



HAL
open science

Microbiote intestinal et allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : impact de MadCAM-1

Karen Fadel

► **To cite this version:**

Karen Fadel. Microbiote intestinal et allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : impact de MadCAM-1. Biologie moléculaire. Sorbonne Université, 2024. Français. NNT : 2024SORUS359 . tel-04906264

HAL Id: tel-04906264

<https://theses.hal.science/tel-04906264v1>

Submitted on 22 Jan 2025

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

École doctorale 394 : Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique

Centre de Recherche Saint-Antoine / Équipe MOHTY

Thèse de doctorat de Biologie

Présentée par **Karen FADEL**

En vue de l'obtention du grade de docteur en Biologie moléculaire et cellulaire

**Microbiote intestinal et allogreffe de cellules souches hématopoïétiques :
impact de MAdCAM-1**

Dirigée par Florent MALARD

Présentée et soutenue publiquement le 8 octobre 2024

Devant un jury composé de :

NGUYEN Stéphanie, PU-PH, Présidente du Jury

FORCADE Edouard, PU-PH, Rapporteur

BATTIPAGLIA Giorgia, PU, Rapporteur

PAGLIUCA Simona, PU-PH, Examinatrice

LARSEN Martin, DR, Examineur

MALARD Florent, PU-PH, Directeur de thèse

Table des matières

REMERCIEMENTS-----	1
TABLE DES ILLUSTRATIONS-----	3
TABLE DES TABLEAUX-----	4
LISTE DES ABREVIATIONS ET DES ACRONYMES-----	5
INTRODUCTION-----	7
-----	7
I-L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques-----	8
1. Définition-----	8
2. Historique-----	8
3. Les indications de l'allo-CSH-----	9
4. Le conditionnement-----	9
5. Effet anti-tumoral de l'allo-CSH-----	13
6. Complications de l'allo-CSH-----	14
7. La réaction du greffon contre l'hôte-----	15
7.1 GvHD aiguë-----	16
7.2 GVHD chronique-----	18
II-Microbiote et allo-CSH-----	21
1. Aperçu-----	21
2. Notion d'eubiose-dysbiose-----	23
3. Dysbiose et système immunitaire-----	24
4. Microbiote intestinal et allogreffe de cellules souches hématopoïétiques-----	25
5. Transfert de microbiote fécal (TMF) : Un moyen efficace de traiter la dysbiose-----	30
6. Microbiote et hématopoïèse-----	31
III-MAdCAM-1 (Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1)-----	35
1. MAdCAM-1 et homing des leucocytes vers la lamina propria-----	35
2. Expression extra-intestinale de MAdCAM-1-----	40
3. MAdCAM-1 et hématopoïèse-----	40
4. sMAdCAM-1 (MAdCAM-1 soluble)-----	41
5. Régulation de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ et MAdCAM-1 et immunité intestinale-----	42
6. Rôle de l'axe MAdCAM-1/ $\alpha 4\beta 7$ dans la migration et l'immunorégulation des lymphocytes T dans l'intestin : Implications thérapeutiques et pronostiques-----	43
7. Inhibiteurs pharmacologiques de l'axe $\alpha 4\beta 7$ -----	45
8. MAdCAM-1 et IgA intestinales-----	46
IV Immunoglobulines-----	48
1. Immunoglobulines A-----	48
1.1 Structure et sous-classe des IgA-----	48
1.2 Induction et spécificité des IgA sériques-----	50
1.3 IgA sécrétoires (sIgA) et microbiote-----	50
1.4 Rôle des IgA agglutinant des bactéries-----	54
2. Immunoglobulines G-----	55
2.1 IgG sérique-----	55
2.2 Origine des IgG-----	56

2.3	Rôles des IgG anti-microbiote	57
3.	Immunoglobulines et allo-CSH	59
PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS		61
RESULTATS		62
Première partie: MAdCAM-1 (Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1)		63
	Article 1: sMAdCAM-1 is decreased after allo-HCT, along with gut microbiota dysbiosis, and is associated with hematopoietic recovery	63
Deuxième partie : Analyse des interactions entre les IgA/IgG et les bactéries chez les patients traités par allo-CSH		85
	Matériels et méthodes	85
	Résultats préliminaires	88
-----		94
DISCUSSION		94
BIBLIOGRAPHIE		102
-----		102
ANNEXE		123
-----		123
Article 2: Unconventional T Cells Influence Clinical Outcome After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation		124

Remerciements

« La victoire appartient au plus opiniâtre »

Je tiens à remercier le Professeur Mohamed MOHTY qui m'a accueilli au sein du laboratoire. Je vous remercie également pour la bienveillance et le support que vous m'avez témoigné. Je vous exprime également ma gratitude pour la disponibilité que vous avez pu m'accorder et pour vos qualités humaines qui ont été une réelle source de motivation. Je remercie également le Professeur Florent MALARD pour m'avoir confié ce grand projet qui m'a tenu à cœur et que nous avons su porter, sans relâche, le plus loin possible. Je vous remercie de m'avoir encadrée, d'avoir cru en moi et de m'avoir encouragée. Merci également pour la relecture, la correction et la rédaction consciencieuses de ma thèse. Merci au Docteur Béatrice GAUGLER pour votre patience et pour l'aboutissement de ce travail. Merci au Docteur Martin LARSEN, avec qui nous avons collaboré, pour son expertise en microbiologie et en biostatistiques. Ce travail est le fruit d'une belle collaboration que nous avons tenue durant ma thèse. Je vous remercie pour votre disponibilité, votre aide précieuse et votre gentillesse et merci d'avoir partagé votre rigueur durant ma thèse.

Je remercie le Professeur Stéphanie Nguyen d'avoir accepté d'être le président du jury et merci de votre disponibilité. Je remercie le Professeur FORCADE Edouard et le Professeur Giorgia BATTIPAGLIA pour l'honneur qu'ils m'ont m'accordé en acceptant d'être rapporteurs de ce travail de thèse. Je remercie également le Dr Martin LARSEN le Professeur Simona PAGLIUCA, d'avoir accepté d'examiner mon travail de thèse.

Je remercie tout particulièrement et très sincèrement Frédéric De Vassoigne, pour ton soutien et ton aide inconditionnels pour absolument tout. Merci d'avoir été là, de m'avoir encouragée et d'avoir atténué des moments parfois difficiles.

Je remercie du fond du cœur Lama Siblany, Pauline BEURRIER et Najoua TAHAR pour leur gentillesse et leurs encouragements.

Je remercie beaucoup Elise DHILLY, pour m'avoir formée patiemment et rigoureusement aux différentes techniques.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous mes amis qui ont été à mes côtés dès mon arrivée en France et qui sont devenus ma deuxième famille. Un grand merci à Sara, Karen, Christine, Mimy, Badih, Tony, Paul, Fabio et Marcel pour leur soutien inestimable et leur amitié.

Et ceux que je souhaite remercier par-dessus tout, ceux qui me sont les plus chères et qui m'ont conduit jusqu'à ce jour mémorable : ma famille !

Enfin je tiens à remercier ma famille, mes proches et mes amis ; mes parents pour qui aucun mot ne suffirait, vous avez fait de moi la personne que je suis, vous m'avez soutenue avec ferveur dans la poursuite de mes études et vous avez toujours été un support et un réconfort.

A ma chère maman Rima, tu es le pilier fondateur de ce que je suis et de ce que je fais, tu m'encourages sans cesse à me dépasser et à atteindre ce que j'imaginai infranchissable, c'est avec la plus grande humilité que je te dédie toute mes réussites passées et futures.

A mon papa Elias, mon soutien constant et infailible, je te remercie de m'avoir sorti du lit durant toutes ces années, malgré mes nombreuses plaintes, tu es et restera le plus efficace des réveils.

Un merci spécial, à une personne pas comme les autres. Merci Onell pour ton encouragement et ton soutien sans limite, qui furent d'une aide si précieuse.

Que celles et ceux que j'aurais oubliés ici me pardonnent !

Pour clore ce préambule, je souhaiterais laisser un mot aux étudiants qui seraient susceptible de lire ce manuscrit. Ce que je pourrais vous conseiller, en toute humilité, serait de ne jamais abandonner un travail entamé, la persévérance est la clé de la réussite, si vous n'en voyez pas les fruits c'est que l'arbre n'est pas encore mûr. Donc soyez patient et endurez, c'est dans l'adversité que l'on réalise les plus grands exploits.

Table des illustrations

Figure 1: Procédure de greffe de cellules souches hématopoïétiques	8
Figure 2: Classification des conditionnements	13
Figure 3: Classification actuelle de la GvHD aiguë et chronique	16
Figure 4: Physiopathologie de la GvHD aiguë	18
Figure 5: Principaux facteurs influençant le développement de la GvHD chronique	19
Figure 6: Physiopathologie et traitements de la GvHD chronique	20
Figure 7: Les principaux groupes taxonomiques du microbiote intestinal humain et le niveau de domaine/royaume	22
Figure 8: Arbre phylogénétique des phyla bactériens composant le microbiote intestinal	23
Figure 9: Caractéristiques des veinules à endothélium épais par rapport aux veinules postcapillaires : Expression différentielle de PNAd et MAdCAM-1 dans différentes muqueuses	36
Figure 10: Les mécanismes de l'adressage des lymphocytes T dans l'intestin via l'axe MAdCAM-1/$\alpha 4\beta 7$	38
Figure 11: Le trafic des leucocytes vers l'intestin grêle et le colon	39
Figure 12: Interaction entre le microbiote intestinal et le système immunitaire dans l'homéostasie	47
Figure 13: Structure des IgA	50
Figure 14: Proposition de modèle décrivant les réponses IgA vis-à-vis du microbiote	51
Figure 15: Fonctions des anticorps IgA se liant au microbiote	54
Figure 16: : Les Ig sécrétoires et systémiques contrôlent le microbiote intestinal	58
Figure 17: Dysbiose intestinale et expression de MAdCAM-1 dans les cancers solides	95

Table des tableaux

Tableau 1: Résumé des études randomisées comparant différents types de conditionnement d'intensités différentes -----	12
Tableau 2: Les changements dans l'abondance des taxons bactériens influencent les résultats de greffe de cellules souches hématopoïétiques -----	28
Tableau 3: Voies de signalisation immunitaire induites par le microbiote et leurs effets sur le système hématopoïétique -----	32
Tableau 4: Table des taxons ciblés par les IgA intestinales chez l'homme -----	53
Tableau 5: Caractéristiques des patients -----	87

Liste des abréviations et des acronymes

ADN : acide désoxyribonucléique	GALT : tissu lymphoïde associé au tube digestif
aGvHD : GvHD aiguë	GATA3: Trans-acting T-cell-specific transcription factor
AID : désaminase de cytidine induite par l'activation	GI-aGvHD : aGvHD intestinale
Allo-CSH : allogreffe de cellules souches hématopoïétiques	GM-CSF : facteur stimulant les colonies de granulocytes et de macrophages
ARNm : acide ribonucléique messenger	GPR109A : récepteur 2 de l'acide hydroxycarboxylique
BCG : <i>Mycobacterium bovis</i> BCG (Bacille Calmette-Guérin)	GPR15 : récepteur 15 couplé aux protéines G
BCR : Récepteur d'antigène des cellules B	Gpr81 : récepteur 81 couplé aux protéines G
BKV : virus BK	GRFS : survie sans GvHD et sans rechute
BU : busulfan	GvHD : réaction du greffon contre l'hôte (Graft -versus- host disease)
CCL25 : ligand de chimiokine 25	GvL : greffe contre leucémie
CCR6 : C-C chemokine receptor type 6	GVT : Graft-versus- tumor
CCR9 : récepteur de chimiokine C-C de type 9	HEV : veinules postcapillaires à endothélium épais
CD62L : CD62 Ligand	HLA : antigènes de leucocytes humains
CDI : infection à <i>C. difficile</i>	ICAM-1 : InterCellular Adhesion Molecule-1
Cellules M : Microfold cells	ICB: immuncheckpoint blockade
cGVH : GvHD chronique	IgA: immunoglobuline A
CMV : cytomégalovirus	IgE : immunoglobuline E
CNI : inhibiteurs de la calcineurine	IgG : immunoglobuline G
COVID19 : maladie à coronavirus 2019	IgH: chaîne lourde d'immunoglobuline (immunoglobulin Heavy Chain)
CPA : cellule présentatrice d'antigènes	IgM : immunoglobuline M
CpG : cytosine-phosphate-guanine	IgSF : Superfamille des immunoglobulines
CSH : cellules souches hématopoïétiques	IL : interleukine
CSP : cellules souches périphériques	IL-1 : interleukine-1
CSPH : cellules souches progénitrices hématopoïétiques	IL-1 β : interleukine 1 β
CVID : déficit immunitaire commun variable	ILC : cellules lymphoïdes innées
CXCR4 : récepteur membranaire de la protéine CXCL12	KIR : killer-cell immunoglobulin-like receptors
CY : cyclophosphamide	KO : Knock-Out
DAMP : motifs moléculaires associés aux dommages	LAL : leucémie aiguë lymphoblastique
DFS : Survie sans maladie (disease-free survival)	LAM : leucémie myéloïde aiguë
DLI : infusions de lymphocytes du donneur	LB : lymphocytes B
DSS : sulfate de dextran de sodium	LCA : acide lithocholique
EBV : virus d'Epstein-Barr	LepR : récepteur de la leptine
Fab : fragment antigen-binding region	LN : ganglions lymphatiques (lymph nodes)
Fc γ R : récepteur Fc gamma	
FLU: fludarabine	
FOXO: forkhead box O	
FOXP3 : forkhead box P3	

LPAM-1: lymphocyte Peyer's patch adhesion molecule-1
 LPS : lipopolysaccharide
 LT : lymphocytes T
 Ly6C : lymphocyte antigen 6 complex
 MAC : conditionnement myéloablatif
 MACS : tri cellulaire magnétique (Magnetic-activated cell sorting)
 MAdCAM-1: mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1
 MAMP : motif moléculaire associé aux pathogènes
 Mdr2^{-/-}: Multidrug resistance protein 2 knockout
 MDS : syndrome myélodysplasique
 MDSC : cellules myéloïdes suppressives
 MEL : melphalan
 MFI : intensité de fluorescence médiane
 MICI : maladies inflammatoires chroniques de l'intestin
 MLP : mureine lipoprotéine
 MMF : mycophénolate mofétil
 MMP9 : métalloprotéase matricielle 9
 MTX : méthotrexate
 MyD88 : réponse primaire de différenciation myéloïde 88
 NGS: Next generation sequencing
 NK: cellule Natural Killer
 NKT : lymphocytes Natural Killer
 NLR : récepteurs de type NOD
 NMAC : conditionnement non myéloablatif
 NO : oxyde nitrique
 NOD : nucleotide-binding oligomerization domain
 NOD : souris non obèses diabétiques
 NRM : mortalité non liée à la rechute
 NS : non significatif
 NSCLC : cancers bronchiques non à petites cellules
 OS: survie globale (overall survival)
 PAMP : motifs moléculaires associés aux pathogènes
 PBSC : cellules souches du sang périphérique
 PD-1: programmed cell death 1
 PDL1: programmed death-ligand 1
 PECAM1: platelet endothelial cell adhesion molecule
 PIM : piperacilline-tazobactam, imipénem-cilastatine et méropénem
 PNA_d : adressine nodale périphérique
 PP : plaques de Peyer
 PRR : récepteur de reconnaissance de motifs moléculaires
 PTCy : cyclophosphamide post-greffe
 RI : incidence de rechute
 ROR γ t : Le récepteur gamma orphelin lié au RAR
 SAL : sérum anti-lymphocytaire
 SCF : facteur de croissance des cellules souches (Stem Cell Fcactor)
 SFB : Bactéries filamenteuses segmentées
 sIgAd : déficit sélectif en IgA
 sMAdCAM-1: MAdCAM-1 soluble
 SPF: Specific Pathogen Free
 STAT1 : transducteur de signal et activateur de la transcription 1
 T-bet : T-box expressed in T cells
 TBI : irradiation corporelle totale
 TCR : récepteur des lymphocytes T
 TdLN : ganglions lymphatiques draineurs de tumeur
 TGF- β : facteur de croissance transformant β
 Th17 : lymphocyte T helper 17
 TLR : récepteur de type Toll
 TMF : transfert de microbiote fécal
 TNC: cellules nucléées totales (total nucleated cells)
 TNF α : facteur de nécrose tumorale alpha
 Treg : cellules T régulatrices
 TRIF : TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β
 TRM : mortalité liée à la greffe
 UC : colite ulcéreuse
 UDCA : acide ursodésoxycholique
 VAP-1 : vascular adhesion protein 1
 VCAM-1 : vascular cell adhesion protein 1
 VDZ: vedolizumab
 VLA-1: very late antigen-1
 VZV : virus varicelle-zona

INTRODUCTION

I-L 'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

1. Définition

La greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques (allo-CSH) est une thérapie efficace et curatrice pour de nombreuses hémopathies malignes ainsi que des maladies non malignes de la moelle osseuse et du système immunitaire. Son principe repose sur l'administration au patient d'un conditionnement comportant une chimiothérapie associée ou non à une radiothérapie, suivie par l'injection d'un greffon de cellules souches hématopoïétiques (CSH) allogéniques (**Figure 1**). En Europe, environ 20 000 allogreffes de CSH sont réalisées chaque année. Avec le progrès des modalités de transplantation et de prise en charge des patients, les résultats de l'allo-CSH sont de plus en plus encourageants avec des taux de mortalité non liée à la rechute (NRM) de plus en plus réduits [1].

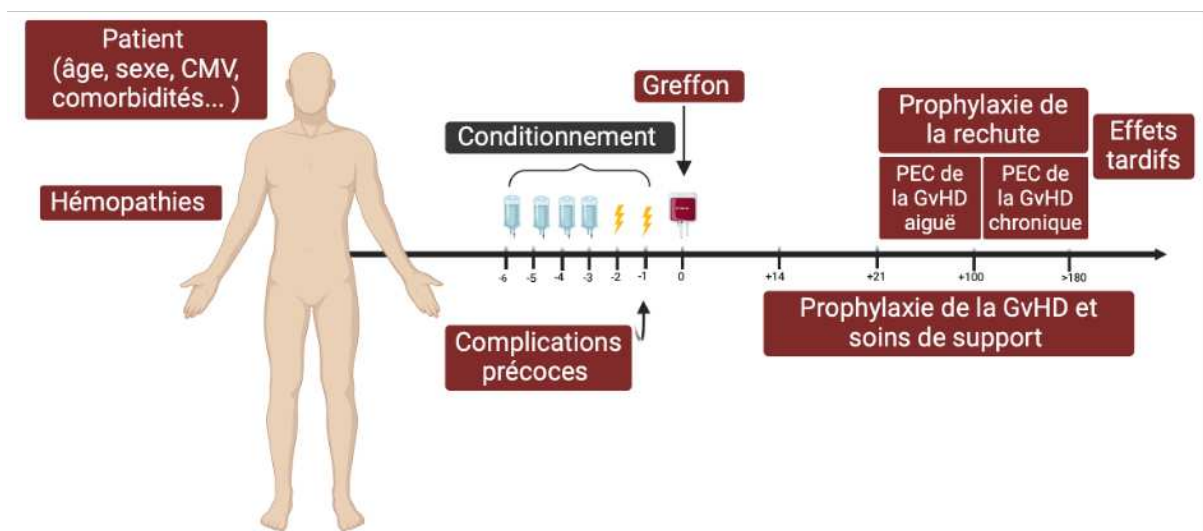


Figure 1: Procédure de greffe de cellules souches hématopoïétiques

(PEC : Prise en charge)

2. Historique

La sélection de la source de cellules souches est une considération importante et a considérablement évolué depuis que la moelle osseuse a été utilisée comme source de cellules souches lors de la première CSH allogénique réussie en 1968 [2]. La moelle osseuse est restée la seule source de cellules souches pour les deux décennies suivantes jusqu'à ce que des travaux expérimentaux ont démontré que les cellules souches du sang périphérique (PBSC) peuvent être enrichies par un prétraitement avec certains agents chimiothérapeutiques et des facteurs de croissance hématopoïétiques [3], [4], [5], ce qui a conduit à la première greffe de cellules

souches du sang périphérique en 1986 [6]. Parallèlement, la reconnaissance du sang de cordon ombilical comme une source riche de cellules souches [7] a conduit à l'utilisation réussie du sang de cordon comme troisième source de cellules souches pour les CSH allogéniques à la fin des années 80 [8]. Suite à l'introduction de cellules souches du sang périphérique collectées par aphérèse, son utilisation a considérablement évolué, et, au début des années 2000, elle avait dépassé la moelle osseuse en tant que principale source de cellules souches pour les greffes de cellules hématopoïétiques chez les adultes [9]. Cette tendance a continué à augmenter, le sang périphérique étant de loin la source de cellules souches la plus communément utilisée, maintenant employée dans plus de 80 % des greffes de cellules hématopoïétiques allogéniques chez les adultes à travers le monde [10].

La réalisation d'une greffe de cellules souches du sang périphérique permet de collecter une quantité importante de cellules souches CD34 du donneur. Cela contribue à une prise de greffe et à une reconstitution immunitaire plus rapide, entraînant des taux plus faibles de rejet de greffe et moins de complications infectieuses. De plus, le nombre plus élevé de cellules T dans la greffe peut favoriser la greffe, en particulier avec un conditionnement de faible intensité, et peut renforcer l'effet de greffe contre leucémie (GvL) dans les maladies malignes.

3. Les indications de l'allo-CSH

Les indications de l'allo-CSH sont en évolution permanente grâce aux progrès apportés par les nouvelles thérapeutiques et grâce à une meilleure identification de nouveaux facteurs pronostiques des différentes maladies. Elles incluent surtout les leucémies aiguës myéloblastiques et lymphoblastiques, mais aussi les myélodysplasies et myélofibroses, certaines hémopathies lymphoïdes, les aplasies médullaires, les hémoglobinopathies sévères et les déficits immunitaires combinés sévères. L'activité de greffe de CSH est en progression constante, avec près d'un million de greffe de CSH réalisées dans le monde en 2022 tant autologues qu'allogéniques selon l'organisation mondiale de la santé (OMS).

4. Le conditionnement

Le conditionnement est le régime préparatoire administré aux patients subissant une greffe de cellules hématopoïétiques avant l'infusion du greffon de cellules souches. Historiquement, le conditionnement visait à éradiquer les cellules tumorales dans le cas d'une allo-CSH pour une hémopathie maligne et à fournir une immunosuppression suffisante, afin d'assurer la prise de greffe et prévenir à la fois le rejet et la maladie du greffon contre l'hôte (GvHD).

Le conditionnement comprend deux composantes : la myélodéplétion, ciblant les cellules souches de l'hôte, et la lymphodéplétion, qui cible le système lymphoïde de l'hôte. Les intensités relatives de myélosuppression et d'immunosuppression varient entre les différents régimes. Certains agents utilisés dans le conditionnement sont davantage myéloablateurs, comme le melphalan (MEL) ou le busulfan (BU), tandis que d'autres sont plus lymphodépoteurs, comme la fludarabine (FLU) ou le cyclophosphamide (CY). Le conditionnement pré-transplantation peut inclure une irradiation corporelle totale (TBI) (qui offre à la fois de la myélosuppression et de l'immunosuppression) ou, dans des cas rares et spécifiques, d'autres types d'irradiation comme l'irradiation lymphoïde totale. Alternativement, le conditionnement pré-greffe peut ne pas inclure de radiation, ne comprenant que de la chimiothérapie.

Depuis l'introduction de la greffe allogénique, la cytotoxicité associée à cette approche reste l'une des limitations majeures. Au début des années 90, il a été montré que la GvHD était initiée par le relargage de cytokines pro-inflammatoires induites par la cytotoxicité du conditionnement [11]. Ainsi, afin de diminuer l'incidence de la GvHD, l'hypothèse de réduire cette cascade cytokinique liée au conditionnement est parue et a été confirmée quand des conditionnements basés sur l'immunosuppression plutôt que sur la myéloablation ont été utilisés par différentes équipes, définissant ainsi les conditionnements non myéloablateurs et les conditionnements d'intensité réduite. De plus, au cours des années il a été montré qu'une myéloablation importante peut être effectuée sans être associée à une forte toxicité, définissant les conditionnements à toxicité réduite.

Les premiers protocoles de conditionnement étaient myéloablateurs (MAC), reposant sur l'utilisation du protocole CY/TBI (CY intraveineux à 60 mg/kg pendant 2 jours, suivi d'une TBI de 12 Gy) ou le protocole BU/CY (BU oral à 4 mg/kg pendant 4 jours et CY à 60 mg/kg pendant 2 jours). Cependant, le MAC est associé à une toxicité significative liée aux organes et à la greffe, ce qui limite l'allo-CSH aux patients plus jeunes en bonnes conditions médicales, généralement jusqu'à l'âge de 55 ans.

Au cours des deux dernières décennies, des schémas de conditionnement non myéloablateurs (NMA), de conditionnement à intensité réduite (RIC), et de conditionnement à toxicité réduite (RTC) ont été développés, ayant comme objectif de diminuer la toxicité pour les organes et la mortalité liée à la greffe (TRM), tout en conservant l'effet anti-tumoral et en permettant l'allo-

CSH chez des patients fragiles et âgés. Ces conditionnements sont relativement moins toxiques et plus tolérables, conçus non pas pour éradiquer complètement la tumeur, mais plutôt pour fournir une immunosuppression suffisante pour favoriser la prise de greffe et permettre l'induction de la GvL.

Le **Tableau 1** résume les principales études randomisées publiées ces dernières années, qui comparent différents types de conditionnement d'intensités différentes. Les intensités relatives des différents schémas de conditionnement individuels varient considérablement en ce qui concerne leurs propriétés immunosuppressives et myélosuppressives (**Figure 2**). Le conditionnement optimal peut être choisi en fonction de l'âge du patient et de son score de comorbidité (y compris le risque de toxicité spécifique à un organe), de l'état de la maladie au moment de la transplantation, et du type de donneur (frère ou sœur, donneur non apparenté assorti, ou donneurs alternatifs comme le sang de cordon ombilical ou les donneurs haplo-identiques).

Tableau 1: Résumé des études randomisées comparant différents types de conditionnement d'intensités différentes

	Auteur	Maladie/âge	Conditionnement	Outcome
MAC versus RTC	Lee et al. (2013) [12]	LAM Age 17–59 ans	BuCy 64 FluBu4 62	BuCy meilleure RI (incidence de rechute) et OS, même effet sur NRM
	Rambaldi et al. (2015) [13]	LAM Age 40–65 ans	BuCy 124 FluBu4 127	FluBu4 moins de NRM, même effet sur RI et OS
	Bornhäuser et al. (2012) [14]	LAM Age 18–60 ans	Cy/TBI 99 Flu/TBI8 99	Outcomes similaires
	Peters et al. (2021) [15]	LLA Age 4–21 ans	TBI/VP16 212 Flu/TT/Bu 201 Or flu/TT/Treo	TBI moins de RI et meilleure OS
MAC versus RIC	Kröger et al. (2017) [16]	MDS Age 18–60 ans	BuCy 64 FluBu4 65	Outcomes similaires
	Scott et al. (2017) [17]	LAM/MDS	MAC 135 RIC 137	MAC moins de RI, NRM augmentée, meilleure OS
Différents RIC	Blaise et al. (2013) [18]	Maladies hématologiques malignes Non-éligible au MAC	Flu/Bu2 69 Flu/TBI2 70	FluBu2 moins de RI, NRM augmentée, même effet sur NRM
	Beelen et al. (2020) [19]	LAM/MDS Non-éligible au MAC	Flu/Treo10 221 Flu/Bu2 240	Flu/Treo moins de NRM, meilleure OS
	Craddock et al. (2021) [20]	LAM/MDS Non-éligible au MAC	RIC 122 FLAMSA 122 /RIC	Outcomes similaires

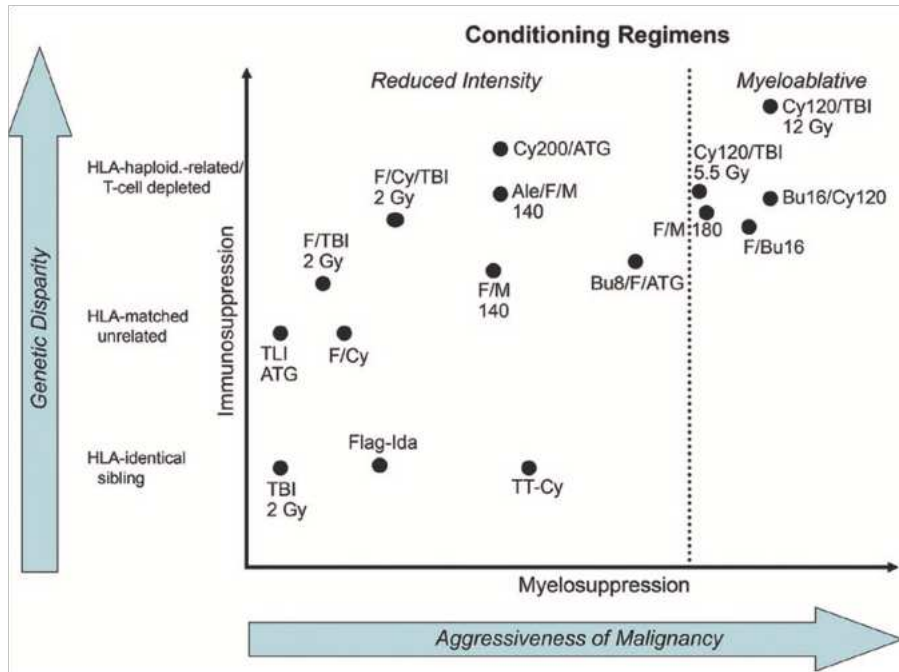


Figure 2: Classification des conditionnements

Sandmaier BM et *al.*, Biol Blood Marrow Transplant, 2007 [21]

5. Effet anti-tumoral de l'allo-CSH

Dès 1956, des recherches ont montré l'impact bénéfique de l'allo-CSH sur les tumeurs, connu sous le nom d'effet "Graft *versus* Tumor" (GvT) ou "Graft *versus* Leukemia" (GvL), à travers des études menées sur des modèles murins [22]. Cet effet est dû aux lymphocytes T (LT) du donneur qui reconnaissent et détruisent les cellules malignes résiduelles du receveur. Ainsi, ces recherches ont démontré pour la première fois l'effet GvL lors de l'éradication des cellules leucémiques chez des souris irradiées recevant une greffe allogénique non-syngénique [23]. Ces découvertes ont ensuite conduit à des expériences où des lymphocytes de donneur (DLI) ont été transfusés aux patients ayant reçu une greffe de CSH et présentant une rechute, malgré les complications graves telles que la GvHD [24]. Depuis ces débuts, l'effet GvL des DLI a été largement étudié, mettant en évidence des réponses tumorales complètes, en particulier dans le contexte de la leucémie myéloïde chronique.

En plus des cellules présentatrices d'antigènes (CPA), les lymphocytes T CD4+, CD8+, les lymphocytes NK et les cellules dendritiques jouent un rôle essentiel dans l'effet GvL [25]. L'importance des lymphocytes T dans l'effet GvL a été observée lorsque les patients recevant des greffons déplétés en lymphocytes T présentaient un risque accru de rechute.

Les cibles de l'effet GvL sont principalement les antigènes mineurs d'histocompatibilité et les peptides polymorphiques présentés par les molécules HLA des cellules du receveur. Ces antigènes mineurs d'histocompatibilité sont immunogènes en raison du polymorphisme nucléotidique dans les gènes homologues du donneur ou du receveur.

Lorsque les lymphocytes T du donneur sont activés par un antigène mineur d'histocompatibilité du receveur, ils déclenchent à la fois un effet GvL et une GvHD. En revanche, si les lymphocytes T sont activés par un antigène mineur d'histocompatibilité exprimé uniquement à la surface des cellules hématopoïétiques du receveur, seul un effet GvL est observé [26]. De plus, la production d'anticorps dirigés contre des gènes du chromosome Y chez les patients masculins ayant reçu une greffe allogénique d'une donneuse féminine a également été associée à l'effet GvL, réduisant le risque de rechute et augmentant le risque de GvHD chronique [27], [28].

6. Complications de l'allo-CSH

Les complications rencontrées après allogreffe sont nombreuses, et responsables d'une morbidité mais également d'une mortalité importante. Si les complications infectieuses et la GvHD sont au premier plan, d'autres complications peuvent survenir, à la phase précoce après allogreffe comme le syndrome d'obstruction sinusoïdale, la microangiopathie thrombotiques et les complications hémorragiques [1], [29], [30].

Les complications infectieuses sont liées à l'immunodépression consécutive à l'allo-CSH. La phase initiale de neutropénie commence dès le début du conditionnement et se termine généralement vers le jour +15 après allo-CSH. Pendant cette période, les patients sont exposés à un risque accru d'infections bactériennes et fongiques en raison de la neutropénie et des altérations des barrières anatomiques qui favorisent les translocations bactériennes. De plus, il y a une diminution de l'immunité humorale et cellulaire. Les patients sont exposés aux bactéries à Gram positif et négatif, les *Candida* spp. et le virus de l'herpès simplex.

Après la sortie de l'aplasie et jusqu'au jour +100, le risque d'infection persiste, en raison du déficit immunitaire, de l'asplénie fonctionnelle, qui peut être exacerbée par le développement d'une GvHD et de son traitement et de la présence continue des cathéters. Cela augmente la prédisposition aux infections virales et fongiques, notamment, le cytomégalovirus (CMV), le

virus Epstein-Barr, (EBV), l'adénovirus, le BKV, le virus respiratoire syncytial, *Pneumocystis jiroveci*, les *Candida spp.* et *Aspergillus spp.*

Après J +100 post allo-CSH, les infections survenant sont fréquemment associées à la présence d'une GvHD chronique. De plus, l'asplénie fonctionnelle persiste et est aggravée chez les patients souffrant d'une GvHD. Les infections observées durant cette période sont souvent attribuables à des bactéries encapsulées telles que *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*, à *Aspergillus spp.*, au virus de la varicelle-zona (VZV) ou encore au virus Epstein-Barr, pouvant conduire à un syndrome lymphoprolifératif post-transplantation.

Après une allo-CSH, des complications à long terme peuvent survenir, telles que des cancers secondaires, des atteintes oculaires, cutanées, bucco-dentaires, des troubles endocriniens, des complications cardiaques, rénales et hépatiques, ainsi que des problèmes respiratoires. Un suivi prolongé est essentiel pour prévenir ou traiter ces complications. Des progrès ont été réalisés dans la prévention des complications infectieuses et l'amélioration des conditionnements, mais la GvHD reste une source majeure de complications nécessitant une meilleure compréhension pour le développement de nouveaux traitements.

7. La réaction du greffon contre l'hôte

Une complication potentiellement mortelle de l'allo-CSH est la GvHD, qui se produit lorsque les cellules immunocompétentes du donneur reconnaissent et attaquent les tissus de l'hôte. Malgré plus de 750 000 procédures de greffe réalisées dans le monde, la GvHD reste un problème complexe auquel les médecins sont confrontés quotidiennement.

La GvHD a été initialement observée dans des études sur des souris subissant une allo-CSH. À une époque où le système HLA n'était pas bien compris, la GvHD était qualifiée de « maladie secondaire » (secondaire à la récupération après des dommages causés par l'irradiation) ou de « maladie du raton ». Dans les années 1960, Billingham [31] a défini les critères pour l'apparition de cette maladie secondaire, à savoir, l'administration d'un greffon contenant des cellules immunitaires compétentes, l'existence d'une disparité immunologique entre le receveur et le donneur et l'administration du greffon à un receveur immunosupprimé incapable de rejeter les cellules du greffon. Ces critères ont par la suite été complétés par un quatrième critère, à savoir que les cellules immunitaires effectrices doivent migrer vers les tissus cibles [32].

Chez l'homme, il est communément admis qu'il existe deux formes de GvHD : la forme aiguë (aGvHD) et la forme chronique (cGvHD). La distinction initiale entre la GvHD aiguë et la GvHD chronique, basée sur le fait que la première se manifestait avant le 100^{ème} jour suivant la transplantation de cellules souches et la seconde après, est devenue moins nette en raison de l'apparition de symptômes de GvHD aiguë au-delà du 100^{ème} jour suite aux RIC et/ou après des DLI, généralement administrées après le 100^{ème} jour). La distinction repose donc maintenant sur la présentation clinique permettant d'établir le diagnostic (**Figure 3**) [33].

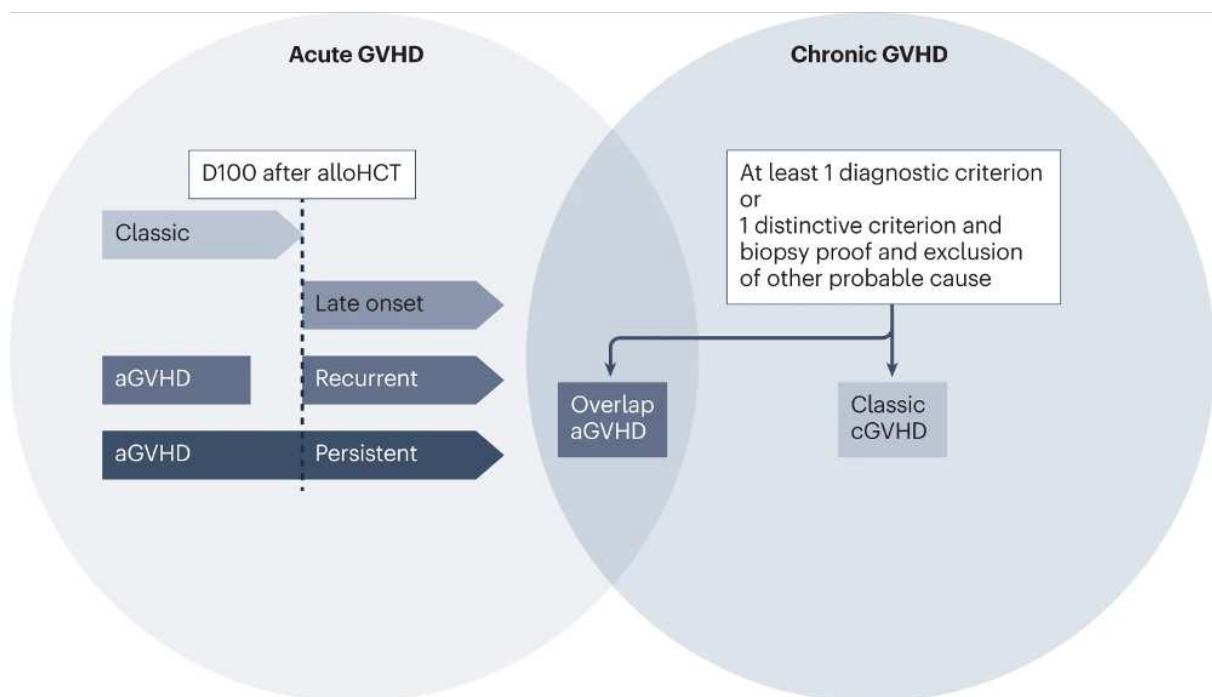


Figure 3: Classification actuelle de la GvHD aiguë et chronique

Malard F et *al.* Nature Reviews Disease Primers, 2023 [33]

7.1 GvHD aiguë

La GvHD aiguë (aGvHD) reste, directement ou indirectement, la principale cause de mortalité non liée à la rechute à court terme après allo-CSH. La physiopathologie de la GvHD aiguë a été attribuée à un processus en trois phases comprenant, dans un premier temps, des dommages tissulaires initiaux causés par le conditionnement, ce qui conduit à l'activation des cellules hôtes présentant des antigènes par des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs) et des

motifs moléculaires associés aux dommages (DAMPs). Cette activation déclenche la phase afférente avec l'activation et la prolifération des cellules T du donneur, puis mène à la phase efférente, caractérisée par des dommages cytotoxiques causés par les récepteurs de cellules immunoglobuliniques (KIR), entraînant la libération de cytokines inflammatoires telles que l'interleukine-1 (IL-1) et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α), aboutissant à une nécrose tissulaire [34] (**Figure 4**). Vu la place centrale des lymphocytes T dans la réponse allogénique, la déplétion des cellules T du greffon se traduit par une suppression du risque de GvHD, mais également par une augmentation du risque de rechute et par une diminution de la prise de greffe [35].

