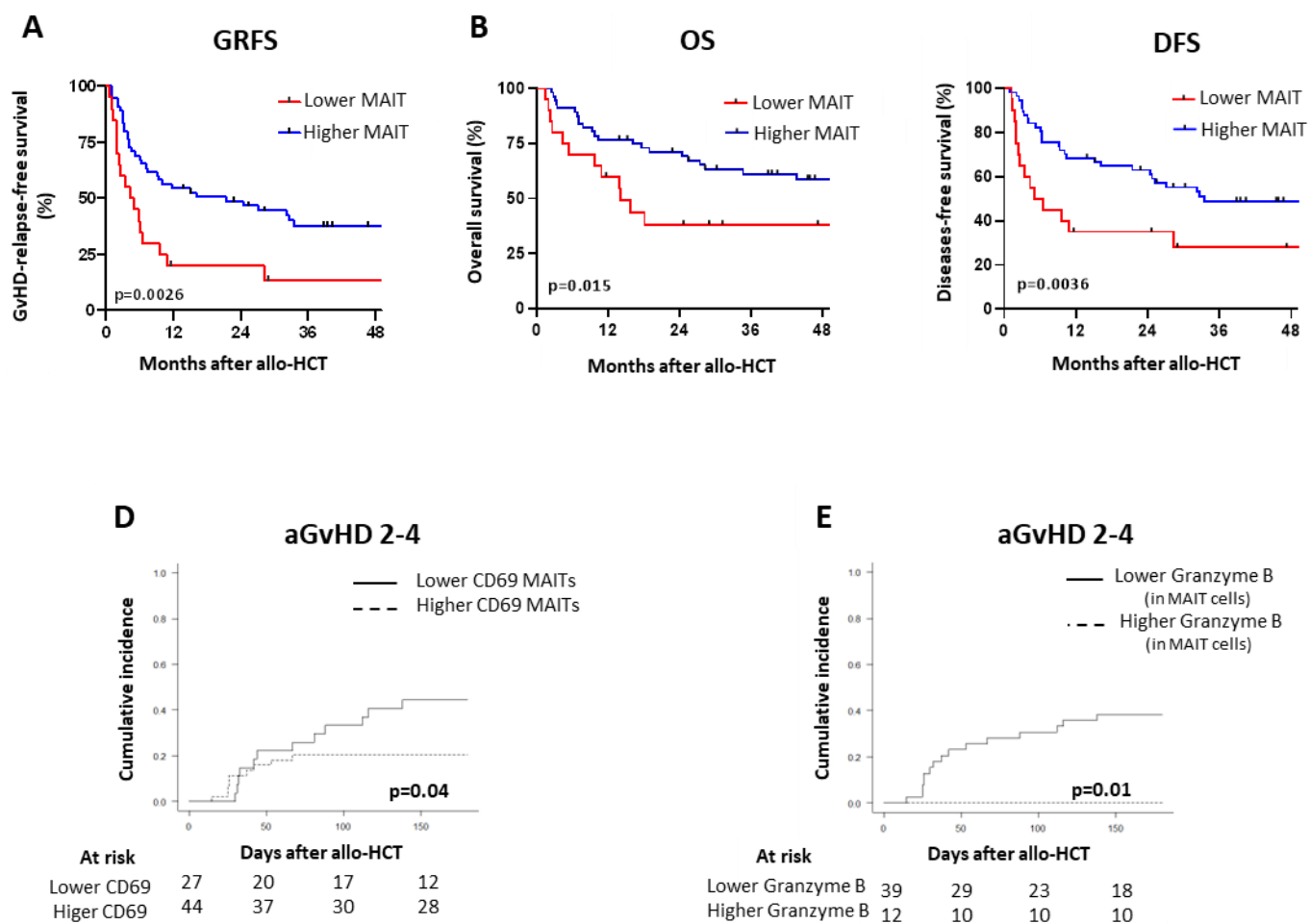


Figure 2

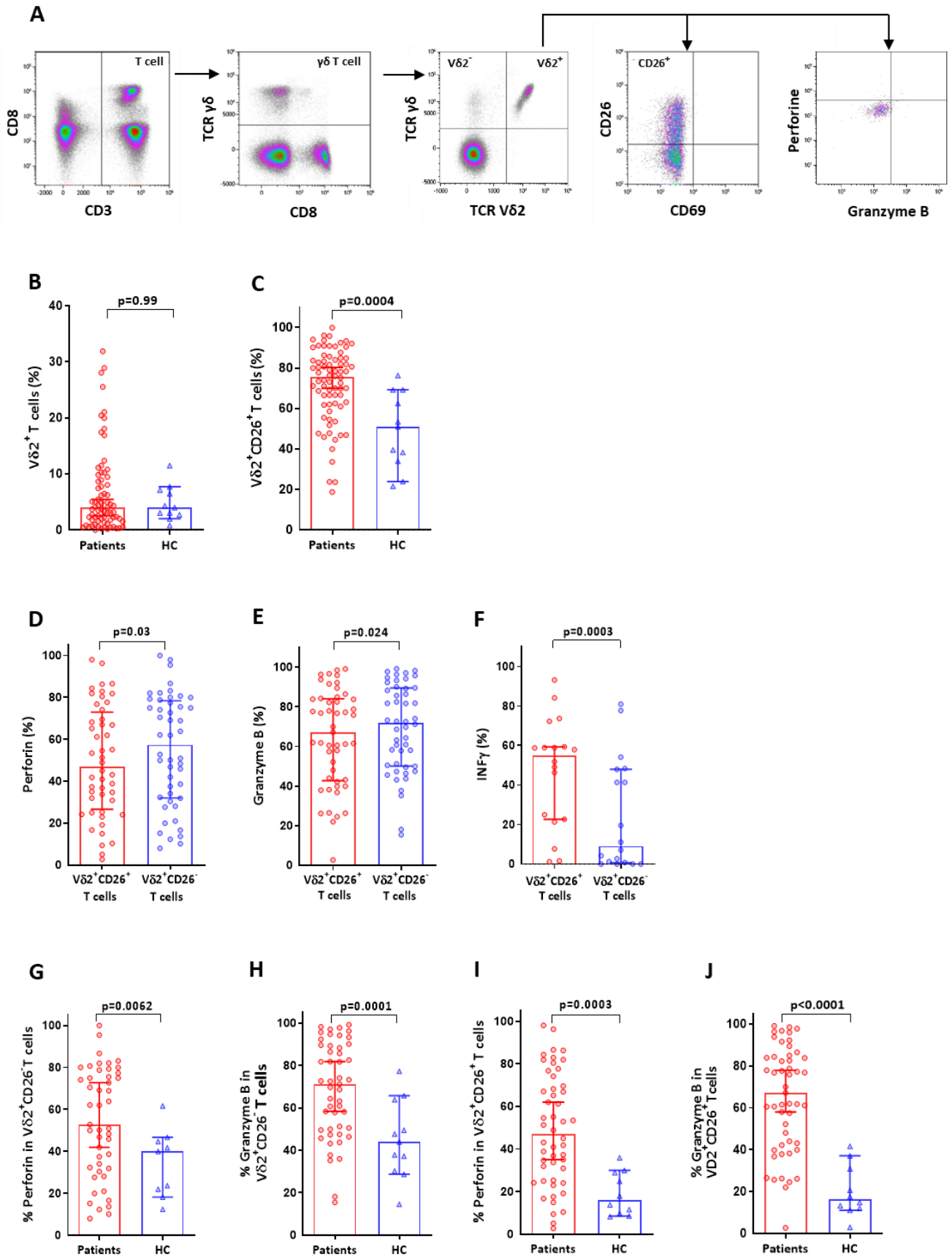


Figure 3

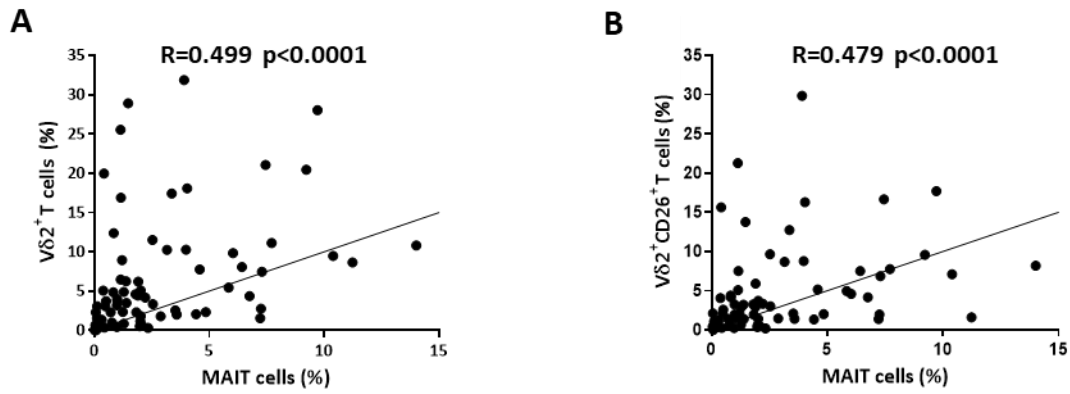


Figure 4

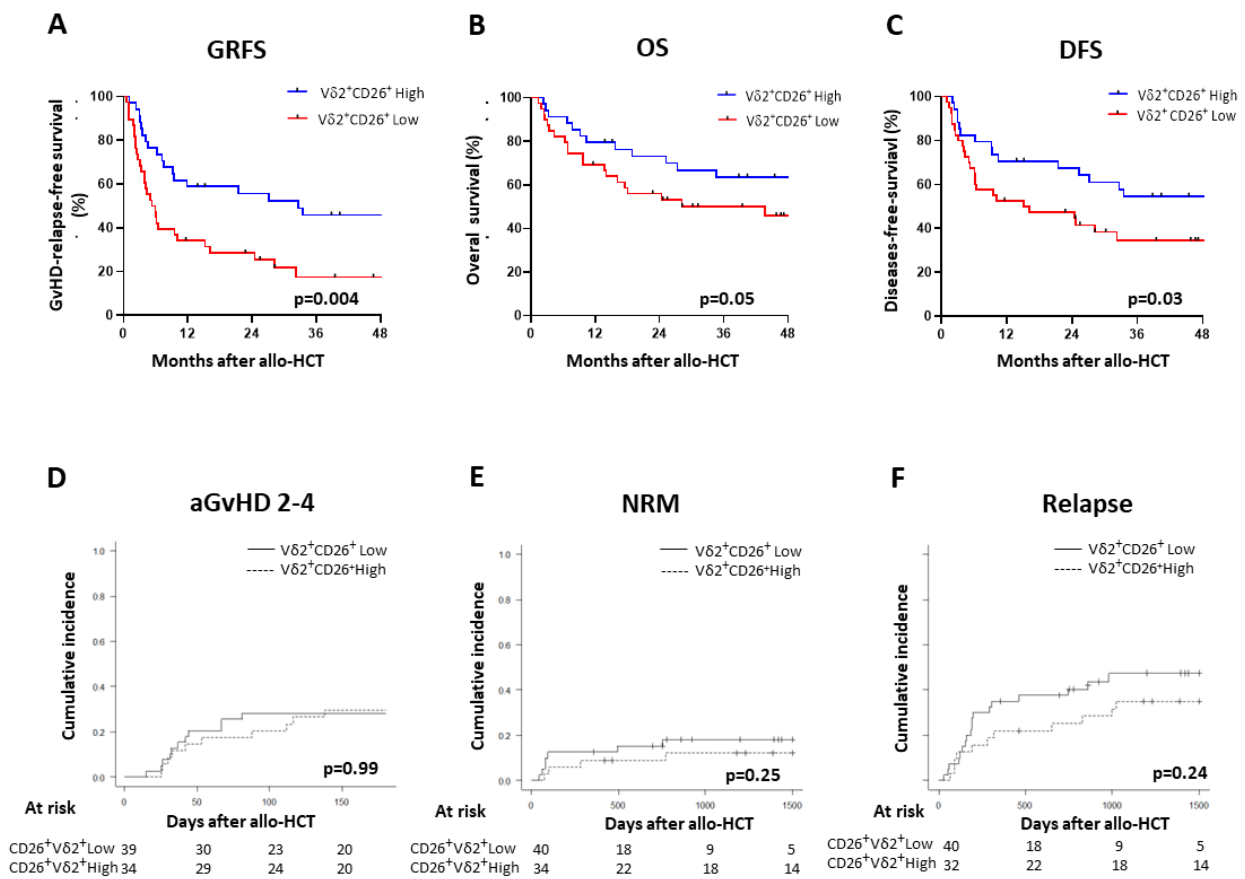


Figure 5

Legends

Supplemental figure 1: Cytotoxicity profile of MAIT cells in allo-HCT patients.

(A) Percentage of granzyme B in MAIT cells according to GvHD grade of allo-CSH patients at day 20-30 post transplantation (n=51, p=0.9). (B) Percentage of perforin in MAIT cells according to GvHD grade of allo-CSH patients at day 20-30 post transplantation (n=53, p=0.8). Each dot represents a single patient; error bars represent median with interquartile range.

Supplemental figure 2: Impact of MAIT cell circulating at day 30 after transplantation on clinical events in allo-HCT patients.

(A) Cumulative incidence of aGvHD in allo-HCT patients according to the percentage of MAIT cells on day 20-30 post-transplantation (n=75, p=0.9). (B) Cumulative incidence of relapse in allo-HCT patients according to the percentage of MAIT cells in day 20-30 post-transplantation (n=74, p=0,16). (C) Cumulative incidence of NRM in allo-HCT patients according to the percentage of MAIT cells in day 20-30 post-transplantation (n=76, p=0.08). (D) Cumulative incidence of relapse in allo-HCT patients according to the percentage of granzyme B in MAIT cell at day 20-30 post-transplantation (n=51, p=0.05). (E) Cumulative incidence of NRM according to the percentage of granzyme B expressed by MAIT cell in day 30 post transplantation (n=51, p=0,5). Groups were compared using Gray's test. Cutoff values were evaluated by constructing ROC curves of GRFS and then calculating the area under the curve. aGvHD: Graft versus host diseases, NRM: Non-relapse mortality.

Supplemental figure 3: Cytokine profile of V δ 2⁺ T cells in allo-HCT patients and healthy controls.

(A) Percentage of IFN- γ ⁺ in V δ 2⁺CD26⁺ T cells from allo-HCT patients (n=18) or HC (p=0.5). (B) Percentage of IFN- γ ⁺ in V δ 2⁺CD26⁻ T cells from allo-HCT patients (n=18) or HC (p=0.6). Samples from healthy controls serve as baseline reference (HC n=4). Each dot represents a single patient; error bars represent median with interquartile range.

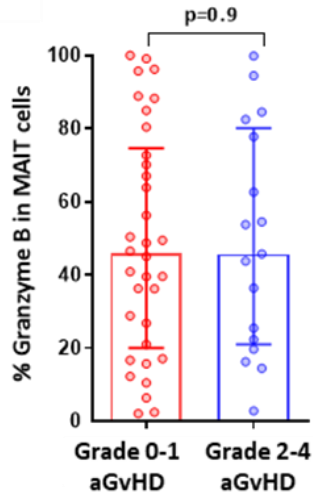
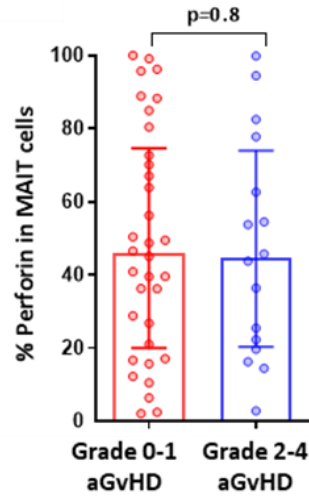
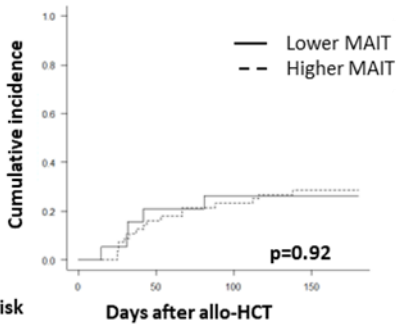
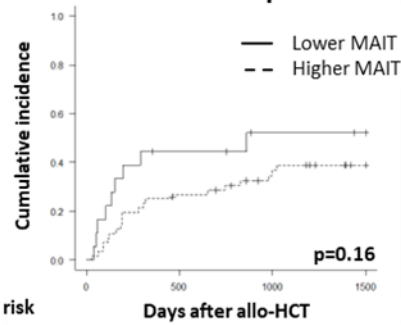
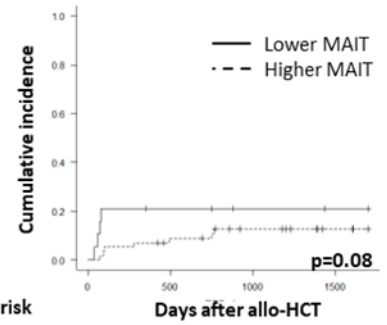
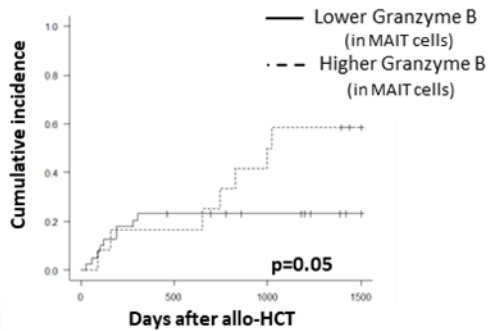
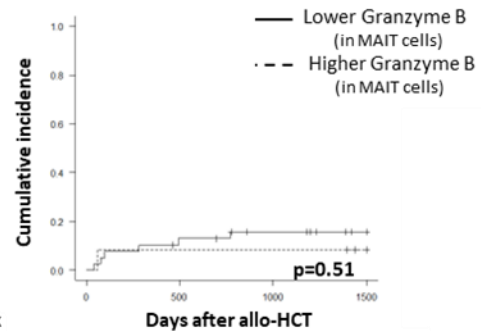
Supplemental Figure 4: Impact of V δ 2⁺T cell circulating at day 30 after transplantation on clinical events in allo-HCT patients.

(A, B, C) Kaplan-Meier analysis for GRFS, OS, DFS of allo-HCT patients according to MAIT cells frequency (n=76, p=0.008, p=0.037, p=0.019 respectively).

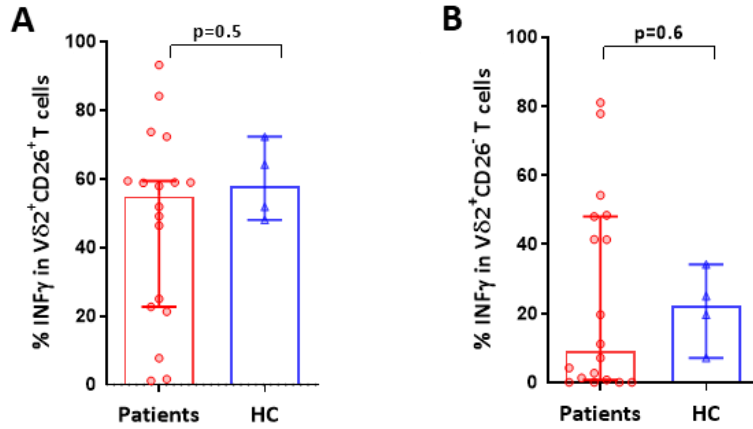
(D) Cumulative incidence of relapse in allo-HCT patients according to the percentage of V δ 2 T cells in day 20-30 post-transplantation (n=74, p=0.04). (E) Cumulative incidence of aGvHD in allo-HCT patients according to the percentage of V δ 2⁺ T cells on day 20-30 post-transplantation (n=75, p=0.056). (E) Cumulative incidence of NRM in allo-HCT patients according to the percentage of V δ 2 T cells in day 20-30 post-transplantation (n=76, p=0.4). For cumulative incidence of aGvHD, relapse, and NRM, groups were compared using Gray's test. For DFS, GRFS, and OS groups were compared using the log-rank test. Cutoff values were evaluated by constructing ROC curves of GRFS and then calculating the area under the curve. NRM: non-relapse mortality, OS: overall survival, DFS: Disease-free survival, GRFS: GvHD relapse-free survival, aGvHD: Acute graft versus host diseases.