L'action de ce processus pathogène dans l'induction de la GvHD aiguë est partiellement modulée par la présence de cellules capables d'inhiber la réponse immunitaire, telles que les cellules T régulatrices (Tregs), les T regs de type 1, les cellules T invariantes de type NKT, et les cellules myéloïdes suppressives (MDSCs) [36], [37].

La GvHD aiguë est une réponse immunologique provoquée par les cellules du donneur et dirigée principalement contre les tissus du receveur, notamment la peau, le foie et le tractus gastro-intestinal et qui s'observe entre deux et quatre semaines après la greffe.

Comme la GvHD résulte d'une réaction allo-immune, le principal risque de survenue est lié à la présence d'une disparité HLA augmentant la probabilité d'une maladie plus sévère. D'autres facteurs de risque incluent un âge avancé du patient, l'utilisation de donneurs féminins pour des receveurs masculins, l'immunisation allo-antigénique préalable du donneur et le type de prophylaxie contre la GvHD. Plusieurs études ont également identifié des facteurs de risque comme l'intensification du régime préparatoire, l'utilisation de cellules souches périphériques (CSP) plutôt que la moelle osseuse, et la séropositivité du receveur au CMV.

Le traitement de première ligne repose sur l'utilisation de stéroïdes.

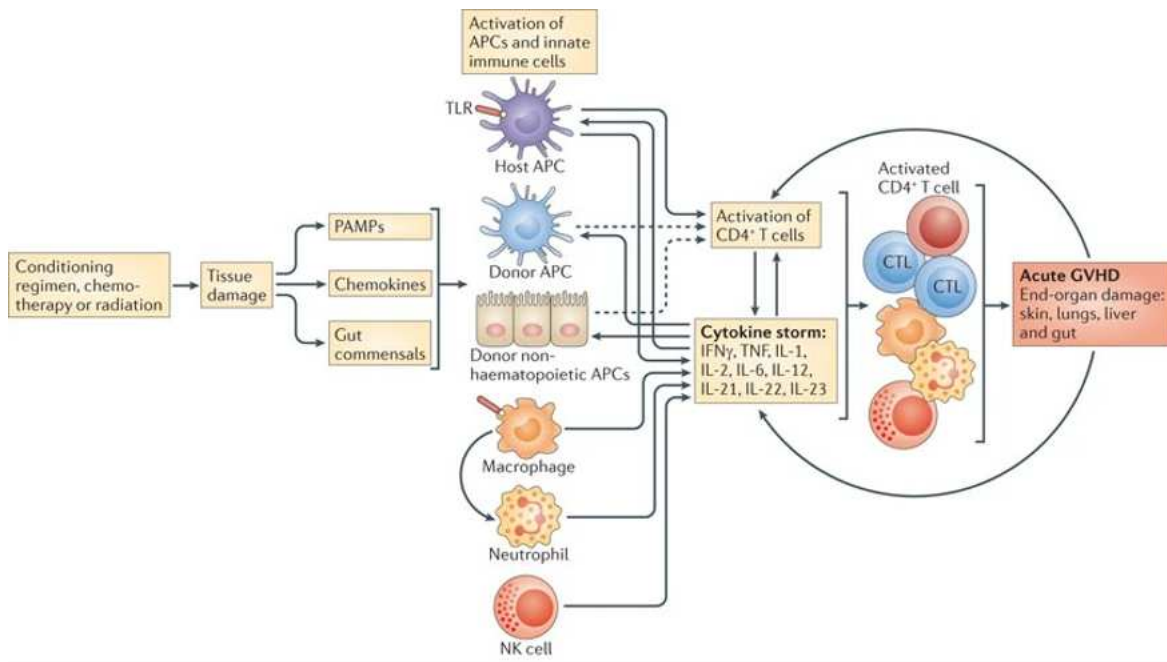


Figure 4: Physiopathologie de la GvHD aiguë

Blazar B *et al.*, Nature Reviews Immunology, 2012 [34]

7.2 GVHD chronique

La GvHD chronique constitue la principale source de mortalité à long terme non liée à la rechute après une allo-CSH [38]. Sa prévalence est d'environ 50 % parmi l'ensemble des patients ayant subi une allo-CSH et a augmenté au cours des vingt dernières années en raison de l'augmentation de l'âge des patients et de l'utilisation croissante de donneurs non apparentés et/ou incompatibles, des régimes RIC, des PBSC avec application de la prophylaxie standard de la GvHD (inhibiteur de la calcineurine (CNI) + mycophénolate mofétil : MMF) ou le méthotrexate (MTX) uniquement [39]. L'incidence de la cGVHD augmente avec l'augmentation de l'âge [40], [41].

La physiopathologie de la GvHD chronique diffère de celle de la GvHD aiguë et est principalement caractérisée par des altérations des mécanismes de tolérance immunitaire qui affectent l'immunité innée et adaptative. Les lymphocytes T et les lymphocytes B (LB) issus du donneur, auto-réactifs et allo-réactifs, jouent un rôle dans ce processus pathophysiologique (**Figure 5**) [42]. D'autres facteurs pathophysiologiques incluent les présentations indirectes d'allo-antigènes par le biais des cellules présentatrices d'antigènes dérivées du donneur, ainsi que les mécanismes d'inflammation chronique avec formation ultérieure de cicatrices et de

fibrose (**Figure 6**). Un aspect essentiel de la physiopathologie de la GvHD est la variabilité dans la reconstitution immunitaire, qui est liée à l'âge et dépendante de la fonction thymique et des hormones [41].

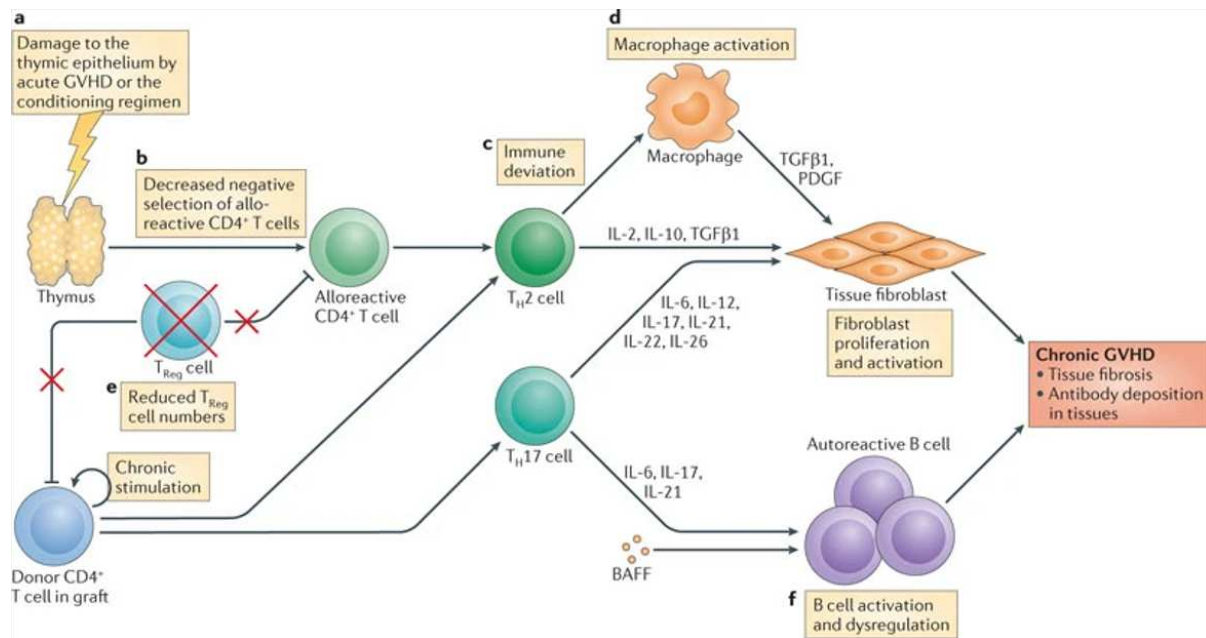


Figure 5: Principaux facteurs influençant le développement de la GvHD chronique

Blazar B *et al.*, Nature Reviews Immunology, 2012 [34]

Les principaux facteurs de risque pour la GvHD chronique sont : un donneur non apparenté ou incompatible, l'utilisation de cellules souches du sang périphérique comme source de greffon, un âge avancé tant pour le donneur que pour le patient, ainsi que des combinaisons impliquant un donneur féminin et un receveur masculin [40]. L'élément le plus significatif est généralement l'historique et la gravité de la GvHD aiguë [43].

En plus des préjudices qu'elle provoque, la GvHD chronique a également un effet protecteur anti-tumoral, puisque les patients souffrant de GvHD chronique ont des taux de récurrence plus bas de leur maladie maligne sous-jacente [38]. Ainsi, la survie globale des patients transplantés pour des maladies malignes et développant une GvHD chronique légère est meilleure que celle des patients sans GvHD chronique. Même la survie globale des patients avec une GvHD chronique modérée n'est pas différente de celle des patients sans cGvHD, car l'augmentation légère de la mortalité liée à la GvHD chronique est compensée par une mortalité liée à la maladie plus faible [44].

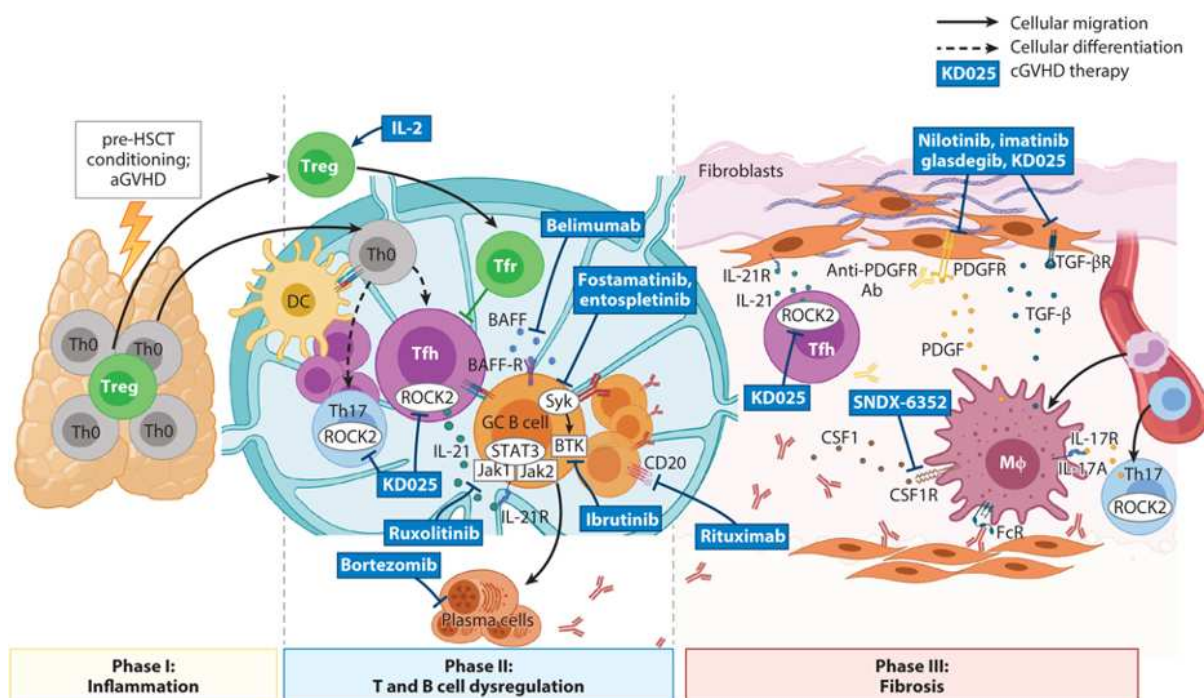


Figure 6: Physiopathologie et traitements de la GvHD chronique

Hill et al., *Annual Review of Immunology*, 2021 [45]

En revanche, il est important de noter que le taux de mortalité à long terme chez les patients souffrant de GvHD chronique sévère peut s'élever jusqu'à 50 %. Il convient de souligner que la gravité n'est pas aussi déterminante que certains facteurs de risque de décès, tels qu'un faible taux de plaquettes au moment du diagnostic de la GvHD chronique, l'évolution directe de la GvHD aiguë vers la GvHD chronique (de manière progressive), ainsi que certaines manifestations organiques (atteinte pulmonaire, gastro-intestinale et cholestase hépatique)[38]. La GvHD chronique commence généralement entre 3 mois et 2 ans après la greffe de CSH, mais un début plus précoce (au moins 1 mois après la transplantation) est possible [46]. Le traitement de première ligne consiste en des stéroïdes administrés seuls ou en combinaison avec des CNI.

II-Microbiote et allo-CSH

1. Aperçu

Le microbiote, également appelé flore microbienne est un ensemble complexe de micro-organismes tels que les bactéries, les virus, les levures, les archées et les champignons qui résident naturellement dans un environnement spécifique [47] (**Figure 7**). Le corps humain abrite plusieurs microbiotes dans des zones telles que la bouche, la peau, les poumons et le vagin. Parmi ces microbiotes, la flore intestinale se distingue comme l'unité écologique principale et la plus diversifiée. En effet, environ 90 % des bactéries de l'organisme résident dans l'intestin, comprenant une variété de 160 à 200 espèces différentes [48], [49], [50]. Avec un poids pouvant atteindre jusqu'à 2 kilogrammes, le microbiote intestinal contient environ 600 000 gènes bactériens, soit 150 fois plus que le nombre de gènes présents dans le génome humain [51], [52], [53].

Le microbiote peut être considéré comme un organe à part entière, vivant en symbiose avec le corps humain et remplissant une variété de fonctions vitales : le microbiote assure des fonctions protectrices, structurales, immunitaires, métaboliques et de neuromodulation [53], [54].

Dès la naissance, le tube digestif d'un nouveau-né, initialement stérile *in utero*, commence à se coloniser. Les premières bactéries à coloniser le tube digestif sont des bactéries aérobies et anaérobies facultatives, comprenant les entérobactéries, dont *Escherichia coli*, ainsi que des *Bifidobactéries* d'origine fécale et des *Lactobacilles* d'origine vaginale maternelle [55]. On retrouve également des *Entérocoques* et des *Staphylocoques*, qui consomment l'oxygène et permettent ainsi l'installation ultérieure de bactéries anaérobies strictes et de *Lactobacilles*. La composition du microbiote intestinal se complexifie ensuite en fonction de l'environnement, de l'alimentation et de l'hygiène, et atteint une maturité stable et similaire à celle du microbiote adulte vers l'âge de trois ans.

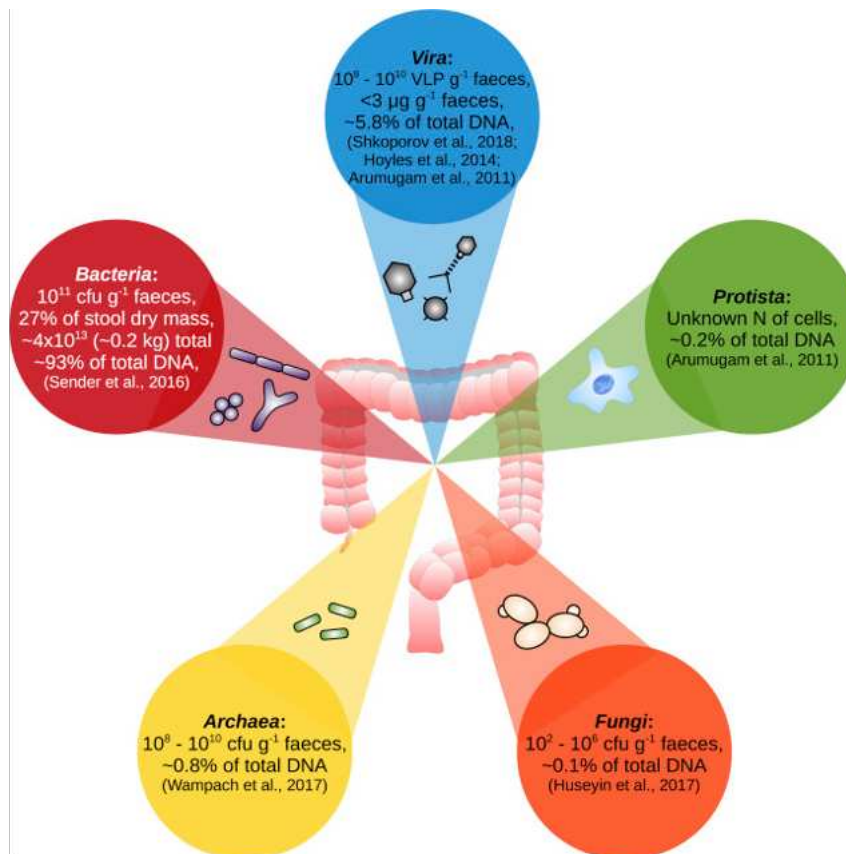


Figure 7: Les principaux groupes taxonomiques du microbiote intestinal humain et le niveau de domaine/royaume

A Shkoporov and C Hill, Cell Host Microbe, 2019 [56]

À l'âge adulte, le microbiote intestinal est généralement stable. Toutefois, il peut connaître des variations temporaires en raison de différents facteurs externes comme le régime alimentaire, les infections et la prise d'antibiotiques [57], [58]. En cas de perturbations, le microbiote a la capacité de retrouver son état initial après une période de 1 à 2 mois. Le microbiote a tendance à s'appauvrir en vieillissant, cela est dû aux changements physiologiques liés à l'âge, à une diminution de l'immunité, à la prise des médicaments et à une alimentation souvent moins variée.

Les techniques de séquençage d'ADN à haut débit ont permis d'analyser et de caractériser la composition du microbiote intestinal, qui est propre à chaque individu [51], [59]. L'étude de la composition du microbiote intestinal a été révolutionnée par l'émergence d'une technologie innovante : le séquençage à haut débit (NGS). Cette méthode permet un séquençage approfondi du métagénome, non seulement des micro-organismes cultivés, mais surtout de ceux qui ne peuvent pas être cultivés, issus des selles humaines [60]. Le microbiote dominant est constitué

de bactéries réparties en trois principaux phyla : *Firmicutes* (60-80 %), *Bacteroidetes* (15-30 %) et *Actinobacteria* (moins de 10 %) (**Figure 8**). D'autres groupes moins courants, comme les *Lactobacilles* et *Streptocoques* (moins de 2 %) ou les *Entérobactéries* (moins de 1%), forment le microbiote sous-dominant. Le microbiote transitoire comprend des bactéries en transit, telles que des entérobactéries et des levures, réprimées par le tube digestif.

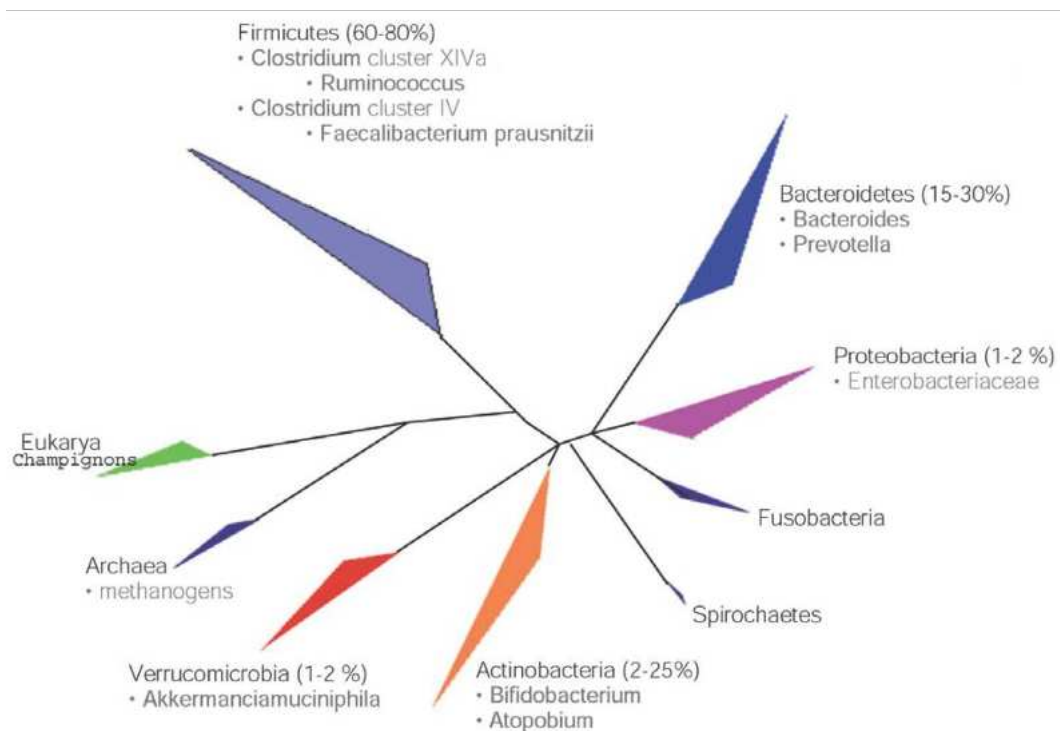


Figure 8: Arbre phylogénétique des phyla bactériens composant le microbiote intestinal

Cheng et *al.*, Current topics in microbiology and immunology, 2013 [61]

2. Notion d'eubiose-dysbiose

Dans des conditions physiologiques normales, l'organisme cohabite en symbiose avec son microbiote qui assure des fonctions essentielles à un équilibre optimal, un phénomène désigné sous le terme d'eubiose. En revanche, en cas de conditions pathologiques, des perturbations telles qu'une variation quantitative, fonctionnelle ou compositionnelle du microbiote peuvent entraîner un déséquilibre, on parle de rupture de la symbiose avec l'hôte ou dysbiose. Cette

dysbiose est associée à de nombreuses pathologies [62], [63], [64]. La manipulation du microbiote intestinal a été étudiée dans des études précliniques et cliniques dans le cadre de maladies inflammatoires telles que la maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI), le syndrome métabolique et la maladie coronarienne [65], [66].

Si les changements dans la flore intestinale sont temporaires et ne persistent pas, le microbiote est capable de revenir à son état d'origine. Cela est désigné sous le terme de capacité de résilience du microbiote qui parvient à retrouver une structure similaire à celle qu'il avait auparavant. En revanche, certaines perturbations peuvent provoquer des modifications permanentes, altérant ainsi l'état d'équilibre de la flore intestinale de manière durable.

3. Dysbiose et système immunitaire

L'immunité innée et adaptative intestinale coordonnent et interagissent avec les symbiotes en contribuant à l'homéostasie intestinale grâce à l'établissement d'une relation mutuellement bénéfique en tolérant le microbiote symbiotique, et en conservant la capacité d'exercer une réponse pro-inflammatoire envers les agents pathogènes invasifs. Le maintien de la symbiose est essentiel pour la santé et le bien-être. La perturbation du microbiote intestinal augmente la susceptibilité aux infections à travers plusieurs mécanismes, notamment en permettant l'expansion de bactéries intestinales pathogènes, en préparant le système immunitaire à une réponse pro-inflammatoire robuste, et en diminuant la production de produits microbiens bénéfiques tels que les acides gras à chaîne courte.

Le système immunitaire et le microbiote intestinal sont en interaction dynamique. Le système immunitaire inné est stimulé par les molécules microbiennes détectées par les récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR), tels que les récepteurs de type Toll (TLR) ou les récepteurs de type NOD (NLR), et contribue à réguler la colonisation intestinale [67]. En effet, il a été démontré que le manque de TLR5, un récepteur de la flagelline, chez des modèles murins, entraîne une dysbiose associée à une translocation bactérienne vers les ganglions lymphatiques mésentériques et un syndrome métabolique [68]. L'expression des TLR par les cellules épithéliales est importante pour maintenir l'intégrité de la barrière et promouvoir la tolérance [69]. Les cellules lymphoïdes innées (ILC) sont des cellules issues de la lignée lymphocytaire n'exprimant pas de récepteurs spécifiques aux antigènes. Les ILC se trouvent dans la lamina propria et contribuent à l'homéostasie tissulaire. Il existe trois types d'ILC : l'ILC1, l'ILC2 et l'ILC3 caractérisés par des facteurs de transcription spécifiques, T-bet,

GATA3 et ROR γ t, respectivement [70]. Les ILC1 participent à l'immunité contre les virus, les bactéries intracellulaires et les parasites. Les ILC2 jouent un rôle dans l'immunité contre les helminthes et les ILC3 contribuent à la réponse immunitaire contre les bactéries extracellulaires via la sécrétion des cytokines IL-17A et IL-22 qui stimulent la production de peptides antimicrobiens par l'épithélium [70].

Il est donc essentiel de comprendre la symbiose et de développer les outils pour la surveiller et l'ajuster finement afin de prévenir ou atténuer les risques, voire pour une utilisation dans les thérapies visant à manipuler le microbiote.

4. Microbiote intestinal et allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

Dès les années 1970, l'impact des commensaux intestinaux sur les résultats des greffes de CSH a été mis en évidence après l'observation que les souris maintenues en conditions axéniques ou traitées avec des antibiotiques décontaminants intestinaux développaient moins de GvHD intestinale [71], [72]. Une compréhension plus approfondie de cette relation a émergé, reconnaissant que si les PAMP peuvent fournir une immunostimulation déclenchant la GvHD, les métabolites commensaux sont cruciaux pour maintenir l'intégrité de la barrière intestinale [73]. En effet, il a été démontré que les souris axéniques présentent une GvHD plus sévère, et que la reconstitution et la diversité du microbiome sont essentielles pour réduire la sévérité de la GvHD [74]. Des études précliniques et cliniques récentes ont également décrit l'influence du microbiote intestinal sur les résultats cliniques, incluant la survie globale, la NRM, l'incidence et la sévérité de la GvHD, la reconstitution immunitaire et le taux de rechute [75].

Une faible diversité bactérienne est associée à des résultats défavorables après une greffe de CSH. Le conditionnement, l'irradiation corporelle totale et l'utilisation d'antibiotiques à large spectre chez les patients, favorisent la sélection et la prolifération des espèces pathogènes intestinales et compromettent la barrière intestinale, facilitant ainsi la translocation bactérienne et les infections. Taur *et al.* ont analysé des échantillons fécaux récoltés avant la prise de greffe de 80 receveurs d'allo-CSH et ont rapporté une survie globale plus faible et une NRM, ainsi qu'une mortalité liée à la GvHD et aux infections plus élevée, chez les sujets ayant une faible diversité microbienne [76]. Le microbiote des sujets à faible diversité était généralement dominé par un seul genre bactérien, comprenant *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae* ou *Lactobacillus*. Ces résultats ont été confirmés par Peled *et al.* avec 8767

échantillons fécaux provenant de 1362 patients ayant reçu une allo-CSH dans quatre centres différents, aux Etats-Unis, en Europe et en Asie. Ils ont ainsi montré une diminution de la diversité bactérienne présente avant même le début du conditionnement et une domination par des taxons uniques. Une plus grande diversité du microbiote intestinal au moment de la sortie d'aplasie mais aussi avant le début du conditionnement était corrélée à une meilleure survie globale dans des cohortes indépendantes. De plus, ils ont trouvé une association entre une faible diversité intestinale et des risques accrus de NRM de décès attribuables à la GvHD [77]. Dans une population pédiatrique, des résultats similaires ont été mis en évidence. Dans une cohorte de 90 receveurs pédiatriques de greffes de cellules souches allogéniques il existe une corrélation entre une faible diversité microbienne intestinale, une survie globale plus faible et une incidence plus élevée de la GvHD aiguë de grade II-IV. Cette étude a également montré des abondances plus élevées d'*Enterococcaceae* et d'*Enterobacteriaceae* dans le groupe à faible diversité, tandis que le groupe à haute diversité avait une représentation accrue de *Ruminococcaceae* et d'*Oscillospiraceae* [78].

Le lien entre la diversité du microbiote intestinal et le risque de rechute ou de progression de la maladie sous-jacente a également été étudié [79]. L'abondance de *Eubacterium limosum* (ordre des *Clostridiales*) a été associée à un risque réduit de rechute ou de progression de la maladie. *Eubacterium limosum* est impliqué dans la production de butyrate, suggérant un effet immunomodulateur sous-jacent à l'association observée.

Jenq et *al.* ont constaté que la richesse du microbiote en *Blautia* (ordre des *Clostridiales*) est associée à une réduction de la létalité de la GvHD et à une amélioration de la survie globale. La perte de *Blautia* était associée à la prise d'antibiotiques inhibant les bactéries anaérobies et à l'utilisation de la nutrition parentérale totale pendant une longue période. *Blautia* est une bactérie productrice de butyrate, un acide gras à chaîne courte qui module les lésions des cellules épithéliales intestinales après allo-CSH et atténue la GvHD dans un modèle murin.

Au début de la GvHD aiguë chez l'homme, il existe des variations substantielles dans les métabolites dérivés du microbiote, notamment dans les ligands du récepteur des hydrocarbures aromatiques, les acides biliaires et les plasmalogènes. Il a été démontré que les lymphocytes T allo-réactifs déficients en récepteur principal du butyrate, le GPR109A, induisent moins de GvHD dans un modèle murin [80]. De plus, il a été montré que les patients ayant développé une GvHD avaient des concentrations plus faibles de propionate et de butyrate, des acides gras à chaîne courte, dans les échantillons de plasma du jour 100 post allo-CSH par rapport à ceux qui n'ont pas développé de GvHD chronique [48].

La présence des bactéries commensales et la grande diversité du microbiote chez les patients sont liées à une protection significative non seulement contre la GvHD, mais aussi contre les complications infectieuses systémiques et pulmonaires [81]. Les mécanismes précis de cette protection doivent encore être élucidés avant d'être mis en œuvre dans de nouvelles approches préventives, mais les effets positifs des métabolites microbiens (comme les acides gras à chaîne courte et les indoles) sur l'intégrité de l'épithélium et la régulation immunitaire ont été confirmés [82], [83]. Le **Tableau 2** résume l'influence des changements dans l'abondance des taxons bactériens sur les résultats des greffes de CSH.

Lors de l'allo-CSH, la dysbiose est liée notamment à l'utilisation d'antibiotiques à large spectre. Shono et *al.* ont ainsi étudié l'effet de l'utilisation des antibiotiques à large spectre dans une cohorte de 847 patients ayant subi une allo-CSH et ont constaté que le traitement de la fièvre neutropénique avec de l'imipénème-cilastatine et de la pipéracilline-tazobactam était associé à une perturbation de la composition du microbiote intestinal et à une augmentation de la mortalité liée à la GvHD à 5 ans [84]. L'effet néfaste des antibiotiques a été confirmé par Weber et ses collègues, qui ont montré dans une cohorte de 621 patients ayant subi une allo-CSH que l'exposition précoce aux antibiotiques (avant le jour 0 de l'allo-CSH) était associée à des concentrations plus faibles de sulfate de 3-indoxyl dans les urines, une diminution de l'abondance fécale des *Clostridiales* commensaux et une NRM plus élevée que pour les patients ayant commencé les antibiotiques après l'allo-CSH ou n'ayant pas reçu d'antibiotiques [29]. Ces observations soulignent l'impact significatif des antibiotiques sur le microbiote intestinal, et d'autres études ont démontré que même une administration d'antibiotiques pendant seulement trois jours est capable d'induire une perturbation prolongée du microbiote intestinal allant jusqu'à six mois, certaines espèces ne revenant pas du tout dans le microbiote intestinal de l'hôte [85], [86]. Ces effets ont été observés pour divers antibiotiques tels que la ciprofloxacine, l'azithromycine, la minocycline ou les céphalosporines, entre autres. À ce jour, il n'existe pas de données exhaustives sur la durée et la gravité de la perturbation du microbiote par chaque sous-classe d'antibiotiques [86], [87], [88].

Tableau 2: Les changements dans l'abondance des taxons bactériens influencent les résultats de greffe de cellules souches hématopoïétiques

Taxon	Résultats de l'étude	Référence
Associations avec des résultats positifs		
<i>Blautia</i>	Diminution du besoin de traitement systémique pour la GVHD aiguë. Diminution de la mortalité liée à la GVHD et à la rechute. Amélioration de la survie globale.	Jenq RR, Biol Blood Marrow Transplant, 2015 [89]
<i>Lachnospiraceae</i>	Réduction de l'incidence de la GVHD létale	
<i>Lachnospiraceae, Actinomycetaceae</i>	Abondance accrue chez les patients ayant survécu après une greffe de cellules souches hématopoïétiques	Taur Y, Blood, 2014 [76]
<i>Faecalibacterium, Ruminococcus, Akkermansia</i>	Meilleure greffe de neutrophiles	Schluter J, Nature, 2020 [73]
<i>Ruminococcus, Staphylococcus</i>	Meilleure greffe des lymphocytes	
<i>Clostridium spp</i>	La perte de <i>Clostridium</i> est associée à une survie réduite et à une augmentation des taux de GVHD	Stein-Thoeringer CK, Science, 2019 [90]
<i>Ruminococcaceae Oscillospiraceae</i>	Abondance plus élevée dans le groupe à diversité élevée, notée pour une amélioration de la survie globale et une incidence réduite de la GVHD aiguë de grade 2-4	Masetti R, Blood, 2023 [78]
<i>Eubacterium limosum</i>	Une abondance plus élevée est corrélée à une diminution du risque de rechute/progression de la maladie	Peled JU, J Clin Oncol, 2017 [79]
<i>Bifidobacterium</i>	Effet antitumoral amélioré de l'inhibiteur de CTLA-4 chez les souris	Vétizou M, Science, 2015 [91]

<i>Firmicutes</i>	Effet antitumoral amélioré de l'inhibiteur de CTLA-4 chez les humains	Weber D, Biol Blood Marrow Transplant, 2017 [92]
Associations avec des résultats négatifs		
<i>Veillonella</i>	Augmentation de la mortalité liée à la GVHD	Jenq RR, Biol Blood Marrow Transplant, 2015 [89]
<i>g-Proteobacteria (Enterobacteriaceae)</i>	Abondance plus importante chez les patients décédés après la greffe de cellules souches hématopoïétiques	Taur Y, Blood, 2014 [76]
<i>Rothia, Clostridium sensu stricto 1</i>	Retard dans la reconstitution des neutrophiles	Schluter J , Nature, 2020 [73]
<i>Enterococcus (E. faecalis et E. faecium)</i>	La domination dans la période précoce post-greffe de CSH est associée à une diminution de la survie globale et à une augmentation de la mortalité liée à la GVHD chez les humains et les souris	Stein-Thoeringer CK, Science, 2019 [90]
<i>Enterococcaceae et Enterobacteriaceae</i>	Une abondance plus élevée dans le groupe de faible diversité est associée à une survie globale diminuée et à une incidence plus élevée de aGVHD de grade 2-4	Masetti R, Blood, 2023 [78]
<i>Staphylococcus</i>	Retard dans la reconstitution des lymphocytes T CD4	Miltiados O, Blood, 2022 [93]

5. Transfert de microbiote fécal (TMF) : Un moyen efficace de traiter la dysbiose

L'utilisation de matière fécale comme traitement médicamenteux est une caractéristique notable de la médecine traditionnelle chinoise [94]. En 2013, des chercheurs de l'Université d'Amsterdam aux Pays-Bas ont réalisé le tout premier TMF pour traiter une infection par *Clostridioides difficile* (CDI), obtenant des résultats remarquables [95]. L'efficacité du TMF s'est révélée prometteuse, avec un taux de succès de plus de 80 % pour une seule perfusion et de plus de 90 % pour deux perfusions répétées. De plus, le TMF a démontré une efficacité prometteuse dans le traitement de diverses conditions médicales, notamment la maladie de Parkinson, la sclérose en plaques, l'autisme, le diabète, l'obésité et les MICI [96], [97].

Une faible diversité du microbiote intestinal chez les receveurs d'une allo-CSH au moment de la greffe est associée à de moins bons résultats de survie [76], [79], [89]. Restaurer cette diversité après la greffe peut améliorer les résultats, notamment en réduisant les risques de GvHD aiguë et de rechute de la maladie. Le TMF provenant d'un donneur sain offre des perspectives prometteuses. Il a ainsi été montré que le TMF à partir d'un donneur tiers après allo-CSH est sûr et associé à une expansion de la diversité du microbiote du receveur [98].