Supplemental Figure 5: Cytotoxicity profile of V δ 2⁺ T cell at day 20-30 after allo-HCT impacts the NRM

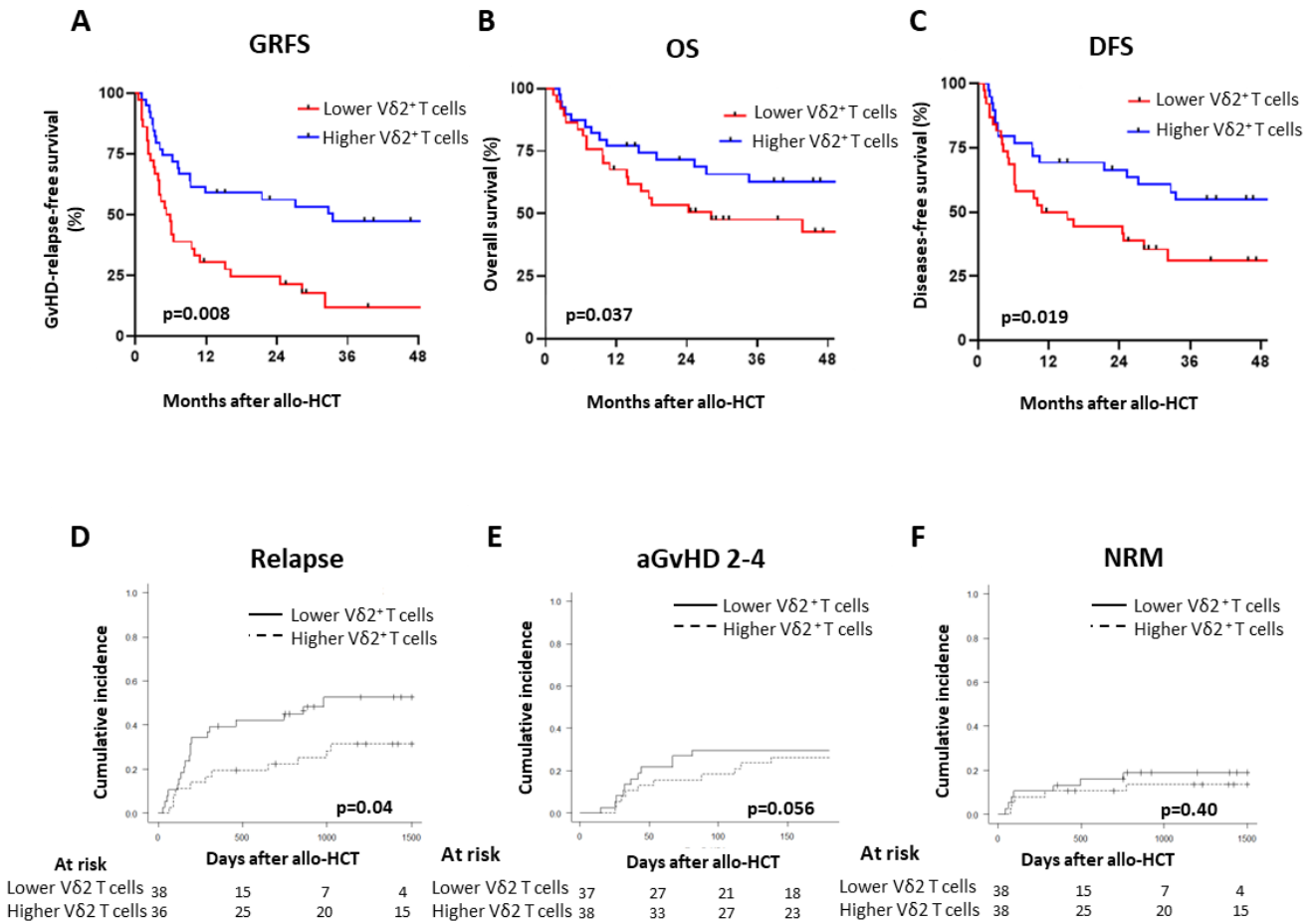
(A, B) Cumulative incidence of NRM in allo-HCT patients according to frequency of perforin and granzyme B among V δ 2⁺ T cells (n=56). (C, D) Cumulative incidence of relapse in allo-HCT patients according to frequency of perforin⁺ and granzyme B⁺ among V δ 2⁺ T cells (n=56, p=0.027 and p=0.041 respectively). Groups were compared using Gray's test. Cutoff values were evaluated by constructing ROC curves of GRFS and then calculating the area under the curve.

A**B****Supplemental figure 1****A****aGvHD 2-4****B****Relapse****C****NRM****D****Relapse****E****NRM**

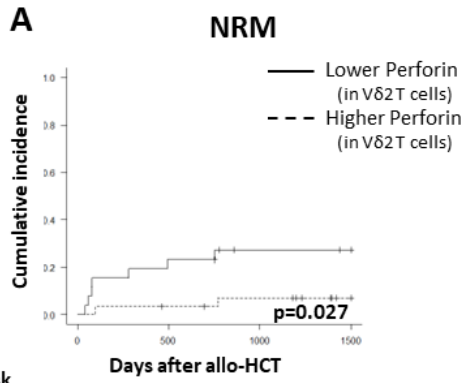
Supplemental figure 2



Supplemental figure 3

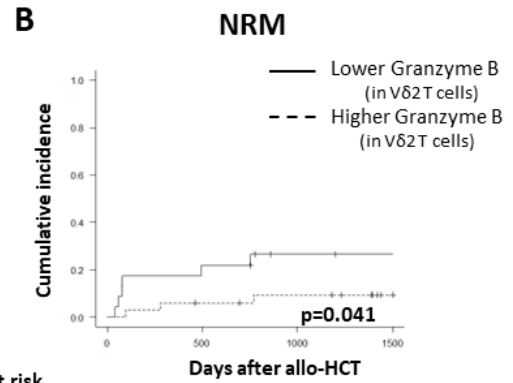


Supplemental figure 4



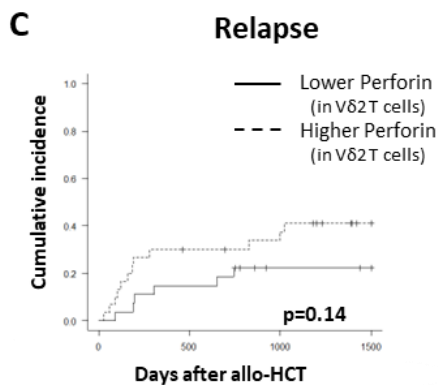
At risk

	0	500	1000	1500
Lower Perforin	26	16	10	9
Higher Perforin	30	19	15	8



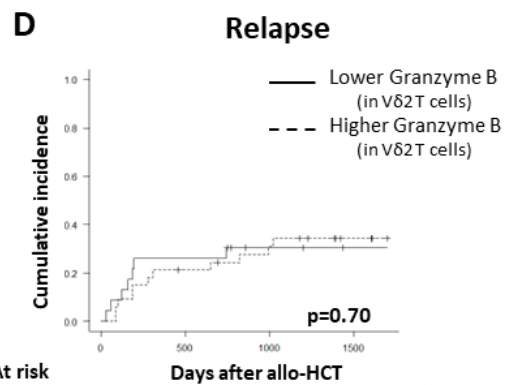
At risk

	0	500	1000	1500
Lower Granzyme B	23	11	6	5
Higher Granzyme B	33	24	19	12



At risk

	0	500	1000	1500
Lower Perforin	26	16	10	9
Higher Perforin	30	19	15	8



At risk

	0	500	1000	1500
Lower Granzyme B	23	11	6	5
Higher Granzyme B	33	24	19	12

Supplemental figure 5

DISCUSSION

1. Le venetoclax, une stratégie thérapeutique prometteuse qui n'impacte pas l'effet GvL

Malgré l'amélioration des résultats des patients après allo-CSH, la rechute de l'hémopathie sous-jacente, ainsi que la GvHD restent les principales causes de morbidité et de mortalité. Actuellement, la prévention et le traitement de la GvHD aiguë consistent principalement à inhiber l'activation des LT ou à augmenter la proportion de certaines sous-populations de cellules immunorégulatrices (301). Étant donné que les traitements contre la GvHD et ceux à visée anti-leucémique sont souvent contradictoires dans la pratique clinique, de nombreuses études se sont concentrées sur la manière d'induire une tolérance immunitaire appropriée après allo-CSH pour réduire l'incidence de la GvHD tout en préservant ou même en améliorant l'effet GvL (302).

Vu l'importance des LT dans l'effet GvL /GvHD, nous avons évalué dans la première partie de thèse l'impact du venetoclax sur la balance GvL/GvHD et en particulier son effet sur les LT. Nous n'avons pas observé d'effet du venetoclax sur la prolifération, ni sur l'apoptose des LT activés du fait de l'expression négligeable de Bcl-2, contrairement aux LB. Par ailleurs, comme le venetoclax peut induire l'apoptose des LB, leur déplétion induite par le venetoclax pourrait contribuer à la prévention de la GvHD chronique. Comme le venetoclax n'affecte pas les LT, son utilisation pourrait être combinée avec d'autres stratégies thérapeutiques dont l'efficacité est basée sur les LT comme les DLI qui renforcent l'effet GvL dans la prévention ou le traitement de la rechute après allo-CSH. Enfin, il serait intéressant de suivre le profil immunitaire des patients allo-CSH traités par venetoclax et azacitidine pour le traitement de la rechute. C'est ce que nous avons envisagé de réaliser, mais malheureusement, nous n'avons eu accès qu'à un nombre limité de prélèvements de patients ayant reçu ce type de traitement dans le service d'hématologie de l'hôpital Saint-Antoine, et nous n'avons pas été en mesure d'apporter des informations nouvelles quant au profil immunitaire post-traitement.

- **Nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement de la rechute**

Avec l'expansion remarquable de la gamme d'options thérapeutiques pour les hémopathies malignes, il est devenu évident que les thérapies d'entretien pourraient être cruciales pour soutenir et stimuler les effets immunothérapeutiques de l'allo-CSH (303).

Les stratégies d'entretien ont été étudiées récemment dans de nombreux essais visant à prévenir les rechutes. En dehors du venetoclax, plusieurs autres drogues ont été évaluées dans le contexte post-allo-CSH, notamment l'AHM seul ou en association avec des inhibiteurs de FLT3, d'IDH1/2 ou encore d'histone-désacétylase (HDAC) (6). D'autres agents sont à l'étude dans le but de prévenir les rechutes après allo-CSH. Le monalizumab, un anticorps monoclonal IgG4, est un inhibiteur du point de contrôle NKG2A. Il améliore l'effet GvL médié par les cellules NK sans augmenter le risque de GvHD (304).

Des études récentes ont exploré le rôle de l'inhibition des points de contrôle dans le traitement des hémopathies malignes récidivantes après allo-CSH. Dans ce contexte, un essai de phase I/Ib a montré que le blocage de CTLA-4 par l'ipilimumab permettait d'obtenir des réponses durables en cas de rechute de la maladie hématologique après allo-CSH (305). L'utilisation optimale du blocage des points de contrôle dans les hémopathies malignes avant, pendant et après allo-CSH reste un domaine de recherche actif, aidé de manière significative par une compréhension fondamentale du rôle de ces voies dans la médiation des réponses immunitaires antitumorales.

Enfin, les thérapies adoptives innovantes à base de LT ont fait de grands progrès ces dernières années, comme l'immunothérapie par cellules CAR-T qui offre des traitements potentiellement curatifs pour la LAL-B et les lymphomes en rechute ou réfractaires, en ciblant spécifiquement des antigènes tumoraux (306,307). Les cellules CAR-T allogéniques et autologues ciblant le CD19 ont été utilisées dans des essais cliniques pour traiter les rechutes après allo-CSH, notamment pour la rechute de la LAL-B, avec un taux de RC de plus de 80% (307,308). La thérapie cellulaire CAR-T dans la LAM en revanche reste du domaine de la recherche (309).

2. Les LT non conventionnels et leur rôle en allo-CSH

Dans la deuxième partie de la thèse, nous avons étudié le rôle des LT non conventionnels après allo-CSH. L'importance de la reconstitution immunitaire a un impact considérable sur le devenir des patients après allo-CSH. Ainsi comme nous l'avons vu précédemment, le retard de reconstitution des cellules immunitaires est corrélé à une augmentation de la rechute et à des infections.

Notre étude sur l'impact des cellules MAIT et des LT $\gamma\delta$ apporte un nouveau regard quant à leur profil d'activation et de cytotoxicité après allo-CSH. Nous avons montré que la fréquence des cellules MAIT chez les patients à des temps précoces après allo-CSH est associée à une

meilleure survie sans GvHD et sans rechute (GRFS), et une amélioration de la OS et DFS. Ces résultats sont en accord avec les données publiées sur l'effet bénéfique de cellules MAIT après allo-CSH. En plus de leur fréquence, le profil d'activation des cellules MAIT a aussi un impact sur l'incidence de GvHD aiguë. Notre étude corrobore les données publiées récemment quant à leur effet bénéfique dans un contexte d'allo-CSH.

Plusieurs études montrent que le développement et la fonction des cellules MAIT est modulée par le microbiote intestinal (chapitre V). Il est donc probable que l'état de dysbiose caractérisant les patients allogreffés influence les cellules MAIT précocement après la greffe. La question de l'interaction entre le microbiote intestinal, les lésions de la muqueuse intestinale et les cellules MAIT, et leur impact sur la GvHD reste donc importante. Il est intéressant de noter que la reconstitution rapide des cellules MAIT après la transplantation est associée à l'augmentation de l'abondance de certaines souches bactériennes comme *Blautia* et *Bifidobacterium*, qui pourraient alors activer les cellules MAIT par la voie MR1/TCR-dépendante, via les métabolites produits (190,310). La (Figure 15) montre l'interaction entre les cellules MAIT et le microbiote intestinal dans un contexte de GvHD intestinale (311). Malheureusement, dans notre étude, nous n'avons pas été en mesure d'évaluer le lien entre le microbiote et la fréquence ou la fonction des MAIT chez les patients, car les prélèvements de selles de patients dont nous disposions étaient trop restreints pour effectuer ce type d'analyse et de corrélations.

Comme il a été démontré que la perturbation du microbiote intestinal avait un impact négatif sur l'allo-CSH, et que la FMT peut être une stratégie pour reconstituer le microbiote intestinal chez les receveurs d'une allogreffe (278), il serait intéressant de voir si les cellules MAIT sont restaurées quantitativement après FMT.

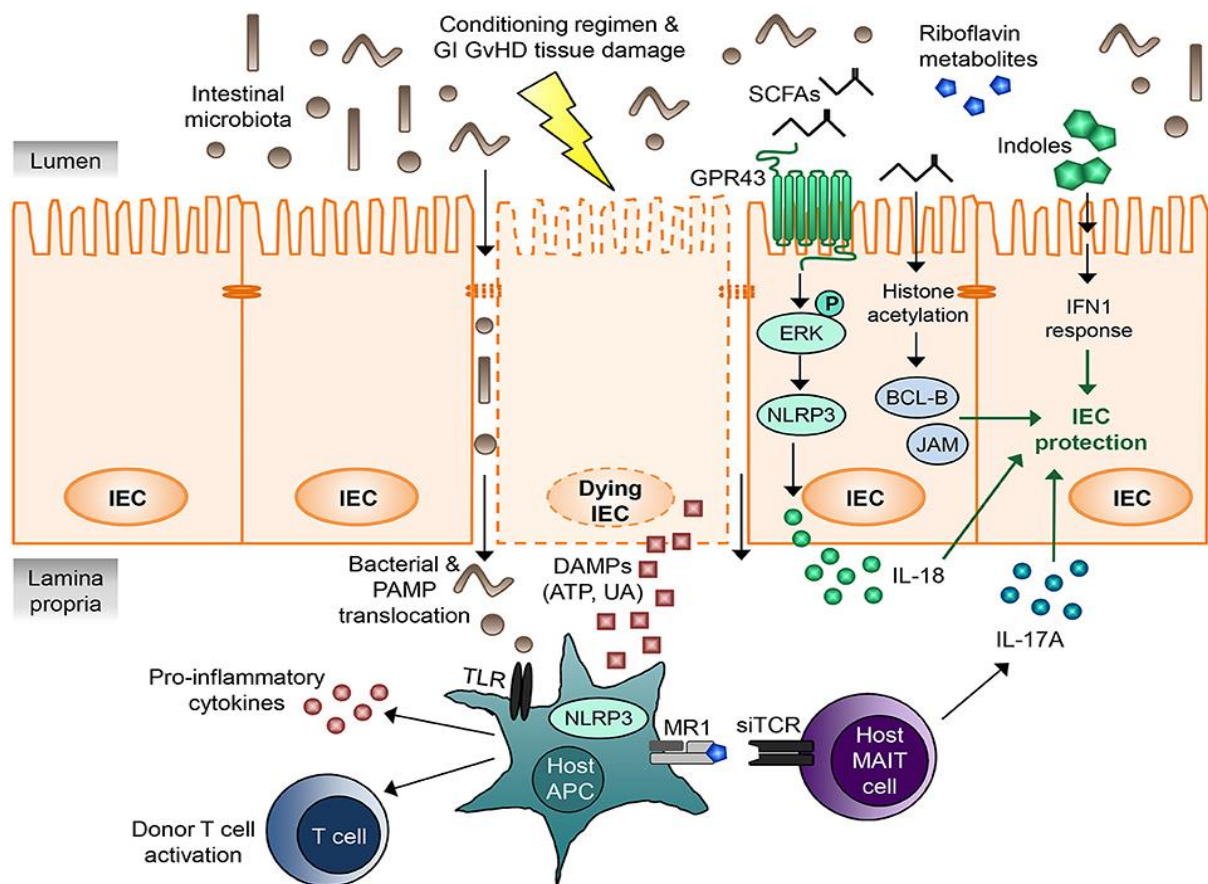


Figure 15. Rôle des cellules MAIT dans la reconnaissance des métabolites microbiens régulant la GvHD intestinale

Köhler, and Zeiser, *Frontiers in Immunology* 2019

Comme les cellules MAIT, les LT $\gamma\delta$ jouent un rôle important après allo-CSH. Les études des LT $\gamma\delta$ V δ 2 dans le contexte de l'allo-CSH n'ont pas abordé l'impact de l'expression de CD26. Dans notre travail, nous rapportons que les patients ayant des niveaux élevés de LT V δ 2 exprimant CD26 ont une meilleure OS, GRFS et DFS. Cela montre l'importance de cette sous-population de LT V δ 2⁺ sur la réussite de l'allo-CSH. Il a été rapporté récemment que les LT V δ 2⁺CD26⁺ étaient apparentés fonctionnellement aux cellules MAIT (312) Leur interaction ou le lien avec le microbiote n'est pas encore bien établi et mériterait d'être plus étudié.

L'effet positif des LT V δ 2⁺ sur le succès de l'allo-CSH résulte probablement de leurs propriétés anti-infectieuses et/ou antitumorales après allo-CSH, ainsi les approches visant à les activer *in vivo* ou à les développer *in vitro*, pourraient offrir des stratégies thérapeutiques prometteuses pour prévenir ou traiter la rechute après allo-CSH.

L'ensemble de ces travaux de thèse ont abordé différents aspects de la complexité de la thérapeutique de l'allo-CSH. Une meilleure connaissance des interactions complexes entre le microbiote intestinal, les cellules immunitaires et la réponse aux drogues cytotoxiques ou immunomodulatrices permettra d'avancer sur le plan thérapeutique pour le bénéfice des patients.

BIBLIOGRAPHIE

1. Barnes DWH, Corp MJ, Loutit JF, Neal FE. Treatment of Murine Leukaemia with X Rays and Homologous Bone Marrow. *BMJ*. 15 sept 1956;2(4993):626-7.
2. Appelbaum FR. Hematopoietic-Cell Transplantation at 50. *N Engl J Med*. 11 oct 2007;357(15):1472-5.
3. for the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), Passweg JR, Baldomero H, Chabannon C, Basak GW, Corbacioglu S, et al. The EBMT activity survey on hematopoietic-cell transplantation and cellular therapy 2018: CAR-T's come into focus. *Bone Marrow Transplant*. août 2020;55(8):1604-13.
4. Penack O, Peczynski C, Mohty M, Yakoub-Agha I, Styczynski J, Montoto S, et al. How much has allogeneic stem cell transplant-related mortality improved since the 1980s? A retrospective analysis from the EBMT. *Blood Adv*. 22 déc 2020;4(24):6283-90.
5. Dholaria B, Savani BN, Labopin M, Luznik L, Ruggeri A, Mielke S, et al. Clinical applications of donor lymphocyte infusion from an HLA-haploidentical donor: consensus recommendations from the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *Haematologica*. janv 2020;105(1):47-58.
6. Mohty R, El Hamed R, Brissot E, Bazarbachi A, Mohty M. New drugs before, during, and after hematopoietic stem cell transplantation for patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 1 févr 2023;108(2):321-41.
7. Yanir A, Schulz A, Lawitschka A, Nierkens S, Eyrich M. Immune Reconstitution After Allogeneic Haematopoietic Cell Transplantation: From Observational Studies to Targeted Interventions. *Front Pediatr*. 11 janv 2022;9:786017.
8. Gratwohl A, Baldomero H, Passweg J. Hematopoietic stem cell transplantation activity in Europe. *Curr Opin Hematol*. nov 2013;20(6):485-93.
9. Michniacki TF, Choi SW, Peltier DC. Immune Suppression in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Handb Exp Pharmacol*. 2022;272:209-43.
10. Hołowiecki J. Indications for hematopoietic stem cell transplantation. *Pol Arch Med Wewn*. 1 nov 2008;118(11):658-63.
11. Gratwohl A, Pasquini MC, Aljurf M, Atsuta Y, Baldomero H, Foeken L, et al. One million haemopoietic stem-cell transplants: a retrospective observational study. *Lancet Haematol*. mars 2015;2(3):e91-100.
12. Arnaout K, Patel N, Jain M, El-Amm J, Amro F, Tabbara IA. Complications of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Invest*. août 2014;32(7):349-62.
13. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, Hingorani S, Sorrow ML, Boeckh M, et al. Reduced Mortality after Allogeneic Hematopoietic-Cell Transplantation. *N Engl J Med*. 25 nov 2010;363(22):2091-101.
14. Morris ES, Hill GR. Advances in the understanding of acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol*. avr 2007;137(1):3-19.

15. Jiménez M, Martínez C, Ercilla G, Carreras E, Urbano-Ispizua A, Aymerich M, et al. Reduced-intensity conditioning regimen preserves thymic function in the early period after hematopoietic stem cell transplantation. *Exp Hematol.* oct 2005;33(10):1240-8.
16. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Ho V, et al. Defining the Intensity of Conditioning Regimens: Working Definitions. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1 déc 2009;15(12):1628-33.
17. Gyurkocza B, Sandmaier BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all. *Blood.* 17 juill 2014;124(3):344-53.
18. Alatrash G, de Lima M, Hamerschlak N, Pelosini M, Wang X, Xiao L, et al. Myeloablative reduced-toxicity i.v. busulfan-fludarabine and allogeneic hematopoietic stem cell transplant for patients with acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome in the sixth through eighth decades of life. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant.* oct 2011;17(10):1490-6.
19. Klein J, Sato A. The HLA System. *N Engl J Med.* 7 sept 2000;343(10):702-9.
20. Gragert L, Eapen M, Williams E, Freeman J, Spellman S, Baitty R, et al. HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the U.S. registry. *N Engl J Med.* 24 juill 2014;371(4):339-48.
21. Gupta V, Tallman MS, He W, Logan BR, Copelan E, Gale RP, et al. Comparable survival after HLA-well-matched unrelated or matched sibling donor transplantation for acute myeloid leukemia in first remission with unfavorable cytogenetics at diagnosis. *Blood.* 16 sept 2010;116(11):1839-48.
22. Kanakry CG, Fuchs EJ, Luznik L. Modern approaches to HLA-haploidentical blood or marrow transplantation. *Nat Rev Clin Oncol.* janv 2016;13(1):10-24.
23. Walter RB, Pagel JM, Gooley TA, Petersdorf EW, Sorrow ML, Woolfrey AE, et al. Comparison of matched unrelated and matched related donor myeloablative hematopoietic cell transplantation for adults with acute myeloid leukemia in first remission. *Leukemia.* juill 2010;24(7):1276-82.
24. Kollman C, Howe CW, Anasetti C, Antin JH, Davies SM, Filipovich AH, et al. Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. *Blood.* 1 oct 2001;98(7):2043-51.
25. Kekre N, Antin JH. Hematopoietic stem cell transplantation donor sources in the 21st century: choosing the ideal donor when a perfect match does not exist. *Blood.* 17 juill 2014;124(3):334-43.
26. Mikulska M, Raiola AM, Galaverna F, Balletto E, Borghesi ML, Varaldo R, et al. Pre-Engraftment Bloodstream Infections after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Impact of T Cell-Replete Transplantation from a Haploidentical Donor. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1 janv 2018;24(1):109-18.
27. Moss P, Rickinson A. Cellular immunotherapy for viral infection after HSC transplantation. *Nat Rev Immunol.* janv 2005;5(1):9-20.