Au vu du lien entre dysbiose et GvHD aiguë, le TMF a également été évalué dans le traitement de cette complication. Par exemple, Spindelboeck *et al.* ont rapporté l'utilisation sécurisée du TMF chez trois patients atteints de GvHD intestinale aiguë réfractaire sévère. Bien que les patients aient nécessité des TMF répétés, ils ont connu une considérable amélioration des symptômes et des résultats endoscopiques [99]. Cette stratégie a également été évaluée dans un essai clinique de phase II, évaluant le produit de TMF MaaT013, chez des patients avec une GvHD aiguë intestinale (GI-aGvHD) de grade III-IV, réfractaire aux stéroïdes. La particularité de ce produit de TMF, MaaT013, est d'être une thérapie standardisée, constituée de pool de selles de donneurs sains, présentant une richesse et une diversité bactériennes élevées. En particulier, MaaT013 est riche en bactéries productrices de butyrate. Les résultats de cette étude sont prometteurs avec un taux de réponse de 38 % au 28^{ème} jour et la réponse est associée à une plus grande diversité du microbiote [100]. MaaT013 est en cours d'évaluation dans une étude clinique pivotale de phase 3 (ARES) chez des patients atteints de GI-aGvHD et résistants à la fois aux stéroïdes, le traitement standard de première ligne, et au ruxolitinib, utilisé comme traitement de deuxième ligne.

6. Microbiote et hématopoïèse

Au cours de la dernière décennie, une augmentation significative de la reconnaissance de l'interaction entre le microbiote intestinal et le système hématopoïétique a été observée. Plusieurs études montrent en effet l'implication du microbiote intestinal sain dans l'hématopoïèse dans des conditions physiologiques normales, affectant à la fois les CSH et les cellules progénitrices ainsi que les cellules immunitaires différenciées [101], [102], [103], [104]. Les métabolites microbiens pénètrent dans la circulation où ils peuvent déclencher une signalisation cytokinique qui influence l'hématopoïèse. Les voies de signalisation connues pour influencer l'hématopoïèse sont résumées dans le **Tableau 3**.

Dans un modèle de souris évaluant les lésions induites par les radiations sur le système hématopoïétique, certaines souris ayant une composition de microbiote intestinal différente avec une abondance des taxons bactériens tels que les *Lachnospiraceae* et les *Enterococcaceae*, avaient une meilleure récupération hématopoïétique post-radiothérapie et réparation intestinale. Chez ces souris, le microbiote intestinal favorisait l'hématopoïèse post-radiation et la réparation intestinale en produisant des motifs moléculaires associés aux microbes (MAMPs) tout en réduisant les réactions pro-inflammatoires [105]. De plus, il a été démontré que l'acide indol-3-propionique, un métabolite microbien intestinal, atténue les dommages causés par l'exposition aux radiations sur le système hématopoïétique et l'estomac [106]. Zhang et *al.* ont également découvert que le microbiote intestinal régule les macrophages dans la moelle osseuse, influençant l'auto-renouvellement et la différenciation des CSH en assurant le fer dans la moelle osseuse en conditions de stress.

Enfin, dans un modèle murin, le lactate provenant du microbiote intestinal, arrive à la moelle osseuse par le sang et stimule la sécrétion du stem cell facteur (SCF) par les cellules souches mésenchymateuses LepR⁺ environnantes. Le SCF est crucial pour la prolifération des CSH. Cette activation des CSH pour l'hématopoïèse et l'érythropoïèse se produit de manière dépendante de Gpr81 [107].

Tableau 3: Voies de signalisation immunitaire induites par le microbiote et leurs effets sur le système hématopoïétique

Signalisation	Effet sur le système hématopoïétique	Références
NOD1	Favorise indirectement l'hématopoïèse en induisant la production de cytokines par les cellules souches mésenchymateuses.	Hill DA <i>et al.</i> , Nat Med, 2012 [108]
	L'axe RAC1-NOD1-RIPK2-NFκB initie la signalisation inflammatoire dans l'environnement hématopoïétique, entraînant la spécification des CSH.	Cheng X <i>et al.</i> , Nat Commun, 2023 [109]
	La signalisation NOD1 dans le compartiment hématopoïétique régule la polarisation pro-inflammatoire des macrophages et l'infiltration des neutrophiles dans le tissu adipeux.	Chan KL <i>et al.</i> , Cell Rep, 2017 [110]
TLR/MYD88	La reconnaissance bactérienne lors d'une infection favorise la sécrétion de G-CSF par les cellules endothéliales et les monocytes, entraînant l'accélération de la granulopoïèse.	Takehara M <i>et al.</i> , Commun Biol, 2019 [111]
	La signalisation TLR4 favorise la maturation des lymphocytes B.	Hayashi EA <i>et al.</i> , J Immunol, 2005 [112]
	La stimulation TLR7 aux surfaces épithéliales induit la myélopoïèse d'urgence.	Jackson WD <i>et al.</i> , Elife, 2023 [113]
	L'activation de TLR2 entraîne l'expansion des CSH à la fois dans la moelle osseuse et la rate, une augmentation du cycle des CSH et une réduction des progéniteurs mégacaryocytaires-érythroïdes de la moelle osseuse.	Herman AC <i>et al.</i> , Blood Cancer J, 2016 [114]
RIG-I MAVS	L'activation de RIG-1 par l'ARN d'éléments répétitifs, exprimés pendant la transition endothéliale-hématopoïétique, module la signalisation inflammatoire qui est cruciale pour la formation des CSH pendant le développement.	Lefkopoulos S <i>et al.</i> , Immunity, 2020 [115]
cGAS-STING	Le cia-cGAS est un suppresseur de cGAS. La déficience du cia-cGAS favorise l'activation de STING, entraînant une augmentation du cycle des CSH et l'épuisement des CSH médié par cGAS.	Xia P <i>et al.</i> , Immunity, 2018 [116]
	L'activation de la voie STING par le c-di-GMP bactérien s'active de manière indépendante de cGAS, induit la prolifération et la mobilisation des CSH ainsi que la différenciation biaisée vers les cellules myéloïdes, mais réduit l'auto-renouvellement et la mobilisation des CSH.	Kobayashi H <i>et al.</i> , Cell Rep, 2015 [117]

Chez l'homme, les données suggérant une connexion entre le microbiote intestinal et l'hématopoïèse ont émergé de l'observation que les cytopénies sont une complication majeure de l'utilisation d'antibiotiques [118]. Une étude rétrospective a montré que la neutropénie, l'éruption cutanée et la néphrotoxicité étaient les effets secondaires les plus courants, survenant chez un tiers des patients recevant une thérapie antimicrobienne parentérale ambulatoire [119]. Une analyse rétrospective a révélé que 5 % à 15 % des patients ont développé une neutropénie, après 10 jours ou plus de traitement antibiotique par β -lactame [120]. Parmi les patients ayant développé une neutropénie, 94 % ont retrouvé des nombres de neutrophiles normaux après l'arrêt du traitement antibiotique. Cette constatation a été corroborée dans une analyse de cas cliniques, montrant que les patients développaient une neutropénie lorsqu'ils étaient traités avec la pénicilline G [121]. De même, en pédiatrie, une étude rétrospective menée auprès d'enfants hospitalisés a mis en évidence une association entre l'utilisation d'antibiotiques et des complications hématologiques indésirables telles que la leucopénie (29 % des événements indésirables hématologiques), la neutropénie (24 %), l'éosinophilie (21 %), l'anémie (18 %) et la thrombocytopénie (8 %) [122]. D'autres études ont identifié les β -lactamines, céphalosporines, lincosamides, glycopeptides et macrolides comme les principaux agents des complications hématologiques chez les enfants [123], [124]. Ces études suggèrent que la dysbiose du microbiote intestinal, provoquée par l'utilisation d'antibiotiques, peut avoir un impact significatif sur l'hématopoïèse.

J Fernandez-Sanchez et *al.* ont mené une récente étude multicentrique [124] sur des patients présentant des infections nécessitant une antibiothérapie prévue d'une durée de deux semaines ou plus. Des échantillons de selles ont été prélevés au début et à la fin du traitement antibiotique ainsi qu'au moment de la neutropénie. Les patients présentant une neutropénie ont montré une réduction de la présence des *Lachnospiraceae* et une diminution de la diversité du microbiote intestinal. Le profilage métabolomique non ciblé des selles a révélé plusieurs métabolites qui étaient diminués de façon statistiquement significative chez les patients atteints de neutropénie, y compris des membres des voies du cycle de l'urée, du métabolisme des pyrimidines et du métabolisme des acides gras, connus pour être produits par les *Lachnospiraceae*. Cette étude a confirmé une relation entre la perturbation du microbiote intestinal et l'hématopoïèse anormale, et a identifié des taxons et des métabolites spécifiques impliqués dans ce processus. Dans l'étude de Schluter et *al.*, les patients ayant reçu un auto-TMF après allo-CSH avaient une augmentation significative du nombre de neutrophiles, lymphocytes et monocytes après sortie d'aplasie par rapport aux patients n'ayant pas eu d'auto-TMF. De plus ils ont mis en évidence

que des abondances relatives plus élevées de *Faecalibacterium*, *Ruminococcus* et *Akkermansia* étaient associées à des taux accrus de neutrophiles, tandis que *Rothia* et *Clostridium* étaient associées à des taux réduits de neutrophiles. Ces résultats suggèrent l'implication du microbiote dans la récupération hématopoïétique [73].

D'autre part, Zeng et al. ont montré que le TMF de souris jeunes à des souris plus âgées, permet d'améliorer la fonction des CSH, améliore la différenciation des cellules de la lignée lymphoïde et diminue la différenciation des cellules de la lignée myéloïde. Une diminution des signaux inflammatoires et une augmentation de la signalisation FOXO a également été observée. De plus, ils ont montré que le TMF a amélioré la composition du microbiote intestinal et a diversifié les métabolites bactériens et que *Lachnospiracea* et les métabolites associés au tryptophane promeuvent la restauration de la fonction des CSH vieilles [125].

En lien avec ces découvertes, les bactéries commensales gram-négatives telles que *E.coli* ont le potentiel de favoriser l'expansion des CSH lors d'une inflammation intestinale aiguë, les orientant vers les ganglions lymphatiques mésentériques enflammés. De plus, ces CSH peuvent se différencier en cellules spécialisées dans la réparation des tissus intestinaux [126], avec le lipopolysaccharide (LPS) agissant sur le remodelage de leur chromatine pour promouvoir l'expansion des progéniteurs myéloïdes [127], et l'ADN CpG favorisant la production de monocytes et de cellules dendritiques [128], soulignant ainsi l'interconnexion entre le microbiote, l'hématopoïèse et la réponse immunitaire.

III-MAdCAM-1 (Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1)

1. MAdCAM-1 et homing des leucocytes vers la lamina propria

Le homing ou l'adressage des lymphocytes vers l'intestin est orchestré par un ensemble spécifique de chimiokines et d'intégrines. Les tissus lymphoïdes associés à l'intestin ainsi que les ganglions lymphatiques mésentériques possèdent des veinules à endothélium épais (HEV) qui facilitent l'entrée des cellules immunitaires dans le tissu. Ils se caractérisent par leur forte expression de la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire muqueuse 1 (MAdCAM-1) [129]. Les lymphocytes associés à l'intestin expriment l'intégrine alpha 4 bêta 7 ($\alpha 4\beta 7$ ou LPAM-1 (Lymphocyte Peyer's patch HEV Adhesion Molecule-1)) qui se lie à MAdCAM-1.

L'organisation structurale des ganglions lymphatiques (LN) est très complexe. À l'intérieur des LN, les artères se ramifient en de minuscules capillaires dans le cortex externe ou la zone des LB et se transforment sans transition en un réseau de veinules post-capillaires à endothélium épais. L'histologie cuboïdale distinctive des HEV, en contraste avec les veinules ordinaires à paroi plate, a conduit à la désignation des HEV [130], [131] (**Figure 9**). Les HEV se caractérisent par la présence d'adressine nodale périphérique (PNAd) sur leur surface interne et apicale. Le PNAd agit comme un ligand pour CD62L et est généralement exclusif aux HEV. Toutefois, en cas d'inflammation, son expression peut être déclenchée dans les vaisseaux d'organes non lymphoïdes [129], [132]. Durant la gestation et à la naissance, les HEV expriment également le MAdCAM-1, un phénomène rapidement diminué dans les ganglions lymphatiques périphériques durant les premières étapes du développement post-partum [133], [134]. Dans le tissu lymphoïde associé à l'intestin grêle (GALT), les HEV sont caractérisées par la présence de MAdCAM-1, qui peut être co-exprimé en conjonction avec le PNAd dans les ganglions lymphatiques mésentériques.

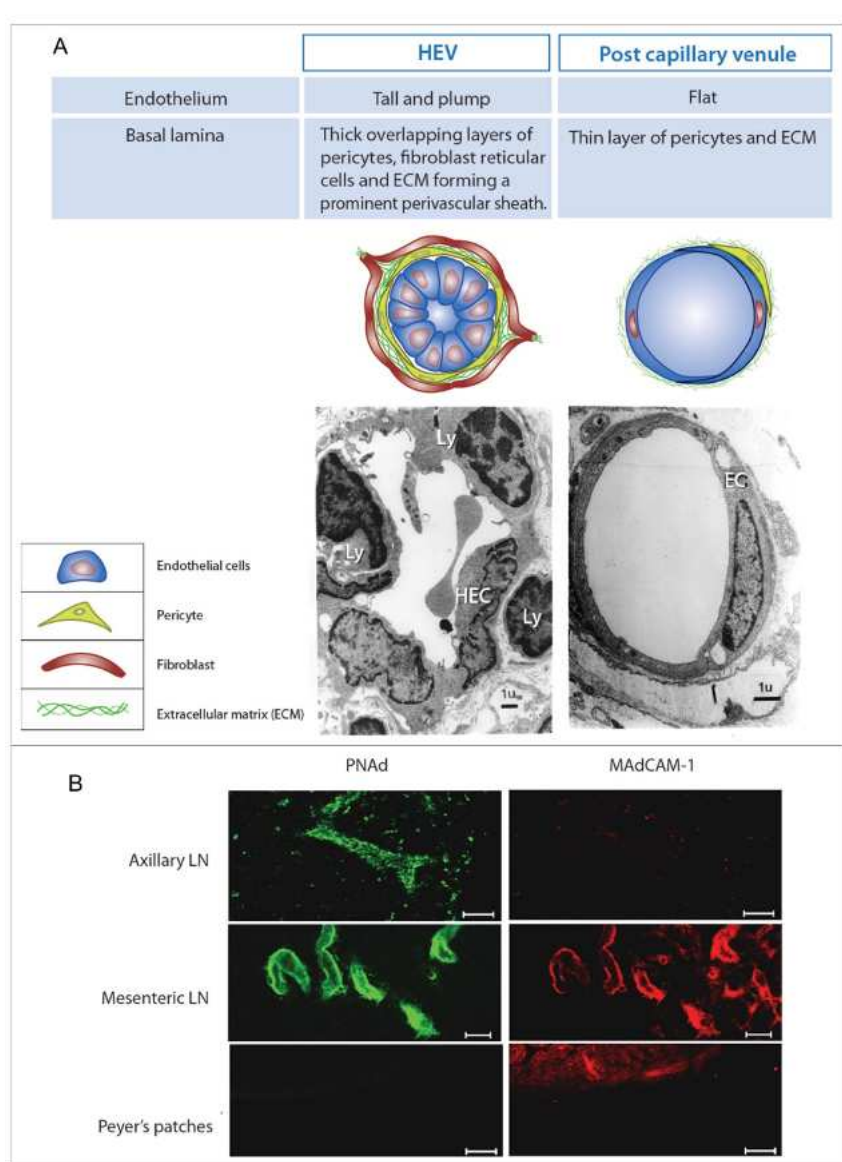


Figure 9: Caractéristiques des veinules à endothélium épais par rapport aux veinules postcapillaires : Expression différentielle de PNAd et MAdCAM-1 dans différentes muqueuses

Ager *et al.*, Oncoimmunology, 2015 [130]

MAdCAM-1 est une glycoprotéine de 66 kDa présentant une homologie avec les immunoglobulines et appartenant à une sous-classe de la superfamille des immunoglobulines (IgSF) comprenant de molécules d'adhésion, telles que Inter Cellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) et la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire-1 (VCAM-1) [135]. L'intégrine $\alpha 4\beta 7$ est surexprimée sur les lymphocytes et activée par les cellules dendritiques migratoires, sécrétant de l'acide rétinoïque, dérivées de la lamina propria dans les ganglions lymphatiques mésentériques. MAdCAM-1/ $\alpha 4\beta 7$ dirige les lymphocytes B et lymphocytes T activés par l'antigène vers l'intestin ou le GALT et guide les cellules mémoires vers les ganglions

lymphatiques mésentériques ou les plaques de Peyer. Chez la souris, MAdCAM-1 est une molécule transmembranaire comportant deux domaines Ig N-terminaux distaux qui interagissent avec l'intégrine $\alpha 4\beta 7$, une région de type mucine impliquée dans les interactions avec des protéines liant les glucides, telles que la L-sélectine (CD62L) essentielle pour l'adhésion cellulaire [136], et un domaine Ig proximal à la membrane qui partage une homologie avec l'IgA [137]. Cependant, chez l'humain, le domaine de type mucine est plus court que chez la souris et le domaine homologue à l'IgA est absent, reflétant une prédominance de l'interaction avec l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ plutôt qu'avec la L-sélectine [138], [139].

L'activation de certaines intégrines peut être influencée par le remplacement du Mg^{2+} par du Mn^{2+} , entraînant une modification de la conformation de l'hétérodimère [140], [141], [142], [143]. L'activation des cellules RAW112 ($\alpha 4^+ \beta 1^+ \beta 7^-$) par du Mn^{2+} induit une liaison à VCAM-1 mais pas à MAdCAM-1, tandis que les cellules TK1 ($\alpha 4^+ \beta 7^+ \beta 1^-$) ont montré une liaison améliorée à MAdCAM-1 et une adhérence *de novo* à VCAM-1 en réponse au Mn^{2+} . La L-sélectine est une lectine de type C de surface cellulaire qui peut médier le roulement sur les veinules endothéliales intestinales exprimant MAdCAM-1 [144].

L'expression de $\alpha 4\beta 7$ sur les leucocytes pré-activés dans les ganglions lymphatiques mésentériques et recirculant dans le sang est cruciale pour leur homing dans l'intestin. La structure anatomique des veinules postcapillaires à endothélium épais aide à réduire l'écoulement sanguin, mais l'interaction de $\alpha 4\beta 7$ avec MAdCAM-1 exprimé sur les cellules endothéliales permet de réduire la vitesse des cellules sur l'endothélium. En effet, cette interaction contribue à l'ancrage et au roulement des cellules sur l'endothélium et participe à la phase d'activation. La phase d'activation consiste en un changement de conformation de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ renforçant son affinité pour MAdCAM-1 conduisant à l'adhérence ferme des cellules et est accompagnée d'une surexpression de l'expression de CCR9 [145] (**Figure 10**). À noter, l'homéostasie des lymphocytes intestinaux est renforcée par le gradient chimiotactique de la chimiokine CCL25 produit par la lamina propria qui attire les lymphocytes exprimant CCR9, dont l'expression est également induite par les cellules dendritiques CD103⁺ sécrétant de l'acide rétinoïque dans les ganglions lymphatiques mésentériques (**Figure 11**) [146], [147], [148], [149]. En revanche, dans le côlon, la transmigration des leucocytes dans les tissus est médiée par le récepteur couplé à la protéine G orpheline 15 (GPR15) [150]. Le GPR15 contrôle l'adhésion des lymphocytes T à MAdCAM-1 et à VCAM-1 en amont des intégrines $\alpha 4\beta 7$ et $\alpha 4\beta 1$, respectivement. De manière cohérente, une forte co-expression de ces intégrines avec le

GPR15 a été observée sur les lymphocytes T de patients atteints de MICI. Les anticorps anti-GPR15 ont efficacement bloqué l'homéostasie intestinale des lymphocytes T *in-vitro* et *in-vivo*. Les données *in-vitro* ainsi que les observations dans une cohorte de patients traités par vedolizumab suggèrent que cela pourrait être plus efficace que l'inhibition de $\alpha 4\beta 7$.

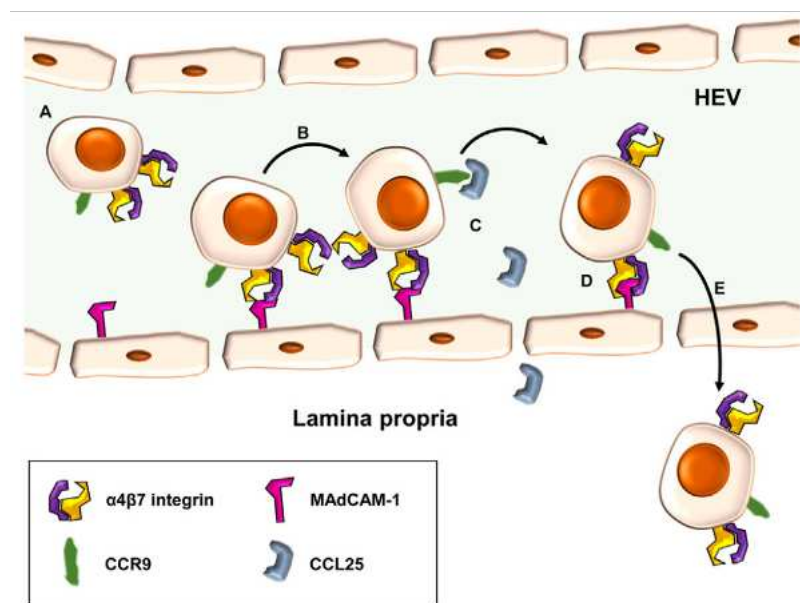


Figure 10: Les mécanismes de l'adressage des lymphocytes T dans l'intestin via l'axe MAdCAM-1/ $\alpha 4\beta 7$

Zundler *et al.*, *Frontiers in Immunology*, 2017 [145]

Les lymphocytes T d'adressage intestinaux portant l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ et le récepteur de chimiokine CC (CCR) 9 (A) peuvent rouler le long des veinules endothéliales post-capillaires (HEV) de l'intestin par des interactions à faible affinité de $\alpha 4\beta 7$ avec la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire muqueuse (MAdCAM)-1 (B). Suite à la signalisation du CCR, par exemple, via la chimiokine CC (CCL)-25 et CCR9 (C), la modulation de l'affinité de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ permet une interaction étroite avec MAdCAM-1 et conduit à une adhérence ferme des cellules à la paroi endothéliale (D). Par la suite, les lymphocytes T peuvent migrer de manière paracellulaire ou transcellulaire vers la lamina propria (E).

DeBerg *et al.* ont exploré un rôle pour l'interaction MAdCAM–intégrine en tant que signal de co-stimulation spécifique à l'intestin, démontrant qu'elle peut remplacer la liaison du CD28

pour activer les lymphocytes T humains *in vitro*. Cette activation via l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ est médiée par MAdCAM-1, et ne peut pas être reproduite par des molécules ou des protéines matricielles qui se lient à d'autres intégrines. L'analyse de l'expression de l'ARNm par les sous-ensembles de LT humains suite à une stimulation du récepteur des lymphocytes T (TCR) en présence ou en l'absence de co-stimulation CD28 *versus* MAdCAM-1 révèle une similitude marquée dans l'effet de ces deux signaux sur les lymphocytes T, avec des différences temporelles ou quantitatives détectées dans l'expression des cytokines associées aux cellules Th17 ou à l'inflammation pyogène [151]. Girard A *et al.* ont démontré que le TGF- β et l'acide rétinoïque sont deux facteurs qui, lorsqu'ils sont combinés avec la co-stimulation de MAdCAM-1, induisent les lymphocytes T CD8⁺ dérivés du sang à adopter un phénotype de lymphocytes T mémoires résidents de l'intestin [152].

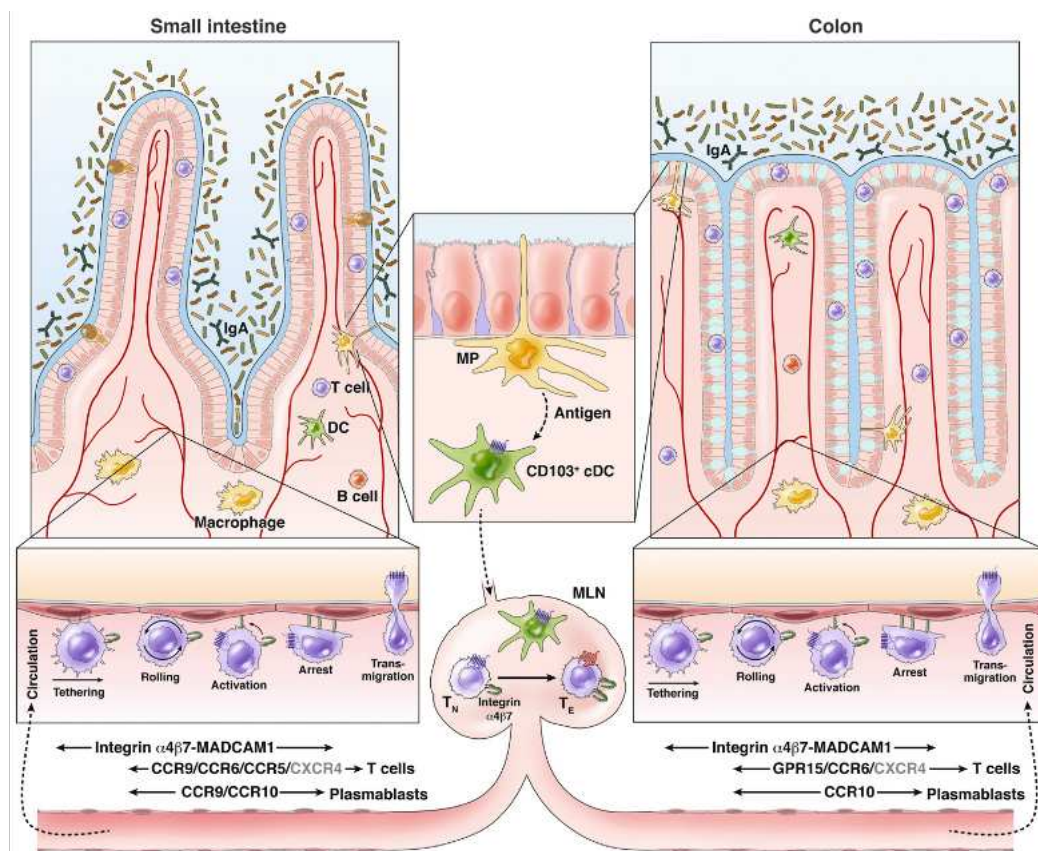


Figure 11: Le trafic des leucocytes vers l'intestin grêle et le colon

Habtezion *et al.*, *Gastroenterology*, 2016 [146]

Chez les humains et les animaux, l'exposition aiguë et chronique à l'éthanol perturbe la barrière intestinale, entraînant la translocation de l'endotoxine dans la circulation systémique et

provoquant une inflammation et des lésions de divers organes [153]. Il est bien connu que l'éthanol a un effet direct sur l'endothélium vasculaire [154], [155]. Les résultats de Siddiqui et *al.* montrent que la supplémentation en tributyrine (forme de supplémentation en butyrate) a prévenu l'expression de MAdCAM-1 induite par l'éthanol et a tendance à protéger la perte d'expression de CD31 (PECAM1) dans le jéjunum de la souris. Le soutien des contacts intercellulaires des cellules endothéliales microvasculaires et la prévention de l'activation des cellules endothéliales microvasculaires avec la supplémentation en tributyrine pourraient influencer les réponses des cellules immunitaires dans la lamina propria [156].

2. Expression extra-intestinale de MAdCAM-1

L'expression extra-intestinale de MAdCAM-1 a également été documentée dans divers tissus et organes, suggérant un rôle potentiel de MAdCAM-1 au-delà de la barrière intestinale [157]. Cependant, l'épissage alternatif contribue à modifier la structure du domaine et donc l'interaction avec $\alpha 4\beta 7$ et la L-sélectine [138]. Des études ont mis en évidence la présence de MAdCAM-1 dans les ganglions lymphatiques, les vaisseaux sanguins des poumons, la peau et les reins, indiquant une implication dans la régulation de l'homéostasie immunitaire et de la réponse inflammatoire à l'échelle systémique. Cette expression extra-intestinale de MAdCAM-1 met en évidence la complexité de son implication dans la régulation de la réponse immunitaire, soulignant ainsi son importance potentielle dans divers contextes pathologiques. Les travaux futurs visant à élucider les mécanismes sous-jacents et les implications cliniques de l'expression de MAdCAM-1 en dehors de l'intestin pourraient ouvrir de nouvelles perspectives dans la compréhension et le traitement des maladies inflammatoires et auto-immunes.

3. MAdCAM-1 et hématopoïèse

Dans le modèle de souris ARK prédisposées à la leucémie, l'expression de MAdCAM-1 et de PNAd est augmentée dans les vaisseaux sanguins médullaires thymiques qui deviennent des veinules postcapillaires à endothélium épais. Cette expression thymique de MAdCAM-1 et de PNAd contribue au recrutement des lymphocytes exprimant $\alpha 4\beta 7$ et la L-sélectine [158]. Chez les souris, le recrutement des cellules progénitrices hématopoïétiques $\alpha 4^+$ dans la moelle osseuse est due en partie à l'expression de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ suggérant un rôle de l'expression de MAdCAM-1 dans le homing des cellules progénitrices vers la moelle osseuse [159]. Il est à noter que l'irradiation létale induit l'expression de MAdCAM-1 sur les cellules endothéliales

de la moelle osseuse. Ce phénomène peut favoriser l'implantation des CSH exprimant $\alpha 4\beta 7$ chez les souris receveuses [160]. La transplantation allogénique de lymphocytes T chez les souris est associée à des événements indésirables au niveau intestinal. Cela est dû au recrutement des lymphocytes T dans les cryptes et à la perte des cellules souches intestinales impliquées dans la régénération intestinale. Les vaisseaux se situant à la base des cryptes intestinales expriment MAdCAM-1, ce qui est impliqué dans l'infiltration des lymphocytes T [161].

Une étude a examiné l'expression des molécules d'adhésion cellulaire dans la moelle osseuse de souris après une irradiation létale et une transplantation de moelle osseuse. Les chercheurs se sont concentrés sur MAdCAM-1, VCAM-1 et la fibronectine dans les cellules endothéliales de la moelle osseuse. Ils ont observé une augmentation significative de l'expression de MAdCAM-1 et de VCAM-1 après l'irradiation, tandis que les niveaux de fibronectine sont restés relativement constants. L'étude a également examiné l'impact de l'expression de la fibronectine sur le homing des lymphocytes après la transplantation montrant que le homing des cellules de la moelle osseuse est influencée par l'état des cellules endothéliales de la moelle osseuse et l'expression des molécules d'adhésion cellulaire [162].

4. sMAdCAM-1 (MAdCAM-1 soluble)

Les molécules d'adhésion des cellules endothéliales sont libérées dans le sérum après un processus de digestion enzymatique par des « sheddases ». La métalloprotéinase matricielle-9 (MMP-9) ou l'élastase neutrophile sont des sheddases bien connues [163], [164]. Il a été montré que sMAdCAM-1 peut être détecté dans les fluides corporels humains, tels que le sérum et l'urine [165]. Dans un récent essai clinique de phase II (étude TURANDOT) évaluant un anticorps anti-MAdCAM-1 chez des patients atteints de colite ulcéreuse (UC), Vermeire et *al.* ont rapporté une corrélation entre la forme soluble circulante de MAdCAM-1 (sMAdCAM-1) et son expression tissulaire [166]. La concentration de sMAdCAM-1 a été mesurée au début de l'étude et à la semaine 12. Une diminution de la concentration de sMAdCAM-1 a été observée dans le groupe de traitement actif, mais pas dans le groupe sous placebo.

La corrélation entre l'expression intestinale de MAdCAM-1 et la quantité de sMAdCAM-1 dans le sang semble évidente et bien acceptée, mais n'a jamais été publiée. Le dosage de MAdCAM-1 soluble est souvent utilisé dans les essais cliniques des MICI comme

biomarqueur du résultat clinique [167]. Les niveaux de sMAdCAM-1 au cours du traitement d'entretien par vedolizumab (anti- $\alpha 4\beta 7$) étaient associés à la rémission clinique [167]. Dans un sous-groupe de patients traités par vedolizumab et suivis longitudinalement, les concentrations de sMAdCAM-1 ont diminué chez tous les patients, mais les concentrations basales de sMAdCAM-1 n'étaient pas corrélées aux résultats cliniques [168]. Battat *et al.* montrent des résultats similaires, mais décrivent une diminution plus rapide du sMAdCAM-1 chez les patients en rémission en utilisant une modélisation linéaire à effets mixtes.

Dans le cas du syndrome d'immunodéficience acquise, la réplication virale active dans le tissu lymphoïde associé au tube digestif est associée à une augmentation spectaculaire de sMAdCAM-1 dans le sérum [169], [170]. Récemment, la diminution de sMAdCAM-1 dans le sang a été associée à des formes cliniques graves de COVID-19 [171], [172].

5. Régulation de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ et MAdCAM-1 et immunité intestinale

L'expression de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ est régulée de manière complexe par divers facteurs. En ce qui concerne MAdCAM-1, son niveau d'expression dans les plaques de Peyer (PP), mais pas dans la lamina propria ou les ganglions lymphatiques mésentériques, est étroitement liée aux stimuli provenant de l'alimentation entérale. En effet, en l'absence d'une alimentation par voie orale, une tendance à la diminution de son expression est observée, accompagnée d'une réduction du nombre de PP dans l'intestin grêle [173], [174].

Chez les rongeurs, l'expression de MAdCAM-1 dans les plaques de Peyer est également altérée en réponse à des conditions de nutrition parentérale ou de jeûne [175]. Cependant, l'accès des souris à une alimentation standard, pendant le blocage de MAdCAM-1 aide à maintenir les niveaux d'IgA et la réponse antibactérienne malgré les altérations du homing des lymphocytes dans les tissus lymphoïdes associés au tube digestif [173].

Le facteur de transcription NKX2.3 joue un rôle crucial dans la régulation de l'expression de MAdCAM-1 au sein du tissu lymphoïde associé au tube digestif, contribuant ainsi à l'organisation structurelle des plaques de Peyer et des ganglions lymphatiques mésentériques [176], [177]. Notamment, l'expression du gène NKX2.3 dans le tractus gastro-intestinal est associée à la physiopathologie des MICI [178]. Chez l'humain, le gène *Nkx2.3* est principalement exprimé dans le tractus gastro-intestinal, les tissus lymphoïdes, ainsi que dans

d'autres organes tels que le foie et le pancréas. De plus, l'expression de MAdCAM-1 dans l'intestin est essentielle pour le recrutement et la fonction des plasmocytes sécrétant de l'IgA au sein des plaques de Peyer [179]. Par ailleurs, le processus de vieillissement induit des altérations dans la réponse immunitaire intestinale, caractérisée notamment par une diminution de l'infiltration des immunoblastes producteurs d'IgA au sein des plaques de Peyer. Chez les rats âgés, une diminution significative de l'expression de MAdCAM-1 est observée au niveau des vaisseaux sanguins de la lamina propria [180], [181].

L'expression endothéliale de MAdCAM-1 est induite au niveau transcriptionnel par le TNF- α , l'IL-1 β et le LPS et nécessite des protéines NF- kappa B activées (NF- κ B) [157], [182], [183]. La surexpression de MAdCAM-1 est décrite dans les MICI et est associée à une infiltration accrue de cellules α 4 β 7⁺ dans la lamina propria du colon [184], [185]. L'expression de MAdCAM-1 induite par le TNF- α peut être atténuée par l'administration exogène d'oxyde nitrique (NO), offrant ainsi une possible approche thérapeutique dans les MICI [186].

L'étude de Sasaki *et al.* a examiné la capacité de l'IL-10 à influencer l'expression et la fonction de MAdCAM-1 [187]. Les résultats ont montré que la transfection d'un vecteur d'expression de l'IL-10 a entraîné une diminution significative de l'adhérence des leucocytes médiée par MAdCAM-1 dans une lignée cellulaire endothéliale intestinale de souris immortalisée.

L'interaction entre l'intégrine α 4 β 7 et MAdCAM-1 joue un rôle crucial sur le plan biologique. En effet, MAdCAM-1 peut agir sur les lymphocytes T comme molécule de costimulation par anti-CD3. Il est intéressant de noter que contrairement à l'interaction entre α 4 β 7 et VCAM-1, celle-ci ne déclenche pas la prolifération des lymphocytes T [188]. De plus, il est essentiel que MAdCAM-1 soit exprimée dans l'intestin pour favoriser la production d'IgA. En effet, le blocage de MAdCAM-1 avec un anticorps monoclonal conduit à une diminution de l'infiltration des lymphocytes B et à une baisse significative du taux d'IgA sérique, sans affecter les taux d'IgG ou d'IgE [189]. La sécrétion d'IgA par les lymphocytes B contribue à protéger la barrière intestinale.

6. Rôle de l'axe MAdCAM-1/ α 4 β 7 dans la migration et l'immunorégulation des lymphocytes T dans l'intestin : Implications thérapeutiques et pronostiques

Fidelle et ses collègues ont d'abord montré que l'exposition à des antibiotiques à large spectre tels que l'ampicilline, la colistine et la streptomycine, réduisait l'expression de MAdCAM-1

spécifiquement dans l'iléon des souris, ceci favorisait la colonisation accrue par des espèces du genre *Enterocloster* (par exemple, *Enterocloster clostridioformis* et *Enterocloster bolteae*) capables de réduire directement et indépendamment l'expression de MAdCAM-1 iléale [190]. En conséquence, la sous-expression de MAdCAM-1 par le biais d'un traitement aux antibiotiques, d'une suppression génétique (souris MAdCAM1^{-/-}) ou d'une neutralisation par des anticorps, conduisait à l'exode iléal des cellules T régulatrices ROR γ t⁺FoxP3⁺CD4⁺ (Treg17) exprimant les intégrines α 4 β 7 (qui interagissent avec MAdCAM-1). Cela suggérait que MAdCAM-1 iléal pourrait jouer un rôle important dans l'arrêt ou la limitation de la migration systémique des cellules T régulatrices dérivées de l'intestin. De manière importante, ces résultats ont également été validés dans une cohorte de patients (n = 31 ; dix exposés aux antibiotiques et 21 non exposés aux antibiotiques) subissant une endoscopie intestinale et des biopsies (y compris des patients atteints de cancer colorectal). Spécifiquement, les patients traités aux antibiotiques montraient une diminution de l'expression de MAdCAM-1 iléal avec une perte concomitante de l'expression du gène IL17A iléal. En outre, ce type d'effet immunorégulateur dépendant du microbiome et centré sur MAdCAM-1 était transférable via un TMF de patients atteints de cancers bronchiques non à petites cellules (NSCLC) à des souris exemptes de pathogènes spécifiques (SPF). Les auteurs ont identifié des membres microbiens spécifiques (par exemple, *E. clostridioformis* et *Hungatella hathewayi*) et/ou des métabolites dérivés de l'intestin (par exemple, les acides biliaires acide ursodésoxycholique (UDCA) et acide lithocholique (LCA)) comme des moteurs potentiels de l'immunomodulation médiée par MAdCAM-1.