28. Cho SY, Lee HJ, Lee DG. Infectious complications after hematopoietic stem cell transplantation: current status and future perspectives in Korea. *Korean J Intern Med.* mars 2018;33(2):256-76.
29. Chatzidimitriou D, Gavriilaki E, Sakellari I, Diza E. Hematopoietic cell transplantation and emerging viral infections. *J Med Virol.* 2010;82(3):528-38.
30. Dykewicz CA. Summary of the Guidelines for Preventing Opportunistic Infections among Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients. *Clin Infect Dis.* 15 juill 2001;33(2):139-44.
31. Boeckh M, Leisenring W, Riddell SR, Bowden RA, Huang ML, Myerson D, et al. Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity. *Blood.* 15 janv 2003;101(2):407-14.
32. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, Gress R, Sepkowitz K, Storek J, et al. Guidelines for Preventing Infectious Complications among Hematopoietic Cell Transplantation Recipients: A Global Perspective. *Biol Blood Marrow Transplant.* oct 2009;15(10):1143-238.
33. Nikiforow S, Alyea EP. Maximizing GVL in allogeneic transplantation: role of donor lymphocyte infusions. *Hematology.* 5 déc 2014;2014(1):570-5.
34. Mathé G. Les réactions immunologiques (spontanées ou à visées thérapeutiques) et l'évolution des cancers (revue générale). *Eur J Cancer* 1965. 1 juin 1965;1(1):1-14.
35. Kolb HJ, Mittermüller J, Clemm Ch, Holler E, Ledderose G, Brehm G, et al. Donor Leukocyte Transfusions for Treatment of Recurrent Chronic Myelogenous Leukemia in Marrow Transplant Patients. *Blood.* 15 déc 1990;76(12):2462-5.
36. Kawase T, Matsuo K, Kashiwase K, Inoko H, Saji H, Ogawa S, et al. HLA mismatch combinations associated with decreased risk of relapse: implications for the molecular mechanism. *Blood.* 19 mars 2009;113(12):2851-8.
37. Bleakley M, Riddell SR. Molecules and mechanisms of the graft-versus-leukaemia effect. *Nat Rev Cancer.* mai 2004;4(5):371-80.
38. Miklos DB, Kim HT, Miller KH, Guo L, Zorn E, Lee SJ, et al. Antibody responses to H-Y minor histocompatibility antigens correlate with chronic graft-versus-host disease and disease remission. *Blood.* 1 avr 2005;105(7):2973-8.
39. Sweeney C, Vyas P. The Graft-Versus-Leukemia Effect in AML. *Front Oncol.* 19 nov 2019;9:1217.
40. Kharfan-Dabaja MA, Labopin M, Polge E, Nishihori T, Bazarbachi A, Finke J, et al. Association of Second Allogeneic Hematopoietic Cell Transplant vs Donor Lymphocyte Infusion With Overall Survival in Patients With Acute Myeloid Leukemia Relapse. *JAMA Oncol.* 1 sept 2018;4(9):1245.

41. Schmid C, Labopin M, Nagler A, Bornhäuser M, Finke J, Fassas A, et al. Donor Lymphocyte Infusion in the Treatment of First Hematological Relapse After Allogeneic Stem-Cell Transplantation in Adults With Acute Myeloid Leukemia: A Retrospective Risk Factors Analysis and Comparison With Other Strategies by the EBMT Acute Leukemia Working Party. *J Clin Oncol*. nov 2007;25(31):4938-45.
42. Kolb H, Schattenberg A, Goldman J, Hertenstein B, Jacobsen N, Arcese W, et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party Chronic Leukemia [see comments]. *Blood*. 1 sept 1995;86(5):2041-50.
43. Bazarbachi A, Schmid C, Labopin M, Beelen D, Wolfgang Blau I, Potter V, et al. Evaluation of Trends and Prognosis Over Time in Patients with AML Relapsing After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplant Reveals Improved Survival for Young Patients in Recent Years. *Clin Cancer Res*. 15 déc 2020;26(24):6475-82.
44. Loke J, Malladi R, Moss P, Craddock C. The role of allogeneic stem cell transplantation in the management of acute myeloid leukaemia: a triumph of hope and experience. *Br J Haematol*. janv 2020;188(1):129-46.
45. Ye Y, Yang L, Yuan X, Huang H, Luo Y. Optimization of Donor Lymphocyte Infusion for AML Relapse After Allo-HCT in the Era of New Drugs and Cell Engineering. *Front Oncol*. 27 janv 2022;11:790299.
46. Goodyear OC, Dennis M, Jilani NY, Loke J, Siddique S, Ryan G, et al. Azacitidine augments expansion of regulatory T cells after allogeneic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood*. 5 avr 2012;119(14):3361-9.
47. Coral S, Sigalotti L, Altomonte M, Engelsberg A, Colizzi F, Cattarossi I, et al. 5-aza-2'-Deoxycytidine-induced Expression of Functional Cancer Testis Antigens in Human Renal Cell Carcinoma: Immunotherapeutic Implications¹. *Clin Cancer Res*. 1 août 2002;8(8):2690-5.
48. Coral S, Sigalotti L, Gasparollo A, Cattarossi I, Visintin A, Cattelan A, et al. Prolonged Upregulation of the Expression of HLA Class I Antigens and Co stimulatory Molecules on Melanoma Cells Treated with 5-aza-2'-deoxycytidine (5-AZA-CdR). *J Immunother*. janv 1999;22(1):16.
49. Oran B, De Lima M, Garcia-Manero G, Thall PF, Lin R, Popat U, et al. A phase 3 randomized study of 5-azacitidine maintenance vs observation after transplant in high-risk AML and MDS patients. *Blood Adv*. 10 nov 2020;4(21):5580-8.
50. High activity of sorafenib in FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia synergizes with allo-immune effects to induce sustained responses | *Leukemia* [Internet]. [cité 16 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/leu2012105>
51. Bykov VJN, Issaeva N, Shilov A, Hultcrantz M, Pugacheva E, Chumakov P, et al. Restoration of the tumor suppressor function to mutant p53 by a low-molecular-weight compound. *Nat Med*. mars 2002;8(3):282-8.

52. Webster JA, Luznik L, Gojo I. Treatment of AML Relapse After Allo-HCT. *Front Oncol.* 2021;11.
53. Shlomchik WD. Graft-versus-host disease. *Nat Rev Immunol.* mai 2007;7(5):340-52.
54. Pasquini MC, Wang Z, Horowitz MM, Gale RP. 2010 report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR): current uses and outcomes of hematopoietic cell transplants for blood and bone marrow disorders. *Clin Transpl.* 2010;87-105.
55. Tugues S, Amorim A, Spath S, Martin-Blondel G, Schreiner B, De Feo D, et al. Graft-versus-host disease, but not graft-versus-leukemia immunity, is mediated by GM-CSF-licensed myeloid cells. *Sci Transl Med.* 28 nov 2018;10(469):eaat8410.
56. Holtan SG, Pasquini M, Weisdorf DJ. Acute graft-versus-host disease: a bench-to-bedside update. *Blood.* 17 juill 2014;124(3):363-73.
57. Billingham RE. The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect.* 1967 1966;62:21-78.
58. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, 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.* 1 déc 2005;11(12):945-56.
59. Holtan SG, Yu J, Choe HK, Paranagama D, Tang J, Naim A, et al. Disease progression, treatments, hospitalization, and clinical outcomes in acute GVHD: a multicenter chart review. *Bone Marrow Transplant.* oct 2022;57(10):1581-5.
60. Zeiser R, Blazar BR. Acute Graft-versus-Host Disease - Biologic Process, Prevention, and Therapy. *N Engl J Med.* 30 nov 2017;377(22):2167-79.
61. Goel M, Eugster A, Schetelig J, Bonifacio E, Bornhäuser M, Link-Rachner CS. Potential of TCR sequencing in graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* mars 2023;58(3):239-46.
62. Reddy P, Ferrara JLM. Immunobiology of acute graft-versus-host disease. *Blood Rev.* 1 déc 2003;17(4):187-94.
63. Malard F, Holler E, Sandmaier BM, Huang H, Mohty M. Acute graft-versus-host disease. *Nat Rev Dis Primer.* 8 juin 2023;9(1):27.
64. Kaitin KI. Graft-versus-host disease. *N Engl J Med.* 1 août 1991;325(5):357-8.
65. Pabst C, Schirutschke H, Ehninger G, Bornhäuser M, Platzbecker U. The Graft Content of Donor T Cells Expressing $\gamma\delta$ TCR⁺ and CD4⁺foxp3⁺ Predicts the Risk of Acute Graft versus Host Disease after Transplantation of Allogeneic Peripheral Blood Stem Cells from Unrelated Donors. *Clin Cancer Res.* 15 mai 2007;13(10):2916-22.
66. Zeiser R, Penack O, Holler E, Idzko M. Danger signals activating innate immunity in graft-versus-host disease. *J Mol Med Berl Ger.* sept 2011;89(9):833-45.

67. Apostolova P, Zeiser R. The Role of Purine Metabolites as DAMPs in Acute Graft-versus-Host Disease. *Front Immunol.* 2016;7.
68. Heidegger S, van den Brink MRM, Haas T, Poeck H. The Role of Pattern-Recognition Receptors in Graft-Versus-Host Disease and Graft-Versus-Leukemia after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol.* 2014;5.
69. Sun Y, Tawara I, Toubai T, Reddy P. Pathophysiology of Acute Graft-vs-Host Disease: Recent Advances. *Transl Res J Lab Clin Med.* oct 2007;150(4):197-214.
70. Markey KA, MacDonald KPA, Hill GR. The biology of graft-versus-host disease: experimental systems instructing clinical practice. *Blood.* 17 juill 2014;124(3):354-62.
71. Chakraverty R, Côté D, Buchli J, Cotter P, Hsu R, Zhao G, et al. An inflammatory checkpoint regulates recruitment of graft-versus-host reactive T cells to peripheral tissues. *J Exp Med.* 7 août 2006;203(8):2021-31.
72. Lowin B, Hahne M, Mattmann C, Tschopp J. Cytolytic T-cell cytotoxicity is mediated through perforin and Fas lytic pathways. *Nature.* août 1994;370(6491):650-2.
73. Kägi D, Vignaux F, Ledermann B, Bürki K, Depraetere V, Nagata S, et al. Fas and Perforin Pathways as Major Mechanisms of T Cell-Mediated Cytotoxicity. *Science.* 22 juill 1994;265(5171):528-30.
74. Storb R, Deeg HJ, Whitehead J, Appelbaum F, Beatty P, Bensinger W, et al. Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med.* 20 mars 1986;314(12):729-35.
75. Yang X, Li D, Xie Y. Anti-Thymocyte Globulin Prophylaxis in Patients With Hematological Malignancies Undergoing Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: An Updated Meta-Analysis. *Front Oncol.* 2021;11.
76. Luo R, Zhang X, Wang Y, Man Q, Gu W, Tian Z, et al. Post-transplant cyclophosphamide for GVHD prophylaxis in pediatrics with chronic active Epstein-Barr virus infection after haplo-HSCT. *Orphanet J Rare Dis.* 2 déc 2022;17(1):422.
77. Zeiser R, Von Bubnoff N, Butler J, Mohty M, Niederwieser D, Or R, et al. Ruxolitinib for Glucocorticoid-Refractory Acute Graft-versus-Host Disease. *N Engl J Med.* 7 mai 2020;382(19):1800-10.
78. Hill GR, Betts BC, Tkachev V, Kean LS, Blazar BR. Current Concepts and Advances in Graft-Versus-Host Disease Immunology. *Annu Rev Immunol.* 26 avr 2021;39:19-49.
79. Zeiser R, Blazar BR. Pathophysiology of Chronic Graft-versus-Host Disease and Therapeutic Targets. *N Engl J Med.* 28 déc 2017;377(26):2565-79.
80. Boyiadzis M, Arora M, Klein JP, Hassebroek A, Hemmer M, Urbano-Ispizua A, et al. Impact of Chronic Graft-versus-Host Disease on Late Relapse and Survival on 7,489 Patients after Myeloablative Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Leukemia. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 mai 2015;21(9):2020-8.

81. Lee SJ, Vogelsang G, Flowers MED. Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1 avr 2003;9(4):215-33.
82. Gruber I, Koelbl O, Herr W, Holler E, Edinger M, Wolff D. Impact of chronic graft-versus-host disease on quality of life and cognitive function of long-term transplant survivors after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with total body irradiation. *Radiat Oncol.* 29 nov 2022;17(1):195.
83. Pidala J, Kurland B, Chai X, Majhail N, Weisdorf DJ, Pavletic S, et al. Patient-reported quality of life is associated with severity of chronic graft-versus-host disease as measured by NIH criteria: report on baseline data from the Chronic GVHD Consortium. *Blood.* 28 avr 2011;117(17):4651-7.
84. Lee SJ. Classification systems for chronic graft-versus-host disease. *Blood.* 5 janv 2017;129(1):30-7.
85. Flowers MED, Inamoto Y, Carpenter PA, Lee SJ, Kiem HP, Petersdorf EW, et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood.* 17 mars 2011;117(11):3214-9.
86. Zeiser R, Polverelli N, Ram R, Hashmi SK, Chakraverty R, Middeke JM, et al. Ruxolitinib for Glucocorticoid-Refractory Chronic Graft-versus-Host Disease. *N Engl J Med.* 15 juill 2021;385(3):228-38.
87. Bosch M, Khan FM, Storek J. Immune reconstitution after hematopoietic cell transplantation. *Curr Opin Hematol.* juill 2012;19(4):324.
88. Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, Baker KS, Blazar BR, Eide C, et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood.* 1 sept 2002;100(5):1611-8.
89. Rocha V, Labopin M, Sanz G, Arcese W, Schwerdtfeger R, Bosi A, et al. Transplants of Umbilical-Cord Blood or Bone Marrow from Unrelated Donors in Adults with Acute Leukemia. *N Engl J Med.* 25 nov 2004;351(22):2276-85.
90. Talekar MK, Olson T. Immune Reconstitution After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. In: Brown VI, éditeur. *Hematopoietic Stem Cell Transplantation for the Pediatric Hematologist/Oncologist* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2018 [cité 5 mai 2023]. p. 371-83. Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-63146-2_26
91. Ullah MA, Hill GR, Tey SK. Functional Reconstitution of Natural Killer Cells in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol.* 2016;7.
92. Chklovskaja E, Nowbakht P, Nissen C, Gratwohl A, Bargetzi M, Wodnar-Filipowicz A. Reconstitution of dendritic and natural killer-cell subsets after allogeneic stem cell transplantation: effects of endogenous flt3 ligand. *Blood.* 15 mai 2004;103(10):3860-8.

93. Dulphy N, Haas P, Busson M, Belhadj S, Peffault de Latour R, Robin M, et al. An Unusual CD56brightCD16low NK Cell Subset Dominates the Early Posttransplant Period following HLA-Matched Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *J Immunol.* 1 août 2008;181(3):2227-37.
94. Foley B, Cooley S, Verneris MR, Curtsinger J, Luo X, Waller EK, et al. NK cell education after allogeneic transplantation: dissociation between recovery of cytokine-producing and cytotoxic functions. *Blood.* 8 sept 2011;118(10):2784-92.
95. Huenecke S, Cappel C, Esser R, Pfirrmann V, Salzmann-Manrique E, Betz S, et al. Development of Three Different NK Cell Subpopulations during Immune Reconstitution after Pediatric Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Prognostic Markers in GvHD and Viral Infections. *Front Immunol.* 2017;8.
96. Williams KM, Hakim FT, Gress RE. T cell immune reconstitution following lymphodepletion. *Semin Immunol.* 1 oct 2007;19(5):318-30.
97. Fry TJ, Mackall CL. Immune reconstitution following hematopoietic progenitor cell transplantation: challenges for the future. *Bone Marrow Transplant.* mars 2005;35(1):S53-7.
98. Guimond M, Fry TJ, Mackall CL. Cytokine Signals in T-Cell Homeostasis. *J Immunother.* août 2005;28(4):289.
99. Mackall CL, Fry TJ, Bare C, Morgan P, Galbraith A, Gress RE. IL-7 increases both thymic-dependent and thymic-independent T-cell regeneration after bone marrow transplantation. *Blood.* 1 mars 2001;97(5):1491-7.
100. van Heijst JWJ, Ceberio I, Lipuma LB, Samilo DW, Wasilewski GD, Gonzales AMR, et al. Quantitative assessment of T cell repertoire recovery after hematopoietic stem cell transplantation. *Nat Med.* mars 2013;19(3):372-7.
101. Douek DC, Vescio RA, Betts MR, Brenchley JM, Hill BJ, Zhang L, et al. Assessment of thymic output in adults after haematopoietic stemcell transplantation and prediction of T-cell reconstitution. *The Lancet.* 27 mai 2000;355(9218):1875-81.
102. Huttunen P, Taskinen M, Siitonen S, Saarinen-Pihkala UM. Impact of very early CD4+/CD8+ T cell counts on the occurrence of acute graft-versus-host disease and NK cell counts on outcome after pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer.* 2015;62(3):522-8.
103. Clave E, Busson M, Douay C, Peffault de Latour R, Berrou J, Rabian C, et al. Acute graft-versus-host disease transiently impairs thymic output in young patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 18 juin 2009;113(25):6477-84.
104. Dekker L, de Koning C, Lindemans C, Nierkens S. Reconstitution of T Cell Subsets Following Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Cancers.* 20 juill 2020;12(7):1974.
105. Matsuoka K ichi, Kim HT, McDonough S, Bascug G, Warshauer B, Koreth J, et al. Altered regulatory T cell homeostasis in patients with CD4⁺ lymphopenia following

- allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Invest.* 3 mai 2010;120(5):1479-93.
106. Zorn E, Kim HT, Lee SJ, Floyd BH, Litsa D, Arumugarajah S, et al. Reduced frequency of FOXP3+ CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with chronic graft-versus-host disease. *Blood.* 15 oct 2005;106(8):2903-11.
 107. Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nat Immunol.* avr 2005;6(4):331-7.
 108. Edinger M, Hoffmann P, Ermann J, Drago K, Fathman CG, Strober S, et al. CD4+CD25+ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Nat Med.* sept 2003;9(9):1144-50.
 109. Di Ianni M, Falzetti F, Carotti A, Terenzi A, Castellino F, Bonifacio E, et al. Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation. *Blood.* 7 avr 2011;117(14):3921-8.
 110. Park BG, Park CJ, Jang S, Chi HS, Kim DY, Lee JH, et al. Reconstitution of lymphocyte subpopulations after hematopoietic stem cell transplantation: comparison of hematologic malignancies and donor types in event-free patients. *Leuk Res.* 1 déc 2015;39(12):1334-41.
 111. Mackall C, Fry T, Gress R, Peggs K, Storek J, Toubert A. Background to hematopoietic cell transplantation, including post transplant immune recovery. *Bone Marrow Transplant.* oct 2009;44(8):457-62.
 112. Small TN, Keever CA, Weiner-Fedus S, Heller G, O'Reilly RJ, Flomenberg N. B-cell differentiation following autologous, conventional, or T-cell depleted bone marrow transplantation: a recapitulation of normal B-cell ontogeny. *Blood.* 15 oct 1990;76(8):1647-56.
 113. Marie-Cardine A, Divay F, Dutot I, Green A, Perdrix A, Boyer O, et al. Transitional B cells in humans: Characterization and insight from B lymphocyte reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Immunol.* avr 2008;127(1):14-25.
 114. Small TN, Robinson WH, Miklos DB. B Cells and Transplantation: An Educational Resource. *Biol Blood Marrow Transplant.* janv 2009;15(1):104-13.
 115. Bemark M, Holmqvist J, Abrahamsson J, Mellgren K. Translational Mini-Review Series on B cell subsets in disease. Reconstitution after haematopoietic stem cell transplantation – revelation of B cell developmental pathways and lineage phenotypes. *Clin Exp Immunol.* 1 déc 2011;167(1):15-25.
 116. Omazic B, Lundkvist I, Mattsson J, Permert J, Näsman-Björk I. Memory B lymphocytes determine repertoire oligoclonality early after haematopoietic stem cell transplantation. *Clin Exp Immunol.* 3 sept 2003;134(1):159-66.
 117. Scarselli A, Di Cesare S, Capponi C, Cascioli S, Romiti ML, Di Matteo G, et al. Longitudinal Evaluation of Immune Reconstitution and B-cell Function After

- Hematopoietic Cell Transplantation for Primary Immunodeficiency. *J Clin Immunol.* mai 2015;35(4):373-83.
118. Van Der Maas NG, Berghuis D, Van Der Burg M, Lankester AC. B Cell Reconstitution and Influencing Factors After Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children. *Front Immunol.* 12 avr 2019;10:782.
 119. Dunleavy K, Hakim F, Kim HK, Janik JE, Grant N, Nakayama T, et al. B-cell recovery following rituximab-based therapy is associated with perturbations in stromal derived factor-1 and granulocyte homeostasis. *Blood.* 1 août 2005;106(3):795-802.
 120. Dranoff G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* janv 2004;4(1):11-22.
 121. Novak J, Lehuen A. Mechanism of regulation of autoimmunity by iNKT cells. *Cytokine.* 1 mars 2011;53(3):263-70.
 122. Berzins SP, Smyth MJ, Baxter AG. Presumed guilty: natural killer T cell defects and human disease. *Nat Rev Immunol.* févr 2011;11(2):131-42.
 123. Krovi SH, Gapin L. Invariant Natural Killer T Cell Subsets—More Than Just Developmental Intermediates. *Front Immunol.* 2018;9.
 124. Tilloy F, Treiner E, Park SH, Garcia C, Lemonnier F, de la Salle H, et al. An Invariant T Cell Receptor α Chain Defines a Novel TAP-independent Major Histocompatibility Complex Class Ib-restricted α/β T Cell Subpopulation in Mammals. *J Exp Med.* 21 juin 1999;189(12):1907-21.
 125. Gold MC, Cerri S, Smyk-Pearson S, Cansler ME, Vogt TM, Delepine J, et al. Human Mucosal Associated Invariant T Cells Detect Bacterially Infected Cells. *PLOS Biol.* 29 juin 2010;8(6):e1000407.
 126. Le Bourhis L, Martin E, Péguillet I, Guihot A, Froux N, Coré M, et al. Antimicrobial activity of mucosal-associated invariant T cells. *Nat Immunol.* août 2010;11(8):701-8.
 127. Kjer-Nielsen L, Patel O, Corbett AJ, Le Nours J, Meehan B, Liu L, et al. MR1 presents microbial vitamin B metabolites to MAIT cells. *Nature.* 1 nov 2012;491(7426):717-23.
 128. Godfrey DI, Uldrich AP, McCluskey J, Rossjohn J, Moody DB. The burgeoning family of unconventional T cells. *Nat Immunol.* nov 2015;16(11):1114-23.
 129. López-Sagaseta J, Dulberger CL, Crooks JE, Parks CD, Luoma AM, McFedries A, et al. The molecular basis for Mucosal-Associated Invariant T cell recognition of MR1 proteins. *Proc Natl Acad Sci.* 7 mai 2013;110(19).
 130. Treiner E, Duban L, Bahram S, Radosavljevic M, Wanner V, Tilloy F, et al. Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nature.* 13 mars 2003;422(6928):164-9.