Ensuite, en utilisant des modèles murins permettant le suivi de la migration cellulaire systémique, Fidelle et ses collaborateurs ont montré que le traitement antibiotique ou la supplémentation orale avec *E. clostridioformis* augmentait significativement la migration de cellules Treg17 α 4 β 7⁺, mais pas α 4 β 7⁻, hautement clonales, prolifératives et immunorégulatrices des ganglions lymphatiques mésentériques vers la tumeur et les ganglions lymphatiques drainant la tumeur (TdLNs). Étant donné le fort potentiel immunorégulateur de ces cellules Treg17 dérivées de l'intestin, les auteurs ont émis l'hypothèse que l'efficacité thérapeutique du blocage des points de contrôle immunitaire (ICB) pourrait dépendre de cet axe MAdCAM-1- α 4 β 7-Treg17. En effet, les souris porteuses de tumeurs dépourvues de MAdCAM1 ou Itgb7 (codant pour l'intégrine β 7) et les souris co-traitées avec des anticorps neutralisants contre MAdCAM-1 et α 4 β 7 montraient de moins bons résultats sous ICB et étaient caractérisées par une empreinte accrue de cellules Treg17 α 4 β 7⁺ dans la tumeur par

rapport aux témoins. Cependant, cette perte observée de l'efficacité de l'ICB chez les souris traitées aux antibiotiques était récupérée simplement en neutralisant l'IL-17A. Cela soulignait encore l'importance apparente de cet axe immunorégulateur associé à l'intestin dans la médiation de l'immunité antitumorale systémique dans ces modèles.

Enfin, par l'analyse de quatre cohortes indépendantes de patients atteints de cancer traités par blocage des points de contrôle immunitaire, les auteurs ont montré que les patients présentant des niveaux élevés de MAdCAM-1 soluble (sMAdCAM-1) dans la circulation avaient une survie globale prolongée, suggérant que MAdCAM-1, en plus de représenter une cible thérapeutique potentielle, pourrait également être considéré comme un biomarqueur pronostique pour les traitements par blocage des points de contrôle immunitaire [190].

7. Inhibiteurs pharmacologiques de l'axe $\alpha4\beta7$

Au cours de la maladie inflammatoire chronique de l'intestin, l'expression de MAdCAM-1 au niveau du tissu intestinal est augmentée en raison de l'inflammation, ainsi que les concentrations de sMAdCAM-1 [191]. Par conséquent, de nombreux anticorps monoclonaux ciblant l'axe $\alpha4\beta7$ /MAdCAM-1 ont été développés pour contrer l'infiltration des leucocytes inflammatoires dans l'intestin lors des MICI [192], [193]. Le Vedolizumab (VDZ) est un anticorps monoclonal humanisé ciblant l'intégrine $\alpha4\beta7$. Il module l'inflammation de la paroi gastro-intestinale en limitant le recrutement des lymphocytes vers la lamina propria sans induire d'immunosuppression systémique. Le Vedolizumab a été approuvé en 2014 pour le traitement d'induction et d'entretien chez les patients atteints de MICI qui n'avaient pas répondu de manière adéquate à un ou plusieurs traitements standards (corticoïdes, immunomodulateurs ou anti-TNF). Une diminution significative de sMAdCAM-1 dans le sérum a été observée chez les patients traités par vedolizumab ou d'autres anticorps monoclonaux ciblant l'axe $\alpha4\beta7$ /MAdCAM-1. De plus, des inhibiteurs non spécifiques peuvent agir sur l'expression de MAdCAM-1 et $\alpha4\beta7$. En effet, les glucocorticoïdes, tels que la dexaméthasone et l'IL-10, peuvent être utilisés lors des MICI pour réduire l'expression de MAdCAM-1 au niveau de l'endothélium colique [186]. Cela souligne l'effet immunosuppresseur des corticoïdes dans l'intestin en diminuant l'expression de MAdCAM-1 et ainsi l'infiltration immunitaire au niveau de la lamina propria.

Récemment dans un essai international de phase 3, randomisé en double aveugle et contrôlé par placebo, Chen et *al.* ont évalué l'efficacité et la sécurité du vedolizumab ajouté à la prophylaxie standard de la GvHD (inhibiteur de la calcineurine plus méthotrexate/mycophénolate mofétil) pour la prévention de la GvHD aiguë du tractus gastro-intestinal inférieur après une allo-CSH de donneur non apparenté. 343 patients ont été randomisés (n = 174 vedolizumab, n = 169 placebo) et la survie sans GvHD aiguë du tractus gastro-intestinal inférieur à 180 jours après l'allo-CSH était significativement plus élevée avec le vedolizumab par rapport au placebo. De même, les critères d'efficacité secondaires comme la survie sans GvHD aiguë du tractus gastro-intestinal inférieur et sans rechute de la maladie sous-jacente à 180 jours ainsi que la survie sans GvHD aiguë de grade 3-4 à 180 jours étaient significativement plus élevés avec le vedolizumab par rapport au placebo. Enfin, l'incidence des événements indésirables graves liés au traitement analysée chez les patients recevant ≥ 1 dose du traitement (n = 334) était de 6,5 % (n = 11 sur 169) pour le vedolizumab contre 8,5% (n = 14 sur 165) pour le placebo [194].

8. MAdCAM-1 et IgA intestinales

La liaison entre MAdCAM-1 et la production des IgA dans le contexte de la réponse immunitaire intestinale est essentielle pour comprendre la régulation de la réponse immunitaire dans l'intestin. Les études menées par Schippers et *al.* ont démontré que l'absence de MAdCAM-1 chez les souris entraîne une réduction significative des plaques de Peyer, une altération du homing des plasmocytes IgA⁺ vers l'intestin grêle, et une incapacité à monter une réponse IgA intestinale normale après immunisation orale [179]. Ces résultats soulignent l'importance de MAdCAM-1 dans le recrutement des LB et la production des IgA dans l'intestin. De plus, l'étude de Kang et *al.* a montré que le blocage de MAdCAM-1 conduit à une diminution de l'infiltration des lymphocytes B et une réduction significative des IgA sériques, mettant en évidence le rôle crucial de MAdCAM-1 dans la production d'IgA [189]. En outre, les travaux de Fu et *al.* suggèrent que l'expression de MAdCAM-1 et la présence de lymphocytes IgA⁺ dans l'intestin sont perturbées lors de la nécrose hépatique aiguë, soulignant l'interconnexion entre MAdCAM-1, les lymphocytes IgA⁺ et la réponse immunitaire intestinale dans des conditions pathologiques [195]. Ces résultats mettent en lumière l'importance de la signalisation MAdCAM-1 dans la régulation de la production d'IgA et de la réponse immunitaire dans l'intestin, offrant ainsi des perspectives intéressantes pour la

compréhension des mécanismes immunologiques impliqués dans la santé intestinale et les pathologies associées.

Dans une récente étude menée par Pablo Canales-Herrerias et *al.*, les auteurs ont observé une réduction notable des plasmablastes intestinaux circulants (IgG⁺ et IgA⁺) après le traitement des patients atteints d'une UC par le VDZ. Ils ont également trouvé que la réponse au traitement par VDZ est associée à une diminution de la signalisation dépendante du FcγR [196]

La relation entre la flore commensale et le système de défense immunitaire n'est pas unilatérale. Le système immunitaire des muqueuses, induit par le microbiote, interagit à son tour avec celle-ci pour favoriser l'établissement d'une relation symbiotique équilibrée. Les mécanismes précis de cette symbiose sont variés, encore non élucidés, et impliquent de nombreux intervenants cellulaires et moléculaires présents dans diverses structures anatomiques (**Figure 12**).

Les IgA jouent un rôle central dans cette relation symbiotique, et la section suivante examine de manière plus détaillée la littérature sur les IgA et les IgG.

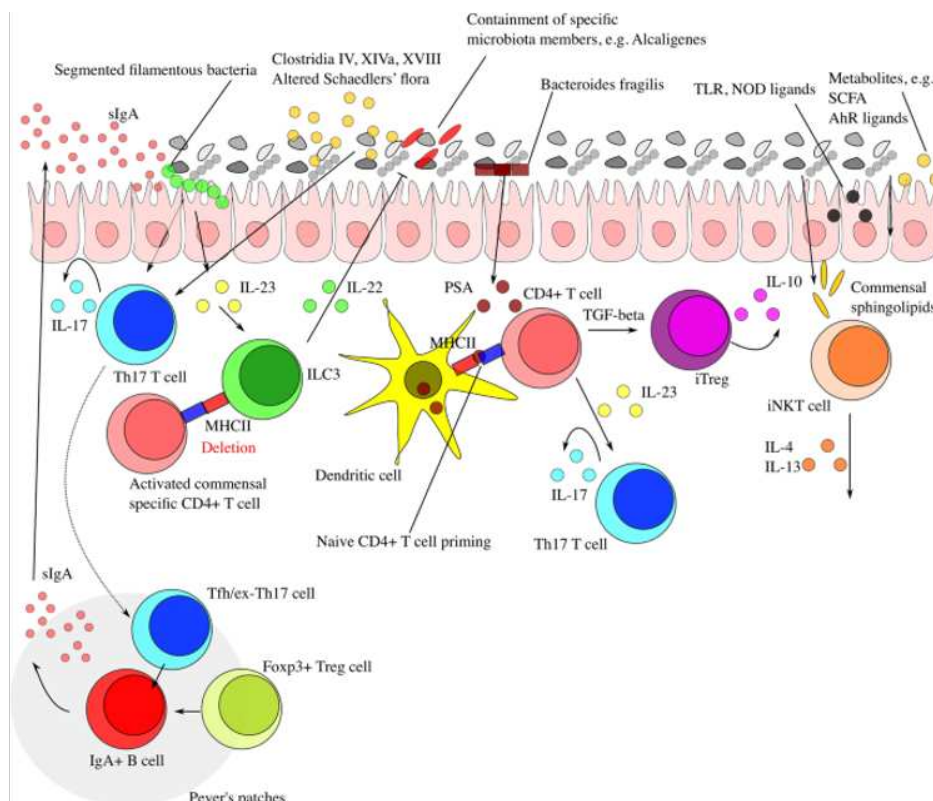


Figure 12: Interaction entre le microbiote intestinal et le système immunitaire dans l'homéostasie

Zheng D et *al.*, Cell Research, 2020 [197]

IV Immunoglobulines

Les lymphocytes du système immunitaire adaptatif ont évolué pour reconnaître de nombreux antigènes différents présents chez les bactéries, les virus et d'autres agents pathogènes, afin de lutter efficacement contre une grande variété de germes. Ces antigènes sont spécifiquement reconnus par des protéines de reconnaissance hautement spécialisées des lymphocytes. Sur les cellules B, ces protéines se présentent sous la forme d'immunoglobulines (Ig), des glycoprotéines hétérotétramériques composées de deux chaînes lourdes identiques et de deux chaînes légères identiques, adoptant une structure en forme de Y [198]. Les immunoglobulines possèdent une large diversité de spécificités antigéniques, chaque cellule B produisant des immunoglobulines d'une seule spécificité. Les Ig se présentent sous forme membranaire en tant que BCR (le récepteur d'antigène des cellules B), ou sous forme soluble en tant qu'anticorps. La sécrétion des anticorps, qui se lie aux pathogènes ou à leurs produits toxiques dans les espaces extracellulaires, constitue la principale fonction effectrice des cellules B dans l'immunité adaptative. La molécule d'anticorps remplit deux fonctions distinctes : elle se lie spécifiquement à un pathogène ou à ses produits ayant déclenché la réponse immunitaire, et elle recrute d'autres cellules et molécules pour détruire le pathogène auquel l'anticorps est lié. La variabilité des molécules d'anticorps permet à chaque anticorps de se lier à un antigène spécifique différent, et l'ensemble du répertoire des anticorps chez un individu est suffisamment vaste pour assurer la reconnaissance de toute structure.

Les immunoglobulines sécrétoires constituent la première ligne de défense immunitaire contre l'invasion des tissus muqueux par des microbes exogènes, mais elles contribuent également à la colonisation par la flore commensale.

1. Immunoglobulines A

1.1 Structure et sous-classe des IgA

La synthèse journalière des IgA est de 66mg/kg/jour, supérieure à celle de toutes les autres classes d'immunoglobulines combinées [199]. Chez l'être humain, deux isotypes d'IgA existent : l'IgA1 et l'IgA2, contrairement à la plupart des mammifères dont la souris, qui n'en présente qu'un. Les IgA1 se caractérisent par une région charnière, flexible qui sépare les domaines de liaison de l'antigène Fab des domaines effecteurs Fc, allongée de 13 acides aminés par rapport à l'IgA2, et contenant de nombreux sites de glycosylations, contrairement à l'IgA2 (**Figure 13**). Cette particularité des IgA1 est apparue tardivement dans le processus évolutif et

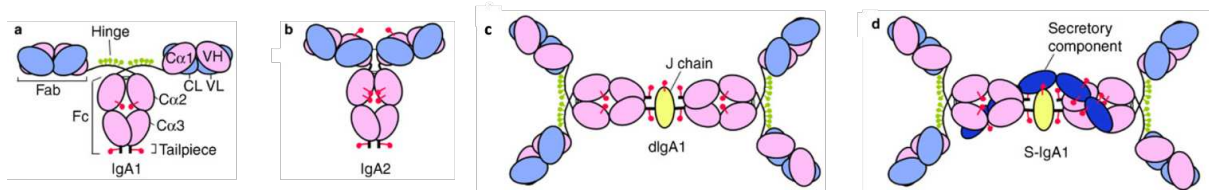
n'est pas présente dans les IgA des souris [200], [201]. Cela confère aux IgA1 une structure distincte, en forme de "T" et non en forme de "Y" comme les autres immunoglobulines, les rendant ainsi sensibles à la protéolyse bactérienne [202], [203], [204]. Aucune enzyme protéolytique n'a été identifiée à l'heure actuelle pour les IgA2 [205].

La répartition des sous-classes d'IgA varie en fonction des compartiments : l'IgA1 prédomine dans le sérum (90-95 % des IgA totales, soit en moyenne 1,7g/l) [206] tandis que l'IgA2 est plus abondante dans les muqueuses [207], [208], [209]. La distribution des deux isotypes d'IgA varie tout au long de l'intestin ([207], [208]). Les plaques de Peyer contiennent plus de LB IgA1+ que la lamina propria, tandis que le côlon contient principalement des LB sécrétant de l'IgA2 [210].

Les IgA sont principalement présentes sous forme de monomères dans le sérum, ou de dimères prédominants au niveau des muqueuses. Bien que leurs concentrations soient faibles, des trimères ou tétramères sont également observés dans les muqueuses [205], [211]. Les IgA1 et IgA2 ont la capacité de former des dimères voire des polymères.

La formation de complexes multimériques est facilitée par un peptide produit par les plasmocytes, appelé la chaîne J, qui assure la liaison covalente entre les chaînes lourdes. Ce processus est spécifique aux IgA et aux IgM [212]. Les mécanismes régulant la sécrétion de la chaîne J ne sont pas entièrement élucidés, mais il semble qu'elle soit exprimée par l'ensemble des plasmocytes (y compris les plasmocytes IgG), avec une préférence pour les plasmocytes IgA+ des muqueuses, ce qui explique la nature multimérique des IgA sécrétoires [213].

Les IgA sont caractérisées par une importante glycosylation qui varie en fonction de l'isotype et du degré de polymérisation. Par exemple l'IgA1 présente des sites de N-glycosylation communs avec l'IgA2 ainsi que des sites de O-glycosylation sur la région charnière. De son côté, la chaîne J contient un site de N-glycosylation qui contribue à la stabilisation des dimères [214]. La diversité des structures d'oligosaccharides liées aux IgA leur confère une hétérogénéité significative ainsi que des propriétés d'interaction complexes avec les surfaces bactériennes, épithéliales ou avec certains récepteurs tels que la Dectin-1 [215], [216], [217].



(a): IgA1; (b):IgA2; (c): IgA dimérique; (d):IgA sécrétoire

Figure 13: Structure des IgA

Modifiée d'après J M Woof, Mucosal Immunology, 2011 [205]

1.2 Induction et spécificité des IgA sériques

L'importance des IgA sériques dans les réponses immunitaires est largement méconnue et sous-estimée. Les sites traditionnels de production des IgA sériques incluent la rate, la moelle osseuse et les structures lymphoïdes secondaires non liées aux muqueuses. Cependant, la recherche sur le répertoire et les spécificités des IgA sériques est encore limitée. Il a été montré que les IgA sont induites par des antigènes provenant de l'alimentation et par des antigènes bactériens. En effet, la plupart des bactéries commensales sont reconnues par les IgA [218]. Des études récentes chez la souris ont mis en évidence le rôle de plusieurs commensaux dans l'induction de l'IgA sérique, liant en retour des bactéries pathogènes qui auraient transloqué en cas de fragilisation de la barrière intestinale, offrant ainsi une protection contre la septicémie polymicrobienne [219].

1.3 IgA sécrétoires (sIgA) et microbiote

Le GALT constitue le principal site de production des IgA : de nombreux plasmocytes IgA⁺ sont présents dans la lamina propria intestinale [220]. Les ganglions mésentériques situés sous la lamina propria, les plaques de Peyer organisées en follicules contenant des centres germinatifs avec un dôme recouvert de cellules M et les îlots lymphoïdes isolés qui ressemblent à des follicules dispersés dans la lamina propria jouent un rôle clé dans l'induction de la réponse IgA. Il a été montré que le répertoire des IgA est diversifié, stable et dynamique [221]. D'autre part, si le répertoire des IgA évolue rapidement au début de la vie pour ensuite se stabiliser, il demeure extrêmement flexible en cas d'invasion par un agent pathogène [222]. De plus, au fil

du temps, les IgA accumulent des mutations somatiques sans toutefois restreindre leur large spectre de réactivité. Elles reconnaissent ainsi les bactéries commensales avec des affinités généralement élevées mais variables, tandis que les IgA ciblant les pathogènes sont principalement de haute affinité. Le répertoire diversifié des IgA comprend également des IgA dites naturelles, peu mutées, de faible affinité, polyréactives, probablement dirigées contre les bactéries commensales. Ce modèle n'a pas encore été confirmé chez l'homme et ne tient donc pas compte des deux sous-classes d'IgA (**Figure 14**).

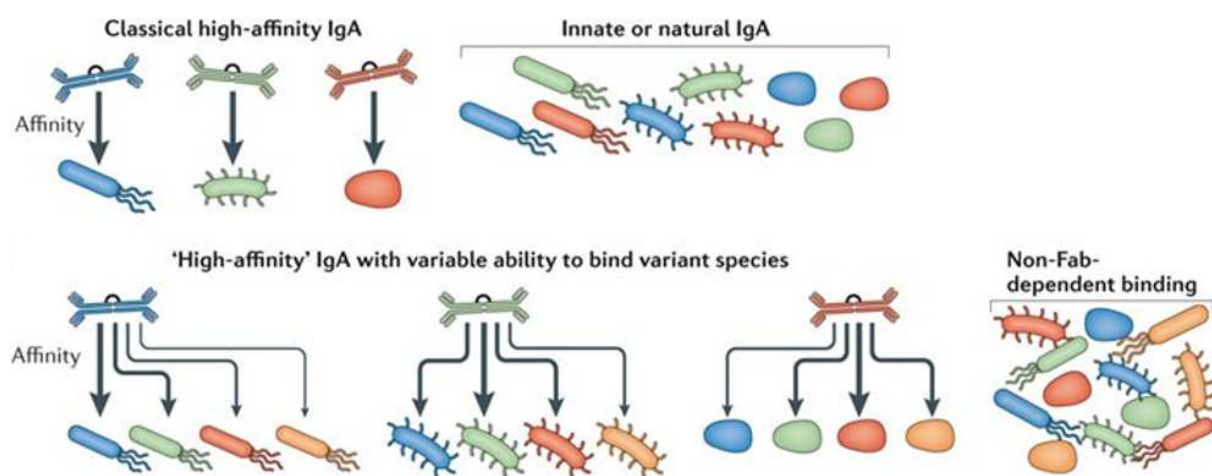


Figure 14: Proposition de modèle décrivant les réponses IgA vis-à-vis du microbiote

O Pabst, Nature Reviews Immunology, 2012 [223]

Les IgA polyréactives peuvent cibler plusieurs bactéries commensales d'espèces différentes avec des affinités variables. A l'inverse, les IgA ciblant les pathogènes sont de haute affinité et semblent spécifiques d'une seule bactérie. L'épaisseur de la flèche représente l'affinité des interactions anticorps-antigène.

Les premières études sur le microbiote intestinal ont révélé que les sIgA peuvent lier seulement une fraction du microbiote humain et murin [224], [225]. Les analyses basées sur la cytométrie en flux ont suggéré qu'environ 45% du microbiote présent dans les selles humaines est recouvert d'IgA [226]. Récemment, la combinaison de la cytométrie en flux bactérienne avec le séquençage 16S a offert une opportunité d'identifier les bactéries reconnues par les IgA ex vivo.

Les IgA ont tendance à cibler les bactéries associées aux tissus de l'hôte. Ainsi, les IgA ciblent de manière préférentielle les bactéries filamenteuses segmentées (SFB), les membres flagellés du microbiote appartenant aux *Enterobacteriaceae*, et les bactéries dégradant le mucus comme *Akkermansia muciniphila*, toutes connues pour se localiser dans les tissus de l'hôte [218], [227], [228], [229].

Le **Tableau 4** regroupe les taxons bactériens qui sont significativement reconnus par les IgA chez les individus en bonne santé. Les IgA se lient à une fraction très diversifiée du microbiote, comprenant de nombreux genres rares. Les IgA peuvent se fixer sur les quatre principaux phyla, à savoir les *Actinobactéries*, les *Bactéroïdètes*, les *Firmicutes* et les *Protéobactéries*. Chez l'homme, de multiples taxons du phylum des Firmicutes, en particulier ceux appartenant à la famille des *Lachnospiraceae*, sont significativement enrichis dans la fraction IgA+. Cette observation soutient les études antérieures montrant que les membres de la famille des *Lachnospiraceae* sont capables de susciter des réponses immunitaires innées et de moduler les réponses immunitaires adaptatives dans l'intestin [230], [231], [232].

Tableau 4: Table des taxons ciblés par les IgA intestinales chez l'homme

D'après Sterlin D et al., Mucosal Immunology, 2020

Study	Cohort	Sequencing method	Family	Genera	Species
D'Auria et al, 2013, Sci Rep (18)	6 healthy adults	16S gene sequencing	Bacteroidaceae	ND	ND
			Ruminococcaceae		
			Enterococcaceae		
			Lachnospiraceae		
			Nocardiaceae		
			Pseudomonaceae		
			Comamonadaceae		
			Sphingomonadaceae ud-Sphingomonadales		
Palm et al, 2014, Cell (24)	20 healthy adults	16S gene sequencing	Actinomycetaceae	Actinomyces	spp.
			Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	ND
			Erysipelotrichaceae	Erysipelotrichaceae	ND
			Lachnospiraceae	Dorea	spp.
			Lachnospiraceae	Ruminococcus	torques
Kau et al, 2015, Sci Transl Med (15)	11 healthy children	16S gene sequencing	Verrucomicrobiaceae	Akkermansia	muciniphila
			Clostridiaceae	ND	ND
Planer et al, 2016, Nature (16)	82 twins, 2 year-old	16S gene sequencing	Streptococcaceae	Streptococcus	salivarius
			Enterobacteriaceae	Escherichia/Shigella	ND
			Verrucomicrobiaceae	Akkermansia	muciniphila
			Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	bifidum
			Clostridiaceae	Clostridium	nexile
Dzidic et al, 2016, J Allergy Clin Immunol (17)	28 healthy children 1 year-old	16S gene sequencing	Clostridiaceae	Clostridium	spiroforme
			Lachnospiraceae	Ruminococcus	torques
			Lachnospiraceae	Ruminococcus	gnavus
			Enterobacteriaceae	Escherichia/Shigella	ND
			Bacteroidaceae	Bacteroides	ND
Magri et al, 2017, Immunity (4)	5 healthy adults <i>Mucus-embedded microbiota</i>	16S gene sequencing	Clostridiaceae	ND	ND
			Clostridiales Famille XI	ND	ND
			Erysipelotrichaceae	ND	ND
			Erysipelotrichaceae	ND	ND
			Lachnospiraceae	Roseburia	ND
			Bacteroidaceae	Bacteroides	ND
			Barnesiellaceae	ND	ND
			Erysipelotrichaceae	ND	ND
			Lachnospiraceae	ND	ND
			Lachnospiraceae	Roseburia	ND
Lachnospiraceae	Blautia	ND			
Lachnospiraceae	Ruminococcus	ND			
Lachnospiraceae	Ruminococcus	gnavus			
Ruminococcaceae	ND	ND			
Ruminococcaceae	Ruminococcus	ND			

Les couleurs indiquent l'affiliation aux phylums : *Actinobacteria* en rose, *Bacteroidetes* en vert, *Proteobacteria* en bleu, *Verrucomicrobia* en violet. Seuls les taxons dont l'enrichissement dans la fraction IgA+ est statistiquement significatif sont répertoriés. La table synthétise uniquement les études basées sur des échantillons humains.

De nombreux facteurs tels que l'âge, le régime alimentaire, les antibiotiques et l'hérédité influencent la composition du microbiote intestinal [233], [234],[235]. De manière intéressante, il a également été démontré que les facteurs environnementaux influencent les réponses des IgA aux bactéries. Par exemple, l'exposition aux antibiotiques est associée à un revêtement accru en IgA des *Enterococcus sp.* et des *Lactobacillales*, et donc chaque individu héberge un répertoire bactérien enrobé des IgA distinct.

1.4 Rôle des IgA agglutinant des bactéries

L'étude publiée par Palm et *al.* suggère que les IgA pourraient recouvrir un groupe de bactéries intestinales qui prédisposent l'homme aux maladies [218]. L'idée que les IgA ne provoqueraient pas l'élimination des bactéries, mais pourraient au contraire minimiser les effets inflammatoires des bactéries ciblées, a été confirmée dans d'autres études sur des souris [236]. L'étude menée par Okai et ses collègues a montré que l'administration d'une IgA monoclonale polyréactive entraîne des modifications dans la composition microbienne et une réduction de l'inflammation [237]. De même, les IgA semblent également nécessaires pour le contrôle du pathobionte SFB [238]. Ainsi, les effets sélectifs et/ou neutralisants des IgA pourraient moduler les bactéries vers un profil non inflammatoire.

Les principales fonctions des IgA agglutinant les bactéries sont résumées dans la (Figure 15). Les mécanismes de protection des IgA vis-à-vis des pathogènes sont variés : la séquestration des pathogènes dans la lumière intestinale, l'inhibition de la motilité bactérienne, l'inhibition des organites de virulence tels que le système de sécrétion de type III de *Shigella flexneri* qui lui permet d'envahir les entérocytes et l'agglutination des pathogènes [239]. Lors d'une dysbiose induite par une antibiothérapie, la prolifération d'*Enterococcus faecium* est contrôlée par son agglutination dans une matrice extracellulaire composée d'IgA sécrétoires et de protéines produites par les cellules épithéliales (comme l'E-cadhérine). Cette agglutination permet de maintenir *E. faecium* à distance de l'épithélium.

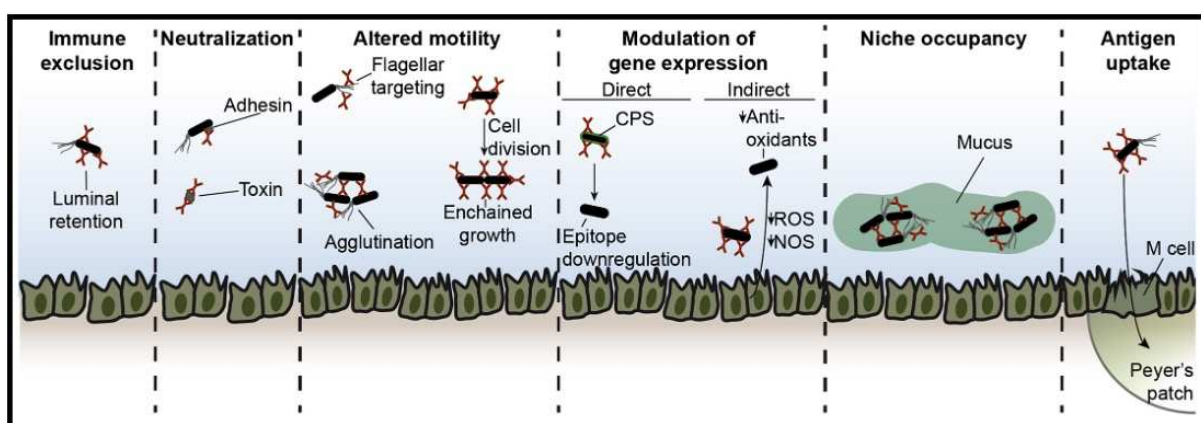


Figure 15: Fonctions des anticorps IgA se liant au microbiote

Bunker et *al.*, Immunity, 2018 [240]

D'autre part, les IgA jouent un rôle protecteur dans l'écologie commensale. Ainsi, il a été montré dans l'étude de Fadlallah et *al.* que les espèces bactériennes connues pour être revêtues par les IgA dans les échantillons humains sont plus susceptibles d'être sous-représentées dans le microbiote fécal des patients souffrant d'une déficience en IgA [241]. Donaldson et *al.* ont démontré que la liaison des IgA à *Bacteroides fragilis* facilitait l'adhérence aux cellules épithéliales intestinales en modulant les épitopes de surface, favorisant ainsi le maintien à long terme de cette espèce dans le microbiote intestinal [242].

De plus, les IgA jouent un rôle dans la translocation bactérienne vers les sites inducteurs des IgA. La translocation bactérienne peut se produire de différentes manières. Les cellules M possèdent au niveau de leur pôle apical deux récepteurs de complexes immuns : Siglec-5 et Dectin. Ensuite, les complexes immuns sont internalisés et présentés aux cellules dendritiques CX3CR1+ qui déclenchent la réponse IgA dans les plaques de Peyer [243]. Enfin, une dernière voie de translocation bactérienne a été décrite via le CD71, un récepteur de la transferrine exprimé à la surface des entérocytes, capable de se lier aux IgA sécrétoires et de les internaliser. Ainsi, les IgA sécrétoires jouent un rôle crucial dans la modulation de la composition du microbiote intestinal, allant au-delà de leurs fonctions traditionnelles de défense immunitaire. Ce processus de modélisation de la flore intestinale commensale par les anticorps a récemment été désigné sous le terme de "sélection immunomédiée par les anticorps" [244].

De plus, les IgA participent à la colonisation initiale du nourrisson en régulant la présence de certaines espèces et en favorisant la diversification du microbiote précoce. La stabilité du répertoire des IgA tout au long de la vie est associée à la résilience et à la stabilité du microbiote, tandis qu'une diminution de la diversité du répertoire des IgA ou l'absence d'IgA peuvent altérer la symbiose intestinale et impacter la santé de l'hôte.

2. Immunoglobulines G

2.1 IgG sérique

Contrairement aux IgA sécrétoires, les IgG systémiques sont préférentiellement produites lors de situations inflammatoires systémiques [245]. Les réponses systémiques en IgG ciblant les bactéries intestinales ont été initialement décrites dans les MICI et considérées simplement comme étant secondaires aux translocations bactériennes en raison de la perméabilité barrière

intestinale [246], [247]. Cependant, plusieurs études récentes ont démontré qu'environ 1 % du microbiote intestinal des individus en bonne santé peut être lié par des IgG sériques [248], [249], [250], [251]. De plus, il a été montré que les niveaux d'IgG sériques avec une affinité mesurable pour les commensaux apparaissent à l'âge de 6 mois, augmentent de 12 à 24 mois et restent stables à l'âge adulte [248], [250], [251]. Cette chronologie est en corrélation avec le schéma de la colonisation intestinale à la naissance, la diversification du microbiote après le sevrage, et la stabilisation du microbiote à l'âge adulte [252], [253]. En outre, les résultats d'une étude ont confirmé la possibilité de réactivité croisée des IgG se liant au microbiote, montrant que ces anticorps se lient à un ensemble de commensaux, partageant des structures de surface contenant du mannose [254].

Des études utilisant la cytométrie en flux ont montré que des IgG systémiques se lient à un large éventail de bactéries commensales telles que *E. coli* [255], *E. faecalis* et *B. fragilis* [256], ainsi qu'à certains champignons commensaux tels que *Candida albicans* [248]. Les IgG sériques convergent avec les IgA sécrétoires vers les mêmes cibles bactériennes, et chaque individu présente un ensemble de commensaux préférentiellement ciblés par les IgG. Cependant, un répertoire "central" d'IgG dirigé contre des commensaux particuliers est apparu, les genres appartenant aux *Protéobactéries* (comme *Serratia*, *Achromobacter* et *Delftia* par exemple) étant préférentiellement enrichis dans la fraction du microbiote ciblée par les IgG [251]. Il est intéressant de noter que plusieurs taxons du phylum des *Protéobactéries* ont déjà été décrits comme cibles des IgA sécrétoires dans plusieurs études humaines et murines [219], [227], [228].

2.2 Origine des IgG

Malgré de nombreuses études menées chez les souris et les humains pour explorer les réponses des IgG aux commensaux, il reste encore incertain comment cette réponse systémique au microbiote intestinal se développe. Cette réponse pourrait être expliquée par une exposition épisodique aux commensaux intestinaux qui franchissent la barrière intestinale. La translocation bactérienne se produit dans un contexte inflammatoire, probablement en présence de cytokines favorisant la production des IgG, plutôt que des IgA, dans la lamina propria.

Il a été montré que les cellules sécrétant des IgG et des IgA intestinales proviennent de précurseurs indépendants [257]. Les données expérimentales chez les modèles murins ont détaillé l'ontogenèse des lymphocytes B IgG anti-microbiote montrant que de nombreux

anticorps se liant aux commensaux sont générés de manière T-indépendante et dépend de la signalisation des TLR dans les lymphocytes B [258]. Le microbiote soutient également de manière non spécifique la production d'anticorps systémiques par la production des acides gras à chaîne courte qui favorisent la différenciation des lymphocytes B en cellules sécrétrices d'anticorps et stimulent le métabolisme des LB, ce qui conduit à la production d'anticorps [259].

Bien que le pool de LB intestinales soit largement dominé par des cellules produisant des IgA, environ 3 à 4 % des cellules sécrétrices d'anticorps intestinales expriment de l'IgG dans des conditions physiologiques normales chez l'homme. Environ les deux tiers des anticorps monoclonaux dérivés des plasmablastes intestinaux IgG⁺ réagissent avec des bactéries intestinales communes [257], [260]. De plus, la majorité des anticorps IgG anti-microbiote sont de la sous-classe IgG2 et des cellules sécrétant de l'IgG2 ont été détectées dans la lamina propria tout au long de l'intestin [251]. Des niveaux plus élevés d'IgG anti-*E.coli* dans le sérum des patients atteints de MICI étaient associés à une augmentation substantielle des lymphocytes B intestinales IgG⁺ [257]. Chez la souris, les ganglions lymphatiques mésentériques ont également été impliqués dans la génération de réponses systémiques d'IgG aux bactéries invasives [261].

2.3 Rôles des IgG anti-microbiote

Le rôle des IgG systémiques dirigées contre le microbiote a été initialement révélé en apportant des preuves de leur rôle protecteur dans les infections gastro-intestinales et systémiques. Par exemple, les souris déficientes en composants de signalisation immunitaire innée MyD88 (réponse primaire de différenciation myéloïde 88) et TRIF produisent spontanément des niveaux très élevés d'IgG ciblant le microbiote, ce qui protège contre la septicémie [255], [262]. Cette importance clinique est corroborée par des observations montrant que les patients atteints de CVID (déficit immunitaire commun variable), présentant une déficience en IgG circulantes mais pas en IgA intestinales, souffrent d'infections gastro-intestinales et de troubles lymphoprolifératifs [263], [264].

De plus, certaines bactéries potentiellement invasives peuvent induire des réponses IgG dans un microbiote sain et une barrière intestinale intacte, tandis que d'autres bactéries, pourraient seulement induire des réponses systémiques dans le contexte d'une dysbiose ou de perméabilité de la barrière intestinale [246], [265], [266], [267].

Les IgG dirigées contre le microbiote jouent également un rôle dans les premiers stades de la vie en modulant le développement du système immunitaire du nouveau-né, avec à la fois des effets stimulants et régulateurs. Des études ont également montré que les IgG provenant du microbiote maternel peuvent être transférées au nouveau-né avant la naissance, préparant ainsi le fœtus à la colonisation bactérienne postnatale [175]. En outre, les patients présentant un déficit sélectif en IgA semblent avoir des niveaux plus élevés d'IgG anti-microbiote, ce qui suggère un lien avec la translocation bactérienne et la dysbiose. Le lait maternel contient à la fois des sIgA et des IgG qui coopèrent pour éviter la translocation bactérienne et ainsi limiter les réponses des lymphocytes T au niveau des muqueuses (**Figure 16**).