131. Lepore M, Kalinichenko A, Colone A, Paleja B, Singhal A, Tschumi A, et al. Parallel T-cell cloning and deep sequencing of human MAIT cells reveal stable oligoclonal TCR β repertoire. *Nat Commun.* 15 mai 2014;5(1):3866.
132. Reantragoon R, Corbett AJ, Sakala IG, Gherardin NA, Furness JB, Chen Z, et al. Antigen-loaded MR1 tetramers define T cell receptor heterogeneity in mucosal-associated invariant T cells. *J Exp Med.* 21 oct 2013;210(11):2305-20.
133. Gherardin NA, Loh L, Admojo L, Davenport AJ, Richardson K, Rogers A, et al. Enumeration, functional responses and cytotoxic capacity of MAIT cells in newly diagnosed and relapsed multiple myeloma. *Sci Rep.* 7 mars 2018;8(1):4159.
134. Dusseaux M, Martin E, Serriari N, Péguillet I, Premel V, Louis D, et al. Human MAIT cells are xenobiotic-resistant, tissue-targeted, CD161hi IL-17-secreting T cells. *Blood.* 27 janv 2011;117(4):1250-9.
135. Gherardin NA, Souter MN, Koay H, Mangas KM, Seemann T, Stinear TP, et al. Human blood MAIT cell subsets defined using MR1 tetramers. *Immunol Cell Biol.* mai 2018;96(5):507-25.
136. Kurioka A, Walker LJ, Klenerman P, Willberg CB. MAIT cells: new guardians of the liver. *Clin Transl Immunol.* 19 août 2016;5(8):e98.
137. Billerbeck E, Kang YH, Walker L, Lockstone H, Grafmueller S, Fleming V, et al. Analysis of CD161 expression on human CD8⁺ T cells defines a distinct functional subset with tissue-homing properties. *Proc Natl Acad Sci.* 16 févr 2010;107(7):3006-11.
138. Godfrey DI, Koay HF, McCluskey J, Gherardin NA. The biology and functional importance of MAIT cells. *Nat Immunol.* sept 2019;20(9):1110-28.
139. Martin E, Treiner E, Duban L, Guerri L, Laude H, Toly C, et al. Stepwise Development of MAIT Cells in Mouse and Human. *Cerundolo V, éditeur. PLoS Biol.* 10 mars 2009;7(3):e1000054.
140. Schmalzer M, Colone A, Spagnuolo J, Zimmermann M, Lepore M, Kalinichenko A, et al. Modulation of bacterial metabolism by the microenvironment controls MAIT cell stimulation. *Mucosal Immunol.* juill 2018;11(4):1060-70.
141. Constantinides MG, Link VM, Tamoutounour S, Wong AC, Perez-Chaparro PJ, Han SJ, et al. MAIT cells are imprinted by the microbiota in early life and promote tissue repair. *Science.* 25 oct 2019;366(6464):eaax6624.
142. Sobkowiak MJ, Davanian H, Heymann R, Gibbs A, Emgård J, Dias J, et al. Tissue-resident MAIT cell populations in human oral mucosa exhibit an activated profile and produce IL-17. *Eur J Immunol.* janv 2019;49(1):133-43.
143. Gibbs A, Leeansyah E, Introini A, Paquin-Proulx D, Hasselrot K, Andersson E, et al. MAIT cells reside in the female genital mucosa and are biased towards IL-17 and IL-22 production in response to bacterial stimulation. *Mucosal Immunol.* janv 2017;10(1):35-45.

144. Chen Z, Wang H, D'Souza C, Sun S, Kostenko L, Eckle SBG, et al. Mucosal-associated invariant T-cell activation and accumulation after in vivo infection depends on microbial riboflavin synthesis and co-stimulatory signals. *Mucosal Immunol.* janv 2017;10(1):58-68.
145. Rahimpour A, Koay HF, Enders A, Clanchy R, Eckle SBG, Meehan B, et al. Identification of phenotypically and functionally heterogeneous mouse mucosal-associated invariant T cells using MR1 tetramers. *J Exp Med.* 29 juin 2015;212(7):1095-108.
146. Nel I, Bertrand L, Toubal A, Lehuen A. MAIT cells, guardians of skin and mucosa? *Mucosal Immunol.* juill 2021;14(4):803-14.
147. Le Bourhis L, Mburu YK, Lantz O. MAIT cells, surveyors of a new class of antigen: development and functions. *Curr Opin Immunol.* avr 2013;25(2):174-80.
148. Fergusson JR, Fleming VM, Klenerman P. CD161-Expressing Human T Cells. *Front Immunol.* 2011;2.
149. Leeansyah E, Loh L, Nixon DF, Sandberg JK. Acquisition of innate-like microbial reactivity in mucosal tissues during human fetal MAIT-cell development. *Nat Commun.* 23 janv 2014;5(1):3143.
150. Sharma PK, Wong EB, Napier RJ, Bishai WR, Ndung'u T, Kasprovicz VO, et al. High expression of CD26 accurately identifies human bacteria-reactive MR1-restricted MAIT cells. *Immunology.* juill 2015;145(3):443-53.
151. Brozova J, Karlova I, Novak J. Analysis of the Phenotype and Function of the Subpopulations of Mucosal-Associated Invariant T Cells. *Scand J Immunol.* 2016;84(4):245-51.
152. Amini A, Pang D, Hackstein CP, Klenerman P. MAIT Cells in Barrier Tissues: Lessons from Immediate Neighbors. *Front Immunol.* 30 nov 2020;11:584521.
153. Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, et al. The Orphan Nuclear Receptor ROR γ t Directs the Differentiation Program of Proinflammatory IL-17+ T Helper Cells. *Cell.* sept 2006;126(6):1121-33.
154. Kurioka A, Ussher JE, Cosgrove C, Clough C, Fergusson JR, Smith K, et al. MAIT cells are licensed through granzyme exchange to kill bacterially sensitized targets. *Mucosal Immunol.* mars 2015;8(2):429-40.
155. Toubal A, Nel I, Lotersztajn S, Lehuen A. Mucosal-associated invariant T cells and disease. *Nat Rev Immunol.* oct 2019;19(10):643-57.
156. Treiner E, Lantz O. CD1d- and MR1-restricted invariant T cells: of mice and men. *Curr Opin Immunol.* 1 oct 2006;18(5):519-26.
157. Treiner E, Duban L, Bahram S, Radosavljevic M, Wanner V, Tilloy F, et al. Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nature.* mars 2003;422(6928):164-9.

158. Corbett AJ, Eckle SBG, Birkinshaw RW, Liu L, Patel O, Mahony J, et al. T-cell activation by transitory neo-antigens derived from distinct microbial pathways. *Nature*. 15 mai 2014;509(7500):361-5.
159. Patel O, Kjer-Nielsen L, Le Nours J, Eckle SBG, Birkinshaw R, Beddoe T, et al. Recognition of vitamin B metabolites by mucosal-associated invariant T cells. *Nat Commun*. 11 juill 2013;4(1):2142.
160. van Wilgenburg B, Scherwitzl I, Hutchinson EC, Leng T, Kurioka A, Kulicke C, et al. MAIT cells are activated during human viral infections. *Nat Commun*. 23 juin 2016;7(1):11653.
161. Voskoboinik I, Whisstock JC, Trapani JA. Perforin and granzymes: function, dysfunction and human pathology. *Nat Rev Immunol*. juin 2015;15(6):388-400.
162. Soudais C, Samassa F, Sarkis M, Le Bourhis L, Bessoles S, Blanot D, et al. In Vitro and In Vivo Analysis of the Gram-Negative Bacteria-Derived Riboflavin Precursor Derivatives Activating Mouse MAIT Cells. *J Immunol*. 15 mai 2015;194(10):4641-9.
163. Dias J, Sobkowiak MJ, Sandberg JK, Leeansyah E. Human MAIT-cell responses to *Escherichia coli*: activation, cytokine production, proliferation, and cytotoxicity. *J Leukoc Biol*. 1 juill 2016;100(1):233-40.
164. Bourhis LL, Dusseaux M, Bohineust A, Bessoles S, Martin E, Premel V, et al. MAIT Cells Detect and Efficiently Lyse Bacterially-Infected Epithelial Cells. *PLOS Pathog*. 10 oct 2013;9(10):e1003681.
165. Ussher JE, Willberg CB, Klenerman P. MAIT cells and viruses. *Immunol Cell Biol*. juill 2018;96(6):630-41.
166. Ussher JE, Bilton M, Attwod E, Shadwell J, Richardson R, de Lara C, et al. CD161⁺⁺ CD8⁺ T cells, including the MAIT cell subset, are specifically activated by IL-12+IL-18 in a TCR-independent manner. *Eur J Immunol*. janv 2014;44(1):195-203.
167. Garner LC, Klenerman P, Provine NM. Insights Into Mucosal-Associated Invariant T Cell Biology From Studies of Invariant Natural Killer T Cells. *Front Immunol*. 2018;9.
168. Salou M, Franciszkiewicz K, Lantz O. MAIT cells in infectious diseases. *Curr Opin Immunol*. 1 oct 2017;48:7-14.
169. Hinks TSC, Zhang XW. MAIT Cell Activation and Functions. *Front Immunol*. 27 mai 2020;11:1014.
170. Jo J, Tan AT, Ussher JE, Sandalova E, Tang XZ, Tan-Garcia A, et al. Toll-like receptor 8 agonist and bacteria trigger potent activation of innate immune cells in human liver. *PLoS Pathog*. juin 2014;10(6):e1004210.
171. Salou M, Franciszkiewicz K, Lantz O. MAIT cells in infectious diseases. *Curr Opin Immunol*. oct 2017;48:7-14.

172. Grimaldi D, Le Bourhis L, Sauneuf B, Dechartres A, Rousseau C, Ouaz F, et al. Specific MAIT cell behaviour among innate-like T lymphocytes in critically ill patients with severe infections. *Intensive Care Med.* févr 2014;40(2):192-201.
173. Fernandez CS, Amarasena T, Kelleher AD, Rossjohn J, McCluskey J, Godfrey DI, et al. MAIT cells are depleted early but retain functional cytokine expression in HIV infection. *Immunol Cell Biol.* févr 2015;93(2):177-88.
174. Outcome of SARS-CoV-2 infection is linked to MAIT cell activation and cytotoxicity | *Nature Immunology* [Internet]. [cité 20 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/s41590-021-00870-z>
175. Salou M, Lantz O. A TCR-Dependent Tissue Repair Potential of MAIT Cells. *Trends Immunol.* nov 2019;40(11):975-7.
176. Wang J, Ding X. IL-17 signaling in skin repair: safeguarding metabolic adaptation of wound epithelial cells. *Signal Transduct Target Ther.* 8 oct 2022;7(1):1-3.
177. Linehan JL, Harrison OJ, Han SJ, Byrd AL, Vujkovic-Cvijin I, Villarino AV, et al. Non-classical Immunity Controls Microbiota Impact on Skin Immunity and Tissue Repair. *Cell.* févr 2018;172(4):784-796.e18.
178. Duan M, Goswami S, Shi JY, Wu LJ, Wang XY, Ma JQ, et al. Activated and Exhausted MAIT Cells Foster Disease Progression and Indicate Poor Outcome in Hepatocellular Carcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 juin 2019;25(11):3304-16.
179. Melo AM, O'Brien AM, Phelan JJ, Kennedy SA, Wood NAW, Veerapen N, et al. Mucosal-Associated Invariant T Cells Display Diminished Effector Capacity in Oesophageal Adenocarcinoma. *Front Immunol.* 2019;10:1580.
180. Ling L, Lin Y, Zheng W, Hong S, Tang X, Zhao P, et al. Circulating and tumor-infiltrating mucosal associated invariant T (MAIT) cells in colorectal cancer patients. *Sci Rep.* 3 févr 2016;6:20358.
181. Zabijak L, Attencourt C, Guignant C, Chatelain D, Marcelo P, Marolleau JP, et al. Increased tumor infiltration by mucosal-associated invariant T cells correlates with poor survival in colorectal cancer patients. *Cancer Immunol Immunother CII.* déc 2015;64(12):1601-8.
182. Won EJ, Ju JK, Cho YN, Jin HM, Park KJ, Kim TJ, et al. Clinical relevance of circulating mucosal-associated invariant T cell levels and their anti-cancer activity in patients with mucosal-associated cancer. *Oncotarget.* 15 nov 2016;7(46):76274-90.
183. Sundström P, Ahlmanner F, Akéus P, Sundquist M, Alsen S, Yrlid U, et al. Human Mucosa-Associated Invariant T Cells Accumulate in Colon Adenocarcinomas but Produce Reduced Amounts of IFN- γ . *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 oct 2015;195(7):3472-81.
184. Shaler CR, Tun-Abraham ME, Skaro AI, Khazaie K, Corbett AJ, Mele T, et al. Mucosa-associated invariant T cells infiltrate hepatic metastases in patients with colorectal carcinoma but are rendered dysfunctional within and adjacent to tumor microenvironment. *Cancer Immunol Immunother CII.* déc 2017;66(12):1563-75.

185. Gherardin NA, Loh L, Admojo L, Davenport AJ, Richardson K, Rogers A, et al. Enumeration, functional responses and cytotoxic capacity of MAIT cells in newly diagnosed and relapsed multiple myeloma. *Sci Rep.* 7 mars 2018;8(1):4159.
186. Favreau M, Venken K, Faict S, Maes K, De Veirman K, De Bruyne E, et al. Both mucosal-associated invariant and natural killer T-cell deficiency in multiple myeloma can be countered by PD-1 inhibition. *Haematologica.* juill 2017;102(7):e266-70.
187. Comont T, Nicolau-Travers ML, Bertoli S, Recher C, Vergez F, Treiner E. MAIT cells numbers and frequencies in patients with acute myeloid leukemia at diagnosis: association with cytogenetic profile and gene mutations. *Cancer Immunol Immunother.* avr 2022;71(4):875-87.
188. Varelias A, Bunting MD, Ormerod KL, Koyama M, Olver SD, Straube J, et al. Recipient mucosal-associated invariant T cells control GVHD within the colon. *J Clin Invest.* 24 mai 2018;128(5):1919-36.
189. Gao MG, Hong Y, Zhao XY, Pan XA, Sun YQ, Kong J, et al. The Potential Roles of Mucosa-Associated Invariant T Cells in the Pathogenesis of Gut Graft-Versus-Host Disease After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol.* 2021;12:720354.
190. Bhattacharyya A, Hanafi LA, Sheih A, Golob JL, Srinivasan S, Boeckh MJ, et al. Graft-Derived Reconstitution of Mucosal-Associated Invariant T Cells after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1 févr 2018;24(2):242-51.
191. Kawaguchi K, Umeda K, Hiejima E, Iwai A, Mikami M, Nodomi S, et al. Influence of post-transplant mucosal-associated invariant T cell recovery on the development of acute graft-versus-host disease in allogeneic bone marrow transplantation. *Int J Hematol.* juill 2018;108(1):66-75.
192. van der Waart AB, van der Velden WJFM, van Halteren AGS, Leenders MJLG, Feuth T, Blijlevens NMA, et al. Decreased Levels of Circulating IL17-Producing CD161+CCR6+ T Cells Are Associated with Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *PLoS ONE.* 4 déc 2012;7(12):e50896.
193. Lukasik Z, Elewaut D, Venken K. MAIT Cells Come to the Rescue in Cancer Immunotherapy? *Cancers.* févr 2020;12(2):413.
194. Konduri V, Oyewole-Said D, Vazquez-Perez J, Weldon SA, Halpert MM, Levitt JM, et al. CD8+CD161+ T-Cells: Cytotoxic Memory Cells With High Therapeutic Potential. *Front Immunol.* 1 févr 2021;11:613204.
195. Varelias A, Gartlan KH, Wilkinson AN, Olver SD, Samson LD, Tey SK, et al. Expansion of IL-17A-secreting CD8+ mucosa-associated invariant T cells in peripheral blood following stem cell mobilization. *Blood Adv.* 27 févr 2019;3(5):718-23.
196. Omenetti S, Bussi C, Metidji A, Iseppon A, Lee S, Tolaini M, et al. The Intestine Harbors Functionally Distinct Homeostatic Tissue-Resident and Inflammatory Th17 Cells. *Immunity.* 16 juill 2019;51(1):77-89.e6.

197. Fergusson JR, Ussher JE, Kurioka A, Klenerman P, Walker LJ. High MDR-1 expression by MAIT cells confers resistance to cytotoxic but not immunosuppressive MDR-1 substrates. *Clin Exp Immunol*. 19 oct 2018;194(2):180-91.
198. Zhang X, Zhu L, Zhang H, Chen S, Xiao Y. CAR-T Cell Therapy in Hematological Malignancies: Current Opportunities and Challenges. *Front Immunol*. 10 juin 2022;13:927153.
199. Bohineust A, Turret M, Derivry L, Caillat-Zucman S. Mucosal-associated invariant T (MAIT) cells, a new source of universal immune cells for chimeric antigen receptor (CAR)-cell therapy. *Bull Cancer (Paris)*. oct 2021;108(10):S92-5.
200. Nanno M, Shiohara T, Yamamoto H, Kawakami K, Ishikawa H. $\gamma\delta$ T cells: firefighters or fire boosters in the front lines of inflammatory responses. *Immunol Rev*. févr 2007;215(1):103-13.
201. Girardi M. Immunosurveillance and immunoregulation by gammadelta T cells. *J Invest Dermatol*. janv 2006;126(1):25-31.
202. Lafont V, Sanchez F, Laprevotte E, Michaud HA, Gros L, Eliaou JF, et al. Plasticity of gamma delta T cells: impact on the anti-tumor response. *Front Immunol*. 2014;5.
203. Kalyan S, Kabelitz D. Defining the nature of human $\gamma\delta$ T cells: a biographical sketch of the highly empathetic. *Cell Mol Immunol*. janv 2013;10(1):21-9.
204. Davey MS, Willcox CR, Hunter S, Kasatskaya SA, Remmerswaal EBM, Salim M, et al. The human V δ 2+ T-cell compartment comprises distinct innate-like V γ 9+ and adaptive V γ 9- subsets. *Nat Commun*. 2 mai 2018;9(1):1760.
205. Bonneville M, O'Brien RL, Born WK. $\gamma\delta$ T cell effector functions: a blend of innate programming and acquired plasticity. *Nat Rev Immunol*. juill 2010;10(7):467-78.
206. Vermijlen D, Gatti D, Kouzeli A, Rus T, Eberl M. $\gamma\delta$ T cell responses: How many ligands will it take till we know? *Semin Cell Dev Biol*. déc 2018;84:75-86.
207. Vantourout P, Hayday A. Six-of-the-best: unique contributions of $\gamma\delta$ T cells to immunology. *Nat Rev Immunol*. févr 2013;13(2):88-100.
208. Luoma AM, Castro CD, Mayassi T, Bembinster LA, Bai L, Picard D, et al. Crystal Structure of V δ 1 T Cell Receptor in Complex with CD1d-Sulfatide Shows MHC-like Recognition of a Self-Lipid by Human $\gamma\delta$ T Cells. *Immunity*. 12 déc 2013;39(6):1032-42.
209. Rincon-Orozco B, Kunzmann V, Wrobel P, Kabelitz D, Steinle A, Herrmann T. Activation of V γ 9V δ 2 T Cells by NKG2D. *J Immunol*. 15 août 2005;175(4):2144-51.
210. Das H, Groh V, Kuijl C, Sugita M, Morita CT, Spies T, et al. MICA Engagement by Human V γ 2V δ 2 T Cells Enhances Their Antigen-Dependent Effector Function. *Immunity*. 1 juill 2001;15(1):83-93.
211. Zeng X, Meyer C, Huang J, Newell EW, Kidd BA, Wei YL, et al. Gamma delta T cells recognize haptens and mount a hapten-specific response. *eLife*. 25 sept 2014;3:e03609.

212. Rust CJJ, Verreck F, Vietor H, Koning F. Specific recognition of staphylococcal enterotoxin A by human T cells bearing receptors with the V γ 9 region. *Nature*. 9 août 1990;346(6284):572-4.
213. Eberl M, Hintz M, Reichenberg A, Kollas AK, Wiesner J, Jomaa H. Microbial isoprenoid biosynthesis and human $\gamma\delta$ T cell activation. *FEBS Lett*. 5 juin 2003;544(1-3):4-10.
214. Constant P, Davodeau F, Peyrat MA, Poquet Y, Puzo G, Bonneville M, et al. Stimulation of Human $\gamma\delta$ T Cells by Nonpeptidic Mycobacterial Ligands. *Science*. 8 avr 1994;264(5156):267-70.
215. Morita CT, Beckman EM, Bukowski JF, Tanaka Y, Band H, Bloom BR, et al. Direct presentation of nonpeptide prenyl pyrophosphate antigens to human $\gamma\delta$ T cells. *Immunity*. oct 1995;3(4):495-507.
216. Tanaka Y, Morita CT, Tanaka Y, Nieves E, Brenner MB, Bloom BR. Natural and synthetic non-peptide antigens recognized by human $\gamma\delta$ T cells. *Nature*. mai 1995;375(6527):155-8.
217. Chen ZW, Letvin NL. V γ 2V δ 2+ T cells and anti-microbial immune responses. *Microbes Infect*. mai 2003;5(6):491-8.
218. Harly C, Peigné CM, Scotet E. Molecules and Mechanisms Implicated in the Peculiar Antigenic Activation Process of Human V γ 9V δ 2 T Cells. *Front Immunol*. 5 janv 2015;5.
219. Dar AA, Patil RS, Chiplunkar SV. Insights into the Relationship between Toll Like Receptors and Gamma Delta T Cell Responses. *Front Immunol*. 2014;5.
220. Devilder MC, Allain S, Dousset C, Bonneville M, Scotet E. Early Triggering of Exclusive IFN- γ Responses of Human V γ 9V δ 2 T Cells by TLR-Activated Myeloid and Plasmacytoid Dendritic Cells. *J Immunol*. 15 sept 2009;183(6):3625-33.
221. Pont F, Familiades J, Déjean S, Fruchon S, Cendron D, Poupot M, et al. The gene expression profile of phosphoantigen-specific human $\gamma\delta$ T lymphocytes is a blend of $\alpha\beta$ T-cell and NK-cell signatures: Molecular immunology. *Eur J Immunol*. janv 2012;42(1):228-40.
222. Kabelitz D, Wesch D, He W. Perspectives of $\gamma\delta$ T Cells in Tumor Immunology. *Cancer Res*. 1 janv 2007;67(1):5-8.
223. Qin HD, Huang D, Weng XD, Xu F. Upregulation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ and NADPH oxidases are involved in restenosis after balloon injury. *J Cell Physiol*. nov 2009;221(2):387-93.
224. Dieli F, Troye-Blomberg M, Ivanyi J, Fournié JJ, Krensky AM, Bonneville M, et al. Granulysin-Dependent Killing of Intracellular and Extracellular *Mycobacterium tuberculosis* by V γ 9/V δ 2 T Lymphocytes. *J Infect Dis*. 15 oct 2001;184(8):1082-5.
225. Spencer CT, Abate G, Sakala IG, Xia M, Truscott SM, Eickhoff CS, et al. Granzyme A Produced by $\gamma\delta$ 2 T Cells Induces Human Macrophages to Inhibit Growth of an

Intracellular Pathogen. Lewinsohn DM, éditeur. PLoS Pathog. 10 janv 2013;9(1):e1003119.

226. Li B, Bassiri H, Rossman MD, Kramer P, Eyuboglu AFO, Torres M, et al. Involvement of the Fas/Fas Ligand Pathway in Activation-Induced Cell Death of Mycobacteria-Reactive Human $\gamma\delta$ T Cells: A Mechanism for the Loss of $\gamma\delta$ T Cells in Patients with Pulmonary Tuberculosis. *J Immunol.* 1 août 1998;161(3):1558-67.
227. Dalton JE, Howell G, Pearson J, Scott P, Carding SR. Fas-Fas Ligand Interactions Are Essential for the Binding to and Killing of Activated Macrophages by $\gamma\delta$ T Cells. *J Immunol.* 15 sept 2004;173(6):3660-7.
228. Gertner-Dardenne J, Bonnafous C, Bezombes C, Capietto AH, Scaglione V, Ingoure S, et al. Bromohydrin pyrophosphate enhances antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity induced by therapeutic antibodies. *Blood.* 14 mai 2009;113(20):4875-84.
229. Angelini DF, Borsellino G, Poupot M, Diamantini A, Poupot R, Bernardi G, et al. Fc γ RIII discriminates between 2 subsets of V γ 9V δ 2 effector cells with different responses and activation pathways. *Blood.* 15 sept 2004;104(6):1801-7.
230. Lafont V, Liautard J, Liautard JP, Favero J. Production of TNF- α by Human V γ 9V δ 2 T Cells Via Engagement of Fc γ RIIIA, the Low Affinity Type 3 Receptor for the Fc Portion of IgG, Expressed upon TCR Activation by Nonpeptidic Antigen. *J Immunol.* 15 juin 2001;166(12):7190-9.
231. Toutirais O, Cabillic F, Le Friec G, Salot S, Loyer P, Le Gallo M, et al. DNAX accessory molecule-1 (CD226) promotes human hepatocellular carcinoma cell lysis by V γ 9V δ 2 T cells. *Eur J Immunol.* mai 2009;39(5):1361-8.
232. Hao J, Wu X, Xia S, Li Z, Wen T, Zhao N, et al. Current progress in $\gamma\delta$ T-cell biology. *Cell Mol Immunol.* nov 2010;7(6):409-13.
233. Wu YL, Ding YP, Tanaka Y, Shen LW, Wei CH, Minato N, et al. $\gamma\delta$ T Cells and Their Potential for Immunotherapy. *Int J Biol Sci.* 10 janv 2014;10(2):119-35.
234. Sutton CE, Lalor SJ, Sweeney CM, Brereton CF, Lavelle EC, Mills KHG. Interleukin-1 and IL-23 Induce Innate IL-17 Production from $\gamma\delta$ T Cells, Amplifying Th17 Responses and Autoimmunity. *Immunity.* août 2009;31(2):331-41.
235. Lalor SJ, Dungan LS, Sutton CE, Basdeo SA, Fletcher JM, Mills KHG. Caspase-1-Processed Cytokines IL-1 β and IL-18 Promote IL-17 Production by $\gamma\delta$ and CD4 T Cells That Mediate Autoimmunity. *J Immunol.* 15 mai 2011;186(10):5738-48.
236. Caccamo N, La Mendola C, Orlando V, Meraviglia S, Todaro M, Stassi G, et al. Differentiation, phenotype, and function of interleukin-17-producing human V γ 9V δ 2 T cells. *Blood.* 7 juill 2011;118(1):129-38.
237. Sharp LL, Jameson JM, Cauvi G, Havran WL. Dendritic epidermal T cells regulate skin homeostasis through local production of insulin-like growth factor 1. *Nat Immunol.* janv 2005;6(1):73-9.

238. Hu Y, Cui Q, Luo C, Luo Y, Shi J, Huang H. A promising sword of tomorrow: Human $\gamma\delta$ T cell strategies reconcile allo-HSCT complications. *Blood Rev.* mai 2016;30(3):179-88.
239. Hirokawa M, Horiuchi T, Kawabata Y, Kitabayashi A, Miura A. Reconstitution of $\gamma\delta$ T cell repertoire diversity after human allogeneic hematopoietic cell transplantation and the role of peripheral expansion of mature T cell population in the graft. *Bone Marrow Transplant.* 1 juill 2000;26(2):177-85.
240. Godder KT, Henslee-Downey PJ, Mehta J, Park BS, Chiang KY, Abhyankar S, et al. Long term disease-free survival in acute leukemia patients recovering with increased $\gamma\delta$ T cells after partially mismatched related donor bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* juin 2007;39(12):751-7.
241. Perko R, Kang G, Sunkara A, Leung W, Thomas PG, Dallas MH. Gamma Delta T Cell Reconstitution Is Associated with Fewer Infections and Improved Event-Free Survival after Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Pediatric Leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* janv 2015;21(1):130-6.
242. Arruda LCM, Gaballa A, Uhlin M. Impact of $\gamma\delta$ T cells on clinical outcome of hematopoietic stem cell transplantation: systematic review and meta-analysis. *Blood Adv.* 12 nov 2019;3(21):3436-48.
243. Lamb Jr LS, Gee AP, Hazlett LJ, Musk P, Parrish RS, O'Hanlon TP, et al. Influence of T Cell Depletion Method on Circulating $\gamma\delta$ T Cell Reconstitution and Potential Role in the Graft-Versus-Leukemia Effect. *Cytotherapy.* 1 janv 1999;1(1):7-19.
244. Drobyski WR, Majewski D, Hanson G. Graft-facilitating doses of ex vivo activated gammadelta T cells do not cause lethal murine graft-vs.-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* août 1999;5(4):222-30.
245. Lamb LS, Musk P, Ye Z, van Rhee F, Geier SS, Tong JJ, et al. Human gammadelta(+) T lymphocytes have in vitro graft vs leukemia activity in the absence of an allogeneic response. *Bone Marrow Transplant.* mars 2001;27(6):601-6.
246. Blazar BR, Taylor PA, Panoskaltsis-Mortari A, Barrett TA, Bluestone JA, Vallera DA. Lethal murine graft-versus-host disease induced by donor gamma/delta expressing T cells with specificity for host nonclassical major histocompatibility complex class Ib antigens. *Blood.* 15 janv 1996;87(2):827-37.
247. Maeda Y, Reddy P, Lowler KP, Liu C, Bishop DK, Ferrara JLM. Critical role of host $\gamma\delta$ T cells in experimental acute graft-versus-host disease. *Blood.* 15 juill 2005;106(2):749-55.
248. Andrlová H, Miltiadous O, Kousa AI, Dai A, DeWolf S, Violante S, et al. MAIT and V δ 2 unconventional T cells are supported by a diverse intestinal microbiome and correlate with favorable patient outcome after allogeneic HCT. *Sci Transl Med.* 25 mai 2022;14(646):eabj2829.
249. Liu J, Bian Z, Wang X, Xu LP, Fu Q, Wang C, et al. Inverse correlation of V δ 2⁺ T-cell recovery with EBV reactivation after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* janv 2018;180(2):276-85.

250. Knight A, Madrigal AJ, Grace S, Sivakumaran J, Kottaridis P, Mackinnon S, et al. The role of V δ 2-negative $\gamma\delta$ T cells during cytomegalovirus reactivation in recipients of allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 23 sept 2010;116(12):2164-72.
251. Scheper W, van Dorp S, Kersting S, Pietersma F, Lindemans C, Hol S, et al. $\gamma\delta$ T cells elicited by CMV reactivation after allo-SCT cross-recognize CMV and leukemia. *Leukemia*. juin 2013;27(6):1328-38.
252. Stocker N, Gaugler B, Labopin M, Farge A, Ye Y, Ricard L, et al. High-dose post-transplant cyclophosphamide impairs $\gamma\delta$ T-cell reconstitution after haploidentical haematopoietic stem cell transplantation using low-dose antithymocyte globulin and peripheral blood stem cell graft. *Clin Transl Immunol [Internet]*. janv 2020 [cité 7 mai 2023];9(9). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cti2.1171>
253. Nakamae H, Fujii K, Nanno S, Okamura H, Nakane T, Koh H, et al. A prospective observational study of immune reconstitution following transplantation with post-transplant reduced-dose cyclophosphamide from HLA -haploidentical donors. *Transpl Int*. déc 2019;32(12):1322-32.
254. Zheng BJ, Chan KW, Im S, Chua D, Sham JST, Tin PC, et al. Anti-tumor effects of human peripheral ?? T cells in a mouse tumor model. *Int J Cancer*. 1 mai 2001;92(3):421-5.
255. Benzaïd I, Mönkkönen H, Stresing V, Bonnelye E, Green J, Mönkkönen J, et al. High Phosphoantigen Levels in Bisphosphonate-Treated Human Breast Tumors Promote V γ 9V δ 2 T-Cell Chemotaxis and Cytotoxicity *In Vivo*. *Cancer Res*. 1 juill 2011;71(13):4562-72.
256. Benzaïd I, Mönkkönen H, Bonnelye E, Mönkkönen J, Clézardin P. *In Vivo* Phosphoantigen Levels in Bisphosphonate-Treated Human Breast Tumors Trigger V γ 9V δ 2 T-cell Antitumor Cytotoxicity through ICAM-1 Engagement. *Clin Cancer Res*. 15 nov 2012;18(22):6249-59.
257. Park JH, Lee HK. Function of $\gamma\delta$ T cells in tumor immunology and their application to cancer therapy. *Exp Mol Med*. mars 2021;53(3):318-27.
258. Fisher JP, Heuwerkerk J, Yan M, Gustafsson K, Anderson J. $\gamma\delta$ T cells for cancer immunotherapy: A systematic review of clinical trials. *OncoImmunology*. janv 2014;3(1):e27572.
259. Fournié JJ, Sicard H, Poupot M, Bezombes C, Blanc A, Romagné F, et al. What lessons can be learned from $\gamma\delta$ T cell-based cancer immunotherapy trials? *Cell Mol Immunol*. janv 2013;10(1):35-41.
260. Castella B, Vitale C, Coscia M, Massaia M. V γ 9V δ 2 T cell-based immunotherapy in hematological malignancies: from bench to bedside. *Cell Mol Life Sci*. 1 juill 2011;68(14):2419-32.
261. van Bekkum DW, Roodenburg J, Heidt PJ, van der Waaij D. Mitigation of secondary disease of allogeneic mouse radiation chimeras by modification of the intestinal microflora. *J Natl Cancer Inst*. févr 1974;52(2):401-4.

262. Storb R, Prentice RL, Buckner CD, Clift RA, Appelbaum F, Deeg J, et al. Graft-versus-host disease and survival in patients with aplastic anemia treated by marrow grafts from HLA-identical siblings. Beneficial effect of a protective environment. *N Engl J Med*. 10 févr 1983;308(6):302-7.
263. Antibiotic-mediated modification of the intestinal microbiome in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation | Bone Marrow Transplantation [Internet]. [cité 13 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/bmt2016206>
264. Vossen JM, Guiot HFL, Lankester AC, Vossen ACTM, Bredius RGM, Wolterbeek R, et al. Complete Suppression of the Gut Microbiome Prevents Acute Graft-Versus-Host Disease following Allogeneic Bone Marrow Transplantation. *PLOS ONE*. 2 sept 2014;9(9):e105706.
265. Whangbo J, Ritz J, Bhatt A. Antibiotic-mediated modification of the intestinal microbiome in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. févr 2017;52(2):183-90.
266. Fischer JC, Bscheider M, Eisenkolb G, Lin CC, Wintges A, Otten V, et al. RIG-I/MAVS and STING signaling promote gut integrity during irradiation- and immune-mediated tissue injury. *Sci Transl Med*. 19 avr 2017;9(386):eaag2513.
267. Taur Y, Jenq RR, Perales MA, Littmann ER, Morjaria S, Ling L, et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 14 août 2014;124(7):1174-82.
268. Stein-Thoeringer CK, Nichols KB, Lazrak A, Docampo MD, Slingerland AE, Slingerland JB, et al. Lactose drives Enterococcus expansion to promote graft-versus-host disease. *Science*. 29 nov 2019;366(6469):1143-9.
269. Peled JU, Gomes ALC, Devlin SM, Littmann ER, Taur Y, Sung AD, et al. Microbiota as Predictor of Mortality in Allogeneic Hematopoietic-Cell Transplantation. *N Engl J Med*. 27 févr 2020;382(9):822-34.
270. Holler E, Butzhammer P, Schmid K, Hundsrucker C, Koestler J, Peter K, et al. Metagenomic Analysis of the Stool Microbiome in Patients Receiving Allogeneic Stem Cell Transplantation: Loss of Diversity Is Associated with Use of Systemic Antibiotics and More Pronounced in Gastrointestinal Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1 mai 2014;20(5):640-5.
271. Jenq RR, Taur Y, Devlin SM, Ponce DM, Goldberg JD, Ahr KF, et al. Intestinal *Blautia* Is Associated with Reduced Death from Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1 août 2015;21(8):1373-83.
272. Markey KA, Schluter J, Gomes ALC, Littmann ER, Pickard AJ, Taylor BP, et al. The microbe-derived short-chain fatty acids butyrate and propionate are associated with protection from chronic GVHD. *Blood*. 2 juill 2020;136(1):130-6.
273. Han L, Jin H, Zhou L, Zhang X, Fan Z, Dai M, et al. Intestinal Microbiota at Engraftment Influence Acute Graft-Versus-Host Disease via the Treg/Th17 Balance in Allo-HSCT Recipients. *Front Immunol*. 2018;9.

274. Han L, Zhang H, Chen S, Zhou L, Li Y, Zhao K, et al. Intestinal Microbiota Can Predict Acute Graft-versus-Host Disease Following Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 1 oct 2019;25(10):1944-55.
275. Peled JU, Devlin SM, Staffas A, Lumish M, Khanin R, Littmann ER, et al. Intestinal Microbiota and Relapse After Hematopoietic-Cell Transplantation. *J Clin Oncol*. 20 mai 2017;35(15):1650-9.
276. Fiorenza S, Turtle CJ. Associations between the Gut Microbiota, Immune Reconstitution, and Outcomes of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Immunometabolism*. janv 2021;3(1):e210004.
277. Schluter J, Peled JU, Taylor BP, Markey KA, Smith M, Taur Y, et al. The gut microbiota is associated with immune cell dynamics in humans. *Nature*. déc 2020;588(7837):303-7.
278. Taur Y, Coyte K, Schluter J, Robilotti E, Figueroa C, Gjonbalaj M, et al. Reconstitution of the gut microbiota of antibiotic-treated patients by autologous fecal microbiota transplant. *Sci Transl Med*. 26 sept 2018;10(460):eaap9489.
279. DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, Thirman MJ, Garcia JS, Wei AH, et al. Azacitidine and Venetoclax in Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 13 août 2020;383(7):617-29.
280. Wojciechowski S, Tripathi P, Bourdeau T, Acero L, Grimes HL, Katz JD, et al. Bim/Bcl-2 balance is critical for maintaining naive and memory T cell homeostasis. *J Exp Med*. 9 juill 2007;204(7):1665-75.
281. Lu P, Fleischmann R, Curtis C, Ignatenko S, Clarke SH, Desai M, et al. Safety and pharmacodynamics of venetoclax (ABT-199) in a randomized single and multiple ascending dose study in women with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 1 févr 2018;27(2):290-302.
282. Bose P, Gandhi V, Konopleva M. Pathways and mechanisms of venetoclax resistance. *Leuk Lymphoma*. 2 sept 2017;58(9):2026-39.
283. Kapoor I, Bodo J, Hill BT, Hsi ED, Almasan A. Targeting BCL-2 in B-cell malignancies and overcoming therapeutic resistance. *Cell Death Dis*. 2 nov 2020;11(11):941.
284. Adams JM, Cory S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene*. févr 2007;26(9):1324-37.
285. Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Croce CM. Involvement of the *bcl -2* Gene in Human Follicular Lymphoma. *Science*. 21 juin 1985;228(4706):1440-3.
286. Tessoulin B, Papin A, Gomez-Bougie P, Bellanger C, Amiot M, Pellat-Deceunynck C, et al. BCL2-Family Dysregulation in B-Cell Malignancies: From Gene Expression Regulation to a Targeted Therapy Biomarker. *Front Oncol*. 2019;8.
287. Punnoose EA, Levenson JD, Peale F, Boghaert ER, Belmont LD, Tan N, et al. Expression Profile of BCL-2, BCL-XL, and MCL-1 Predicts Pharmacological Response to the BCL-

- 2 Selective Antagonist Venetoclax in Multiple Myeloma Models. *Mol Cancer Ther.* mai 2016;15(5):1132-44.
288. Tariq S, Tariq S, Khan M, Azhar A, Baig M. Venetoclax in the Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia: Evidence, Expectations, and Future Prospects. *Cureus.* 29 juin 2020;12(6):e8908.
289. Kumar S, Kaufman JL, Gasparetto C, Mikhael J, Vij R, Pegourie B, et al. Efficacy of venetoclax as targeted therapy for relapsed/refractory t(11;14) multiple myeloma. *Blood.* 30 nov 2017;130(22):2401-9.
290. Wei AH, Tiong IS. Midostaurin, enasidenib, CPX-351, gemtuzumab ozogamicin, and venetoclax bring new hope to AML. *Blood.* 7 déc 2017;130(23):2469-74.
291. Tóthová E, Fricova M, Stecová N, Kafková A, Elbertová A. High expression of Bcl-2 protein in acute myeloid leukemia cells is associated with poor response to chemotherapy. *Neoplasma.* 1 janv 2002;49(3):141-4.
292. Konopleva M, Pollyea DA, Potluri J, Chyla B, Hogdal L, Busman T, et al. Efficacy and Biological Correlates of Response in a Phase II Study of Venetoclax Monotherapy in Patients with Acute Myelogenous Leukemia. *Cancer Discov.* 1 oct 2016;6(10):1106-17.
293. DiNardo CD, Pratz K, Pullarkat V, Jonas BA, Arellano M, Becker PS, et al. Venetoclax combined with decitabine or azacitidine in treatment-naïve, elderly patients with acute myeloid leukemia. *Blood.* 3 janv 2019;133(1):7-17.
294. Tsao T, Shi Y, Kornblau S, Lu H, Konoplev S, Antony A, et al. Concomitant inhibition of DNA methyltransferase and BCL-2 protein function synergistically induce mitochondrial apoptosis in acute myelogenous leukemia cells. *Ann Hematol.* déc 2012;91(12):1861-70.
295. Jin S, Cojocari D, Purkal JJ, Popovic R, Talaty NN, Xiao Y, et al. 5-Azacitidine Induces NOXA to Prime AML Cells for Venetoclax-Mediated Apoptosis. *Clin Cancer Res.* 1 juill 2020;26(13):3371-83.
296. Jin H, Zhang Y, Yu S, Du X, Xu N, Shao R, et al. Venetoclax Combined with Azacitidine and Homoharringtonine in Relapsed/Refractory AML: A Multicenter, Phase 2 Trial. *J Hematol Oncol* *J Hematol Oncol.* 29 avr 2023;16(1):42.
297. Schuler E, Wagner-Drouet EM, Ajib S, Bug G, Crysandt M, Dressler S, et al. Treatment of myeloid malignancies relapsing after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with venetoclax and hypomethylating agents—a retrospective multicenter analysis on behalf of the German Cooperative Transplant Study Group. *Ann Hematol.* avr 2021;100(4):959-68.
298. Gao F, Gao Y, Luo Y, Yu J, Fu H, Lai X, et al. Venetoclax plus hypomethylating agent for the salvage treatment of relapsing myeloid malignancies after hematopoietic stem cell transplantation: A multicenter retrospective study on behalf of the Zhejiang Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation. *Am J Hematol.* févr 2022;97(2).