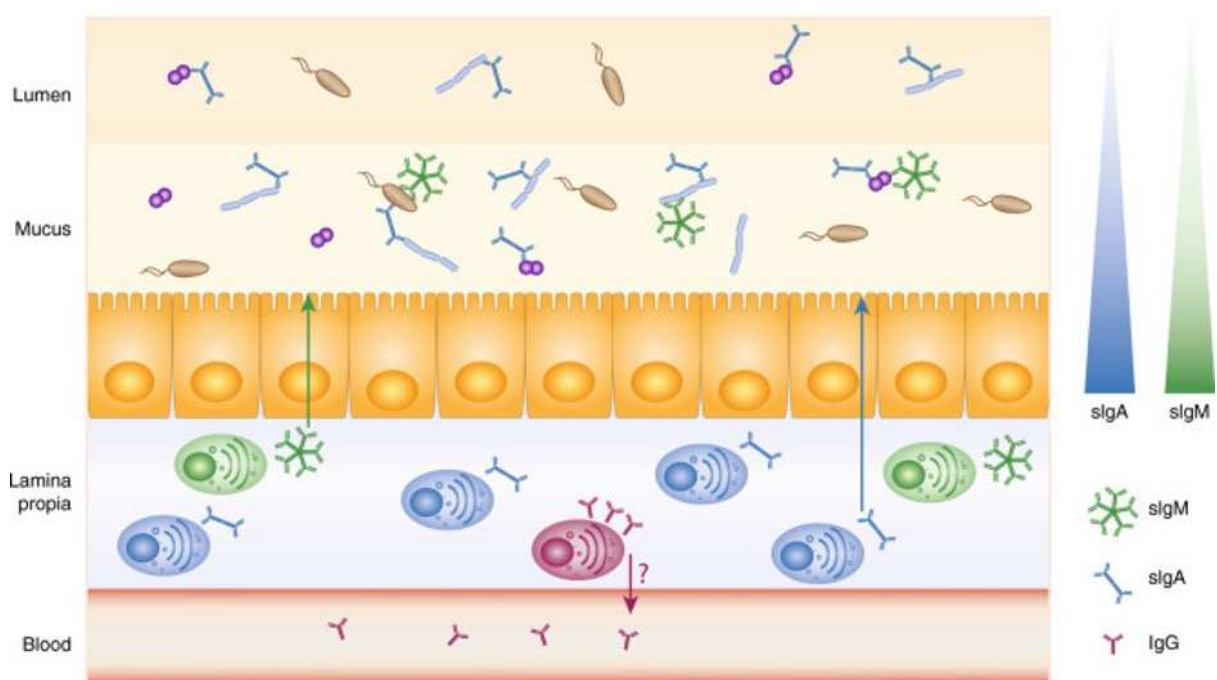


Figure 16: : Les Ig sécrétoires et systémiques contrôlent le microbiote intestinal

D Sterlin et *al.*, Mucosal Immunology, 2015

Les IgA sécrétoires, les IgM sécrétoires et les IgG sériques convergent vers les mêmes cibles microbiennes. Les IgA sécrétoires et les IgM sécrétoires sont présentes en concentrations décroissantes du mucus à la lumière intestinale. Bien que les IgG soient absentes de l'intestin des individus sains, des plasmocytes IgG sont présents dans la lamina propria et contribuent probablement aux pools systémiques d'IgG anti-commensaux, dont l'origine principale reste inconnue.

Il a été montré que les patients ayant un déficit sélectif en IgA (sIgAd) présentent un niveau plus élevé d'IgG anti-microbiote, suggérant que la translocation bactérienne pourrait se produire plus fréquemment en l'absence des IgA sécrétoires. De plus, les patients possèdent des IgG anti-microbiote différents de ceux des donneurs sains, ce qui est cohérent avec la présence d'une dysbiose [241]. Des altérations plus importantes de la composition et de la diversité du microbiote intestinal ont été décrites dans des échantillons de selles de patients atteints de COVID, qui manquent à la fois d'IgA et d'IgG [268].

La détection des IgG anti-microbiote pourrait également offrir de nouvelles opportunités pour prédire l'efficacité de l'immunothérapie dans le traitement des cancers. La dominance d'espèces commensales dans le microbiote intestinal telles que *Akkermansia muciniphila* et *Enterococcus hirae* a été démontrée pour induire des changements immunologiques qui influencent l'efficacité de l'immunothérapie anti- PD1/PDL1 dans les tumeurs épithéliales [269]. Ainsi, la recherche des IgG ciblant ces bactéries spécifiques avant le début de l'immunothérapie pourrait être plus pratique que l'analyse de la composition des selles dans le but de prédire la résistance à ces inhibiteurs de points de contrôle immunitaires et à d'autres traitements.

3. Immunoglobulines et allo-CSH

Les patients allogreffés ayant un nombre normal de lymphocytes B CD19+ ne sont pas considérés comme complètement immunocompétents à cause de la diminution de la fonction des lymphocytes B et des réponses vaccinales altérées chez ces patients [270]. L'absence de LB mémoires CD19+CD27+, l'hypogammaglobulinémie et une perturbation dans la commutation de classe des anticorps et une altération dans la complexité du réarrangement des gènes des anticorps rendent les patients greffés plus vulnérables aux infections causées par des bactéries encapsulées comme *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* [271], [272].

L'hypermutation somatique semble également être affectée, notamment en présence de lymphocytes T CD4+ provenant du donneur, suggérant un défaut du microenvironnement [270], [273]. Des taux sériques normaux d'IgM sont généralement mesurables 3 à 6 mois après allo-CSH [274], [275] suivis d'une normalisation des IgG1/IgG3, IgG2/IgG4 et IgA sériques, respectant les étapes du développement physiologique lors des premières années de la

vie [276]. Cependant, des déficits de classe d'anticorps ont été rapportés à long terme chez certains patients [277]. Le répertoire des chaînes lourdes des immunoglobulines (IgH) est souvent caractérisé par un changement de classe retardé et une dominance oligoclonale en raison de réarrangements spécifiques dominants à différents moments chez ces patients [277], [278].

Problématique et objectifs

En résumé de la partie précédente, on peut retenir qu'en raison des traitements administrés, notamment les chimiothérapies et antibiothérapies, la composition de leur microbiote est perturbée après allo-CSH avec un impact sur leur survie. Cette diminution de la survie est notamment liée au lien entre dysbiose et GvHD, même si cet effet semble aller au-delà de la GvHD. En effet, un nombre croissant de données a mis en évidence un lien entre microbiote digestif et hématopoïèse. À la vue de l'importance majeure de la récupération hématopoïétique après allogreffe, et de la morbi-mortalité associées avec une mauvaise récupération hématopoïétique il semble important d'évaluer l'impact de la dysbiose sur celle-ci après allo-CSH.

Ainsi, vu l'importance des effets des antibiotiques et du microbiote intestinal sur la régulation de MAdCAM-1, et de son rôle dans l'hématopoïèse, nous avons voulu investiguer le lien entre MAdCAM-1, dysbiose et hématopoïèse chez les patients traités par allo-CSH.

Pour ces objectifs, nous avons dosé MAdCAM-1 circulant dans le sérum de 279 patients traités par allo-CSH, et corrélé les données obtenues avec des données de séquençage du microbiote et des données cliniques des patients.

D'autre part, les données de la littérature montrent l'importance d'identifier les spécificités des IgA et IgG dans un contexte de microbiote dérégulé. Chez les patients allo-CSH ayant une perte de diversité microbienne, on peut se poser la question si les anomalies du microbiote chez les patients allo-CSH sont en lien avec la perturbation de la réponse IgA et IgG et quelle pourrait être l'influence sur les événements cliniques post-greffe.

Pour ce projet, nous allons étudier une série de 150 patients traités par allo-CSH pour une leucémie aiguë myéloïde. Les objectifs sont les suivants :

- Évaluer la proportion de bactéries du microbiote intestinal fixées aux IgA/IgG.
- Identifier les bactéries présentes dans les selles des patients reconnues par les IgA et IgG.
- Caractériser le répertoire IgA et IgG dans le sérum des patients en utilisant des bactéries candidates.
- Corréler les résultats obtenus avec les événements cliniques post-greffe.

Malheureusement, tous les objectifs n'ont pas pu être étudiés et nous présenterons les résultats préliminaires de ce projet.

RESULTATS

Première partie: MAdCAM-1 (Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1)

Article 1: sMAdCAM-1 is decreased after allo-HCT, along with gut microbiota dysbiosis, and is associated with hematopoietic recovery

sMAdCAM-1 is decreased after allo-HCT, along with gut microbiota dysbiosis, and is associated with hematopoietic recovery

Karen Fadel¹, Lama Siblany², Razan Mohty³, Nicolas Stocker², Ludovic Suner⁴, Eolia Brissot², Anne Banet², Simona Sestili², Rémy Duléry², Zoé Van de Wyngaert², Laure Ricard², Ramdane Belhocine², Agnès Bonnin², Antoine Capes², Tounes Ledraa², Frederic De Vassoigne², Harry Sokol^{5,6,7}, Mohamad Mohty², Béatrice Gaugler¹ and Florent Malard²

1. Sorbonne Université, INSERM, Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA), F-75012 Paris, France
2. Sorbonne Université, INSERM, Centre de Recherche Saint-Antoine (CRSA), AP-HP, Hôpital Saint-Antoine, Service d'Hématologie Clinique et Thérapie Cellulaire, F-75012, Paris, France
3. Division of Hematology Oncology, Department of Medicine, O'Neal Comprehensive Cancer Center, University of Alabama at Birmingham Heersink School of Medicine, Birmingham, AL, USA.
4. Sorbonne Université, INSERM, Centre de Recherche Saint-Antoine, CRSA, AP-HP, SIRIC CURAMUS, Hôpital Saint-Antoine, Service d'Hématologie Biologique, 75012, Paris, France.
5. Sorbonne Université, INSERM, Centre de Recherche Saint-Antoine, CRSA, AP-HP, Saint-Antoine Hospital, Gastroenterology Department, 75012 Paris, France
6. Paris Center for Microbiome Medicine (PaCeMM) FHU, Paris, France
7. Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Micalis Institute, 78350 Jouy-en-Josas, France

Running title: sMAdCAM-1 and hematopoietic recovery

Abstract

The intestinal bacterial microbiome undergoes profound changes during the allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT) procedure leading to alteration of patients' outcomes. Some data suggest that microbiota composition may influence hematopoiesis recovery after allo-HCT. Therefore, given the role of the mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1)/ $\alpha 4\beta 7$ integrin axis in engraftment and that gut dysbiosis has been linked to reduced soluble MAdCAM-1 (sMAdCAM-1) levels, we aimed to investigate the interplay between sMAdCAM-1 level, dysbiosis, and hematopoietic recovery in a cohort of 279 patients that underwent allo-HCT. We found that allo-HCT is associated with significant decrease in sMAdCAM-1 levels, and that these levels are significantly correlated with gut microbiota diversity assessed by the Shannon diversity index ($p=0.006$, $R^2=0.091$). Furthermore, early use of antibiotics with a broad anti-anaerobic spectrum (before day (D) 0 of allo-HCT) is associated with a significant decrease in sMAdCAM-1 levels at D0 (median, 3056 *versus* 4747, $p<0.0001$). Finally, patients with lower sMAdCAM-1 levels around hematopoietic recovery (D20) have significantly longer neutrophil recovery $> 0.5 \times 10^9/L$ (17 *versus* 15 days, $p<0.0001$) and platelet recovery $> 20 \times 10^9/L$ (12 *versus* 10 days, $p=0.002$). The D28 cumulative incidence of neutrophil and platelet recovery $> 20 \times 10^9/L$ recovery were also lower in patients with lower sMAdCAM-1 concentrations at D20, being 96.7% and 85.4%, respectively, *versus* 99.2% and 79.7% in patients with higher sMAdCAM-1 concentrations ($p=0.0002$ and $p=0.046$). These results were confirmed in multivariate analyses. Overall, we found that sMAdCAM-1 is associated with neutrophil and platelet recovery after allo-HCT, suggesting that microbiota dysbiosis mediates a detrimental effect on haematopoiesis through modulation of the MAdCAM-1/ $\alpha 4\beta 7$ axis.

Keywords: allo-HCT, gut microbiota, immune reconstitution, antibiotics, MAdCAM-1 $\alpha 4\beta 7$, sMAdCAM-1

Introduction

Allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT) represents a potentially curative therapy for numerous malignant and non-malignant hematological diseases. The treatment relies on intensive chemotherapy facilitating engraftment and eradicating residual tumor cells, along with the antitumoral immunological effect of the immune cell of the graft, the so-called *graft-versus-tumor* effect. However, its effectiveness is hindered by the significant morbidity and mortality linked to acute *graft-versus-host* disease (aGvHD), an inflammatory condition primarily affecting the skin, liver, and intestines.

Chemotherapy and total-body irradiation-based conditioning regimens, together with the use of broad-spectrum antibiotics during allo-HCT, promotes intestinal monodomination of pathogenic intestinal species and alters the intestinal barrier, facilitating bacterial translocation. An extensive literature supports the association between alterations in gut microbiota composition and a wide array of diseases including solid tumors and hematological malignancies. It has been shown that low bacterial diversity is associated with poor outcomes of patients following allo-HCT. In particular, enterococcal expansion is associated with GvHD and mortality and fecal microbiotherapy was shown to be safe and effective for the treatment of gastrointestinal (GI) aGvHD.

Furthermore, the interplay between the intestinal microbiome and the hematopoietic system is now well established. In the setting of allo-HCT, Schluter et *al.* reported higher neutrophil, lymphocyte and monocyte counts in patients who received an autologous fecal microbiota transfer (FMT) in the first 100 days after neutrophil recovery, compared to allo-HCT patients that did not receive an autologous FMT.

The molecular interaction between the $\alpha 4\beta 7$ integrin (also called Lymphocyte Peyer's patch Adhesion Molecule-1 [LPAM-1]) and the MAdCAM-1 plays a crucial role in directing the trafficking of lymphocytes into Peyer's patches and the intestinal lamina propria, and in hematopoietic stem cell (HSC) homing and engraftment. It is established that the MAdCAM-1/ $\alpha 4\beta 7$ axis is implicated in the recruitment of effector donor CD8 T cells to the recipient intestine and that blocking this axis alleviates GvHD without impairing *graft versus* tumor effects. Vedolizumab, a gut-selective anti- $\alpha 4\beta 7$ integrin monoclonal antibody that reduces gut inflammation by inhibiting migration of GI-homing T lymphocytes, was therefore shown to be effective for GI aGvHD prophylaxis.

Interestingly, Fidelle *et al.* showed recently that antibiotics induced dysbiosis leading to the disrupted interaction of MAdCAM-1 and its counter receptor $\alpha 4\beta 7$ in non-small cell lung cancer patients with low soluble MAdCAM-1 (sMAdCAM-1) having a significantly decreased gut microbiota diversity¹³.

Altogether, this suggests that the interplay between the MAdCAM-1/ $\alpha 4\beta 7$ axis, the microbiota, and use of antibiotics warrants investigation in the setting of allo-HCT. We therefore aimed to investigate the impact of sMAdCAM-1 level on patients' outcomes after allo-HCT, particularly GvHD and hematopoietic recovery.

Patients and methods

Patient characteristics

This retrospective study comprised a cohort of 279 consecutive adult patients with a hematological malignancy who underwent allo-HCT between October 2012 and June 2018 at Saint-Antoine Hospital (AP-HP, Paris, France). Written informed consent was obtained from each patient in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki.

Infection prophylaxis, monitoring, and supportive care

All patients received the conditioning regimen as inpatients in private positive-pressure rooms and remained hospitalized until hematopoietic and clinical recovery. Empiric broad-spectrum antibiotics were administered if a patient developed a temperature ≥ 38.3 °C, or ≥ 38 °C for 1 hour, or showed any sign of infection. Antimicrobial prophylaxis consisted of acyclovir or valacyclovir and trimethoprim-sulfamethoxazole or atovaquone (starting after neutrophil recovery) for one year, and was extended if CD4⁺ T cells remained below $0.2 \times 10^9/L$. No antifungal prophylaxis was administered. We captured exposure to antibiotics with a broad anti-anaerobic spectrum (piperacillin-tazobactam, imipenem-cilastatin and meropenem [PIM]) in the patients from the start of the conditioning regimen until neutrophil recovery. For each antibiotic, exposure was defined as administration for ≥ 48 hours.

Serum preparation

Peripheral blood samples were collected in Clot Activator Tubes (CAT tubes, BD Vacutainer®) prior to allo-HCT (baseline timepoint), the day of allo-HCT (D0) and at D20, 30, 90 and 360

after allo-HCT. After collection of the whole blood, it was allowed to clot by leaving it undisturbed at room temperature for 15–30 minutes. The clot was removed by centrifugation at 1500 x g for 10 minutes in a refrigerated centrifuge. The resulting supernatant (serum) was transferred into 0.5 ml aliquots and stored at -80°C.

Stool collection, DNA extraction and 16S sequencing and analysis

Feces were collected according to hospital guidance. In brief, feces were collected in a sterile fecal collection container, immediately homogenized, and aliquots of 0.2 g were frozen at -80° C for further analysis. DNA was extracted from the fecal samples, followed by 16S DNA sequencing, and sequence analysis was performed as part of a previous project ¹⁴.

sMAdCAM-1 quantification in patients by sandwich enzyme- linked immunosorbent assay (ELISA)

sMAdCAM-1 was quantified in sera of patients and healthy controls using the Human MAdCAM-1 DuoSet ELISA kit (Bio-Techne/ R&D Systems) according to the recommendations of the manufacturer. Other materials and solutions required for the ELISA were found in the DuoSet ELISA Ancillary Reagent Kit 2, purchased from R&D Systems.

Outcomes

Recorded clinical outcomes after transplantation included time to neutrophil and platelet engraftment and time of onset and severity of aGvHD. Time to neutrophil recovery was defined as the first of 3 consecutive days in which the absolute neutrophil count (ANC) exceeded 0.5 G/L, and time to platelet recovery as the first of 7 consecutive days with a platelet count \geq 20 or 50 G/L without platelet transfusion. Acute GvHD was evaluated according to the revised Glucksberg criteria¹⁵.

Statistical analysis

All statistical tests were performed using Prism8 (GraphPad, San Diego, CA, USA) and EZR version 1.37 (Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Japan) which is a graphical user interface for R (The R Foundation for Statistical Computing; version 3.1.1). EZR is installed along with R and R commander. All p-values are 2-sided and were considered significant at $p < 0.05$. Patients were divided according to median sMAdCAM-1 concentration (MAdCAM-1 concentration \leq median or MAdCAM-1 concentration $>$ median).

The unpaired t test with Welch' s correction was used to compare two groups. Values are expressed as median and range. The cumulative incidence (CI) of ANC, platelet recovery and aGvHD was estimated, and the groups were compared using Gray's test. For aGvHD, the competitive risks were relapse/progression or death. For multivariable analysis, the Fine-Gray hazards model for competing risk data was used.

Alpha diversity was estimated by the Shannon diversity index, which is calculated based on both the number of unique operational taxonomic units and their evenness of distribution. Taxa were not filtered, and samples were not rarefied prior to calculating alpha diversity. Data handling employed the phyloseq package (version 1.30.0) throughout¹⁶. The correlation between the Shannon diversity index and sMAdCAM-1 was evaluated using Spearman's rank correlation analysis.

Results

Patients and transplants characteristics

This retrospective analysis included 279 patients who underwent allo-HCT. Patient and diseases characteristics are detailed in **Table 1**. Median follow-up among surviving patients was 58 months (range, 4-93). The median age was 56 years (range, 16-76). The gender distribution was 169 males (60.6%) and 110 females (39.4%). One hundred and ninety-four patients (69.5%) had a myeloid malignancy and 85 patients (30.6%) a lymphoid malignancy. Disease risk index (DRI) was low/intermediate in 178 patients (63.8%), and 101 patients (36.2%) had a high or very-high DRI. Most patients (n=257, 92.1%) received a peripheral blood stem cell graft. Allo-HCT was performed from a human leucocyte antigen (HLA)-matched related donor (n=77, 27.6%), an HLA-matched unrelated donor (n=109, 39.1%) or an haploidentical donor (n=93, 33.3%). Seventy-four patients (26.5%) received a reduced-intensity conditioning regimen, 122 patients (43.7%) a myeloablative reduced toxicity conditioning regimen and 83 patients (29.7%) a sequential conditioning regimen. All but 21 patients received *in vivo* T cell depletion using anti-thymocyte globulin (ATG, Thymoglobuline®, Sanofi-Genzyme, Lyon, France). Nineteen patients received post-transplant cyclophosphamide (PTCy), and 87 patients received both PTCy and ATG. Patients received either cyclosporine A alone (n=38; 13.6%) or in combination with mycophenolate mofetil (n=226; 81.0%) or methotrexate (n=15; 5.4%).

sMAdCAM-1 concentrations decrease during allo-HCT

Because intestinal tissue biopsies are difficult to obtain, we evaluated sMAdCAM-1 concentrations using ELISA in the blood as a surrogate marker for target engagement at the intestinal site. At baseline, median sMAdCAM-1 concentration in patients' sera was 8815 pg/ml (n=144, **Figure 1A**). The level of sMAdCAM-1 significantly decreased following conditioning, reaching 4234 pg/ml at D0 (n=259, $p<0.0001$), and continued to decline to 3277 pg/ml by D20 (n=246, $p<0.0001$). At D90 (n=221), while sMAdCAM-1 levels increased compared to D20, being 4275 pg/ml ($p<0.0001$), it remained significantly lower compared to baseline samples ($p<0.0001$, **Figure 1A**). Patient age, gender and underlying malignancies (myeloid *versus* lymphoid) did not impact sMAdCAM-1 concentrations at baseline (**Supplementary Figure 1A-C**).

sMAdCAM-1 correlates with bacterial diversity and the use of broad-spectrum antibiotics during allo-HCT

Fidelle et al. recently reported the relationship between sMAdCAM-1 and gut dysbiosis in advanced NSCLC patients¹³. Thus, we aimed to investigate the correlation between sMAdCAM-1 and bacterial diversity, as represented by the Shannon index in our cohort of patients. The paired-end 16S sequence data were available for 82 sMAdCAM-1 samples. We observed a statistically significant correlation between bacterial diversity and sMAdCAM-1 ($p=0.006$, $R^2=0.091$ **Figure 1B**). Interestingly, patients with greater bacterial diversity (Shannon index cut-off=4) had significantly higher sMAdCAM-1 levels compared to patients with lower bacterial diversity (median, 6288 *versus* 4488 pg/ml, $p=0.0041$, **Figure 1C**).

We then assessed the impact of antibiotic exposure on sMAdCAM-1 levels, focussing on antibiotics with a wide anti-anaerobic spectrum (PIM) and found that patients who received PIM during conditioning (before D0), had significantly lower sMAdCAM-1 concentrations at D0 (median, 3056 *versus* 4747 pg/ml, $p<0.0001$, **Figure 1D**). Interestingly, we found that the use of a sequential conditioning regimen was associated with lower sMAdCAM-1 concentrations at D0 (median, 3003 *versus* 4935 pg/ml, $p<0.0001$, **Figure 1E**). Nevertheless, this finding was related to the use of PIM during conditioning in 35% of patients (n=29/83), *versus* only 13% of patients (n=25/196, $p<0.0001$) that did not receive a sequential conditioning regimen. There was no difference in sMAdCAM-1 concentrations at D20 between patients that received or did not receive a sequential conditioning regimen ($p=0.25$, **Figure 1F**). Finally, the use of PIM during the conditioning regimen and neutropenic phase after allo-HCT

had no impact on sMAdCAM-1 concentrations at D20 (**Figure 1G**). This may be related to the low number of patients (n=48/279, 17%) that did not receive PIM.

Soluble MAdCAM-1 has no impact on aGvHD

First, given the MAdCAM-1/ $\alpha 4\beta 7$ axis is implicated in the recruitment of effector donor CD8 T cells to the recipient intestine, and that blocking this axis alleviates GvHD, we analyzed the impact of sMAdCAM-1 on the CI of grade II-IV and grade III-IV aGvHD and did not observe any statistically significant differences between patients with low *versus* high sMAdCAM-1 at D0 or D20 after allo-HCT (**Figure 2A-D**). Of note, there were also no differences in the CI of overall and stage 2-4 GI aGvHD between patients with low *versus* high sMAdCAM-1 at D0 (p= 0.97 and p=0.70, respectively, data not shown).

sMAdCAM-1 correlates with hematopoietic recovery at D20

Then, considering the role of the MAdCAM-1 and $\alpha 4\beta 7$ integrin in the migration of hematopoietic progenitors and mature effector cells in the periphery¹⁰, we investigated the relationship between sMAdCAM-1 concentrations and hematopoietic recovery. We found that neutrophil recovery was significantly longer in patients with low sMAdCAM-1 concentrations at D20, being 17 days (range, 8-53 days), *versus* 15 days (range, 5-29 days) in those with high sMAdCAM-1 concentrations at D20 (p<0.0001, **Figure 3A**). Similarly, platelet recovery > 20 x10⁹/L was significantly longer in patients with low *versus* high sMAdCAM-1 concentrations at D20, being 12 days (range, 0-78 days) *versus* 10 days (range, 0-35 days) respectively (p=0.002, **Figure 3B**). Regarding platelet recovery > 50 x10⁹/L, it was 18.5 days (range, 0-207 days) *versus* 10 days (range, 0-35 days) in patients with low *versus* high sMAdCAM-1 concentrations at D20 (p<0.0001, **Figure 3C**).

The D28 CI of neutrophil recovery (ANC > 0.5 x10⁹/L) was lower in patients with lower sMAdCAM-1 concentrations at D0 and D20, being 90.8% and 96.7%, respectively, *versus* 96.1% and 99.2% in patients with higher sMAdCAM-1 concentrations (p=0.28 and p=0.0002, respectively, **Figure 3D, E**). Similarly, the D28 CIs of platelet recovery > 20 x10⁹/L and > 50 x10⁹/L were significantly lower in patients with lower sMAdCAM-1 concentrations at D0, being 76.9% and 61.5%, respectively, *versus* 91.5% and 76.0%, respectively, in patients with higher sMAdCAM-1 concentrations at D0 (p=0.0004 and p=0.0009, respectively, **Figure 3F, G**). Finally, the D28 CIs of platelet recovery > 20 x10⁹/L and > 50 x10⁹/L were also significantly lower in patients with lower sMAdCAM-1 concentrations at D20 being 85.4%

and 69.1%, respectively, *versus* 93.5% and 79.7%, respectively, in patients with higher sMAdCAM-1 concentrations at D20 ($p=0.0065$ and $p=0.046$, respectively **Figure 3H, I**).

The multivariate analyses included key factors associated with hematopoietic recovery [patient age, patient cytomegalovirus (CMV) status, DRI, sex-mismatch, conditioning regimen intensity, type of donor, use of PTCy, use of PIM and sMAdCAM-1 level]. While D0 sMAdCAM-1 had no impact on the CI of ANC > 0.5 G/L, high D20 sMAdCAM-1 levels were the stronger predictor of ANC > 0.5 G/L recovery [high *versus* low, hazard ratio (HR), 1.80, 95% confidence interval (95% CI), 1.40-2.32, $p<0.00001$). Other parameters associated with ANC > 0.5 G/L recovery were the use of PTCy (HR 0.56, 95% CI, 0.37-0.86, $p=0.008$) and patient CMV seropositivity (HR=0.74, 95% CI, 0.58-0.94, $p=0.014$). Regarding platelet recovery, sMAdCAM-1 levels at D0 were significantly associated with the CI of platelet recovery > 20 $\times 10^9/L$ (high *versus* low, HR=1.56, 95% CI, 1.22-1.99, $p=0.0004$) and > 50 $\times 10^9/L$ (high *versus* low, HR= 1.51, 95% CI, 1.15-1.98, $p=0.0032$) in multivariate analysis. Other parameters associated with platelet recovery in multivariate analysis were the use of PTCy (platelets > 20 $\times 10^9/L$, HR= 0.56; 95% CI, 0.35-0.89; $p=0.014$ and platelets > 50 $\times 10^9/L$, HR=0.54; 95% CI, 0.35-0.84; $p=0.007$), patient CMV seropositivity (platelet > 20 $\times 10^9/L$, HR=0.67; 95% CI, 0.53-0.84; $p=0.0007$ and platelets > 50 $\times 10^9/L$, HR= 0.62; 95% CI, 0.48-0.79; $p=0.0001$), and DRI (high or very high *versus* low or intermediate, platelets > 20 $\times 10^9/L$, HR= 0.733; 95% CI, 0.55-0.97; $p=0.029$, and platelets > 50 $\times 10^9/L$, HR=0.59; 95% CI, 0.43-0.81; $p=0.001$). sMAdCAM-1 levels at D20 were not associated with platelet recovery > 20 $\times 10^9/L$ or 50 $\times 10^9/L$.

Finally, to further investigate the impact of sMAdCAM-1 levels at D20 on hematopoietic recovery after allo-HCT, we compared cell counts up to D90 after allo-HCT. Overall, we observed higher counts of haemoglobin, platelets, neutrophils and lymphocytes in patients with higher sMAdCAM-1 levels at D20 (**Figure 4A-D**, $p=0.03$, $p=0.01$, $p=0.02$ and $p=0.002$, respectively).

Discussion

In this study, we investigated the interplay between the MAdCAM-1/ $\alpha 4\beta 7$ axis, microbiota, and the use of antibiotics in a cohort of 279 patients who underwent allo-HCT. Our analysis included measurements at baseline and at subsequent timepoints following transplantation. At baseline, sMAdCAM-1 concentrations were at their peak and significantly decreased by half at D0 (transplantation). Further decline was observed by D20 around hematopoietic recovery,

reaching 3277 pg/ml, and while by D90, sMAdCAM-1 levels had slightly increased to 4275 pg/ml, it remained significantly lower compared to baseline. Remarkably, patient demographics such as age and gender did not affect sMAdCAM-1 concentrations at baseline.

Furthermore, our analysis revealed a strong correlation between sMAdCAM-1 levels and bacterial diversity, with those patients exhibiting higher bacterial diversity showing elevated sMAdCAM-1 levels. We also confirmed that exposure to antibiotics with a broad anti-anaerobic spectrum (PIM) before D0 was associated with lower sMAdCAM-1 levels. Consistent with our findings, Fidelle et al. have shown that a broad-spectrum antibiotic regimen led to a persistent decrease in the expression of the ileal MAdCAM-1 in both mice and humans and that low sMAdCAM-1 was identified as a proxy of intestinal dysbiosis¹³. This decrease strongly correlated with reduced expression of ileal Foxp3, IL-17a, and ROR γ t, as well as a poor control of tumor size. Therefore, considering the use of broad-spectrum anti-anaerobic antibiotics, the fact that the subsequent loss of bacterial diversity is associated with GvHD related outcomes^{17,18}, and that the use of vedolizumab prevents GI aGvHD¹⁹, we then evaluated the impact of sMAdCAM-1 level on the CI of aGvHD and did not find any differences between patients with low *versus* high levels of sMAdCAM-1, including in GI aGvHD. One explanation for this absence of difference may be that while high MAdCAM-1 expression, particularly by the ileal venule in the crypt base²⁰, leads to alloreactive donor T cell infiltration and an increased risk of aGvHD, MAdCAM-1 is downregulated by the use of broad-spectrum antibiotics¹³, which are also associated with increased GvHD mortality¹⁷. Assessment of MAdCAM-1 expression on gut biopsy in those patients may have shed some light on our findings, unfortunately, no samples were available to perform such experiments.

Our study sheds light on the role of sMAdCAM-1 in hematopoietic recovery following allo-HCT. We found a significant correlation between high sMAdCAM-1 levels at D0 and D20 after allo-HCT and shorter hematopoietic recovery, as evidenced by faster neutrophil and platelet engraftment. Studies have highlighted the multifactorial nature of hematopoietic reconstitution, with factors such as patient-specific characteristics, disease status, graft source, conditioning regimen intensity, and infectious complications playing crucial roles in influencing engraftment kinetics and long-term outcomes. Nevertheless, our findings were confirmed in multivariate analysis taking into account the main parameters associated with hematopoietic recovery.

In the context of hematopoietic recovery, MAdCAM-1 may play a role in the homing of HSCs to the bone marrow, where they can differentiate and repopulate the blood cell lineages. The interaction between MAdCAM-1 and its receptor on HSCs may facilitate the migration of these cells to the bone marrow niche, which is essential for hematopoietic recovery after conditions such as bone marrow transplantation or chemotherapy²¹. Furthermore, some studies have shown that MAdCAM-1 expression was upregulated on bone marrow endothelial cells (ECs) within 24 hours post-lethal irradiation^{22,23}, suggesting that the conditioning regimen before allo-HCT contributes to HSC engraftment through MAdCAM-1 upregulation on ECs. Interestingly, in the phase 3 randomized study evaluating vedolizumab for GvHD prophylaxis after allo-HCT¹⁹, the median day of neutrophil recovery was delayed in patients that received vedolizumab being 16.0 (range, 8-35) days in the experimental group *versus* 15.0 (range, 8-31) days in the placebo group, suggesting that blockade of the MAdCAM-1/ $\alpha 4\beta 7$ axis after allo-HCT delayed engraftment.

Previous studies with murine models have shown the interplay between the microbiome and hematopoiesis. Balmer *et al.* used germ-free mice colonized by different species to demonstrate that the size of the bone marrow myeloid cell pool correlates with the complexity of the intestinal microbiota via a MyD88 signaling pathway²⁴. The study by Josefsdottir *et al.* reported that antibiotics cause multilineage alterations in murine hematopoiesis, with marked suppression of multipotent progenitors. In addition, suppression of bone marrow populations in antibiotic-treated mice results from depletion of the intestinal microbiota, as demonstrated by hematopoiesis rescue after FMT²⁵. Although the associations between the microbiota and hematopoiesis are well established, a mechanistic understanding of how the microbiota directly or indirectly impacts hematopoiesis is still limited. The role of bacteria-derived metabolites on hematopoietic progenitors remains to be clarified. A recent study reported that butyrate impacted hematopoiesis in the bone marrow resulting in the accumulation of immature neutrophils in a model of *Pseudomonas aeruginosa* infection in the lung, via increased CXCL2 expression by lung macrophages²⁶. Bacterial metabolites may also induce hematopoietic growth factors by ECs in the bone marrow. Another study identified bacterial taxa and metabolites involved in protection against acute radiation syndromes. Elevated abundances of members of the bacterial taxa *Lachnospiraceae* and *Enterococcaceae* were associated with post-radiation restoration of hematopoiesis and GI repair²⁷. Importantly, in the setting of allo-HCT, an association between gut microbial taxa and daily changes in white blood count was reported, further supporting the idea that hematopoiesis and mobilization of HSCs respond

to the composition of the gut microbiome⁸. Of note, neutrophil, lymphocyte and monocyte counts were higher in patients that received an autologous FMT in the first 100 days after neutrophil recovery, compared to allo-HCT patients who did not receive this procedure⁸, indicating that gut microbiota modulation using FMT may allow enhanced hematopoiesis recovery after allo-HCT.

In our study, the mechanism of downmodulation of sMAdCAM-1 after antibiotic treatment or dysbiosis remains to be determined. In the study by Fidelle *et al.*, oral administration of bacteria of the genus *Enterocloster* was sufficient to down-regulate MAdCAM-1 expression through its effects on bile acid metabolism¹³. The role of bile acids in the modulation of colonic MAdCAM-1 expression was previously demonstrated in a murine model of combined cholestasis and colitis²⁸. We can hypothesize that bile acid metabolism is also involved in regulation of MAdCAM-1 expression in allo-HCT patients.

Overall, our study provides valuable insights into the dynamics of sMAdCAM-1 concentrations during allo-HCT and their association with bacterial diversity, patient outcomes, and hematopoietic recovery. Collectively, these results suggest that if the concentration of MAdCAM-1 is associated with gut microbiota diversity and is affected by broad anti-anaerobic spectrum antibiotic treatments, this effect mitigated hematopoietic recovery time. These findings suggest a potential link between antibiotic exposure, altered microbiota composition, and hematopoietic recovery in patients undergoing allo-HCT, highlighting the importance of further investigation into microbiome targeted interventions, such as FMT²⁹.

Acknowledgments

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

Author contributions

All authors listed on the manuscript have contributed substantially to this work. KF, MM, BG, and FM designed the study. KF, LS, FDV and BG, performed the experimental analysis. KF and FM performed the statistical analysis. RM, LS, NS and FM collected biological and clinical data. EB, AB, SS, RD, ZvdW, LR, RB, AB, AC, TL, MM and FM provided patients samples

et collected clinical data, KF and FM prepared the manuscript and figures for publication. All authors reviewed the manuscript.

References

1. Malard, F., Chevallier, P., Guillaume, T., Delaunay, J., Rialland, F., Harousseau, J.L., Moreau, P., Mechinaud, F., Milpied, N., and Mohty, M. (2014). Continuous reduced nonrelapse mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single-institution's three decade experience. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 20, 1217-1223. 10.1016/j.bbmt.2014.04.021.
2. Malard, F., Holler, E., Sandmaier, B.M., Huang, H., and Mohty, M. (2023). Acute graft-versus-host disease. *Nat Rev Dis Primers* 9, 27. 10.1038/s41572-023-00438-1.
3. Peled, J.U., Gomes, A.L.C., Devlin, S.M., Littmann, E.R., Taur, Y., Sung, A.D., Weber, D., Hashimoto, D., Slingerland, A.E., Slingerland, J.B., et al. (2020). Microbiota as Predictor of Mortality in Allogeneic Hematopoietic-Cell Transplantation. *The New England Journal of Medicine* 382, 822-834. 10.1056/NEJMoa1900623.
4. Stein-Thoeringer, C.K., Nichols, K.B., Lazrak, A., Docampo, M.D., Slingerland, A.E., Slingerland, J.B., Clurman, A.G., Armijo, G., Gomes, A.L.C., Shono, Y., et al. (2019). Lactose drives Enterococcus expansion to promote graft-versus-host disease. *Science (New York, N.Y.)* 366, 1143-1149. 10.1126/science.aax3760.
5. Malard, F., Dore, J., Gaugler, B., and Mohty, M. (2020). Introduction to host microbiome symbiosis in health and disease. *Mucosal immunology*, 1-8. 10.1038/s41385-020-00365-4.
6. Malard, F., Loschi, M., Huynh, A., Cluzeau, T., Guenounou, S., Legrand, F., Magro, L., Orvain, C., Charbonnier, A., Panz-Klapuch, M., et al. (2023). Pooled allogeneic faecal microbiota MaaT013 for steroid-resistant gastrointestinal acute graft-versus-host disease: a single-arm, multicentre phase 2 trial. *EClinicalMedicine* 62, 102111. 10.1016/j.eclinm.2023.102111.
7. Fernandez Sanchez, J.V., Maknojia, A.A., and King, K.Y. (2024). Blood and Guts: How the Intestinal Microbiome Shapes Hematopoiesis and Treatment of Hematologic Disease. *Blood*. 10.1182/blood.2023021174.
8. Schluter, J., Peled, J.U., Taylor, B.P., Markey, K.A., Smith, M., Taur, Y., Niehus, R., Staffas, A., Dai, A., Fontana, E., et al. (2020). The gut microbiota is associated with immune cell dynamics in humans. *Nature* 588, 303-307. 10.1038/s41586-020-2971-8.
9. Berlin, C., Berg, E.L., Briskin, M.J., Andrew, D.P., Kilshaw, P.J., Holzmann, B., Weissman, I.L., Hamann, A., and Butcher, E.C. (1993). Alpha 4 beta 7 integrin mediates lymphocyte binding to the mucosal vascular addressin MAdCAM-1. *Cell* 74, 185-195. 10.1016/0092-8674(93)90305-a.
10. Murakami, J.L., Xu, B., Franco, C.B., Hu, X., Galli, S.J., Weissman, I.L., and Chen, C.C. (2016). Evidence that $\beta 7$ Integrin Regulates Hematopoietic Stem Cell Homing and Engraftment Through Interaction with MAdCAM-1. *Stem Cells Dev* 25, 18-26. 10.1089/scd.2014.0551.
11. Ueha, S., Murai, M., Yoneyama, H., Kitabatake, M., Imai, T., Shimaoka, T., Yonehara, S., Ishikawa, S., and Matsushima, K. (2007). Intervention of MAdCAM-1 or fractalkine alleviates graft-versus-host reaction associated intestinal injury while preserving graft-versus-tumor effects. *Journal of leukocyte biology* 81, 176-185. 10.1189/jlb.0306231.

12. Chen, Y.-B., Mohty, M., Zeiser, R., Teshima, T., Takanami, Y., Rossiter, G., Jansson, J., and Fløisand, Y. (2023). Vedolizumab for prophylaxis of lower gastrointestinal acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation from unrelated donors: a phase 3, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study. EBMT Oral presentation.
13. Fidelle, M., Rauber, C., Alves Costa Silva, C., Tian, A.L., Lahmar, I., de La Varenne, A.M., Zhao, L., Thelemaque, C., Lebhar, I., Messaoudene, M., et al. (2023). A microbiota-modulated checkpoint directs immunosuppressive intestinal T cells into cancers. *Science (New York, N.Y.)* *380*, eabo2296. 10.1126/science.abo2296.
14. Malard, F., Lavelle, A., Battipaglia, G., Gaugler, B., Dulery, R., Brissot, E., Mediavilla, C., Jegou, S., Rolhion, N., Ledraa, T., et al. (2021). Impact of gut fungal and bacterial communities on the outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Mucosal immunology* *14*, 1127-1132. 10.1038/s41385-021-00429-z.
15. Przepiorcka, D., Weisdorf, D., Martin, P., Klingemann, H.G., Beatty, P., Hows, J., and Thomas, E.D. (1995). 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone marrow transplantation* *15*, 825-828.
16. McMurdie, P.J., and Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one* *8*, e61217. 10.1371/journal.pone.0061217.
17. Shono, Y., Docampo, M.D., Peled, J.U., Perobelli, S.M., Velardi, E., Tsai, J.J., Slingerland, A.E., Smith, O.M., Young, L.F., Gupta, J., et al. (2016). Increased GVHD-related mortality with broad-spectrum antibiotic use after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in human patients and mice. *Science translational medicine* *8*, 339ra371. 10.1126/scitranslmed.aaf2311.
18. Malard, F., Gaugler, B., and Mohty, M. (2022). Faecal microbiota transplantation in patients with haematological malignancies undergoing cellular therapies: from translational research to routine clinical practice. *The Lancet. Haematology* *9*, e776-e785. 10.1016/s2352-3026(22)00223-x.
19. Chen, Y.B., Mohty, M., Zeiser, R., Teshima, T., Jamy, O., Maertens, J., Purtill, D., Chen, J., Cao, H., Rossiter, G., et al. (2024). Vedolizumab for the prevention of intestinal acute GVHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a randomized phase 3 trial. *Nature medicine*. 10.1038/s41591-024-03016-4.
20. Fu, Y.Y., Egorova, A., Sobieski, C., Kuttiyara, J., Calafiore, M., Takashima, S., Clevers, H., and Hanash, A.M. (2019). T Cell Recruitment to the Intestinal Stem Cell Compartment Drives Immune-Mediated Intestinal Damage after Allogeneic Transplantation. *Immunity* *51*, 90-103.e103. 10.1016/j.immuni.2019.06.003.
21. Katayama, Y., Hidalgo, A., Peired, A., and Frenette, P.S. (2004). Integrin $\alpha 4\beta 7$ and its counterreceptor MAdCAM-1 contribute to hematopoietic progenitor recruitment into bone marrow following transplantation. *Blood* *104*, 2020-2026. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-12-4157>.
22. Tada, T., Inoue, N., Widayati, D.T., and Fukuta, K. (2008). Role of MAdCAM-1 and its ligand on the homing of transplanted hematopoietic cells in irradiated mice. *Exp Anim* *57*, 347-356. 10.1538/expanim.57.347.
23. Tada, T., and Fukuta, K. (2010). Expression of cell adhesion molecules at the collapse and recovery of haematopoiesis in bone marrow of mouse. *Anat Histol Embryol* *39*, 403-410. 10.1111/j.1439-0264.2010.01009.x.
24. Balmer, M.L., Schürch, C.M., Saito, Y., Geuking, M.B., Li, H., Cuenca, M., Kovtonyuk, L.V., McCoy, K.D., Hapfelmeier, S., Ochsenbein, A.F., et al. (2014). Microbiota-derived compounds drive steady-state granulopoiesis via MyD88/TICAM signaling. *J Immunol* *193*, 5273-5283. 10.4049/jimmunol.1400762.

25. Josefsdottir, K.S., Baldrige, M.T., Kadmon, C.S., and King, K.Y. (2017). Antibiotics impair murine hematopoiesis by depleting the intestinal microbiota. *Blood* *129*, 729-739. 10.1182/blood-2016-03-708594.
26. Dang, A.T., Begka, C., Pattaroni, C., Caley, L.R., Floto, R.A., Peckham, D.G., and Marsland, B.J. (2023). Butyrate regulates neutrophil homeostasis and impairs early antimicrobial activity in the lung. *Mucosal immunology* *16*, 476-485. 10.1016/j.mucimm.2023.05.005.
27. Guo, H., Chou, W.C., Lai, Y., Liang, K., Tam, J.W., Brickey, W.J., Chen, L., Montgomery, N.D., Li, X., Bohannon, L.M., et al. (2020). Multi-omics analyses of radiation survivors identify radioprotective microbes and metabolites. *Science (New York, N.Y.)* *370*. 10.1126/science.aay9097.
28. Gao, R.Y., Shearn, C.T., Orlicky, D.J., Battista, K.D., Alexeev, E.E., Cartwright, I.M., Lanis, J.M., Kostecky, R.E., Ju, C., Colgan, S.P., and Fennimore, B.P. (2021). Bile acids modulate colonic MAdCAM-1 expression in a murine model of combined cholestasis and colitis. *Mucosal immunology* *14*, 479-490. <https://doi.org/10.1038/s41385-020-00347-6>.
29. Malard, F., Vekhoff, A., Lapusan, S., Isnard, F., D'incan-Corda, E., Rey, J., Saillard, C., Thomas, X., Ducastelle-Lepretre, S., Paubelle, E., et al. (2021). Gut microbiota diversity after autologous fecal microbiota transfer in acute myeloid leukemia patients. *Nature communications* *12*, 3084. 10.1038/s41467-021-23376-6.

Table 1: Patient and transplant characteristics

All patients (n=279)	
Patient age in years, median (range)	56 (16-76)
Gender	
Male	169 (60.6%)
Female	110 (39.4%)
Disease (%)	
Myeloid	194 (69.5%)
Acute myeloid leukemia	123 (63.4%)
Myeloproliferative neoplasms	47 (24.2%)
Myelodysplastic syndromes	24 (12.4%)
Lymphoid	85 (30.6%)
Chronic lymphocytic leukemia	1 (1.2%)
Hodgkin lymphomas	11 (12.9%)
Multiple myeloma	7 (8.2%)
Non-Hodgkin lymphomas	23 (27.1%)
Precursor lymphoid neoplasms	43 (50.6%)
DRI	
Low	3 (1.1%)
Intermediate	175 (62.7%)
High	91 (32.6%)
Very high	10 (3.6%)
Graft source	
Bone marrow	22 (7.9%)
Peripheral blood stem cells	257 (92.1%)
Regimen intensity (%)	
RIC	74 (26.5%)
RTC	122 (43.7%)
Sequential	83 (29.7%)
Donor type (%)	
Haploidentical donor	93 (33.3%)
Matched sibling donor	77 (27.6%)
Matched unrelated donor	109 (39.1%)
GvHD prophylaxis	
CsA	38 (13.6%)
CsA-MMF	226 (81.0%)
CsA-MTX	15 (5.4%)
PTCy	
Yes	106 (38.0%)
No	173 (62.0%)
ATG	
Median dose (range)	5 mg/kg (2-12.5)
No	21 (7.5%)
Yes	258 (92.5%)
PIM exposure before Day 0	
Yes	79 (28.3%)
No	200 (71.7%)
PIM exposure from the start of conditioning to neutrophil engraftment	
Yes	231 (82.8%)
No	48 (17.2%)

Abbreviations: DRI is for disease risk index; RIC, reduced intensity conditioning; RTC, reduced toxicity conditioning; GvHD, graft-*versus*-host disease; aGvHD, acute GvHD; cGvHD, chronic GvHD; PIM, piperacillin-tazobactam, imipenem-cilastatin and meropenem.

Figure 1

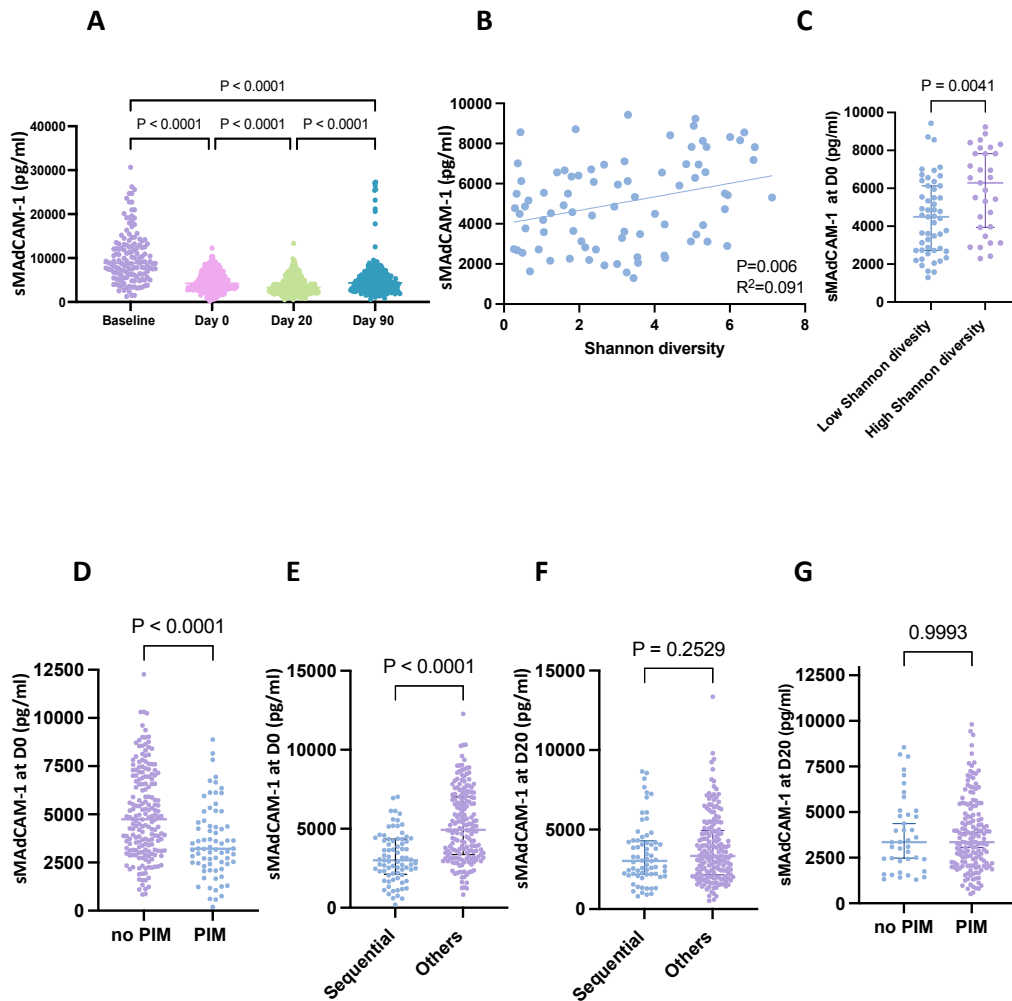


Figure 1: Serum MAdCAM-1 is an indicator of gut dysbiosis.

(A): Dynamics of sMAdCAM-1 concentrations at baseline (n=144), day 0 (n=259), day 20 (n=246) and day 90 (n=221) post allo-HCT. **(B):** Correlation between sMAdCAM-1 concentrations at day 0 and day 20 and microbiota diversity represented by Shannon index (Pearson correlation, n=82, r=0.29, p=0.006). **(C):** sMAdCAM-1 concentrations in patients with low (n=51) vs high Shannon diversity (n=31) (p=0.0041). **(D):** sMAdCAM-1 concentrations at day 0 in patients exposed (n=72) vs unexposed (n=187) to anaerobic antibiotics (PIM) (p<0.0001). **(E):** sMAdCAM-1 concentrations at day 0 in patients treated with sequential conditioning (n=77) vs other types of conditioning (n=182) (p<0.0001). **(F):** sMAdCAM-1 concentrations at day 20 in patients treated with sequential conditioning (n=68) vs other types of conditioning (n=178) (p<0.0001). **(G):** sMAdCAM-1 concentrations at day 20 in patients exposed to anaerobic antibiotics PIM (n=206) vs unexposed to anaerobic antibiotics (PIM) (n=40) (p=0.9993). Each dot represents a single patient; error bars represent median with interquartile range.

Figure 2

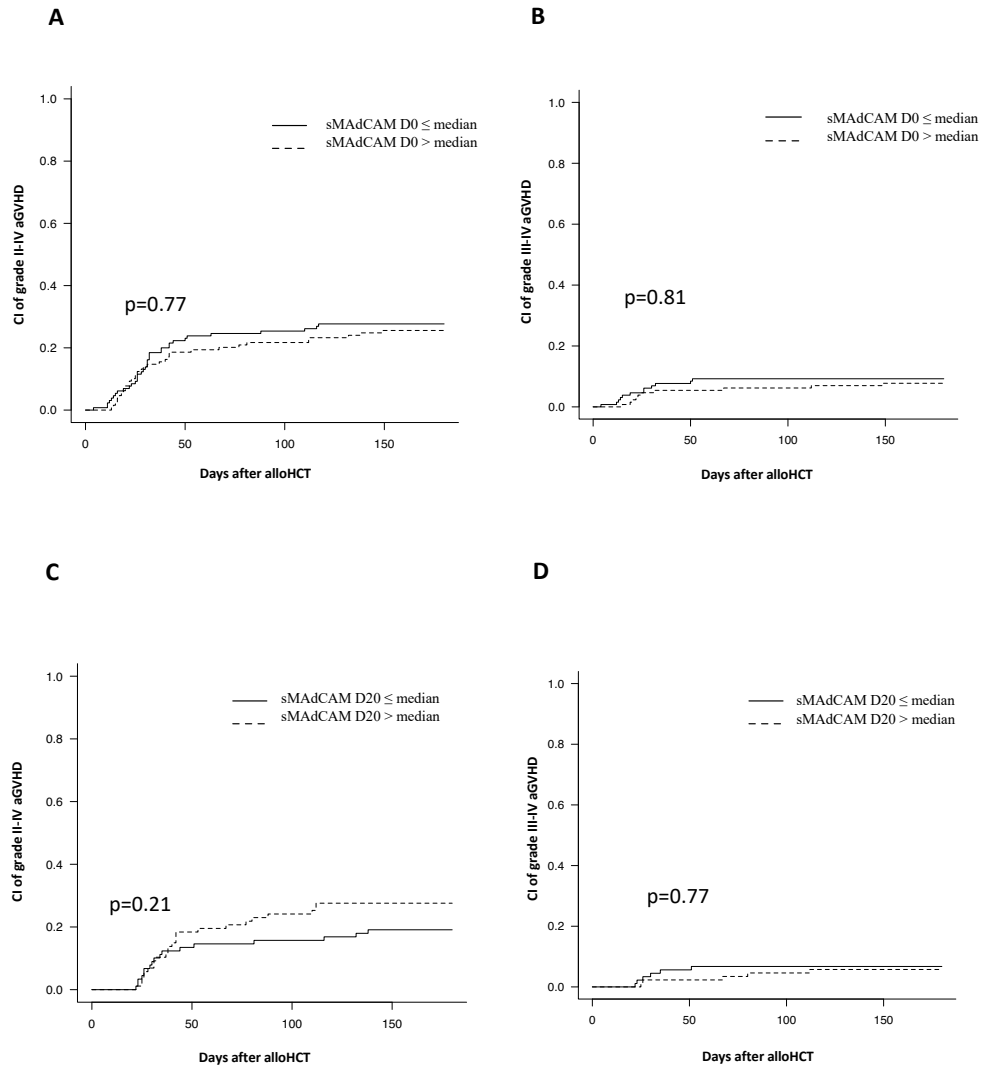


Figure 2: Impact of sMAdCAM-1 levels on aGvHD

(A-B): Cumulative incidence (CI) of aGvHD II-IV and III-IV in allo-HCT patients (n=259) according to sMAdCAM levels at day 0 (sMAdCAM D0 ≤ median or sMAdCAM D0 > median) (p=0.77 and p=0.81, respectively). **(C-D):** Cumulative incidence of aGvHD II-IV and III-IV in allo-HCT patients (n=246) according to sMAdCAM levels at day 20 post-transplantation (sMAdCAM D20 ≤ median or sMAdCAM D20 > median) (p=0.77 and p=0.81 respectively). Groups were compared using Gray's test.

Figure 3

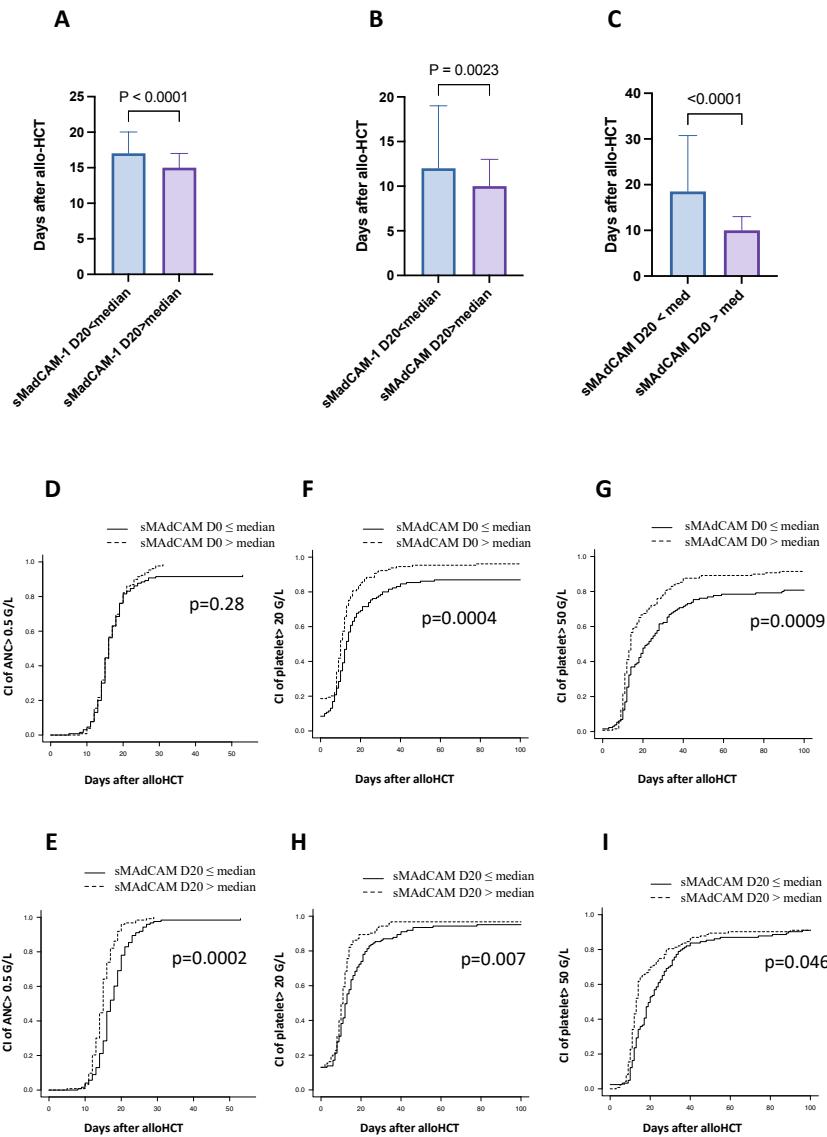


Figure 3: sMAdCAM-1 correlates with hematopoietic recovery at D20.

Number of days to (A) absolute neutrophil count (ANC) recovery (>0.5 G/L) and (B) platelet recovery (>20 G/L) and (C) platelet recovery (>50 G/L) according to sMAdCAM-1 levels at day 20 (sMAdCAM D20 \leq med or sMAdCAM D20 > med), ($p < 0.0001$, $p = 0.0023$ and $p < 0.0001$ respectively). (D-F-G): Cumulative incidence of neutrophil recovery (0.5G/L), platelet recovery (20G/L) and platelet recovery (50G/L) respectively according to sMAdCAM-1 levels at day 0 (sMAdCAM D0 \leq median or sMAdCAM D0 > median) ($p = 0.28$, $p = 0.0004$, $p = 0.0009$ respectively). (E-H-I): Cumulative incidence of neutrophil recovery (0.5G/L), platelet recovery (20G/L) and platelet recovery (50G/L) respectively according to sMAdCAM-1 levels at day 20 (sMAdCAM D20 \leq median or sMAdCAM D20 > median) ($p = 0.0002$, $p = 0.007$, $p = 0.046$ respectively). For cumulative incidence of neutrophil and platelet recovery, groups were compared using Gray's test. Abbreviation: med, median; alloHCT, allogeneic hematopoietic cell transplantation.

Figure 4

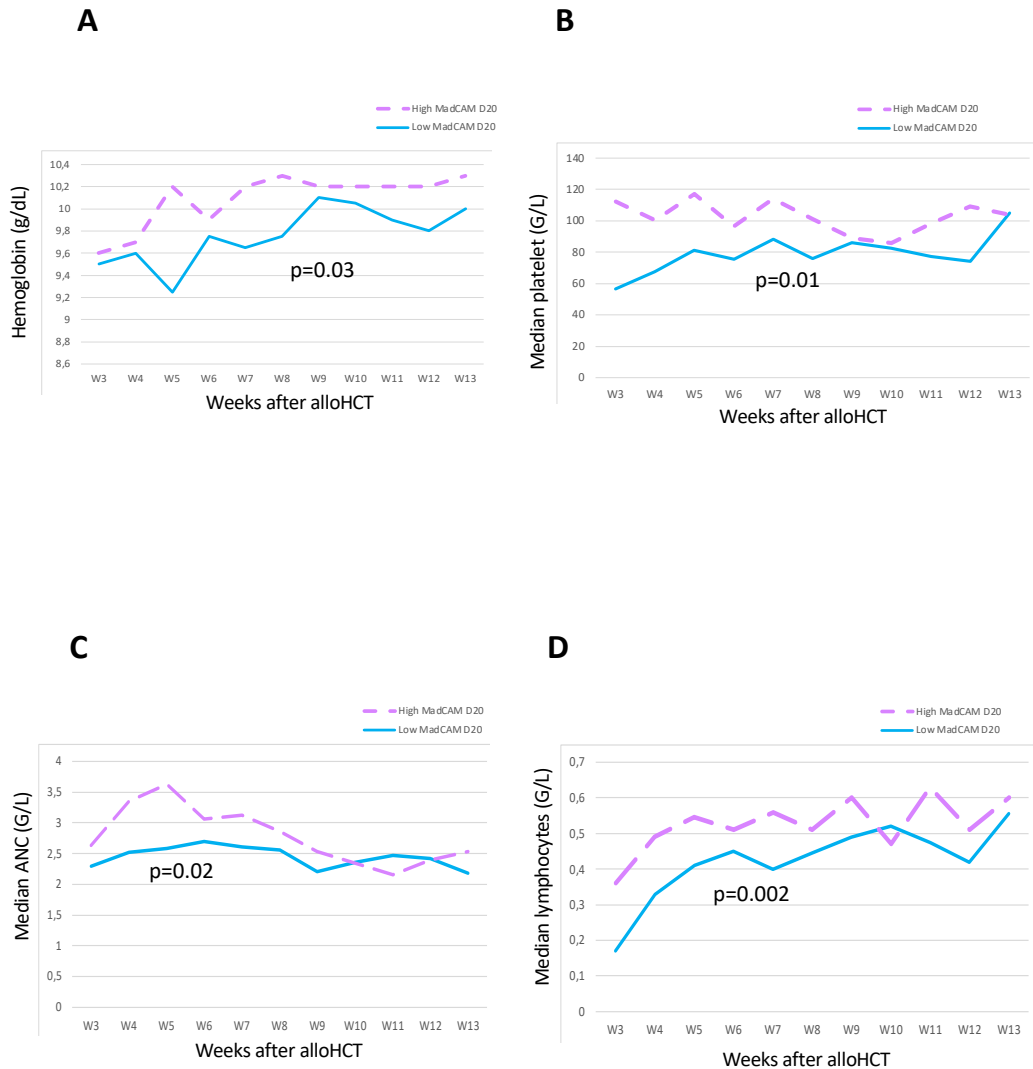
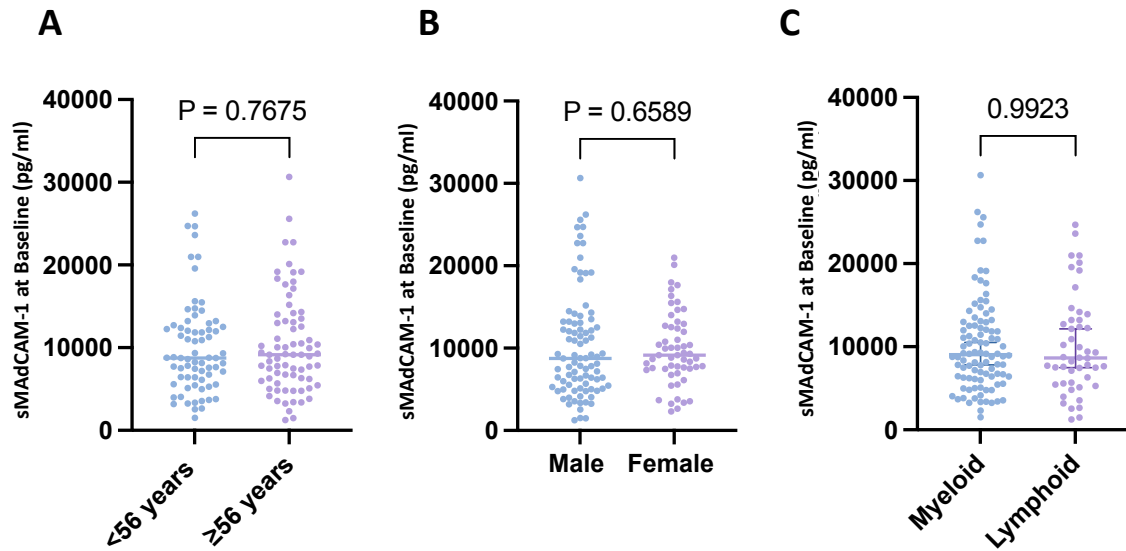


Figure 4: Haemoglobin, platelet and neutrophil counts increased in patients with high sMAdCAM-1 levels at day 20. Weekly median absolute counts of **(A)** haemoglobins, **(B)** platelets, **(C)** neutrophils and **(D)** lymphocytes in 246 allo-HCT patients according to sMAdCAM-1 levels (p=0.03, p=0.01, p=0.02, p=0.002 respectively).

Supplemental data

Supplementary Figure 1



Supplementary figure 1: Impact of patients' age, gender and of the underlying malignancy on baseline sMAdCAM-1 level.

(A): Impact of patients' age on sMAdCAM-1 level.

(B): Impact of patients' gender on sMAdCAM-1 level.

(C): Impact of underlying malignancy (myeloid *versus* lymphoid) MAdCAM-1 level.

Abbreviation : BL, baseline.

Deuxième partie : Analyse des interactions entre les IgA/IgG et les bactéries chez les patients traités par allo-CSH

La symbiose entre le microbiote intestinal et le système immunitaire revêt une importance capitale dans la santé et la maladie, en particulier chez les patients ayant subi une allo-CSH. L'équilibre fragile entre la diversité microbienne et la réponse immunitaire, notamment à travers les anticorps IgA et IgG, soulève des interrogations quant à son influence sur les résultats cliniques après la greffe. Par conséquent, cette partie de notre travail vise à explorer les intrications complexes entre la dysbiose intestinale, les réponses immunologiques spécifiques et les conséquences cliniques chez les patients allo-CSH, dans le but d'apporter des éclaircissements essentiels à la prise en charge de ces patients. Tous les objectifs initiaux n'ont pas pu être pleinement explorés, et c'est dans ce contexte que nous présentons les résultats préliminaires de ce projet.

Matériels et méthodes

Patients et méthodes

Les sérums de 150 patients traités par allo-CSH pour une leucémie aigüe myéloïde dans le service d'Hématologie clinique de l'Hôpital Saint-Antoine pendant la période allant de 2015 à 2020 ont été congelés en pré-greffe, à J0, J20, 1 mois, 3 mois et 1 an post-greffe. Parmi les 150 patients, les selles de 71 patients ont été congelées à J0 et séquencées pour une étude précédente [279]. Les caractéristiques des patients sont détaillées dans le **Tableau 5**.

Purification des échantillons fécaux

140 échantillons de selles de patients et 16 échantillons de selles de donneurs sains ont été purifiés. Les selles sont homogénéisées dans 5 ml de PBS et centrifugées une première fois à 4600 g pendant 15 min à 4°C. Après cette étape, 2 ml de surnageant correspondant à l'eau fécale ont été récupérés et conservés à -80°C. Les surnageants et culots sont ensuite homogénéisés dans 50 ml de PBS puis centrifugés une deuxième fois à 1000 g pendant 10 min à 4°C afin d'éliminer les débris. Les surnageants sont centrifugés une dernière fois à 4600 g pendant 20 min et les culots contenant les bactéries sont conservés dans du PBS contenant 10% de glycérol à -80°C.

Dosage des IgA et IgG par ELISA

Les concentrations en IgA et IgG dans les sérums des patients sont dosées par ELISA en utilisant des anticorps de capture et de détection (Bethyl laboratory) selon les recommandations du fabricant. Les sérums sont dilués 1/10000 pour le test ELISA. Les échantillons sont ensuite normalisés à 20 µg/ml en IgA/IgG pour leur utilisation ultérieure dans les expériences de cytométrie de flux. Le dosage des IgA dans les eaux fécales a été réalisé de la même manière.

Détection des IgA/IgG fixées aux bactéries provenant des échantillons de selles des patients en cytométrie de flux

Les bactéries provenant des échantillons de selles et fixées aux anticorps sont détectées par cytométrie en flux. Deux microlitres d'échantillon de selle purifiée sont incubés avec des anticorps anti-IgA FITC et anti-IgG DL405 dilués au 1/400 (Jackson laboratory) pendant 20 min puis après lavage, les échantillons sont fixés dans 200µL de PBS contenant 2 % de paraformaldéhyde. Les échantillons sont analysés au cytomètre de flux Cytotflex (Beckman Coulter).

Étude de l'interaction entre les IgA /IgG sériques et les bactéries intestinales

Les échantillons de selles purifiées (1µL) sont incubés avec 25µL de sérum du patient normalisé à 20µg/ml en IgA/IgG pendant 30 minutes à 4°C. Après lavage, les échantillons sont incubés avec 25µL de l'anticorps secondaire anti-IgA FITC ou anti-IgG DL405 (Jackson) dilués à 1/400, pendant 20 minutes à 4°C. Après lavage, les échantillons sont fixés dans 200µL de PBS contenant 2 % de paraformaldéhyde. Les échantillons sont analysés au cytomètre de flux Cytotflex (Beckman Coulter).

Tableau 5: Caractéristiques des patients

	All patients (n=150)
Patient age in years (median)	56 (19-73)
Gender	
Male	84 (56,0 %)
Female	66 (44,0 %)
Disease (%)	
Myeloid	150 (100 %)
Acute myeloid leukemia	150 (100 %)
Graft source	
Bone marrow	13 (8,7 %)
Peripheral Blood Stem Cells	130 (86,7 %)
Umbilical cord	7 (4,6 %)
Regimen intensity (%)	
MAC	11 (7,3%)
NMA	2 (1,3 %)
RIC	21 (14,0 %)
RTC	116 (77,4%)
Donor type (%)	
Haploidentical donor	60 (40,0 %)
Matched sibling donor	30 (20,0 %)
Matched unrelated donor	53 (35,4 %)
Umbilical cord blood	7 (4,6 %)
GvHD	
aGvHD	
YES	95 (63,3 %)
NO	55 (36,7 %)
cGvHD	
YES	54 (36,0 %)
NO	96 (64,0 %)
GvHD prophylaxis	
CsA	17 (11,0 %)
CsA-MMF	126 (84,0 %)
CSA-MTX	6 (4,0 %)
CsA-MTX-MMF	1 (1,0 %)
PTCy	
YES	68 (45,3 %)
NO	82 (54,7 %)
Antithymocyte globulin (ATG)	
Median dose (range)	2 (1-3)
NO	12 (8 %)
YES	138 (92 %)
GvHD 2-4 (%)	43 (29 %)
GvHD 3-4 (%)	12 (8 %)
Relapse (%)	51 (34 %)

Résultats préliminaires

Les IgA et IgG sériques diminuent de façon significative après allo-CSH

Avant la greffe, la plupart des patients présentent des concentrations normales en IgA (0,7-4 g/L) et IgG (5,6-18 g/L) sériques, avant de diminuer de façon significative aux différents temps où les IgG et IgA ont été dosées après la greffe (**Figure 1 A-B**). Les concentrations en IgG et IgA sont alors généralement inférieures aux valeurs normales, y compris à 1 an post allo-CSH.

Dosage des IgA dans l'eau fécale

Les concentrations en sIgA sont mesurées dans les eaux fécales de 16 contrôles sains, et 93 patients à différents moments avant et après allo-CSH (prégreffe, n=4 ; J0, n=48 ; J20, n=38 ; J30, n=25 ; J90, n=23 ; J360, n=2).

La concentration en sIgA est inférieure chez les contrôles sains (médiane, 8992 ng/ml ; minimum (min)-maximum (max) : 1950-76201), par rapport aux patients aux différents temps : prégreffe, médiane 33166 ng/ml (min-max : 10805- 47735 ; p=NS) ; J0, médiane 32694 ng/ml (min-max, 0- 198262 ; p=0.0016) ; J20, médiane 32170 ng/ml (min-max : 926-223682, p=0.0026) ; J30, médiane 2649 ng/ml (min-max : 0- 87656 ng/ml, p=NS) ; J90 médiane 18934 ng/ml (min-max : 1120-123865 ng/ml, p=NS) et J360, médiane, 34222 ng/ml (min-max, 11601- 56843, p=NS) (**Figure 2A**). La différence est statistiquement significative seulement à J0 et J20 probablement en lien avec un manque de puissance aux autres temps analysés. L'âge, le sexe des patients et l'utilisation ou non de sérum anti-lymphocytaire n'a pas d'impact sur les concentrations de sIgA au J0 de l'allo-CSH (p=0.3069, p=0.4356 et p=0.5518 respectivement, **Figure 2B-D**).

Bactéries fécales liées aux IgA/IgG

Le pourcentage des bactéries fécales liées aux sIgA et IgG est mesuré par cytométrie de flux. Nous disposons de 16 échantillons de contrôles sains (HC, healthy controls) et de 93 patients (prégreffe n=4 ; 48 échantillons à J0, 38 échantillons à J20, 25 échantillons à J30 et 23 échantillons à J90).

Le pourcentage des bactéries liées aux sIgA chez les patients est significativement supérieur à celui des contrôles sains, médiane 19,33% (min-max : 0.36-80.5) *versus* 7.625% (min-max : 0.57 - 39.21) respectivement (p=0.0165, **Figure 3A**). En revanche, il n'y avait pas de différence au niveau du pourcentage des bactéries reconnues par les IgG entre les contrôles sains (médiane 0.23%, min-max : 0.010-8.230) et les patients (médiane 0.15%, min-max 0-13, p=0.2322,

Figure 3B). De plus, on voit une tendance à la diminution du pourcentage des bactéries liées aux sIgA aux temps précoces après allo-CSH jusqu'à J30, avant une augmentation, sans que ces différences ne soient significatives (**Figure 3C**).

On ne met pas en évidence d'impact de l'âge et du sexe des patients sur la fixation des sIgA aux bactéries au J0 de l'allo-CSH ($p=0.9282$ et $p=0.9915$ respectivement, **Figure 3D-E**). De plus, nous avons trouvé que les patients traités par du PTCy, avaient un pourcentage de bactéries liées aux sIgA significativement supérieur à celui des patients qui n'ont pas reçu du PTCy ($p=0.0162$, **Figure 3F**).

Incubation des selles des patients avec leur sérum autologue

Afin de savoir si les IgG et les IgA sériques reconnaissent les bactéries intestinales, les selles des patients sont incubées avec leurs sérums autologues, et un marquage anti-IgG et anti-IgA est réalisé afin d'identifier les bactéries liées aux IgG et aux IgA sériques. Seuls les résultats pour les IgG sont disponibles.

Nous avons mis en évidence une grande variabilité du pourcentage de bactéries fécales reconnues par les IgG sériques (médiane, 8.35 % ; min-max : 1.1-57.98, **Figure 4A**), et il n'y a pas de différence significative en fonction du temps par rapport à la greffe, **Figure 4B**). Les patients qui ont un pourcentage de bactéries fécales reconnues par les IgG sériques supérieur à la médiane à J30 avaient une tendance d'une meilleure DFS ($p=0.0642$) et une tendance de moins de rechute ($p=0.0847$, **Figure 4C-D**).