299. Wei Y, Xiong X, Li X, Lu W, He X, Jin X, et al. Low-dose decitabine plus venetoclax is safe and effective as post-transplant maintenance therapy for high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Cancer Sci.* sept 2021;112(9):3636-44.
300. Ko TK, Chuah CTH, Huang JWJ, Ng KP, Ong ST. The BCL2 inhibitor ABT-199 significantly enhances imatinib-induced cell death in chronic myeloid leukemia progenitors. *Oncotarget.* 27 avr 2014;5(19):9033-8.
301. Naserian S, Leclerc M, Shamdani S, Uzan G. Current Preventions and Treatments of aGVHD: From Pharmacological Prophylaxis to Innovative Therapies. *Front Immunol.* 17 déc 2020;11:607030.
302. Schroeder T, Rautenberg C, Haas R, Germing U, Kobbe G. Hypomethylating agents for treatment and prevention of relapse after allogeneic blood stem cell transplantation. *Int J Hematol.* févr 2018;107(2):138-50.
303. Scott BL. Allogeneic stem cell transplantation for high-risk acute leukemia and maintenance therapy: no time to waste. *Blood Adv.* 14 juill 2020;4(13):3200-4.
304. Minetto P, Guolo F, Pesce S, Greppi M, Obino V, Ferretti E, et al. Harnessing NK Cells for Cancer Treatment. *Front Immunol.* 6 déc 2019;10:2836.
305. Davids MS, Kim HT, Bachireddy P, Costello C, Liguori R, Savell A, et al. Ipilimumab for Patients with Relapse after Allogeneic Transplantation. *N Engl J Med.* 14 juill 2016;375(2):143-53.
306. Gattinoni L, Powell DJ, Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive immunotherapy for cancer: building on success. *Nat Rev Immunol.* 1 mai 2006;6(5):383-93.
307. Kochenderfer JN, Dudley ME, Carpenter RO, Kassim SH, Rose JJ, Telford WG, et al. Donor-derived CD19-targeted T cells cause regression of malignancy persisting after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 12 déc 2013;122(25):4129-39.
308. Hu Y, Wang J, Wei G, Yu J, Luo Y, Shi J, et al. A retrospective comparison of allogeneic and autologous chimeric antigen receptor T cell therapy targeting CD19 in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant.* août 2019;54(8):1208-17.
309. Cui Q, Qian C, Xu N, Kang L, Dai H, Cui W, et al. CD38-directed CAR-T cell therapy: a novel immunotherapy strategy for relapsed acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Hematol Oncol J Hematol Oncol.* 25 mai 2021;14(1):82.
310. Konuma T, Kohara C, Watanabe E, Takahashi S, Ozawa G, Suzuki K, et al. Reconstitution of Circulating Mucosal-Associated Invariant T Cells after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Its Association with the Riboflavin Synthetic Pathway of Gut Microbiota in Cord Blood Transplant Recipients. *J Immunol.* 15 mars 2020;204(6):1462-73.
311. Köhler N, Zeiser R. Intestinal Microbiota Influence Immune Tolerance Post Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation and Intestinal GVHD. *Front Immunol [Internet].* 2019

[cité 13 avr 2023];9. Disponible sur:
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.03179>

312. Wragg KM, Tan HX, Kristensen AB, Nguyen-Robertson CV, Kelleher AD, Parsons MS, et al. High CD26 and Low CD94 Expression Identifies an IL-23 Responsive V δ 2+ T Cell Subset with a MAIT Cell-like Transcriptional Profile. *Cell Rep.* juin 2020;31(11):107773.
313. Bajaj JS, Liu EJ, Kheradman R, Fagan A, Heuman DM, White M, et al. Fungal dysbiosis in cirrhosis. *Gut.* juin 2018;67(6):1146-54.
314. Sokol H, Leducq V, Aschard H, Pham HP, Jegou S, Landman C, et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut.* juin 2017;66(6):1039-48.
315. Leonardi I, Li X, Semon A, Li D, Doron I, Putzel G, et al. CX3CR1+ mononuclear phagocytes control immunity to intestinal fungi. *Science.* 12 janv 2018;359(6372):232-6.
316. Moyes DL, Wilson D, Richardson JP, Mogavero S, Tang SX, Wernecke J, et al. Candidalysin is a fungal peptide toxin critical for mucosal infection. *Nature.* 7 avr 2016;532(7597):64-8.
317. Bacher P, Hohnstein T, Beerbaum E, Röcker M, Blango MG, Kaufmann S, et al. Human Anti-fungal Th17 Immunity and Pathology Rely on Cross-Reactivity against *Candida albicans*. *Cell.* mars 2019;176(6):1340-1355.e15.
318. Van Der Velden WJFM, Netea MG, De Haan AFJ, Huls GA, Donnelly JP, Blijlevens NMA. Role of the Mycobiome in Human Acute Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* févr 2013;19(2):329-32.
319. Malard F, Lavelle A, Battipaglia G, Gaugler B, Dulery R, Brissot E, et al. Impact of gut fungal and bacterial communities on the outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Mucosal Immunol.* 1 sept 2021;14(5):1127-32.
320. Zuo T, Wong SH, Cheung CP, Lam K, Lui R, Cheung K, et al. Gut fungal dysbiosis correlates with reduced efficacy of fecal microbiota transplantation in *Clostridium difficile* infection. *Nat Commun.* 10 sept 2018;9(1):3663.
321. Leonardi I, Paramsothy S, Doron I, Semon A, Kaakoush NO, Clemente JC, et al. Fungal Trans-kingdom Dynamics Linked to Responsiveness to Fecal Microbiota Transplantation (FMT) Therapy in Ulcerative Colitis. *Cell Host Microbe.* 13 mai 2020;27(5):823-829.e3.

ANNEXES

A. Rôle du microbiote fongique dans l'allo-CSH

En dehors des bactéries, d'autres types de microorganismes colonisent le tube digestif, notamment les champignons. Un déséquilibre de la flore digestive fongique a été mis en évidence dans plusieurs pathologies telles que la cirrhose (313) ou les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (314). Il a été récemment mis en évidence un lien entre le microbiote fongique digestif et le système immunitaire. En particulier, à l'état physiologique, les phagocytes mononucléés de la muqueuse digestive et les cellules dendritiques en particulier, phagocytent les champignons du tube digestif et vont activer les lymphocytes Th17 (315). De plus, certaines pathologies sont associées à un déséquilibre de la flore digestive bactérienne et fongique (20). Une expansion de certains champignons comme le *Candida albicans* peut alors directement interagir avec les cellules épithéliales intestinales. Des études *in vitro* ont montré que la forme filamenteuse de *Candida albicans* induit des lésions au niveau des cellules épithéliales intestinales via la production de la toxine candidalysin (316). De plus, *Candida albicans* peut induire l'expansion de lymphocytes Th17 spécifiques d'antigènes fongiques qui peuvent reconnaître de façon croisée d'autres champignons tels que l'*Aspergillus fumigatus*, et qui sont augmentés dans différentes pathologies inflammatoires ciblant la muqueuse digestive ou les poumons (317).

En outre, d'autres données soulignent l'importance des champignons sur le devenir des patients après allo-CSH. Une maladie fongique invasive est un facteur de risque indépendant pour la survie à long terme. Néanmoins, les changements potentiels du microbiote fongique de l'intestin dans le cadre d'une allogreffe sont rares. Chez l'homme, la colonisation par *Candida spp.* au moment de l'allogreffe a été associée à une incidence accrue de GvHD aiguë de grade II-IV (318). Malard *et al* ont montré une association entre l'abondance relative de *C albicans* dans les selles et une diminution de la survie globale, et de la survie sans maladie et sans rechute dans une cohorte de patients ayant eu une allogreffe (319).

L'augmentation de *C albicans* a également été associée à la non-réponse à la transplantation de microbiote fécal dans le traitement de l'infection récurrente à *Clostridioides difficile* (320) . Il est intéressant de noter que l'augmentation de l'abondance de *Candida* avant la FMT est associée à une meilleure réponse à la FMT dans le cas de la colite ulcéreuse(321) .

En outre, une augmentation de l'abondance relative de *Candida spp.* a été signalée à la suite d'un traitement antibiotique ce qui suggère un lien entre l'effet néfaste des antibiotiques à large spectre après une allogreffe, la dysbiose du microbiote intestinal et *C. albicans* (252,319). Cela

soulève la question de la manipulation du microbiote intestinal, telle que la FMT, qui devrait modifier non seulement le microbiote bactérien, mais aussi le microbiote fongique, afin de corriger les altérations et d'améliorer les résultats des patients après allo-CSH.

En revanche le lien physiopathologique entre cette dysbiose fongique et la clinique reste à établir. L'objectif de ce travail a consisté à développer une approche expérimentale nous permettant de comprendre le rôle des interactions des champignons avec les CPA dans l'allo réactivité.

Approche expérimentale et résultats :

Nous avons généré des cellules dendritiques dérivées de monocytes (Mo-DC) *in vitro* à partir de monocytes de donneurs sains et en les cultivant en présence de GM-CSF et IL-4 pendant 5 jours, puis nous les avons incubées avec des souches de champignons et analysé ensuite le phénotype et le profil de sécrétion de cytokines par les Mo-DC, notamment IL-12. Trois souches de champignons inactivées ont été utilisées, *Candida albicans* (*C.albicans*), *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*), et *Malassezia furfur* (*M.furfur*). Les souches ont été fournies par le Dr Lavie-Richard, équipe Immunité et microbiote intestinal à l'Institut National pour la Recherche Agronomique (INRA, Jouy en Josas, France) et mises à disposition après inactivation. En parallèle, nous avons utilisé des extraits commerciaux dérivés de *Malassezia* (furfurman) et les contrôle LPS, ligand de TLR-4 et R848, ligand de TLR7-8.

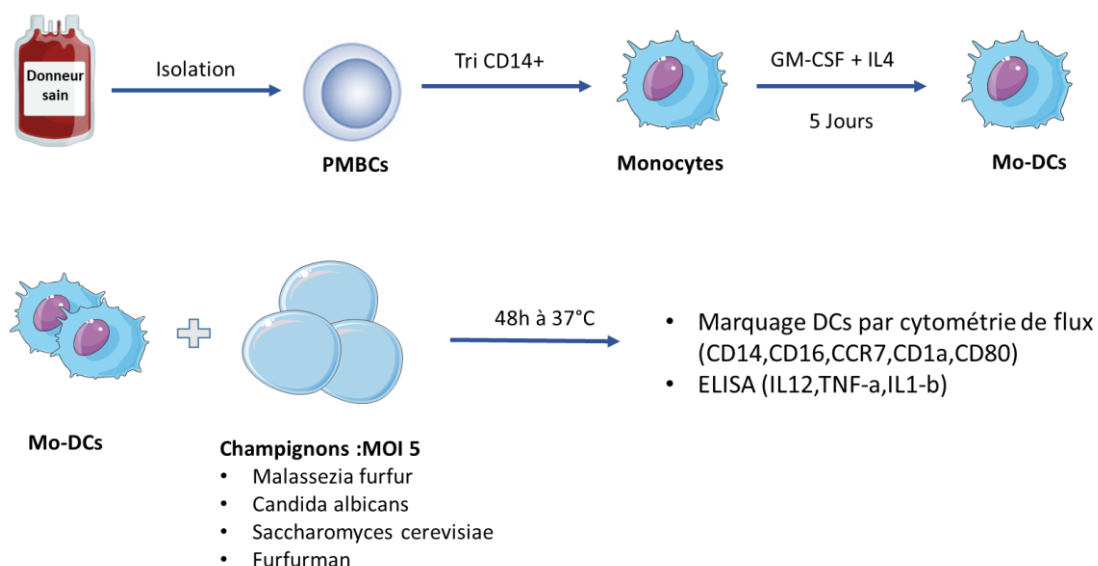


Figure 1 : schéma expérimental de coculture des Mo-DC avec des champignons

Les analyses de cytométrie de flux ont montré que *Candida* et *saccharomyces* permettent la maturation des Mo-DC en augmentant l'expression de CD86 (figure 2a-d). Par contre, nous

avons rencontré des problèmes avec l'analyse des effets de *Malassezia* sur les Mo-DC. En effet, *Malassezia* forme des agrégats très compacts qui affectent ensuite la viabilité des Mo-DC, nous empêchant de réaliser les études phénotypiques et fonctionnelles, et ceci même après sonication. Nous avons alors testé l'extrait commercial de *Malassezia* (furfurman) sur les Mo-DC. Nous n'avons pas observé de modification de l'expression de CD86, CD1a, CCR7, PD-L1 par les MO-DC (figure 2), ni de sécrétion d'IL-12 par les Mo-DC contrairement à ce qu'on observe avec l'incubation de *Candida* ou *Saccharomyces cerevisiae* (Figure 2B).

Au vu de ces résultats décevants et des difficultés techniques inhérentes à l'utilisation de champignons, nous avons décidé d'abandonner ce projet.

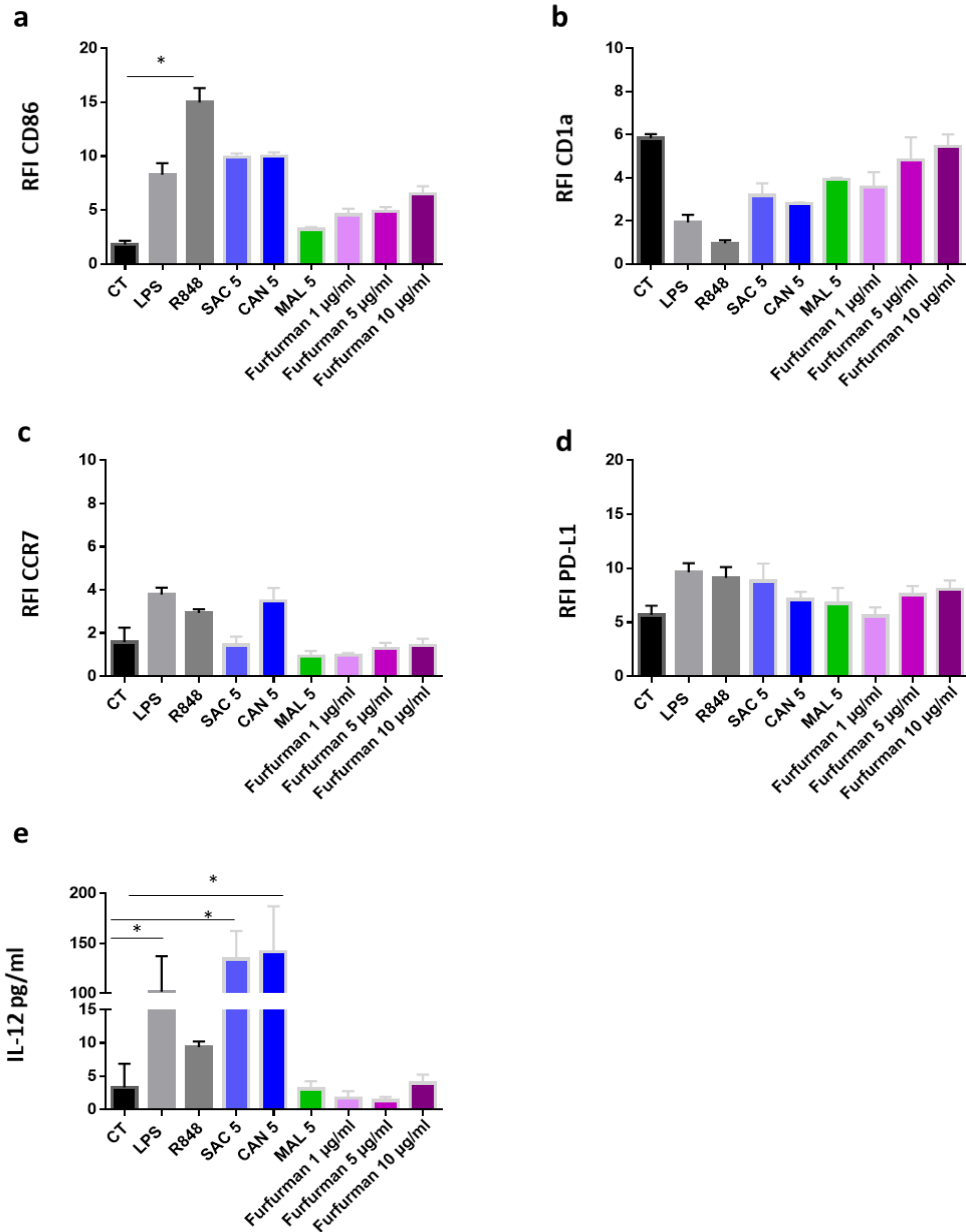


Figure 2: Effet des différentes souches de champignons et de furfurman sur les Mo-DCs.

A : représentation graphique des analyses de cytométrie en flux montrant l'expression de différentes protéines de surface CD80 (a), CCR7 (b), CD1a (c), PD-L1 (d), sur les Mo-DC cultivées pendant les dernières 24h sans antigène (CT), avec LPS, R848, avec les trois souches de champignons : *Saccharomyces Cerevisiae* (SAC) *Candida Albicans* (CAN) et *Malassezia Furfur* (MAL) aux concentrations spécifiées (MOI : 5) ou avec différentes concentrations de furfurman. Le graphique représente les RFI de l'expression de protéines de surface obtenues pour 3 expériences.

B : concentration d'IL-12 dans les surnageants de culture de MO-DCs avec les différentes souches de champignons et de furfurman à différentes concentrations pendant 24h (n=3)

B. Article ‘Weak immunogenicity of SARS-CoV-2 vaccine in patients with hematologic malignancies’

Florent Malard ^{1,2}, Béatrice Gaugler ^{1,2}, Joel Gozlan ³, Lucie Bouquet ^{2,4}, Djeneba Fofana ⁵, Lama Siblany ^{1,2}, Deborah Eshagh ^{2,3}, Olivier Adotevi ⁴, Caroline Laheurte ⁴, Laure Ricard ^{1,2}, Rémy Dulery ^{1,2}, Nicolas Stocker ^{1,2}, Zoe van de Wyngaert ^{1,2}, Alexis Genthon ^{1,2}, Anne Banet ^{1,2}, Mara Memoli ¹, Souhila Ikhlef ¹, Simona Sestilli ^{1,2}, Anne Vekhof, Eolia Brissot ^{1,2}, Zora Marjanovic ¹, Yannick Chantran ⁶, Nancy Cuervo ³, Eric Ballot ⁶, Laurence Morand-Joubert ^{3,5} & Mohamad Mohty ^{1,2}.

¹ APHP, Hôpital Saint Antoine, Service d’Hématologie Clinique et de Thérapie cellulaire, Paris, France

² Sorbonne Université, INSERM UMR938, Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA), F-75012, Paris, France

³ APHP, Hôpital Saint Antoine, Department of Virology, Paris, France

⁴ Department of Medical Oncology, University Hospital of Besançon, INSERM, EFS BFC, UMR1098 RIGHT, Université de Bourgogne Franche-Comté, Besançon, France

⁵ Sorbonne Université Institut Pierre Louis d’Epidémiologie et de Santé Publique, INSERM UMR S1136, Paris, France

⁶ APHP, Hôpital Saint Antoine, Service d’Immunologie, Paris, France

Published in Blood Cancer Journal

Blood Cancer J. 11, 142 (2021)

ARTICLE OPEN



Weak immunogenicity of SARS-CoV-2 vaccine in patients with hematologic malignancies

Florent Malard^{1,2,7}✉, Béatrice Gaugler^{1,2,7}, Joel Gozlan^{2,3,7}, Lucie Bouquet⁴, Djeneba Fofana^{3,5}, Lama Siblany^{1,2}, Deborah Eshagh², Olivier Adotevi⁴, Caroline Laheurte⁴, Laure Ricard^{1,2}, Rémy Dulery^{1,2}, Nicolas Stocker^{1,2}, Zoe van de Wyngaert^{1,2}, Alexis Genthon^{1,2}, Anne Banet^{1,2}, Mara Memoli¹, Souhila Ikhlef¹, Simona Sestilli^{1,2}, Anne Vekhof¹, Eolia Brissot^{1,2}, Zora Marjanovic¹, Yannick Chantran⁶, Nancy Cuervo³, Eric Ballot⁶, Laurence Morand-Joubert^{3,5} and Mohamad Mohty^{1,2}

© The Author(s) 2021

This study evaluated the safety and immunogenicity of BNT162b2 vaccine in patients with hematological malignancies. Antibodies blocking spike binding to immobilized ACE-2 (NAb) correlated with anti-Spike (S) IgG d42 titers (Spearman $r = 0.865$, $p < 0.0001$), and an anti-S IgG d42 level ≥ 3100 UA/mL was predictive of NAb $\geq 30\%$, the positivity cutoff for NAb ($p < 0.0001$). Only 47% of the patients achieved an anti-S IgG d42 level ≥ 3100 UA/mL after the two BNT162b2 inocula, compared to 87% of healthy controls. In multivariable analysis, male patients, use of B-cell targeting treatment within the last 12 months prior to vaccination, and CD19⁺ B-cell level < 120 /uL, were associated with a significantly decreased probability of achieving a protective anti-S IgG level after the second BNT162b2 inoculum. Finally, using the IFN- γ ELISPOT assay, we found a significant increase in T-cell response against the S protein, with 53% of patients having an anti-S IgG-positive ELISPOT after the second BNT162b2 inoculum. There was a correlation between the anti-S ELISPOT response and IgG d42 level (Spearman $r = 0.3026$, $p = 0.012$). These findings suggest that vaccination with two BNT162b2 inocula translates into a significant increase in humoral and cellular response in patients with hematological malignancies, but only around half of the patients can likely achieve effective immune protection against COVID-19.

Blood Cancer Journal (2021)11:142; <https://doi.org/10.1038/s41408-021-00534-z>

INTRODUCTION

The dismal prognosis after infection by the severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2), called Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in patients with hematologic malignancies is now well established. A meta-analysis, including 3377 adult patients with these diseases, reported a 34% risk of death in those suffering from COVID-19 [1]. Furthermore, B-cell depleting immunotherapy has been associated with prolonged in-hospital stay and higher mortality after COVID-19 [2]. Therefore, patients with hematologic malignancies have been prioritized for primary prevention of COVID-19 with vaccination.

Based on randomized phase III clinical trials, several COVID-19 vaccines became available in late 2020, early 2021, with the BNT162b2 (Pfizer/BioNTech), ChAdOx1 nCoV-19 (Oxford/AstraZeneca), and mRNA-1273 (Moderna) vaccines being available in Europe and in the United States of America [3–5]. Nevertheless, people with hematologic malignancies were not included in those vaccine clinical trials. Hematologic malignancies are often associated with immunosuppression, and the treatment used can further worsen immune defect, raising the question of vaccine immunogenicity in those patients. In particular, anti-CD20 monoclonal antibodies used in lymphoid malignancies and

other B-cell targeting treatment such as drugs used in multiple myeloma, including proteasome inhibitors, immunomodulatory drugs, anti-CD38 monoclonal antibodies, or steroids, may impair SARS-CoV-2 neutralizing antibody production after vaccination. Similarly, hematopoietic cell transplantation (HCT) is associated with a profound immune defect of both B and T cells [6], which raises the question of vaccine immunogenicity in those patients. In fact, it was recently reported in patients with chronic inflammatory disease that glucocorticoids and B-cell depleting agents substantially impair immunogenicity of mRNA vaccines to COVID-19 [7].

In patients with hematologic malignancies, preliminary studies reported a low seroconversion rate after the first BNT162b2 inoculum in patients, ranging from 18 to 25% [8, 9]. These findings compare poorly with the results of a phase 1 mRNA vaccine immunogenicity trial that reported robust antibody responses after two injections of 30 μ g of BNT162b2 in essentially 100% of healthy volunteers [10]. Therefore, it appears indispensable to evaluate the global vaccine immunogenicity in patients with hematologic malignancies, to determine the factors associated with the immune response and to decipher the mechanism underlying the lack of response in some patients, in order to adapt

¹APHP, Hôpital Saint Antoine, Service d'Hématologie Clinique et de Thérapie cellulaire, Paris, France. ²Sorbonne Université, INSERM UMR938, Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA), F-75012 Paris, France. ³APHP, Hôpital Saint Antoine, Department of Virology, Paris, France. ⁴Department of Medical Oncology, University Hospital of Besançon, INSERM, EFS BFC, UMR1098 RIGHT, Université de Bourgogne Franche-Comté, Besançon, France. ⁵Sorbonne Université Institut Pierre Louis d'Epidémiologie et de Santé Publique, INSERM UMR S1136, Paris, France. ⁶APHP, Hôpital Saint Antoine, Service d'Immunologie, Paris, France. ⁷These authors contributed equally: Florent Malard, Béatrice Gaugler, Joel Gozlan. ✉email: florent.malard@inserm.fr

Received: 11 June 2021 Revised: 29 July 2021 Accepted: 29 July 2021
Published online: 10 August 2021

the vaccination strategy. Other key questions are whether, in patients with hematologic malignancies, antibodies from vaccine responders are able to functionally neutralize SARS-CoV-2 and if the T-cell response against SARS-CoV-2 epitopes is maintained.

With this background, we evaluated the safety and immunogenicity of BNT162b2 vaccine in the first 239 patients with hematologic malignancies vaccinated in our department.

PATIENTS AND METHODS

Patients

From 18 January 2021, patients with a history of allogeneic (allo) HCT and/or an active hematologic malignancy became eligible for COVID-19 vaccination in France. They were initially scheduled to receive two intramuscular injections of 30 µg of BNT162b2, 3 weeks apart. Based on the French health authority guidelines, the two injections were finally administered 4 weeks apart in most patients. Retrospective chart review was performed according to institutional guidelines. Written informed consent was obtained in accordance with the principles of the declaration of Helsinki.

Safety assessment

Side effects after the first and second BNT162b2 injections were reviewed from patients' charts and graded according to the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE v5.0). Patients with symptoms suggesting a possible COVID-19 infection underwent a nasopharyngeal swab testing for SARS-CoV-2.

Serological assessment

As part of routine monitoring practice, two serological assays were realized, one before the first and second vaccinations, on day 28, and another one 14 days after the second vaccination (day 42). Immunogenicity was assessed by automated chemiluminescence assay (CMIA), using both the SARS-CoV-2 reagents (Abbott, Rungis, France) for qualitative detection of anti-N IgG (aimed at the SARS-CoV-2 nucleocapsid) and the SARS-CoV-2 IgG II Quant (Abbott, Rungis, France) for the quantitative detection of anti-S IgG (aimed at the SARS-CoV-2 spike protein). All dosages were performed on the Alinity platform (Abbott, Rungis, France), according to the manufacturer's recommendations.

We also analyzed routine serological assessments of prioritized health workers who were vaccinated in the same hospital, as a control cohort for patients with hematologic malignancies (although they were mostly older in age) but to facilitate comparison of vaccine immunogenicity.

Neutralization experiments

A SARS-CoV-2 surrogate neutralization assay, based on antibody-mediated blockade of ACE-2-Spike protein interaction was used, according to the manufacturer's recommendations (ichromax Covid-19 nAB, Boditech, South Korea). Briefly, the SARS-CoV-2 neutralizing antibodies (nAbs) present in sera samples were preincubated with a fluorescence-labeled SARS-CoV-2 Spike RBD antigen, in a detection buffer containing ACE-2-biotin conjugate. The mixture was then loaded in a lateral flow nitrocellulose matrix where covalent complexes RBD-ACE-2-biotin are immobilized on the streptavidine capture "Test line". The more nAbs is present, the more it interferes with the binding of labeled RBD to ACE-2-biotin, which results in less fluorescence signal. A fluorescence inhibition above 30% is considered as positive. This semi-quantitative assay both correlates with a neutralizing SARS-CoV-2 Ab ELISA assay (Boditech Package insert) and whole-virus neutralization assay in cell culture (Marot et al.; manuscript in preparation).

T-cell response assessment

IFN-γ production was measured on peripheral blood mononuclear cells (PBMC) obtained from excess blood available from routine laboratory tests performed in these patients as part of their standard care, before vaccination and after the second dose, using IFN-γ ELISpot kits (Diaclone, France) according to the manufacturers' instructions. After thawing, 3×10^5 PBMC were added to the wells in X-VIVO 15 medium (Lonza, Basel, Switzerland), and stimulated with peptide pools spanning the SARS-CoV-2 spike protein (pool 1 and pool 2) and the receptor binding domain (RBD), membrane protein (VME1), or CEF (CMV, EBV, Influenza virus, MHC class I epitopes) + CEFT (CMV, EBV, Influenza virus, Tetanus toxoid, MHC class II epitopes) as positive controls (PepMix from JPT peptides, final concentration 1 µg/mL).

Medium containing DMSO was used as the negative control. Assays were performed in duplicate and incubated for 18–20 h at 37 °C with 5% CO₂. ELISpot plates were counted using the C.T.L. Immunospot system (Cellular Technology Limited, Cleveland, Ohio, United States of America) and assessed with Immunospot 5.0 analyser software. Values were expressed as spot forming cells/10⁶ PBMC and calculated after subtraction of values from negative-control wells. T-cell responses were considered as positive when the spot number was ≥10 and ratio 2.5-fold above background.

Statistical analysis

The Mann–Whitney nonparametric test was used to compare anti-S IgG level or T-cell responses [receptor binding domain (RBD), entire S protein, VME1 and CEF/CEFT] according to clinical [age, body mass index (BMI), patients' gender, diagnosis and treatment status] or biological (CD19⁺ B cells and CD3⁺ T cells) parameters. The nonparametric Wilcoxon paired test was used to compare anti-S IgG or T-cell response levels at day 0 versus day 42. Correlations between anti-S IgG and CD19⁺ B-cell and T-cell responses were computed using nonparametric Spearman correlation. Generalized Maximally Selected Statistics was used to determine the best cutoff point for day 42 anti-S IgG levels that could predict achievement of seroneutralization. Multivariate regression analyses were performed to identify clinical and/or biological parameters associated with humoral and cellular response to BNT162b2. Statistical analyses were performed with GraphPad Software (GraphPad Prism 9, San Diego, CA) and EZR version 1.27 (Saitama Medical Center, Jichi Medical University), a graphical user interface for R (The R Foundation for Statistical Computing; version 3.1.1).

RESULTS

Population characteristics

In total, 239 patients with a hematologic malignancy received their first vaccination between January 18 and March 25, 2021 (Fig. 1), of which, 237 received a second dose 28 days later. One patient was not able to receive the second injection due to contracting COVID-19 in the meantime, and one patient due to disease progression and death from the underlying hematologic malignancy. Thirty-three patients had no serological assessment after the second BNT162b2 inoculum and were not analyzed. Finally, since a history of COVID-19 has been associated with an enhanced response to the COVID-19 vaccine [11], five patients with a medical history of COVID-19 before vaccination and four with no history but positive for anti-N IgG antibodies at baseline were analyzed separately. Overall, we were able to evaluate the immune-efficacy of two injections of BNT162b2 in 195 patients (Table 1). Their median age was 68.9 (range, 21.5–91.7) years. The most common diagnoses were multiple myeloma ($n = 52$) and non-Hodgkin lymphoma ($n = 44$); 136 patients had a lymphoid and 59 a myeloid malignancy. Most patients had a history of chemotherapy ($n = 161$, 82.6%) including 67 with ongoing treatment. In addition, 82 patients had a history of HCT or CAR T-cell treatment. Finally, the majority of patients ($n = 130$, 66.7%) had a history of B-cell depletion treatment, including 57 (29.2%) who received such treatment at the time of vaccination or within the past 12 months.

BNT162b2 safety and tolerability

After the first injection, 57.1% ($n = 88$) of patients developed adverse events, all of them being grade 1–2 (Supplementary Fig. 1, $n = 154$). The most common were injection site pain (42.9%), fatigue (20.1%), and myalgia (10.4%). After the second injection of BNT162b2, 34.4% of patients showed adverse events (grade 1–2, 26%; grade 3, 8.4%; grade 4, 0%), of the same most common types: injection site pain (grade 1–2, 23.4%; grade 3, 1.9%), fatigue (grade 1–2, 13%; grade 3, 5.8%), and myalgia (grade 1–2, 13%; grade 3, 3.9%).

Serological immune response

In the 195 patients analyzed, we observed a significant increase of anti-S IgG antibodies between day 28 and day 42 ($p < 0.0001$,

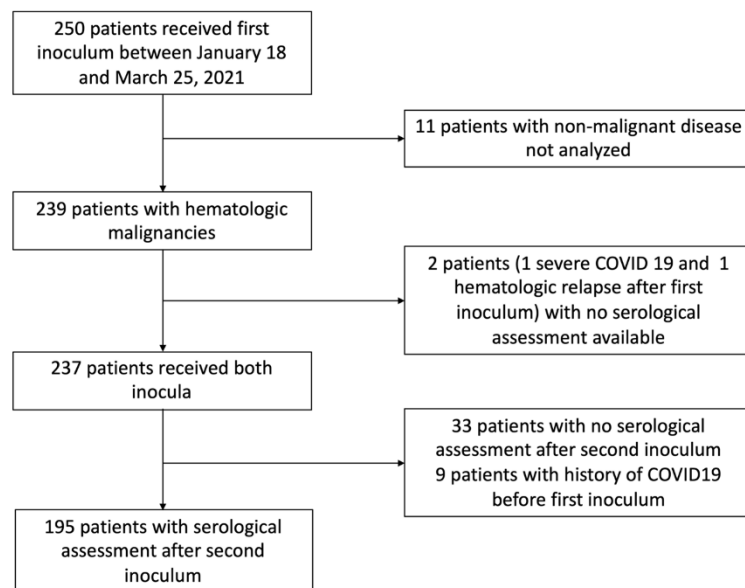


Fig. 1 Patients' population. Patients with hematological malignancies assessed for response after vaccination with the BNT162b2 vaccine.

Fig. 2A). Nevertheless, compared to healthy controls ($n = 30$), anti-S IgG at day 42 were significantly lower in patients with hematologic malignancies ($p = 0.0002$, Fig. 2A). We, then, sought to assess factors associated with antibody titer. Body mass index and underlying disease had no impact on anti-S IgG at day 42 (Fig. 2B-D). In contrast, male and/or older patients, those with ongoing chemotherapy and those receiving anti-B-cell treatment within the previous 12 months had significantly lower anti-S IgG at day 42 (Fig. 2E-H).

Factors predicting serological immune response and neutralization

Since B cells are the drivers of serological response, we evaluated the relationship between CD19⁺ B cells and anti-S IgG at day 28 and day 42. We found strong correlations between the two parameters both on day 28 (Spearman $r = 0.613$, $p < 0.0001$; Fig. 3A) and day 42 (Spearman $r = 0.677$, $p < 0.0001$; Fig. 3B), indicating that B cells are likely the main driver of immune response after BNT162b2 inoculation. Finally, patients with B cells $< 120 /\mu\text{L}$ had a significantly lower anti-S IgG level at day 42 ($p < 0.0001$; Fig. 3C). Importantly, there was no correlation between anti-S IgG levels at day 42 and total gamma globulin levels, total lymphocyte, CD3⁺ T cell, CD4⁺ T cell, or CD8⁺ T cell counts (data not shown).

The threshold for anti-S IgG positivity in being protective against COVID19 has not yet been defined. However, recent evidences have linked the clinical efficacy of immune response to the neutralizing antibody levels in serum of infected or vaccinated patients [12]. Therefore, we evaluated neutralizing antibodies (NAb) in 97 patients using excess serum available from other routine laboratory tests performed in these patients as part of their standard care. We found that NAb correlated with anti-S IgG day-42 titers (Spearman $r = 0.865$, $p < 0.0001$; Fig. 3D). Furthermore, we found that an anti-S IgG day-42 level ≥ 3100 UA/mL was predictive of a NAb $\geq 30\%$, the positivity cutoff for NAb ($p < 0.0001$, Supplementary table 1). Therefore, we defined an anti-S IgG day-42 level ≥ 3100 UA/mL as the threshold for a neutralizing and protective response. In our cohort, only 3/195 patients (1.5%) achieved this level at day 42 after the first BNT162b2 inoculum

and 91/196 (46.7%) after second inoculum, compared to 26/30 (87%) of healthy controls.

We then performed a logistic regression to identify in a multivariate analysis, parameters associated with achievement of protective anti-S IgG day-42 level (≥ 3100 UA/mL). We found that patients' age (≥ 71 years versus < 71 years), BMI (> 25 versus ≤ 25 kg/m²), and CD19⁺ B-cell level ($< 120/\mu\text{L}$ versus $\geq 120/\mu\text{L}$) had no impact on achievement of a protective anti-S IgG level after two BNT162b2 inoculum. In contrast, male gender and ongoing chemotherapy were associated with a significantly decreased probability of achieving the defined protective anti-S IgG level after two BNT162b2 inoculum [odds ratio (OR) 0.126, 95% confidence interval (95CI) 0.022–0.709, $p = 0.02$; OR 0.146, 95% CI 0.025–0.866, $p = 0.03$ respectively].

T-cell response

Finally, we assessed T-cell response in 68 patients with available PBMC at baseline (before first vaccine) and/or after second vaccine dose (day 42), using the ELISPOT assay. We found a significant increase in T-cell response directed against the S protein (either the RBD or the entire S protein) targeted by the vaccine, while there was no increase against the membrane protein (VME1) or a pool of viral peptides (CMV, EBV, and Flu) used as controls (CEF/CEFT) (Fig. 4A and Supplementary Fig. 2). Therefore, 53% of patients ($n = 36$) had a cellular response against the S protein after the second BNT162b2 inoculum.

Next, we sought to assess factors associated with T-cell response. Underlying disease, patient's age, BMI, treatment status, use of anti-B-cell treatment within the previous 12 months and CD3⁺ T cells had no impact on T-cell response (data not shown), while male gender was associated with a decreased T-cell response ($p = 0.098$ for the entire S protein and $p = 0.011$ for the RBD, Fig. 4B). Furthermore, there was no correlation between T-cell response against the S protein and the number of the CD3⁺, CD4⁺, or CD8⁺ T cells (data not shown). However, we observed a correlation with the anti-S IgG day-42 level (Spearman $r = 0.3026$, $p = 0.012$ for the entire S protein and Spearman $r = 0.2648$, $p = 0.029$ for the RBD; Fig. 4C). Interestingly, among the 36 patients with a T-cell response directed against the S protein, 17 did not achieve a protective anti-S

Table 1. Patients' characteristics.

Category	Patients' cohort N = 195
Median age, years (range)	68.9 (21.5–91.7)
Male	117 (60.0%)
Female	78 (40.0%)
BMI	24.8 (17.8–61.8)
Lymphoid malignancies	136 (69.7%)
Acute lymphoblastic leukemia	3 (1.5%)
Non-Hodgkin lymphoma	44 (22.6%)
Hodgkin lymphoma	5 (2.6%)
Chronic lymphocytic leukemia	26 (13.3%)
Multiple myeloma	52 (26.7%)
MGUS	6 (3.0%)
Myeloid malignancies	59 (30.3%)
Acute myeloid leukemia	31 (15.9%)
Myelodysplastic syndrome	10 (5.1%)
Myeloproliferative neoplasm	18 (9.2%)
Current status	
Untreated	34 (17.4%)
Stable disease	9 (4.6%)
Progressive disease	8 (4.1%)
Partial response	18 (9.2%)
Complete response	127 (65.1%)
History of chemotherapy	161 (82.6%)
Previous chemotherapy	94 (48.2%)
Ongoing chemotherapy	67 (34.4%)
History of HCT/cell therapy	82 ^a (42.1%)
Autologous HCT	41 (21.0%)
Allogeneic HCT	41 (21.0%)
CAR T-cells	1 (0.5%)
B-cell-targeted therapy ^b	
Yes	130 (66.7%)
Within the last 12 months	57 (29.2%)
>12 months	73 (37.4%)
Anti-CD20 monoclonal antibody	54 (27.7%)
Venetoclax	4 (2.1%)
Ibrutinib	3 (1.4%)
Cladribine	2 (2.0%)
Campath	1 (0.5%)
Anti-CD19 CAR T-cells	1 (0.5%)
Allo-HCT conditioning regimen	21 (10.8%)
IMiD/proteasome inhibitor/anti-CD38 monoclonal antibody	44 (22.6%)

BMI is for body mass index, MGUS monoclonal gammopathy of undetermined significance, HCT hematopoietic cell transplantation, IMiD immunomodulatory imide drugs.

^aOne patient received autologous and allogeneic HCT.

^bOnly the latest B-cell targeted therapy is considered.

IgG level (≥ 3100 UA/mL) after the second BNT162b2 inoculum, including 15 with impaired B-cell status (B-cell lymphopenia, $n = 12$ or active CLL $n = 3$), suggesting that immunity to vaccine was not completely abrogated in these patients. Overall, in patients with evaluable T-cell data, 66% achieved humoral and/or cellular response after 2 BNT162b2 inocula.

Finally, a logistic regression was performed to identify parameters associated with achievement of a T-cell response against the S protein in a multivariate analysis. We found that treatment status was the only feature associated with the absence of T-cell response (current treatment versus no current treatment, OR 0.175, 95% CI 0.046–0.674, $p = 0.011$; Table 2).

Response in patients with a history of COVID-19

The humoral response was also evaluated among the nine patients with a history of COVID-19 who received two BNT162b2 inocula. Six (67%) achieved a seroprotective level of anti-S IgG at day 42 (≥ 3100 UA/mL). Among the nonresponders, one patient received anti-B-cell treatment (rituximab) within the previous 12 months, while the other two patients had not been treated during the same period (one untreated monoclonal gammopathy of undetermined significance and one follicular lymphoma in complete response).

DISCUSSION

This retrospective study evaluated safety/tolerability and immune response after 2 BNT162b2 inoculations in patients with hematologic malignancies.

The BNT162b2 vaccine was well tolerated. After the first inoculum, no patients developed grade III–IV side effects and injection site pain was the predominant complaint. Interestingly, after the second dose, while the overall incidence of side effects was lower, those of grade III were reported in 8.4% of the patients, mainly related to a flu-like syndrome (fatigue, myalgia), suggesting that enhanced immune response after the second inoculum directly contributed to the observed side effects. The overall incidence of adverse events in our cohort is comparable to that previously reported in healthy individuals in phase 1 and 2/3 clinical trials (27–50%) [3, 10] or in real life data (79%) [13]. However, while very few serious side events were reported in those studies (0–1.1%) [3, 10, 13], the incidence (8.4%) of grade 3 adverse events in our series may appear high. Nevertheless, in our patients, none of the grade 3 adverse events required hospitalization, and all recovered with self-administration of acetaminophen. Therefore, our study confirms that the BNT162b2 vaccine is safe in highly immunosuppressed patients with hematologic malignancies, and suggests that preemptive administration of acetaminophen may be recommended after the second inoculum to prevent a severe flu-like syndrome in those patients.