Figure 1

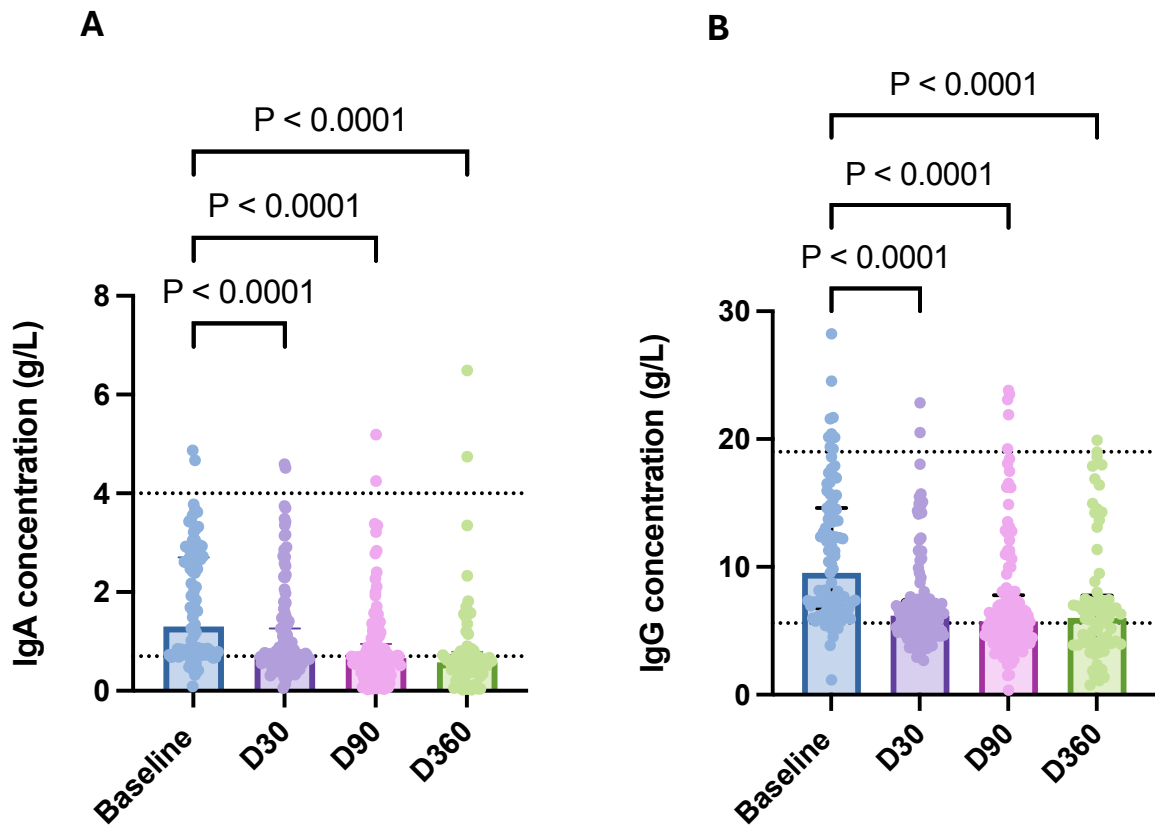


Figure 1 : Les IgA et les IgG sériques diminuent de façon significative après la greffe. Dosage des IgA (A) et des IgG (B) sériques des patients à différents temps après la greffe. IgA (Baseline, n=94; D30, n=131; D90, n=129; D360, n=71). IgG (Baseline, n=95; D30, n=135; D90, n=131; D360, n=69). Les traits pointillés correspondent aux concentrations sériques des IgA et des IgG chez un individu sain (IgA : 0,7-4 g/L; IgG: 5,6-18 g/L).

Figure 2

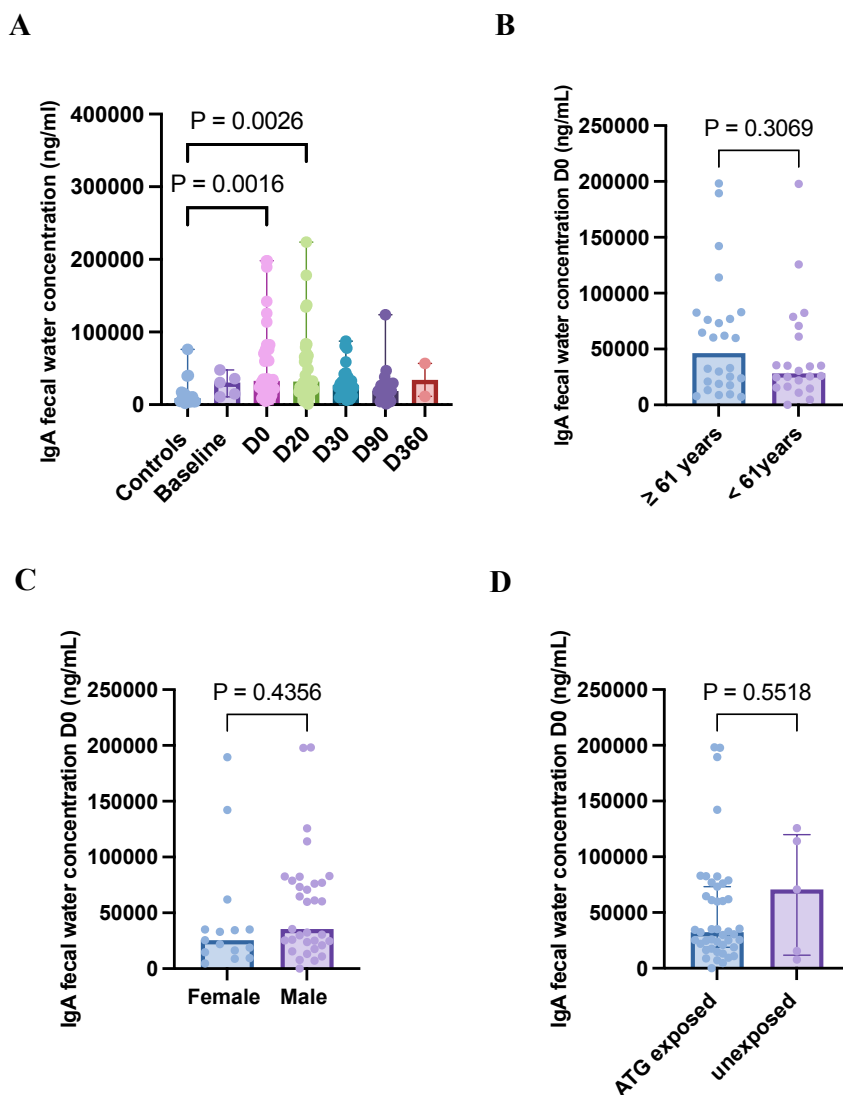


Figure 2 : (A) : Concentrations en sIgA dans les eaux fécales de 16 contrôles sains, et 93 patients à différents moments avant et après allo-CSH (pré-greffe, n=4 ; J0, n=48 ; J20, n=38 ; J30, n=25 ; J90, n=23 ; J360, n=2). Impact de l'âge (B), du sexe des patients (C), et de l'utilisation ou non de sérum anti-lymphocytaire (D), sur les concentrations de sIgA au J0 de l'allo-CSH (p=0.3069, p=0.4356 et p=0.5518 respectivement).

Figure 3

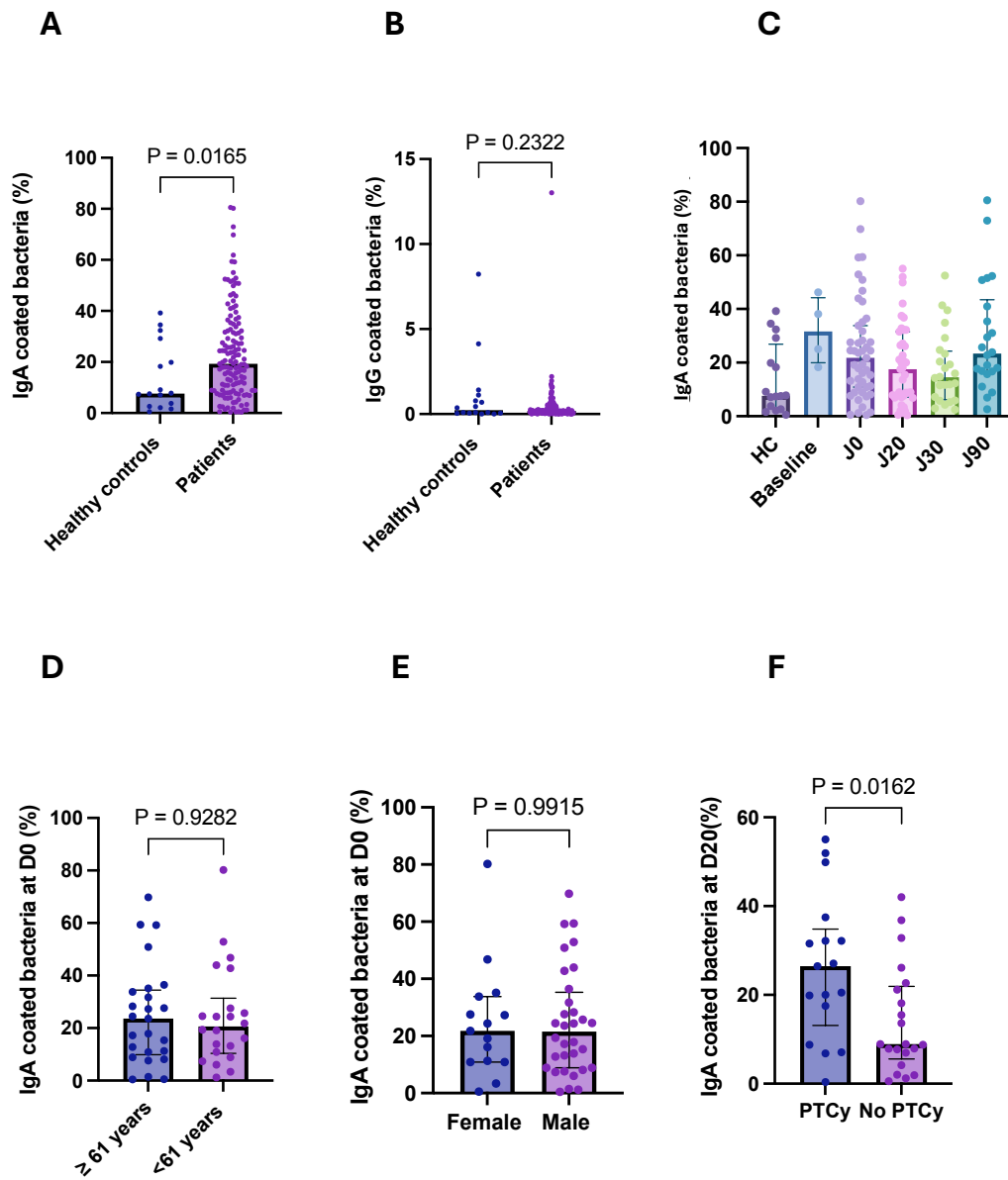


Figure 3 : Pourcentage de bactéries fécales liées aux sIgA (A) et IgG (B) chez n=16 contrôles sains (HC, healthy controls) et n=93 patients (prégreffe n=4 ; 48 échantillons à J0, 38 échantillons à J20, 25 échantillons à J30 et 23 échantillons à J90).

(C) : Pourcentage des bactéries liées aux sIgA chez 16 contrôles sains, et 93 patients à différents moments avant et après allo-CSH.

Impact de l'âge (D) et du sexe des patients (E) sur la fixation des sIgA aux bactéries au J0 de l'allo-CSH (n=48).

(F) : Impact du PTCy sur la fixation des sIgA aux bactéries au J20 de l'allo-CSH (n=38).

Figure 4

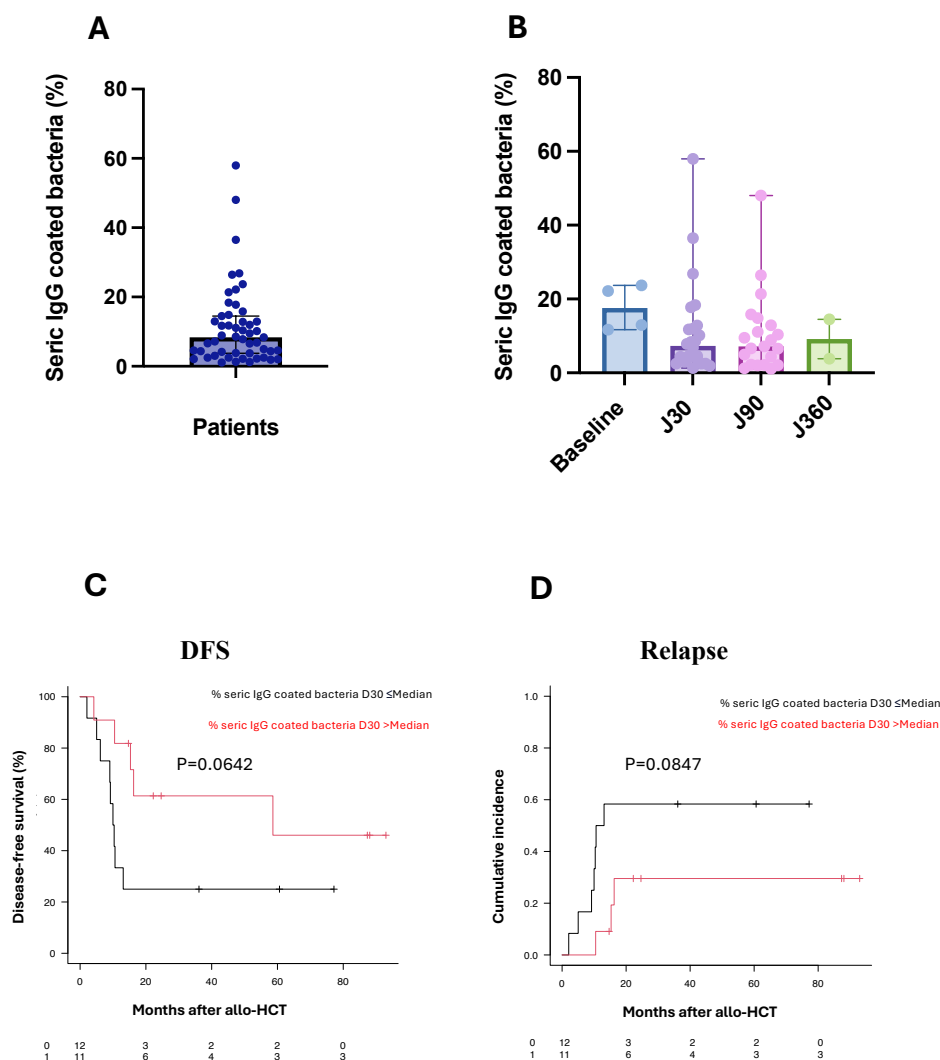


Figure 4 : **(A)** : Pourcentage de bactéries fécales reconnues par les IgG sériques (n=54). **(B)** : Pourcentage de bactéries fécales reconnues par les IgG sériques à différents moments avant et après allo-CSH (4 échantillons en pré-greffe, 25 échantillons à J30, 23 échantillons à J90 et 2 échantillons à J360). **(C)** : Analyse Kaplan-Meier pour la survie sans survenue de maladie (DFS) des patients allo-CSH en fonction du pourcentage des bactéries fécales reconnues par les IgG sériques par rapport à la médiane à J30 (n=24, p=0.0642). **(D)** : Incidence cumulée de rechute selon le pourcentage des bactéries fécales reconnues par les IgG sériques par rapport à la médiane à J30 (n=24, p=0.0847).

DISCUSSION

Les niveaux bas de sMAdCAM-1 ont été rapportés comme un indicateur de dysbiose intestinale et un fort prédicteur d'une diminution de la survie globale et de la survie sans progression de la maladie chez les patients atteints de cancers des reins, de la vessie et des poumons recevant une immunothérapie avec des anticorps anti-PD-1 ou anti-PD-L1 (**Figure 17**) [190]. Dans notre étude et sur la base des études antérieures [280], nous avons étudié la pertinence clinique de sMAdCAM-1 et examiné l'interaction entre l'axe MAdCAM-1/ $\alpha 4\beta 7$, le microbiote et l'utilisation d'antibiotiques dans une cohorte de 279 patients ayant subi une allo-CSH.

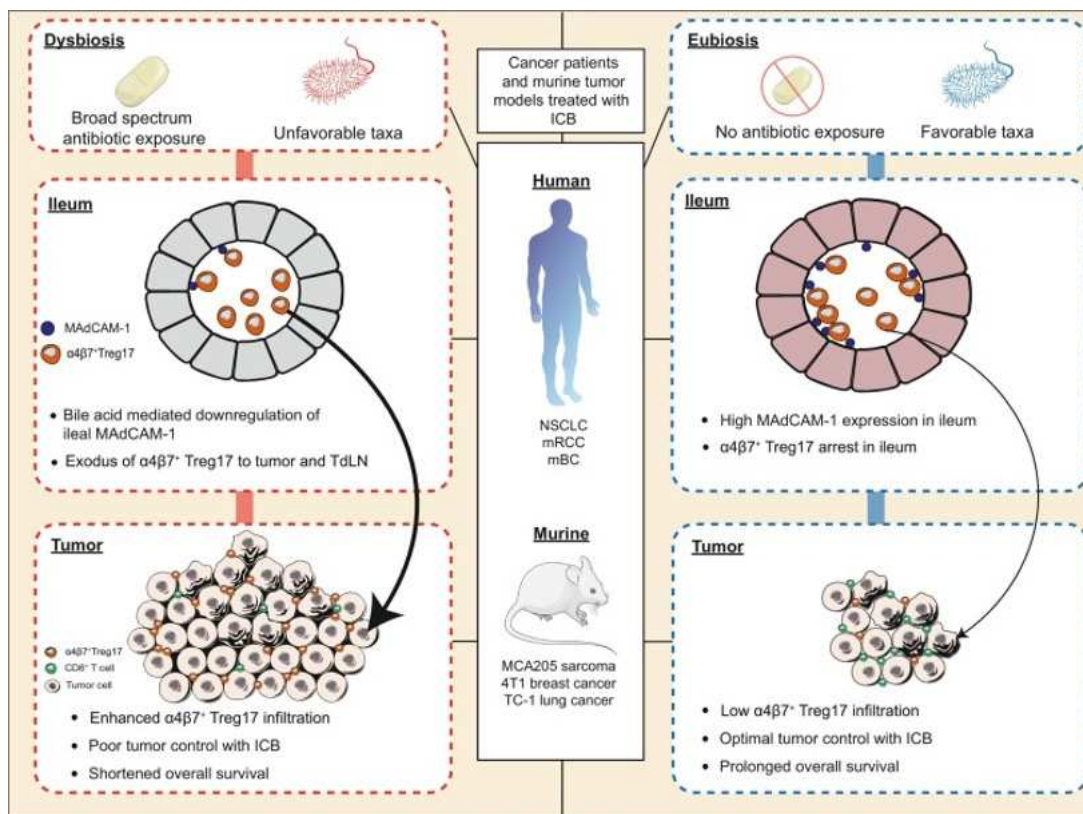


Figure 17: Dysbiose intestinale et expression de MAdCAM-1 dans les cancers solides

M Chelvanambi et J Wargo, Trends in immunology, 2023

En prégreffe, les niveaux de sMAdCAM-1 étaient au maximum, diminuant de moitié à J0, le jour de l'allo-CSH. Ils ont chuté davantage vers J20, puis légèrement augmenté à J90, restant significativement inférieurs aux valeurs de sMAdCAM-1 en prégreffe. L'âge et le sexe des patients n'ont pas affecté les niveaux de sMAdCAM-1 en prégreffe. Néanmoins, d'autres études ont mis en évidence une diminution importante liée à l'âge du potentiel de migration des immunoblastes IgA, principalement due à une baisse de l'expression de MAdCAM-1 et des intégrines $\alpha 4\beta 7$ observée chez des rats âgés [181]. De plus, une étude menée par Goode et ses

collaborateurs a montré que les hormones sexuelles (progestérone et œstrogène) influençaient les niveaux de sMAdCAM-1 chez les macaques rhésus ; des niveaux plus faibles de sMAdCAM ont été observés chez les macaques traités par (progestérone et œstrogène) par rapport aux témoins [281]. Toutefois, aucune étude menée chez l'homme n'a montré l'influence des caractéristiques démographiques des patients, telles que l'âge et le sexe, sur les niveaux de sMAdCAM-1.

Par ailleurs, notre étude a révélé une forte corrélation entre les niveaux de sMAdCAM-1 et la diversité bactérienne, avec les patients présentant une plus grande diversité bactérienne montrant des niveaux de sMAdCAM-1 élevés. Nous avons également confirmé que l'exposition aux antibiotiques à large spectre anti-anaérobie (PIM) avant J0 était associée à des niveaux plus faibles de sMAdCAM-1 à J0. Conformément à nos résultats, Fidelle et *al.* ont montré que l'antibiothérapie à large spectre entraînait une diminution persistante de l'expression iléale de MAdCAM-1 chez les souris et l'homme, et que des faibles concentrations de sMAdCAM-1 étaient identifiées comme un indicateur de dysbiose intestinale [190]. Cette diminution était fortement corrélée à une réduction de l'expression de l'IL-17a et du ROR γ t de l'iléon, ainsi qu'à un mauvais contrôle de la taille de la tumeur (**Figure 17**). Ainsi, MAdCAM iléale émerge comme un axe mécanistique par lequel la dysbiose intestinale peut atténuer l'immunité antitumorale systémique pendant le blocage des points de contrôle immunitaire, offrant ainsi des opportunités pour le pronostic potentiel et le ciblage thérapeutique.

Étant donné que l'utilisation d'antibiotiques à large spectre anti-anaérobie entraîne une perte de la diversité bactérienne, et en tenant compte de la corrélation entre cette diminution de la diversité bactérienne et les résultats associés à la GvHD [84], [282], ainsi que de l'effet préventif du vedolizumab sur la GvHD aiguë gastro-intestinale [194], nous avons ensuite examiné l'impact des niveaux de sMAdCAM-1 sur l'incidence cumulée de la GvHD aiguë. Nous n'avons pas observé de différences entre les patients présentant des niveaux bas ou élevés de sMAdCAM-1, y compris dans le cas de la GvHD aiguë gastro-intestinale. En fait, malgré qu'une expression élevée de MAdCAM-1 au niveau de la veine iléale à la base de la crypte intestinale, entraîne une infiltration des lymphocytes T allo-réactifs du donneur et un risque accru de GvHD aiguë, l'utilisation d'antibiotiques à large spectre, qui sont également associés à une mortalité accrue due à la GvHD, pourrait réguler à la baisse l'expression de MAdCAM-1 et atténuer cet effet. L'analyse de l'expression de MAdCAM-1 sur des biopsies

intestinales aurait pu apporter des éclaircissements, cependant, malheureusement aucun échantillon n'était disponible.

De plus, des niveaux faibles de sMAdCAM-1 à J0 et J20 étaient corrélés à une récupération retardée des neutrophiles et des plaquettes. Des taux plus élevés d'hémoglobine, de neutrophiles, de plaquettes et de lymphocytes ont été observés chez les patients présentant des niveaux de sMAdCAM plus élevés à J20. Tout cela suggère que la dysbiose entraîne un retard de la récupération hématopoïétique après allo-CSH via l'axe MAdCAM-1/ α 4 β 7.

La recherche sur la récupération hématopoïétique a connu une croissance exponentielle au cours des dernières décennies. Nos résultats ont été confirmés dans une analyse multivariée prenant en compte les principaux paramètres associés à la récupération hématopoïétique. D'autre part, il a été démontré que le blocage de l'axe MAdCAM-1/ α 4 β 7 après allo-CSH retardait la récupération hématopoïétique [159], [162], [194], [283].

Plusieurs études ont mis en évidence l'implication du microbiote dans la récupération hématopoïétique. Guo et *al.* ont montré que l'abondance de *Lachnospiraceae* et *Enterococcaceae* étaient associées à la restauration post-irradiation de l'hématopoïèse et à la réparation du tractus gastro-intestinal chez les souris [105]. En effet, ces bactéries étaient abondantes chez les patients atteints de leucémie subissant une radiothérapie, qui avaient une dysfonction gastro-intestinale plus légère.

Plusieurs études ont également montré le rôle du microbiote intestinal dans l'hématopoïèse normale. Ainsi, certaines pathologies humaines associées à une modification des populations bactériennes, telles que le syndrome inflammatoire de l'intestin ou l'exposition prolongée aux antibiotiques sont associées à des effets hématologiques indésirables, notamment l'anémie et la neutropénie. Chez la souris, les souris Germ-Free présentent des CSH plus petites, un nombre anormal de cellules myéloïdes au niveau de la rate et une altération de la fonction des lymphocytes T par rapport aux souris SPF [102]. De même, le traitement des souris SPF par des antibiotiques pendant une semaine ou plus retarde la prise de greffe des cellules souches, montrant ainsi le rôle important que joue le microbiote dans la transplantation des CSH [284].

Dans notre étude, le mécanisme de la régulation à la baisse de sMAdCAM-1 reste à élucider. Gao et ses collaborateurs ont montré dans un modèle de souris *Mdr2*^{-/-} qui développent spontanément une lésion hépatique cholestatique et une fibrose qui reflètent la cholangite

scélérosante primitive humaine, des altérations dans la composition des acides biliaires fécaux et une susceptibilité accrue à la colite avec une expression augmentée de MAdCAM-1. In vitro, le co-traitement à l'acide ursodésoxycholique (UDCA) a entraîné une atténuation dose-dépendante de l'expression de MAdCAM-1 endothéliale induite par le TNF- α . Dans le modèle combiné Mdr2^{-/-}/DSS, la supplémentation en UDCA a atténué la gravité de la colite et régulé à la baisse l'expression de MAdCAM-1 intestinale [285]. Dans l'étude de Fidelle et *al.*, il a été montré que l'administration orale de bactéries du genre *Enterocloster* a été suffisante pour diminuer l'expression de MAdCAM-1 par ses effets sur le métabolisme des acides biliaires. De plus, l'acide cholique lithocholique (LCA) et l'UDCA ont atténué les niveaux d'expression génique de MAdCAM-1 dans l'iléon, les plaques de Peyer et dans les ganglions lymphatiques mésentériques in-vivo [190], en accord avec d'autres études [286]. Sur la base de ces études, nous pouvons donc émettre l'hypothèse que le métabolisme des acides biliaires est également impliqué dans la régulation de l'expression de MAdCAM-1 chez les patients recevant une allo-CSH.

D'un autre côté, les données de la littérature montrent l'importance d'identifier les spécificités des IgA et des IgG dans un contexte de microbiote perturbé. Dans le cas des patients allo-CSH présentant une diminution de la diversité microbienne, il convient de se demander si les altérations du microbiote chez ces patients sont associées à des perturbations des réponses IgA et IgG, et quel impact cela pourrait avoir sur les événements cliniques post-greffe.

Dans une cohorte de 150 patients traités par allo-CSH pour une leucémie myéloïde aiguë (LAM), nous avons trouvé que les concentrations en IgA et IgG sériques étaient normales en pré-greffe avant de diminuer significativement aux jours 30, 90 et 360 post-greffe tout en restant dans les taux normaux. Bien que les lymphocytes B matures soient efficacement éliminés pendant le conditionnement, les niveaux des IgG circulants diminuent lentement [287], [288]. Ceci est dû à la longue demi-vie des IgG dans le sérum [289] et à la survie de nombreux plasmocytes après la myélodéplétion [290].

Quant aux concentrations de sIgA dans les eaux fécales, elles étaient plus élevées chez les patients que chez les contrôles sains, avec une différence significative à J0 et à J20. Aucune différence dans les concentrations de sIgA à J0 n'était observée en fonction de l'âge, du sexe des patients ou leur exposition ou pas au sérum anti-lymphocytaire. Les sIgA, sont utilisés comme des marqueurs de l'immunité de la muqueuse intestinale. En raison de leurs propriétés

telles que la résistance à la dégradation enzymatique et la capacité à survivre aux conditions difficiles du tractus gastro-intestinal, ainsi que de sa forme dimérique permettant le pontage et la liaison aux bactéries, la forme sécrétoire des IgA joue un rôle crucial dans l'immunité muqueuse et protège contre les micro-organismes potentiellement pathogènes. Ainsi, les niveaux plus élevés de sIgA chez les patients allo-CSH peuvent être associés à un microbiote intestinal déséquilibré, pauvre en bactéries commensales, et peuvent indiquer une inflammation et une infection du tractus digestif. D'autres études ont montré que la dysbiose rencontrée chez les patients atteints de MICI n'altère pas la spécificité des IgA se liant aux bactéries. Les altérations du microbiote ne se traduisent pas rapidement par des changements majeurs du répertoire des plasmocytes [222], [291]. Roll et *al.* ont montré que les patients traités par du sérum anti-lymphocytaire présentaient une reconstitution des lymphocytes B naïfs $CD19^+CD21^{high}CD27^-$ et mémoires $CD19^+CD27^+$ significativement inférieure aux patients ne recevant pas du sérum anti-lymphocytaire dans le premier mois après allo-CSH, soulignant l'impact délétère du sérum anti-lymphocytaire sur la reconstitution des lymphocytes B [292]. Néanmoins, seulement 8 % des patients de notre cohorte n'ont pas reçu du sérum anti-lymphocytaire.

M. Jendraszak et *al.* ont montré que dans une cohorte composée d'adultes âgés de 18 à 74 ans, la concentration médiane en IgA dans les selles était normale et corrélée à l'âge, contrairement à ce que nous avons trouvé : ils ont montré que dans le groupe de plus de 55 ans, les concentrations en sIgA étaient plus faibles et ont émis l'hypothèse que des niveaux de sIgA altérés pourraient être liés aux changements du microbiote qui surviennent avec l'âge [293].

De plus, nos résultats montrent que le pourcentage de bactéries liées aux sIgA chez les patients est significativement supérieur à celui des contrôles sains et qu'il existe une variabilité inter-individuelle du pourcentage de bactéries liées aux IgA. En revanche, il n'y avait pas de différence au niveau du pourcentage des bactéries reconnues par les IgG entre les contrôles sains et les patients. Ces résultats sont en concordance avec ceux de Fadlallah et *al.* [241]. Aucun impact de l'âge et du sexe des patients sur la fixation des sIgA aux bactéries au J0 de l'allo-CSH n'a été identifié. Nous avons également trouvé que les patients traités par du PTCy avaient un pourcentage de bactéries liées aux sIgA plus élevé que ceux qui n'avaient pas reçu ce traitement.

D'autre part, l'incubation des sérums des patients avec leurs selles autologues, a montré que les IgG sériques se fixent aux bactéries, avec des variations au niveau du pourcentage des bactéries liées aux IgG entre les patients. Aucune différence significative n'a été observée en fonction du temps par rapport à la greffe. Les patients qui avaient un pourcentage plus élevé de bactéries fécales reconnues par les IgG sériques à J30 avaient tendance à avoir de meilleurs résultats en termes de survie sans survenue de maladie et de réduction de la rechute. Cela pourrait s'expliquer par le fait que le revêtement en Ig d'une espèce bactérienne donnée peut entraîner soit l'extinction/perte des bactéries revêtues par les Ig, généralement observée uniquement pour les agents pathogènes soit aucun effet détectable sur les niveaux de colonisation, voire une augmentation de la colonisation [242], [294], [295], [296], [297].

Il a récemment été découvert que les interactions entre les sIgA et les micro-organismes commensaux sont bidirectionnelles, et les bactéries bénéfiques peuvent moduler la distribution des sIgA et réguler l'immunité adaptative en fournissant un faible niveau de stimulation immunitaire [296], [298], [299], [300], [301]. La sécrétion locale des IgA prévient l'invasion bactérienne [302], [303]. Le système immunitaire adaptatif régule la composition du microbiote intestinal, notamment par la sécrétion des IgA par les lymphocytes B activés ou les plasmocytes. Les IgA liées aux bactéries, protègent l'épithélium des toxines bactériennes et des agents pathogènes invasifs. Il est intéressant de noter que la fixation des IgA aux bactéries peut varier pendant des conditions pathologiques. En effet, il existe un niveau de revêtement en IgA différentiel de sous-ensembles bactériens spécifiques chez les patients atteints de rectocolite hémorragique (RCH), par rapport aux témoins sains [304]. Un traitement anti-inflammatoire tel que l'anti-TNF- α peut également modifier les propriétés de revêtement en IgA [304]. De plus, il a été montré que les IgA peuvent être dégradées par des espèces bactériennes spécifiques, et ainsi le microbiote peut directement modifier les niveaux des IgA [305].

Les données de Kabbert et *al.* montrent que la liaison des IgA et des IgG au microbiote se produit aussi bien dans des conditions saines et inflammatoires. De même, ils ont montré que les IgA et IgG dérivés des plasmablastes/plasmocytes intestinaux chez les adultes humains peuvent se lier à une grande proportion de bactéries fécales. Cette capacité de liaison au microbiote était observée dans des échantillons murins ainsi que des échantillons humains obtenus à la fois de contrôles sains et de patients atteints de MICI [300] et cela pourrait constituer un mécanisme important pour réguler le microbiote intestinal et l'intégrité de la muqueuse intestinale.

Dans la continuité de nos travaux, nous envisageons d'étudier de manière approfondie la spécificité des IgG sériques par rapport à certaines bactéries identifiées comme étant délétères ou protectrices dans le contexte de l'allo-CSH, telles que *E.faecalis*, *Akkermansia muciniphila* et *Blautia*. Il a été rapporté que la domination fécale par *Enterococcus* au début de la période post-transplantation (jour 0 à +21) était associée à une survie globale significativement réduite et à une mortalité accrue liée à la GvHD chez l'homme et la souris [90]. Des études ont montré que *Blautia* est associée à une protection contre la mortalité liée à la GvHD [89] et 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 [306], [307]. En outre, il a été montré dans un modèle murin que, l'antibiothérapie est associée à une augmentation de l'abondance d'*Akkermansia muciniphila*, contribuant à la dégradation de la couche de mucus dans le côlon, ce qui pourrait contribuer à la survenue de la GvHD chez la souris [84].

Enfin, nous prévoyons de réaliser du tri MACS (tri cellulaire par séparation magnétique) et du séquençage 16S afin d'identifier les bactéries fixées aux IgA et celles qui ne le sont pas. Il serait également intéressant d'identifier les bactéries qui sont ciblées à la fois par les sIgA et les IgG sériques, et d'étudier les caractéristiques cliniques post-greffe de ces patients (survie globale (OS), survie sans survenue de la maladie (DFS), survie sans GvHD et sans rechute (GRFS), mortalité non liée à la rechute (NRM), rechute, GvHD ...).

En conclusion, nos études soulignent l'importance cruciale du microbiote intestinal dans la récupération hématopoïétique post-allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Les résultats mettent en évidence le rôle clé de l'axe MAdCAM-1/ α 4 β 7, l'impact des antibiotiques sur la dysbiose, ainsi que des altérations spécifiques du microbiote et des réponses immunitaires post-greffe. Ces découvertes ouvrent la voie à des interventions thérapeutiques ciblant le microbiote pour améliorer les résultats cliniques des patients traités par allo-CSH.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] T. A. Gooley *et al.*, “Reduced Mortality after Allogeneic Hematopoietic-Cell Transplantation,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 363, no. 22, pp. 2091–2101, Nov. 2010, doi: 10.1056/NEJMoa1004383.
- [2] Richard A. Gatti, Hilaire J. Meuwissen, Hugh D. Allen, R. Hong, and Robert A. Good, “IMMUNOLOGICAL RECONSTITUTION OF SEX-LINKED LYMPHOPENIC IMMUNOLOGICAL DEFICIENCY,” *The Lancet*, vol. 292, no. 7583, pp. 1366–1369, Dec. 1968, doi: 10.1016/S0140-6736(68)92673-1.
- [3] C. M. Richman, R. S. Weiner, and R. A. Yankee, “Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man,” *Blood*, vol. 47, no. 6, pp. 1031–1039, Jun. 1976.
- [4] M. A. Socinski, S. A. Cannistra, A. Elias, K. H. Antman, L. Schnipper, and J. D. Griffin, “Granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating haemopoietic progenitor cell compartment in man,” *Lancet Lond. Engl.*, vol. 1, no. 8596, pp. 1194–1198, May 1988, doi: 10.1016/s0140-6736(88)92012-0.
- [5] U. Dührsen, J. L. Villeval, J. Boyd, G. Kannourakis, G. Morstyn, and D. Metcalf, “Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients,” *Blood*, vol. 72, no. 6, pp. 2074–2081, Dec. 1988.
- [6] M. Körbling and E. J. Freireich, “Twenty-five years of peripheral blood stem cell transplantation,” *Blood*, vol. 117, no. 24, pp. 6411–6416, Jun. 2011, doi: 10.1182/blood-2010-12-322214.
- [7] G. Prindull, B. Prindull, and N. Meulen, “Haematopoietic stem cells (CFUc) in human cord blood,” *Acta Paediatr. Scand.*, vol. 67, no. 4, pp. 413–416, Jul. 1978, doi: 10.1111/j.1651-2227.1978.tb16347.x.
- [8] E. Gluckman *et al.*, “Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi’s anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 321, no. 17, pp. 1174–1178, Oct. 1989, doi: 10.1056/NEJM198910263211707.
- [9] S. Giebel *et al.*, “Trends in the use of hematopoietic stem cell transplantation for adults with acute lymphoblastic leukemia in Europe: a report from the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT),” *Ann. Hematol.*, vol. 98, no. 10, pp. 2389–2398, Oct. 2019, doi: 10.1007/s00277-019-03771-2.
- [10] J. R. Passweg *et al.*, “Hematopoietic cell transplantation and cellular therapies in Europe 2021. The second year of the SARS-CoV-2 pandemic. A Report from the EBMT Activity Survey,” *Bone Marrow Transplant.*, vol. 58, no. 6, pp. 647–658, Jun. 2023, doi: 10.1038/s41409-023-01943-3.
- [11] E. Holler *et al.*, “Increased serum levels of tumor necrosis factor alpha precede major complications of bone marrow transplantation [see comments],” *Blood*, vol. 75, no. 4, pp. 1011–1016, Feb. 1990, doi: 10.1182/blood.V75.4.1011.1011.
- [12] J.-H. Lee *et al.*, “Randomized trial of myeloablative conditioning regimens: busulfan plus cyclophosphamide versus busulfan plus fludarabine,” *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 31, no. 6, pp. 701–709, Feb. 2013, doi: 10.1200/JCO.2011.40.2362.
- [13] A. Rambaldi *et al.*, “Busulfan plus cyclophosphamide versus busulfan plus fludarabine as a preparative regimen for allogeneic haemopoietic stem-cell transplantation in patients with acute myeloid leukaemia: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 trial,” *Lancet Oncol.*, vol. 16, no. 15, pp. 1525–1536, Nov. 2015, doi: 10.1016/S1470-2045(15)00200-4.
- [14] M. Bornhäuser *et al.*, “Reduced-intensity conditioning versus standard conditioning before allogeneic haemopoietic cell transplantation in patients with acute myeloid leukaemia in first complete remission: a prospective, open-label randomised phase 3 trial,” *Lancet Oncol.*, vol. 13, no. 10, pp. 1035–1044, Oct. 2012, doi: 10.1016/S1470-2045(12)70349-2.