Regarding efficacy, previous studies reported a low seroconversion ranging from 18 to 25% after the first BNT162b2 inoculum in patients with hematologic malignancies [8, 9]. However, raw serological data are difficult to analyze since the precise threshold of anti-Spike Abs levels conferring a clinical protection and/or an effective neutralizing activity of the sera are still unknown. These correlations likely rely on the population tested as well as the serological assay used [14]. For this reason, we evaluated in our cohort the functional activity of the anti-spike antibodies quantified in routine practice by a surrogate neutralization assay based on blockade of ACE-2 Spike protein interaction. Interestingly, the best anti-spike IgG Abs cutoff level predicting an effective seroneutralization activity was quite high (3100 UA/ml). This level, which is higher than the 50 UA/ml positive cutoff given by the fabricant (Abbott) to define a positive test, was therefore used in our cohort to define serologic immunity against COVID-19 in our study. Based on this cutoff, the number of patients with seroconversion after the first BNT162b2 inoculum was only 1.5%, which is lower compared to previous reports. Nevertheless, we showed that the anti-S IgG level significantly increased after the second BNT162b2 inoculum, highlighting that a vaccine booster is effective in improving seroconversion in immunosuppressed

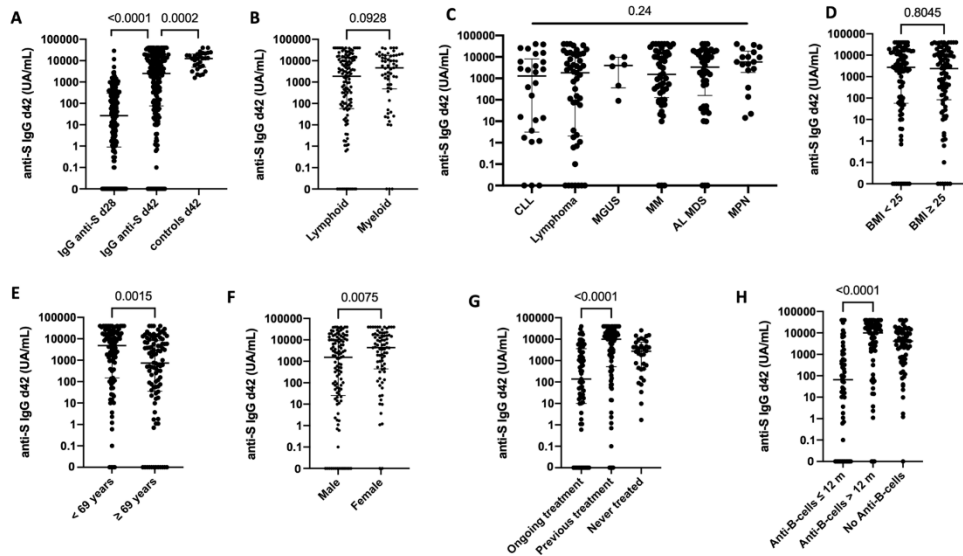


Fig. 2 Serological response to COVID-19 BNT162b2 vaccine. Anti-S IgG antibodies were evaluated before the second BNT162b2 vaccine dose at day 28 (d28) and 2 weeks later at day 42 (d42). **A** anti-S IgG antibody at d28 and d42 in patients ($n = 195$) and at d42 in healthy controls ($n = 30$). **B–H** anti-S IgG antibody at d42 according to disease (**B–C**), body mass index (**D**), patients age (**E**), gender (**F**), treatment status (**G**), and use of anti-B-cells treatment (**H**).

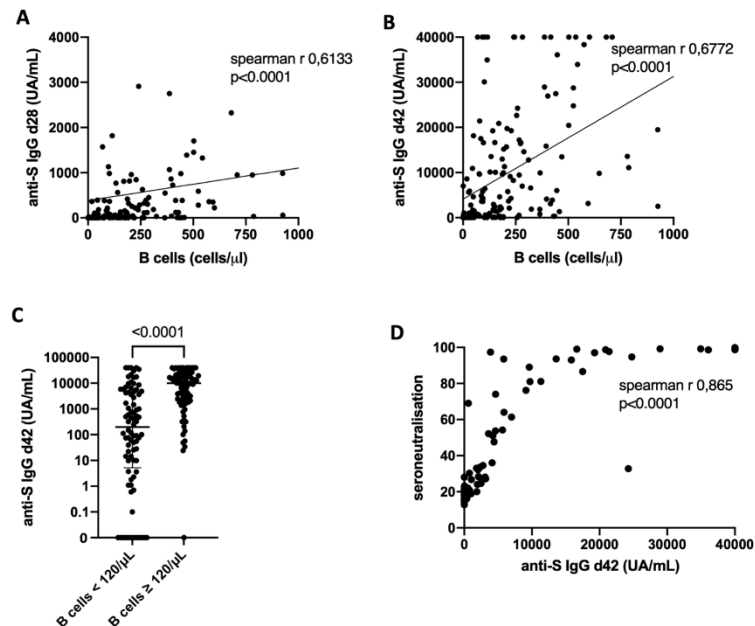


Fig. 3 Correlation between humoral response and B cells and seroneutralization. **A, B** Correlation between anti-S IgG at d28 (**A**) and d42 (**B**) and $CD19^+$ B cells ($n = 174$), patients with circulating pathologic B cells (chronic lymphocytic leukemia not in complete remission and some non-Hodgkin lymphoma patients) were excluded from this analysis. **C** anti-S IgG antibody at d42 according $CD19^+$ B-cells level. **D** Correlation between serum neutralization and anti-S IgG antibodies at d42 ($n = 97$).

patients. In fact, this translated into an increased number of patients with seroconversion after a second BNT162b2 inoculum, reaching 46.7% of patients. This is in accordance with preliminary data from others reporting that three out of five

patients (60%) who had received two BNT162b2 inocula were seropositive [8]. We then evaluated in multivariate analysis the factors predicting seropositivity in patients with hematologic malignancies, and found that, while underlying diagnosis and

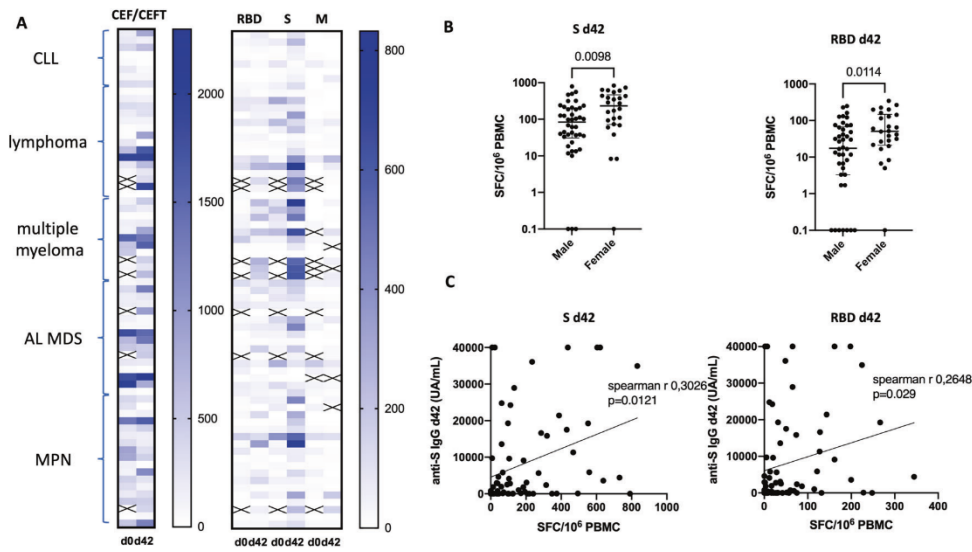


Fig. 4 T-cell response to COVID-19 BNT162b2 vaccine. **A** T-cell response was assessed by IFN- γ ELISPOT at baseline (before first BNT162b2 vaccination, d0) and 2 weeks after the second BNT162b2 vaccination (d42), $n = 68$. T-cell response against CMV, EBV, Influenza virus, and Tetanus toxoid (CEF/CEFT, left panel). T-cell response against SARS-CoV-2 spike protein (S), or its receptor binding domain (RBD), or against membrane protein (M) (right panel). Cross indicates missing data. CLL chronic lymphocytic leukemia, AL MDS acute leukemia and myelodysplastic syndrome, MPN myeloproliferative neoplasm. **B** T-cell response against S and RBD at d42 according to patients' gender. **C** Correlation between T-cell responses against S and RBD and anti-S IgG at d42.

Table 2. Multivariate analysis for humoral response and T-cell response.

Multivariate analysis for humoral response		
	Odds ratio (95% CI)	P value
Age (≥ 69 years versus < 69 years)	0.529 (0.244–1.15)	0.11
Patient gender (male versus female)	0.343 (0.153–0.767)	0.009
BMI (> 25 versus ≤ 25 kg/m ²)	1.730 (0.803–3.710)	0.16
Diagnosis (lymphoid versus myeloid malignancy)	0.765 (0.329–1.780)	0.53
Current treatment (yes versus no)	0.646 (0.238–1.750)	0.39
Anti-B-cell treatment in the previous 12 months (yes versus no)	0.231 (0.081–0.658)	0.006
CD19 ⁺ B cells ($\geq 120/\mu\text{L}$ versus $< 120/\mu\text{L}$)	0.260 (0.111–0.609)	0.002

Multivariate analysis for T-cell response		
	Odds ratio (95% CI)	P value
Age (≥ 69 years versus < 69 years)	0.965 (0.313–2.980)	0.95
Patient gender (male versus female)	0.476 (0.150–1.510)	0.21
BMI (> 25 versus ≤ 25 kg/m ²)	1.580 (0.542–4.640)	0.40
Diagnosis (lymphoid versus myeloid malignancy)	1.240 (0.339–4.510)	0.75
Current treatment (yes versus no)	0.175 (0.046–0.674)	0.011
Anti-B-cells treatment in the previous 12 months (yes versus no)	3.110 (0.713–13.500)	0.13
CD3 ⁺ T cells ($\geq 850/\mu\text{L}$ versus $< 850/\mu\text{L}$)	2.880 (0.889–9.320)	0.078

patients' age had no impact, male gender, use of anti-B-cell targeting treatment within the previous 12 months, and low CD19⁺ B-cell numbers (below the normal threshold) were associated with a failure to achieve seropositivity. Likewise, Herishanu et al. concluded that all CLL patients treated with an anti-CD20 monoclonal antibody in the previous 12 months failed to achieve seroconversion [15]. Similarly, in patients with chronic inflammatory disease, B-cell depleting agents were associated with a significantly reduced humoral response after two BNT162b2 inocula [7]. As to the reduced efficacy of BNT162b2 vaccine on males, no data are available in the setting of COVID-19. Nevertheless, it has been reported that adult females develop a much better immune response, with respect to antibody levels, and experienced more severe adverse events following immunization, due to enhanced immune activation, compared to their male counterparts [16].

Humoral immunity is clearly critical for protection against SARS-CoV-2, as evidenced by the correlations on dynamics of neutralizing antibody responses and clinical outcome [17, 18], clinical efficacy of neutralizing Abs levels [12], effectiveness of therapeutic plasma in B-cell depleted patients [19], and of monoclonal antibodies [20]. Nevertheless, cellular immunity also contributes to protection against SARS-CoV-2, and circulating SARS-CoV-2-specific CD8⁺ and CD4⁺ T cells were identified in ~70% and 100% of COVID-19 convalescent patients, respectively [21]. Therefore, in addition to humoral response, we also evaluated T-cell response to BNT162b2 using the ELISPOT assay. We found a significant increase in T-cell response to the S protein after two doses of the BNT162b2 vaccine, but not against the M protein. While the T-cell response correlates with the anti-S IgG level at day 42, some patients with B-cell lymphopenia and no humoral response achieved a T-cell response, indicating that immunity to vaccine was not completely abrogated in these patients and that T-cell response could be protective when humoral immunity is deficient. In fact, a recent study reported the crucial role of CD8⁺ T cells in

contributing to the survival of patients with COVID-19 and hematologic cancer, suggesting that CD8 T cells play a key role in limiting SARS-CoV-2, even in the absence of humoral immunity [22]. These data highlight the role of T-cell responses to vaccination by providing protection in patients with hematologic cancer even in the setting of limited humoral responses. Finally, ongoing treatment was the only parameter associated with impaired T-cell response. This suggests that, while it is still mandatory to vaccinate patients under chemotherapy, vaccine response should be assessed at the end of the treatment, and additional BNT162b2 vaccination should be discussed based on the response.

The strength of this study is the comprehensive evaluation of immune response after 2 BNT162b2 inocula including functional seroneutralization assay and assessment of T-cell response. We were therefore able to accurately evaluate the patients' protective seroconversion against COVID-19 and identify factors predictive of failure. One could suggest that our study lacks an age-matched control group. nevertheless, the aim was to evaluate BNT162b2 vaccine outcomes among patients with hematologic malignancies and to identify factors for poor immune response in this specific population.

Overall, our findings suggest that a second BNT162b2 inoculum translates into a significant increase in humoral response, allowing almost half of the patients to achieve immune protection against COVID-19. Nevertheless, the use of B-cell targeting treatment within the previous 12 months before vaccination, and a low CD19⁺ B-cell level predict failure to achieve immune protection. While some data may suggest delaying COVID-19 vaccination beyond 12 months after use of a B-cell depleting agent and B-cell recovery, health authorities now recommend the administration of a third COVID-19 inoculum in immunosuppressed patients. Given the increase in seroconversion rate between the first and second vaccine injections, evaluation of the effectiveness of such a third inoculum will be imperative.

REFERENCES

- Vijenthira A, Gong IY, Fox TA, Booth S, Cook G, Fattizzo B, et al. Outcomes of patients with hematologic malignancies and COVID-19: a systematic review and meta-analysis of 3377 patients. *Blood*. 2020;136:2881–92.
- Duléry R, Lamure S, Delord M, Di Blasi R, Chauchet A, Hueso T, et al. Prolonged in-hospital stay and higher mortality after Covid-19 among patients with non-Hodgkin lymphoma treated with B-cell depleting immunotherapy. *Am J Hematol*. 2021;96:934–44.
- Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *N Engl J Med*. 2020;383:2603–15.
- Ramasamy MN, Minassian AM, Ewer KJ, Flaxman AL, Folegatti PM, Owens DR, et al. Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet (London, England)*. 2021;396:1979–93.
- Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, et al. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine. *N Engl J Med*. 2021;384:403–16.
- Ogonek J, Kralj Juric M, Ghimire S, Varanasi PR, Holler E, Greinix H, et al. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Front Immunol*. 2016;7:507.
- Deepak P, Kim W, Paley MA, Yang M, Carvidi AB, El-Qunni AA, et al. Glucocorticoids and B cell depleting agents substantially impair immunogenicity of mRNA vaccines to SARS-CoV-2. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.04.05.21254656v2>. 2021.
- Monin L, Laing AG, Muñoz-Ruiz M, McKenzie DR, Del Molino Del Barrio I, Alaguthurai T, et al. Safety and immunogenicity of one versus two doses of the COVID-19 vaccine BNT162b2 for patients with cancer: interim analysis of a prospective observational study. *Lancet Oncol*. 2021;22:765–78.
- Terpos E, Trougakos IP, Gavriatopoulou M, Papassotiiriou I, Sklirou AD, Ntanasis-Stathopoulos I, et al. Low neutralizing antibody responses against SARS-CoV-2 in elderly myeloma patients after the first BNT162b2 vaccine dose. *Blood*. 2021;137:3674–6.
- Walsh EE, Frenck RW Jr, Falsey AR, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, et al. Safety and immunogenicity of two RNA-based Covid-19 vaccine candidates. *N Engl J Med*. 2020;383:2439–50.
- Ebinger JE, Fert-Bober J, Printsev I, Wu M, Sun N, Probst JC, et al. Antibody responses to the BNT162b2 mRNA vaccine in individuals previously infected with SARS-CoV-2. *Nat Med*. 2021;27:981–4.
- Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, Schlub TE, Wheatley AK, Juno JA, et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nat Med*. 2021;27:1205–11.
- Monin-Aldama L, et al. Interim results of the safety and immune-efficacy of 1 versus 2 doses of COVID-19 vaccine BNT162b2 for cancer patients in the context of the UK vaccine priority guidelines. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.03.17.21253131v1>. 2021.
- Patel EU, Bloch EM, Clarke W, Hsieh YH, Boon D, Eby Y, et al. Comparative performance of five commercially available serologic assays to detect antibodies to SARS-CoV-2 and identify individuals with high neutralizing titers. *J Clin Microbiol*. 2021;59:e02257–02220.
- Herishanu Y, Avivi I, Aharon A, Shefer G, Levi S, Bronstein Y, et al. Efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2021;137:3165–73.
- Klein SL, Jedlicka A, Pekosz A. The Xs and Y of immune responses to viral vaccines. *Lancet Infect Dis*. 2010;10:338–49.
- Lucas C, Klein J, Sundaram ME, Liu F, Wong P, Silva J, et al. Delayed production of neutralizing antibodies correlates with fatal COVID-19. *Nat Med*. 2021;27:1309.
- Dispinseri S, Secchi M, Pirillo MF, Tolazzi M, Borghi M, Brigatti C, et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in symptomatic COVID-19 is persistent and critical for survival. *Nat Commun*. 2021;12:2670.
- Hueso T, Poudroux C, Péré H, Beaumont AL, Raillon LA, Ader F, et al. Convalescent plasma therapy for B-cell-depleted patients with protracted COVID-19. *Blood*. 2020;136:2290–5.
- Gottlieb RL, Nirula A, Chen P, Boscia J, Heller B, Morris J, et al. Effect of bamlanivimab as monotherapy or in combination with etesevimab on viral load in patients with mild to moderate COVID-19: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2021;325:632–44.
- Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. *Cell*. 2020;181:1489–501. e1415
- Bange EM, Han NA, Wileyto P, Kim JY, Gouma S, Robinson J, et al. CD8(+) T cells contribute to survival in patients with COVID-19 and hematologic cancer. *Nat Med*. 2021;27:1280–9.

ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge the Association for Training, Education and Research in Hematology, Immunology and Transplantation for the generous and continuous support of the research work. We thank our nursing staff for their excellent care of our patients, especially Mrs Elisabeth Lambert-Genest and Mrs Sophie Tessier. We would like to thank Mrs Karen Fadel and Mr Frederic De Vassoigne for their technical support. We would like to thank Prof. Junia Melo for (university of Adelaide, Australia) for critical reading of the manuscript.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

FM, BG, and JG share first authorship. FM designed the study, collected, assembled and analyzed data, performed statistical analyses, and wrote and revised the manuscript. BG designed the study, performed experiments, collected, assembled and analyzed data, and helped with writing the manuscript. JG contributed to study design, performed experiments, collected, assembled and analyzed data, and commented on the manuscript. LS, DE, DF, LB, OA, CL, YC, and EB performed experiments and commented on the manuscript. LR, RD, NS, ZVW, AG, AB, Mara Memoli, SL, AV, EB, ZM, and NC helped collect data and commented on the manuscript. LMJ helped with analyzing data and commented on the manuscript. Mohamad Mohty designed the study, analyzed data, and helped with writing the manuscript. FM, BG, and Mohamad Mohty have verified the underlying data.

COMPETING INTERESTS

FM reports lecture honoraria from Therakos/Mallinckrodt, Janssen, Biocodex, Sanofi, JAZZ pharmaceuticals and Astellas, all outside the submitted work. Mohamad Mohty reports grants and lecture honoraria from Janssen, Sanofi, and JAZZ pharmaceuticals, lecture honoraria from Celgene, Amgen, BMS, Takeda, and Pfizer, and grants from Roche, all outside the submitted work. The other authors declare no competing interests.

ADDITIONAL INFORMATION

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41408-021-00534-z>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to F.M.

Reprints and permission information is available at <http://www.nature.com/reprints>

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2021

Résumé :

L'allogreffe de cellules hématopoïétiques (allo-CH) est un traitement curatif de nombreuses hémopathies malignes et non malignes. La prévention de la rechute hématologique, des infections post-transplantation et de la maladie du greffon contre l'hôte (GvHD) est un défi majeur après allo-CH. Par conséquent, le développement de stratégies thérapeutiques sûres et efficaces pour prévenir ou traiter les rechutes est essentielle. Le venetoclax, un inhibiteur de Bcl-2, associé à un agent hypométylant a montré son efficacité dans la leucémie aigüe myéloïde (LAM) en rechute ou réfractaire. Dans notre première étude, nous avons mis en évidence l'absence d'effet délétère du venetoclax sur la prolifération des LT *in vitro*, cela permet l'utilisation du venetoclax pour prévenir ou traiter la rechute de la LAM après allo-CH, sans avoir un impact négatif sur l'effet du greffon contre la leucémie médiée par les LT. D'autre part, la reconstitution de lymphocytes T (LT) non conventionnels semble avoir un rôle immunomodulateur important après allo-CH. Dans une seconde étude, nous avons donc évalué l'influence de la reconstitution des LT non conventionnels, notamment les LT invariants associés aux muqueuses (MAIT) et les LT TCR $\gamma\delta$, notamment $V\delta 2^+$, dans le résultat de l'allo-CH dans une série de 76 patients. Nous avons montré que la reconstitution des MAIT au cours du premier mois après allo-CH ainsi que leur profil d'activation et de cytotoxicité a un impact favorable sur l'incidence de la GvHD aigüe. Nous avons aussi montré que la sous-population de LT TCR $\gamma\delta 2^+$ exprimant fortement CD26 a un effet favorable sur les événements cliniques chez ces patients. Ces travaux vont permettre de proposer de nouvelles approches thérapeutiques afin d'améliorer l'efficacité du traitement par allo-CH.

Mots clés : Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, Réaction de greffon contre la leucémie, médicaments immunomodulateurs, Venetoclax, Lymphocyte T Gamma-Delta, Lymphocyte T invariants associées aux muqueuses.

Abstract:

Allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT) is a curative treatment for many hematologic malignant and non-malignant diseases. Prevention of hematologic relapse, post-transplant infections and graft-*versus*-host disease (GvHD) is a major challenge after allo-HCT. Therefore, the development of safe and effective therapeutic strategies to prevent or treat relapse is essential. Venetoclax, a Bcl-2 inhibitor, combined with a hypomethylating agent has shown efficacy in relapsed or refractory acute myeloid leukemia (AML). In a first study, we demonstrated the absence of deleterious effect of venetoclax on T cell proliferation *in vitro*, allowing the use of venetoclax to prevent or treat relapsed AML after allo-HCT without having a negative effect on the graft *versus* leukemia effect mediated by T cells. Moreover, the reconstitution of unconventional T cells appears to have an important immunomodulatory function after allo-HCT. Therefore, in a second study, we evaluated the influence of the reconstitution of unconventional T cells, especially mucosal-associated invariant T cells (MAIT), as well as TCR $\gamma\delta$ T cells, on the outcome after allo-HCT, in 76 patients treated by allo-HCT. We showed that MAIT cells reconstitution during the first month after allo-HCT as well as their activation and cytotoxic profile could have a favorable impact on the incidence of acute GvHD. Furthermore, we reported that the subset $CD26^+TCRV\delta 2^+$ T cells could have a beneficial impact on outcome of patients after allo-HCT. Our results provide perspectives for the development of new therapeutic approaches in order to improve the efficacy of allo-HCT.

Keywords: Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation, Graft-*Versus*-Leukemia Reaction, Immunomodulatory Drugs, Venetoclax, Gamma-Delta T-cell, Mucosal-Associated Invariant T cells.