- [15] C. Peters *et al.*, “Total Body Irradiation or Chemotherapy Conditioning in Childhood ALL: A Multinational, Randomized, Noninferiority Phase III Study,” *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 39, no. 4, pp. 295–307, Feb. 2021, doi: 10.1200/JCO.20.02529.
- [16] N. Kröger *et al.*, “Dose-Reduced Versus Standard Conditioning Followed by Allogeneic Stem-Cell Transplantation for Patients With Myelodysplastic Syndrome: A Prospective Randomized Phase III Study of the EBMT (RICMAC Trial),” *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 35, no. 19, pp. 2157–2164, Jul. 2017, doi: 10.1200/JCO.2016.70.7349.
- [17] B. L. Scott *et al.*, “Myeloablative Versus Reduced-Intensity Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes,” *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 35, no. 11, pp. 1154–1161, Apr. 2017, doi: 10.1200/JCO.2016.70.7091.
- [18] D. Blaise *et al.*, “Randomized study of 2 reduced-intensity conditioning strategies for human leukocyte antigen-matched, related allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: Prospective clinical and socioeconomic evaluation,” *Cancer*, vol. 119, no. 3, pp. 602–611, Feb. 2013, doi: 10.1002/cncr.27786.
- [19] D. W. Beelen *et al.*, “Treosulfan or busulfan plus fludarabine as conditioning treatment before allogeneic haemopoietic stem cell transplantation for older patients with acute myeloid leukaemia or myelodysplastic syndrome (MC-FludT.14/L): a randomised, non-inferiority, phase 3 trial,” *Lancet Haematol.*, vol. 7, no. 1, pp. e28–e39, Jan. 2020, doi: 10.1016/S2352-3026(19)30157-7.
- [20] C. Craddock *et al.*, “Augmented Reduced-Intensity Regimen Does Not Improve Postallogeneic Transplant Outcomes in Acute Myeloid Leukemia,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 39, no. 7, pp. 768–778, Mar. 2021, doi: 10.1200/JCO.20.02308.
- [21] B. M. Sandmaier, S. Mackinnon, and R. W. Childs, “Reduced Intensity Conditioning for Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: Current Perspectives,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 13, pp. 87–97, Jan. 2007, doi: 10.1016/j.bbmt.2006.10.015.
- [22] D. W. H. Barnes, M. J. Corp, J. F. Loutit, and F. E. Neal, “Treatment of Murine Leukaemia with X Rays and Homologous Bone Marrow,” *BMJ*, vol. 2, no. 4993, pp. 626–627, Sep. 1956, doi: 10.1136/bmj.2.4993.626.
- [23] G. Mathe, J. L. Amiel, L. Schwarzenberg, A. Cattani, and M. Schneider, “Haematopoietic Chimera in Man After Allogeneic (Homologous) Bone-marrow Transplantation,” *BMJ*, vol. 2, no. 5373, pp. 1633–1635, Dec. 1963, doi: 10.1136/bmj.2.5373.1633.
- [24] H. J. Kolb *et al.*, “Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients,” *Blood*, vol. 76, no. 12, pp. 2462–2465, Dec. 1990.
- [25] T. Kawase *et al.*, “HLA mismatch combinations associated with decreased risk of relapse: implications for the molecular mechanism,” *Blood*, vol. 113, no. 12, pp. 2851–2858, Mar. 2009, doi: 10.1182/blood-2008-08-171934.
- [26] M. Bleakley and S. R. Riddell, “Molecules and mechanisms of the graft-versus-leukaemia effect,” *Nat. Rev. Cancer*, vol. 4, no. 5, pp. 371–380, May 2004, doi: 10.1038/nrc1365.
- [27] D. B. Miklos *et al.*, “Antibody responses to H-Y minor histocompatibility antigens correlate with chronic graft-versus-host disease and disease remission,” *Blood*, vol. 105, no. 7, pp. 2973–2978, Apr. 2005, doi: 10.1182/blood-2004-09-3660.
- [28] C. Sweeney and P. Vyas, “The Graft-Versus-Leukemia Effect in AML,” *Front. Oncol.*, vol. 9, p. 1217, Nov. 2019, doi: 10.3389/fonc.2019.01217.

- [29] D. Weber *et al.*, “The association between acute graft-versus-host disease and antimicrobial peptide expression in the gastrointestinal tract after allogeneic stem cell transplantation,” *PLOS ONE*, vol. 12, no. 9, p. e0185265, Sep. 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0185265.
- [30] E. S. Morris and G. R. Hill, “Advances in the understanding of acute graft-versus-host disease,” *Br. J. Haematol.*, vol. 137, no. 1, pp. 3–19, Apr. 2007, doi: 10.1111/j.1365-2141.2007.06510.x.
- [31] R. E. Billingham, “The biology of graft-versus-host reactions,” *Harvey Lect.*, vol. 62, pp. 21–78, 1967 1966.
- [32] R. Sackstein, “A revision of Billingham’s tenets: the central role of lymphocyte migration in acute graft-versus-host disease,” *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.*, vol. 12, no. 1 Suppl 1, pp. 2–8, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.bbmt.2005.09.015.
- [33] F. Malard, E. Holler, B. M. Sandmaier, H. Huang, and M. Mohty, “Acute graft-versus-host disease,” *Nat. Rev. Dis. Primer*, vol. 9, no. 1, p. 27, Jun. 2023, doi: 10.1038/s41572-023-00438-1.
- [34] B. R. Blazar, W. J. Murphy, and M. Abedi, “Advances in graft-versus-host disease biology and therapy,” *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 12, no. 6, pp. 443–458, Jun. 2012, doi: 10.1038/nri3212.
- [35] M. M. Horowitz *et al.*, “Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation,” *Blood*, vol. 75, no. 3, pp. 555–562, Feb. 1990.
- [36] J. L. Ferrara, J. E. Levine, P. Reddy, and E. Holler, “Graft-versus-host disease,” *The Lancet*, vol. 373, no. 9674, pp. 1550–1561, May 2009, doi: 10.1016/S0140-6736(09)60237-3.
- [37] T. Teshima, P. Reddy, and R. Zeiser, “Acute Graft-versus-Host Disease: Novel Biological Insights,” *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.*, vol. 22, no. 1, pp. 11–16, Jan. 2016, doi: 10.1016/j.bbmt.2015.10.001.
- [38] M. Grube, E. Holler, D. Weber, B. Holler, W. Herr, and D. Wolff, “Risk Factors and Outcome of Chronic Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Stem Cell Transplantation—Results from a Single-Center Observational Study,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 22, no. 10, pp. 1781–1791, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.bbmt.2016.06.020.
- [39] S. Arai *et al.*, “Increasing Incidence of Chronic Graft-versus-Host Disease in Allogeneic Transplantation: A Report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 21, no. 2, pp. 266–274, Feb. 2015, doi: 10.1016/j.bbmt.2014.10.021.
- [40] K. Baird, K. Cooke, and K. R. Schultz, “Chronic Graft-Versus-Host Disease (GVHD) in Children,” *Pediatr. Clin. North Am.*, vol. 57, no. 1, pp. 297–322, Feb. 2010, doi: 10.1016/j.pcl.2009.11.003.
- [41] A. Sobkowiak-Sobierajska *et al.*, “Management of Chronic Graft-vs.-Host Disease in Children and Adolescents With ALL: Present Status and Model for a Personalised Management Plan,” *Front. Pediatr.*, vol. 10, p. 808103, Feb. 2022, doi: 10.3389/fped.2022.808103.
- [42] K. R. Cooke *et al.*, “The Biology of Chronic Graft-versus-Host Disease: A Task Force Report from the National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 23, no. 2, pp. 211–234, Feb. 2017, doi: 10.1016/j.bbmt.2016.09.023.
- [43] G. D. E. Cuvelier *et al.*, “Benefits and challenges with diagnosing chronic and late acute GVHD in children using the NIH consensus criteria,” *Blood*, vol. 134, no. 3, pp. 304–316, Jul. 2019, doi: 10.1182/blood.2019000216.

- [44] Z. Kuzmina *et al.*, “Significantly worse survival of patients with NIH-defined chronic graft-versus-host disease and thrombocytopenia or progressive onset type: results of a prospective study,” *Leukemia*, vol. 26, no. 4, pp. 746–756, Apr. 2012, doi: 10.1038/leu.2011.257.
- [45] G. R. Hill, B. C. Betts, V. Tkachev, L. S. Kean, and B. R. Blazar, “Current Concepts and Advances in Graft-Versus-Host Disease Immunology,” *Annu. Rev. Immunol.*, vol. 39, no. 1, pp. 19–49, Apr. 2021, doi: 10.1146/annurev-immunol-102119-073227.
- [46] M. H. Jagasia *et al.*, “National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group Report,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 21, no. 3, pp. 389–401.e1, Mar. 2015, doi: 10.1016/j.bbmt.2014.12.001.
- [47] B. O. Schroeder and F. Bäckhed, “Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease,” *Nat. Med.*, vol. 22, no. 10, pp. 1079–1089, Oct. 2016, doi: 10.1038/nm.4185.
- [48] K. A. Markey *et al.*, “The microbe-derived short-chain fatty acids butyrate and propionate are associated with protection from chronic GVHD,” *Blood*, vol. 136, no. 1, pp. 130–136, Jul. 2020, doi: 10.1182/blood.2019003369.
- [49] A. Bruneau, M.-T. Baylatry, A. C. Joly, and H. Sokol, “[Gut microbiota: What impact on colorectal carcinogenesis and treatment?],” *Bull. Cancer (Paris)*, vol. 105, no. 1, pp. 70–80, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.bulcan.2017.10.025.
- [50] P. B. Eckburg *et al.*, “Diversity of the human intestinal microbial flora,” *Science*, vol. 308, no. 5728, pp. 1635–1638, Jun. 2005, doi: 10.1126/science.1110591.
- [51] J. Qin *et al.*, “A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing,” *Nature*, vol. 464, no. 7285, pp. 59–65, Mar. 2010, doi: 10.1038/nature08821.
- [52] E. A. Grice and J. A. Segre, “The human microbiome: our second genome,” *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.*, vol. 13, pp. 151–170, 2012, doi: 10.1146/annurev-genom-090711-163814.
- [53] T. E. Ichim, S. Kesari, and K. Shafer, “Protection from chemotherapy- and antibiotic-mediated dysbiosis of the gut microbiota by a probiotic with digestive enzymes supplement,” *Oncotarget*, vol. 9, no. 56, pp. 30919–30935, Jul. 2018, doi: 10.18632/oncotarget.25778.
- [54] J. K. Nicholson *et al.*, “Host-Gut Microbiota Metabolic Interactions,” *Science*, vol. 336, no. 6086, pp. 1262–1267, Jun. 2012, doi: 10.1126/science.1223813.
- [55] M. G. Dominguez-Bello *et al.*, “Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 107, no. 26, pp. 11971–11975, Jun. 2010, doi: 10.1073/pnas.1002601107.
- [56] A. N. Shkoporov and C. Hill, “Bacteriophages of the Human Gut: The ‘Known Unknown’ of the Microbiome,” *Cell Host Microbe*, vol. 25, no. 2, pp. 195–209, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.chom.2019.01.017.
- [57] J. I. Gordon, “Honor thy gut symbionts redux,” *Science*, vol. 336, no. 6086, pp. 1251–1253, Jun. 2012, doi: 10.1126/science.1224686.
- [58] J. C. Clemente, L. K. Ursell, L. W. Parfrey, and R. Knight, “The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view,” *Cell*, vol. 148, no. 6, pp. 1258–1270, Mar. 2012, doi: 10.1016/j.cell.2012.01.035.
- [59] G. E. Flores *et al.*, “Temporal variability is a personalized feature of the human microbiome,” 2014.
- [60] P. D. Schloss and J. Handelsman, “Metagenomics for studying unculturable microorganisms: cutting the Gordian knot,” *Genome Biol.*, vol. 6, no. 8, p. 229, 2005, doi: 10.1186/gb-2005-6-8-229.

- [61] J. Cheng, A. M. Palva, W. M. de Vos, and R. Satokari, “Contribution of the intestinal microbiota to human health: from birth to 100 years of age,” *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, vol. 358, pp. 323–346, 2013, doi: 10.1007/82_2011_189.
- [62] S. E. Power, P. W. O’Toole, C. Stanton, R. P. Ross, and G. F. Fitzgerald, “Intestinal microbiota, diet and health,” *Br. J. Nutr.*, vol. 111, no. 3, pp. 387–402, Feb. 2014, doi: 10.1017/S0007114513002560.
- [63] M.-L. Schubert, R. Rohrbach, M. Schmitt, and C. K. Stein-Thoeringer, “The Potential Role of the Intestinal Microenvironment and Individual Microbes in the Immunobiology of Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy,” *Front. Immunol.*, vol. 12, p. 670286, 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.670286.
- [64] T. Gensollen, S. S. Iyer, D. L. Kasper, and R. S. Blumberg, “How colonization by microbiota in early life shapes the immune system,” *Science*, vol. 352, no. 6285, pp. 539–544, Apr. 2016, doi: 10.1126/science.aad9378.
- [65] V. Senthong *et al.*, “Intestinal Microbiota-Generated Metabolite Trimethylamine-N-Oxide and 5-Year Mortality Risk in Stable Coronary Artery Disease: The Contributory Role of Intestinal Microbiota in a COURAGE-Like Patient Cohort,” *J. Am. Heart Assoc.*, vol. 5, no. 6, p. e002816, Jun. 2016, doi: 10.1161/JAHA.115.002816.
- [66] H. P. Sham *et al.*, “Immune Stimulation Using a Gut Microbe-Based Immunotherapy Reduces Disease Pathology and Improves Barrier Function in Ulcerative Colitis,” *Front. Immunol.*, vol. 9, p. 2211, 2018, doi: 10.3389/fimmu.2018.02211.
- [67] C. Ubeda *et al.*, “Familial transmission rather than defective innate immunity shapes the distinct intestinal microbiota of TLR-deficient mice,” *J. Exp. Med.*, vol. 209, no. 8, pp. 1445–1456, Jul. 2012, doi: 10.1084/jem.20120504.
- [68] M. Vijay-Kumar *et al.*, “Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5,” *Science*, vol. 328, no. 5975, pp. 228–231, Apr. 2010, doi: 10.1126/science.1179721.
- [69] J. F. Burgueño and M. T. Abreu, “Epithelial Toll-like receptors and their role in gut homeostasis and disease,” *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 17, no. 5, pp. 263–278, May 2020, doi: 10.1038/s41575-019-0261-4.
- [70] D. Artis and H. Spits, “The biology of innate lymphoid cells,” *Nature*, vol. 517, no. 7534, pp. 293–301, Jan. 2015, doi: 10.1038/nature14189.
- [71] D. W. van Bekkum, J. Roodenburg, P. J. Heidt, and D. van der Waaij, “Mitigation of secondary disease of allogeneic mouse radiation chimeras by modification of the intestinal microflora,” *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 52, no. 2, pp. 401–404, Feb. 1974, doi: 10.1093/jnci/52.2.401.
- [72] J. M. Jones, R. Wilson, and P. M. Bealmeier, “Mortality and gross pathology of secondary disease in germfree mouse radiation chimeras,” *Radiat. Res.*, vol. 45, no. 3, pp. 577–588, Mar. 1971.
- [73] J. Schluter *et al.*, “The gut microbiota is associated with immune cell dynamics in humans,” *Nature*, vol. 588, no. 7837, pp. 303–307, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2971-8.
- [74] K. Seike *et al.*, “Ambient oxygen levels regulate intestinal dysbiosis and GVHD severity after allogeneic stem cell transplantation,” *Immunity*, vol. 56, no. 2, pp. 353–368.e6, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.immuni.2023.01.007.
- [75] T. M. Andermann *et al.*, “The Microbiome and Hematopoietic Cell Transplantation: Past, Present, and Future,” *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.*, vol. 24, no. 7, pp. 1322–1340, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.bbmt.2018.02.009.
- [76] Y. Taur *et al.*, “The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation,” *Blood*, vol. 124, no. 7, pp. 1174–1182, Aug. 2014, doi: 10.1182/blood-2014-02-554725.

- [77] J. U. Peled *et al.*, “Microbiota as Predictor of Mortality in Allogeneic Hematopoietic-Cell Transplantation,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 382, no. 9, pp. 822–834, Feb. 2020, doi: 10.1056/NEJMoa1900623.
- [78] R. Masetti *et al.*, “Gut microbiota diversity before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation as a predictor of mortality in children,” *Blood*, vol. 142, no. 16, pp. 1387–1398, Oct. 2023, doi: 10.1182/blood.2023020026.
- [79] J. U. Peled *et al.*, “Intestinal Microbiota and Relapse After Hematopoietic-Cell Transplantation,” *J. Clin. Oncol.*, Mar. 2017, doi: 10.1200/JCO.2016.70.3348.
- [80] M. D. Docampo *et al.*, “Alloreactive T cells deficient of the short-chain fatty acid receptor GPR109A induce less graft-versus-host disease,” *Blood*, vol. 139, no. 15, pp. 2392–2405, Apr. 2022, doi: 10.1182/blood.2021010719.
- [81] J. U. Peled, R. R. Jenq, E. Holler, and M. R. M. Van Den Brink, “Role of gut flora after bone marrow transplantation,” *Nat. Microbiol.*, vol. 1, no. 4, p. 16036, Mar. 2016, doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.36.
- [82] A. Swimm *et al.*, “Indoles derived from intestinal microbiota act via type I interferon signaling to limit graft-versus-host disease,” *Blood*, vol. 132, no. 23, pp. 2506–2519, Dec. 2018, doi: 10.1182/blood-2018-03-838193.
- [83] Y. Shono and M. R. M. Van Den Brink, “Gut microbiota injury in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation,” *Nat. Rev. Cancer*, vol. 18, no. 5, pp. 283–295, May 2018, doi: 10.1038/nrc.2018.10.
- [84] Y. Shono *et al.*, “Increased GVHD-related mortality with broad-spectrum antibiotic use after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in human patients and mice,” *Sci. Transl. Med.*, vol. 8, no. 339, May 2016, doi: 10.1126/scitranslmed.aaf2311.
- [85] T. Hagan *et al.*, “Antibiotics-Driven Gut Microbiome Perturbation Alters Immunity to Vaccines in Humans,” *Cell*, vol. 178, no. 6, pp. 1313–1328.e13, Sep. 2019, doi: 10.1016/j.cell.2019.08.010.
- [86] L. Dethlefsen, S. Huse, M. L. Sogin, and D. A. Relman, “The Pervasive Effects of an Antibiotic on the Human Gut Microbiota, as Revealed by Deep 16S rRNA Sequencing,” *PLoS Biol.*, vol. 6, no. 11, p. e280, Nov. 2008, doi: 10.1371/journal.pbio.0060280.
- [87] M. Willmann *et al.*, “Distinct impact of antibiotics on the gut microbiome and resistome: a longitudinal multicenter cohort study,” *BMC Biol.*, vol. 17, no. 1, p. 76, Sep. 2019, doi: 10.1186/s12915-019-0692-y.
- [88] E. Buelow *et al.*, “Comparative gut microbiota and resistome profiling of intensive care patients receiving selective digestive tract decontamination and healthy subjects,” *Microbiome*, vol. 5, no. 1, p. 88, Aug. 2017, doi: 10.1186/s40168-017-0309-z.
- [89] R. R. Jenq *et al.*, “Intestinal *Blautia* Is Associated with Reduced Death from Graft-versus-Host Disease,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 21, no. 8, pp. 1373–1383, Aug. 2015, doi: 10.1016/j.bbmt.2015.04.016.
- [90] C. K. Stein-Thoeringer *et al.*, “Lactose drives *Enterococcus* expansion to promote graft-versus-host disease,” *Science*, vol. 366, no. 6469, pp. 1143–1149, Nov. 2019, doi: 10.1126/science.aax3760.
- [91] M. Vétizou *et al.*, “Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota,” *Science*, vol. 350, no. 6264, pp. 1079–1084, Nov. 2015, doi: 10.1126/science.aad1329.
- [92] D. Weber *et al.*, “Microbiota Disruption Induced by Early Use of Broad-Spectrum Antibiotics Is an Independent Risk Factor of Outcome after Allogeneic Stem Cell Transplantation,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 23, no. 5, pp. 845–852, May 2017, doi: 10.1016/j.bbmt.2017.02.006.

- [93] O. Miltiadous *et al.*, “Early intestinal microbial features are associated with CD4 T-cell recovery after allogeneic hematopoietic transplant,” *Blood*, vol. 139, no. 18, pp. 2758–2769, May 2022, doi: 10.1182/blood.2021014255.
- [94] Y. Meng, J. Sun, and G. Zhang, “Fecal microbiota transplantation holds the secret to youth,” *Mech. Ageing Dev.*, vol. 212, p. 111823, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.mad.2023.111823.
- [95] R. E. Ooijevaar *et al.*, “Update of treatment algorithms for *Clostridium difficile* infection,” *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 24, no. 5, pp. 452–462, May 2018, doi: 10.1016/j.cmi.2017.12.022.
- [96] R. E. Ooijevaar, E. M. Terveer, H. W. Verspaget, E. J. Kuijper, and J. J. Keller, “Clinical Application and Potential of Fecal Microbiota Transplantation,” *Annu. Rev. Med.*, vol. 70, pp. 335–351, Jan. 2019, doi: 10.1146/annurev-med-111717-122956.
- [97] N. M. J. Hanssen, W. M. de Vos, and M. Nieuwdorp, “Fecal microbiota transplantation in human metabolic diseases: From a murky past to a bright future?,” *Cell Metab.*, vol. 33, no. 6, pp. 1098–1110, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.cmet.2021.05.005.
- [98] Z. DeFilipp *et al.*, “Third-party fecal microbiota transplantation following allo-HCT reconstitutes microbiome diversity,” *Blood Adv.*, vol. 2, no. 7, pp. 745–753, Apr. 2018, doi: 10.1182/bloodadvances.2018017731.
- [99] W. Spindelboeck *et al.*, “Repeated fecal microbiota transplantations attenuate diarrhea and lead to sustained changes in the fecal microbiota in acute, refractory gastrointestinal graft-versus-host-disease,” *Haematologica*, vol. 102, no. 5, pp. e210–e213, May 2017, doi: 10.3324/haematol.2016.154351.
- [100] F. Malard *et al.*, “Pooled allogeneic faecal microbiota MaaT013 for steroid-resistant gastrointestinal acute graft-versus-host disease: a single-arm, multicentre phase 2 trial,” *eClinicalMedicine*, vol. 62, p. 102111, Aug. 2023, doi: 10.1016/j.eclinm.2023.102111.
- [101] M. L. Balmer *et al.*, “Microbiota-derived compounds drive steady-state granulopoiesis via MyD88/TICAM signaling,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 193, no. 10, pp. 5273–5283, Nov. 2014, doi: 10.4049/jimmunol.1400762.
- [102] A. Khosravi *et al.*, “Gut microbiota promote hematopoiesis to control bacterial infection,” *Cell Host Microbe*, vol. 15, no. 3, pp. 374–381, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.chom.2014.02.006.
- [103] K. S. Josefssdottir, M. T. Baldridge, C. S. Kadmon, and K. Y. King, “Antibiotics impair murine hematopoiesis by depleting the intestinal microbiota,” *Blood*, vol. 129, no. 6, pp. 729–739, Feb. 2017, doi: 10.1182/blood-2016-03-708594.
- [104] C. Iwamura, N. Bouladoux, Y. Belkaid, A. Sher, and D. Jankovic, “Sensing of the microbiota by NOD1 in mesenchymal stromal cells regulates murine hematopoiesis,” *Blood*, vol. 129, no. 2, pp. 171–176, Jan. 2017, doi: 10.1182/blood-2016-06-723742.
- [105] H. Guo *et al.*, “Multi-omics analyses of radiation survivors identify radioprotective microbes and metabolites,” *Science*, vol. 370, no. 6516, p. eaay9097, Oct. 2020, doi: 10.1126/science.aay9097.
- [106] H.-W. Xiao *et al.*, “Gut microbiota-derived indole 3-propionic acid protects against radiation toxicity via retaining acyl-CoA-binding protein,” *Microbiome*, vol. 8, no. 1, p. 69, May 2020, doi: 10.1186/s40168-020-00845-6.
- [107] Y.-S. Lee *et al.*, “Microbiota-derived lactate promotes hematopoiesis and erythropoiesis by inducing stem cell factor production from leptin receptor+ niche cells,” *Exp. Mol. Med.*, vol. 53, no. 9, pp. 1319–1331, Sep. 2021, doi: 10.1038/s12276-021-00667-y.
- [108] D. A. Hill *et al.*, “Commensal bacteria-derived signals regulate basophil hematopoiesis and allergic inflammation,” *Nat. Med.*, vol. 18, no. 4, pp. 538–546, Mar. 2012, doi: 10.1038/nm.2657.

- [109] X. Cheng *et al.*, “Nod1-dependent NF- κ B activation initiates hematopoietic stem cell specification in response to small Rho GTPases,” *Nat. Commun.*, vol. 14, no. 1, p. 7668, Nov. 2023, doi: 10.1038/s41467-023-43349-1.
- [110] K. L. Chan *et al.*, “Circulating NOD1 Activators and Hematopoietic NOD1 Contribute to Metabolic Inflammation and Insulin Resistance,” *Cell Rep.*, vol. 18, no. 10, pp. 2415–2426, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.celrep.2017.02.027.
- [111] M. Takehara *et al.*, “Clostridium perfringens α -toxin impairs granulocyte colony-stimulating factor receptor-mediated granulocyte production while triggering septic shock,” *Commun. Biol.*, vol. 2, p. 45, 2019, doi: 10.1038/s42003-019-0280-2.
- [112] E. A. Hayashi, S. Akira, and A. Nobrega, “Role of TLR in B cell development: signaling through TLR4 promotes B cell maturation and is inhibited by TLR2,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 174, no. 11, pp. 6639–6647, Jun. 2005, doi: 10.4049/jimmunol.174.11.6639.
- [113] W. D. Jackson *et al.*, “TLR7 activation at epithelial barriers promotes emergency myelopoiesis and lung antiviral immunity,” *eLife*, vol. 12, p. e85647, Aug. 2023, doi: 10.7554/eLife.85647.
- [114] A. C. Herman, D. A. Monlish, M. P. Romine, S. T. Bhatt, S. Zippel, and L. G. Schuettpeiz, “Systemic TLR2 agonist exposure regulates hematopoietic stem cells via cell-autonomous and cell-non-autonomous mechanisms,” *Blood Cancer J.*, vol. 6, no. 6, p. e437, Jun. 2016, doi: 10.1038/bcj.2016.45.
- [115] S. Lefkopoulos *et al.*, “Repetitive Elements Trigger RIG-I-like Receptor Signaling that Regulates the Emergence of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells,” *Immunity*, vol. 53, no. 5, pp. 934–951.e9, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.immuni.2020.10.007.
- [116] P. Xia *et al.*, “A Circular RNA Protects Dormant Hematopoietic Stem Cells from DNA Sensor cGAS-Mediated Exhaustion,” *Immunity*, vol. 48, no. 4, pp. 688–701.e7, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.immuni.2018.03.016.
- [117] H. Kobayashi *et al.*, “Bacterial c-di-GMP Affects Hematopoietic Stem/Progenitors and Their Niches through STING,” *Cell Rep.*, vol. 11, no. 1, pp. 71–84, Apr. 2015, doi: 10.1016/j.celrep.2015.02.066.
- [118] J. Fernandez Sanchez *et al.*, “Depletion of *Lachnospiraceae* *M* Marks the Development of Antibiotic-Associated Neutropenia in Pediatric Patients,” *Blood*, vol. 142, no. Supplement 1, pp. 2726–2726, Nov. 2023, doi: 10.1182/blood-2023-187765.
- [119] T. Madigan and R. Banerjee, “Characteristics and outcomes of outpatient parenteral antimicrobial therapy at an academic children’s hospital,” *Pediatr. Infect. Dis. J.*, vol. 32, no. 4, pp. 346–349, Apr. 2013, doi: 10.1097/INF.0b013e31827ee1c2.
- [120] K. A. Neftel, S. P. Hauser, and M. R. Müller, “Inhibition of granulopoiesis in vivo and in vitro by beta-lactam antibiotics,” *J. Infect. Dis.*, vol. 152, no. 1, pp. 90–98, Jul. 1985, doi: 10.1093/infdis/152.1.90.
- [121] F. Andersohn, C. Konzen, and E. Garbe, “Systematic review: agranulocytosis induced by nonchemotherapy drugs,” *Ann. Intern. Med.*, vol. 146, no. 9, pp. 657–665, May 2007, doi: 10.7326/0003-4819-146-9-200705010-00009.
- [122] R. G. Same *et al.*, “Antibiotic-Associated Adverse Events in Hospitalized Children,” *J. Pediatr. Infect. Dis. Soc.*, vol. 10, no. 5, pp. 622–628, May 2021, doi: 10.1093/jpids/piaa173.
- [123] B. R. Curtis, “Non-chemotherapy drug-induced neutropenia: key points to manage the challenges,” *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program*, vol. 2017, no. 1, pp. 187–193, Dec. 2017, doi: 10.1182/asheducation-2017.1.187.
- [124] J. Fernandez-Sanchez *et al.*, “Antibiotic-associated neutropenia is marked by depletion of intestinal *Lachnospiraceae* in pediatric patients,” *MedRxiv Prepr. Serv. Health Sci.*, p. 2024.04.25.24306386, Apr. 2024, doi: 10.1101/2024.04.25.24306386.

- [125] X. Zeng *et al.*, “Fecal microbiota transplantation from young mice rejuvenates aged hematopoietic stem cells by suppressing inflammation,” *Blood*, vol. 141, no. 14, pp. 1691–1707, Apr. 2023, doi: 10.1182/blood.2022017514.
- [126] M. Sezaki *et al.*, “Hematopoietic stem and progenitor cells integrate microbial signals to promote post-inflammation gut tissue repair,” *EMBO J.*, vol. 41, no. 22, p. e110712, Nov. 2022, doi: 10.15252/embj.2022110712.
- [127] B. de Laval *et al.*, “C/EBP β -Dependent Epigenetic Memory Induces Trained Immunity in Hematopoietic Stem Cells,” *Cell Stem Cell*, vol. 26, no. 5, pp. 657–674.e8, May 2020, doi: 10.1016/j.stem.2020.01.017.
- [128] A. Yáñez *et al.*, “Granulocyte-Monocyte Progenitors and Monocyte-Dendritic Cell Progenitors Independently Produce Functionally Distinct Monocytes,” *Immunity*, vol. 47, no. 5, pp. 890–902.e4, Nov. 2017, doi: 10.1016/j.immuni.2017.10.021.
- [129] P. R. Streeter, E. L. Berg, B. T. N. Rouse, R. F. Bargatze, and E. C. Butcher, “A tissue-specific endothelial cell molecule involved in lymphocyte homing,” 1988.
- [130] A. Ager and M. J. May, “Understanding high endothelial venules: Lessons for cancer immunology,” *Oncoimmunology*, vol. 4, no. 6, p. e1008791, Jun. 2015, doi: 10.1080/2162402X.2015.1008791.
- [131] R. A. Warnock, S. Askari, E. C. Butcher, and U. H. von Andrian, “Molecular mechanisms of lymphocyte homing to peripheral lymph nodes,” *J. Exp. Med.*, vol. 187, no. 2, pp. 205–216, Jan. 1998, doi: 10.1084/jem.187.2.205.
- [132] K. Uchimura and S. D. Rosen, “Sulfated L-selectin ligands as a therapeutic target in chronic inflammation,” *Trends Immunol.*, vol. 27, no. 12, pp. 559–565, Dec. 2006, doi: 10.1016/j.it.2006.10.007.
- [133] M. Salmi, K. Alanen, S. Grenman, M. Briskin, E. C. Butcher, and S. Jalkanen, “Immune cell trafficking in uterus and early life is dominated by the mucosal addressin MAdCAM-1 in humans,” *Gastroenterology*, vol. 121, no. 4, pp. 853–864, Oct. 2001, doi: 10.1053/gast.2001.27968.
- [134] R. E. Mebius, P. R. Streeter, S. Michie, E. C. Butcher, and I. L. Weissman, “A developmental switch in lymphocyte homing receptor and endothelial vascular addressin expression regulates lymphocyte homing and permits CD4⁺ CD3⁻ cells to colonize lymph nodes,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 93, no. 20, pp. 11019–11024, Oct. 1996, doi: 10.1073/pnas.93.20.11019.
- [135] M. J. Briskin, L. M. McEvoy, and E. C. Butcher, “MAdCAM-1 has homology to immunoglobulin and mucin-like adhesion receptors and to IgA1,” *Nature*, vol. 363, no. 6428, pp. 461–464, Jun. 1993, doi: 10.1038/363461a0.
- [136] R. D. Cummings and D. F. Smith, “The selectin family of carbohydrate-binding proteins: structure and importance of carbohydrate ligands for cell adhesion,” *BioEssays News Rev. Mol. Cell. Dev. Biol.*, vol. 14, no. 12, pp. 849–856, Dec. 1992, doi: 10.1002/bies.950141210.
- [137] S. O. Sampaio *et al.*, “Organization, regulatory sequences, and alternatively spliced transcripts of the mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) gene,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 155, no. 5, pp. 2477–2486, Sep. 1995.
- [138] E. Leung *et al.*, “Cloning of the mucosal addressin MAdCAM-1 from human brain: identification of novel alternatively spliced transcripts,” *Immunol. Cell Biol.*, vol. 74, no. 6, pp. 490–496, Dec. 1996, doi: 10.1038/icb.1996.81.
- [139] A. M. Shyjan, M. Bertagnolli, C. J. Kenney, and M. J. Briskin, “Human mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) demonstrates structural and functional similarities to the alpha 4 beta 7-integrin binding domains of murine MAdCAM-1, but extreme divergence of mucin-like sequences,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 156, no. 8, pp. 2851–2857, Apr. 1996.

- [140] A. Sonnenberg, P. W. Modderman, and F. Hogervorst, "Laminin receptor on platelets is the integrin VLA-6," *Nature*, vol. 336, no. 6198, pp. 487–489, Dec. 1988, doi: 10.1038/336487a0.
- [141] D. Kirchhofer, J. Gailit, E. Ruoslahti, J. Grzesiak, and M. D. Pierschbacher, "Cation-dependent changes in the binding specificity of the platelet receptor GPIIb/IIIa," *J. Biol. Chem.*, vol. 265, no. 30, pp. 18525–18530, Oct. 1990.
- [142] M. J. Elices, L. A. Urry, and M. E. Hemler, "Receptor functions for the integrin VLA-3: fibronectin, collagen, and laminin binding are differentially influenced by Arg-Gly-Asp peptide and by divalent cations," *J. Cell Biol.*, vol. 112, no. 1, pp. 169–181, Jan. 1991, doi: 10.1083/jcb.112.1.169.
- [143] G. Conforti, A. Zanetti, I. Pasquali-Ronchetti, D. Quaglino, P. Neyroz, and E. Dejana, "Modulation of vitronectin receptor binding by membrane lipid composition," *J. Biol. Chem.*, vol. 265, no. 7, pp. 4011–4019, Mar. 1990.
- [144] E. L. Berg, L. M. McEvoy, C. Berlin, R. F. Bargatze, and E. C. Butcher, "L-selectin-mediated lymphocyte rolling on MAdCAM-1," *Nature*, vol. 366, no. 6456, pp. 695–698, Dec. 1993, doi: 10.1038/366695a0.
- [145] S. Zundler, E. Becker, C. Weidinger, and B. Siegmund, "Anti-Adhesion Therapies in Inflammatory Bowel Disease—Molecular and Clinical Aspects," *Front. Immunol.*, vol. 8, p. 891, Jul. 2017, doi: 10.3389/fimmu.2017.00891.
- [146] A. Habtezion, L. P. Nguyen, H. Hadeiba, and E. C. Butcher, "Leukocyte Trafficking to the Small Intestine and Colon," *Gastroenterology*, vol. 150, no. 2, pp. 340–354, Feb. 2016, doi: 10.1053/j.gastro.2015.10.046.
- [147] M. Iwata, A. Hirakiyama, Y. Eshima, H. Kagechika, C. Kato, and S.-Y. Song, "Retinoic Acid Imprints Gut-Homing Specificity on T Cells," *Immunity*, vol. 21, no. 4, pp. 527–538, Oct. 2004, doi: 10.1016/j.immuni.2004.08.011.
- [148] E. Jaensson *et al.*, "Small intestinal CD103+ dendritic cells display unique functional properties that are conserved between mice and humans," *J. Exp. Med.*, vol. 205, no. 9, pp. 2139–2149, Sep. 2008, doi: 10.1084/jem.20080414.
- [149] A. Miles, E. Liaskou, B. Eksteen, P. F. Lalor, and D. H. Adams, "CCL25 and CCL28 promote alpha4 beta7-integrin-dependent adhesion of lymphocytes to MAdCAM-1 under shear flow," *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, vol. 294, no. 5, pp. G1257–1267, May 2008, doi: 10.1152/ajpgi.00266.2007.
- [150] S. Schramm *et al.*, "Blocking GPR15 counteracts integrin-dependent T cell gut homing in vivo," *J. Crohns Colitis*, p. jjae012, Jan. 2024, doi: 10.1093/ecco-jcc/jjae012.
- [151] H. A. DeBerg, A. J. Konecny, D. M. Shows, and J. D. Lord, "MAdCAM-1 Costimulates T Cells through Integrin $\alpha 4 \beta 7$ to Cause Gene Expression Events Resembling Costimulation through CD28," *ImmunoHorizons*, vol. 6, no. 3, pp. 211–223, Mar. 2022, doi: 10.4049/immunohorizons.2200009.
- [152] A. Girard *et al.*, "MAdCAM-1 co-stimulation combined with retinoic acid and TGF- β induces blood CD8+ T cells to adopt a gutCD101+ TRM phenotype," *Mucosal Immunol.*, pp. S1933-0219(24)00041–2, May 2024, doi: 10.1016/j.mucimm.2024.04.004.
- [153] S. Patel, R. Behara, G. R. Swanson, C. B. Forsyth, R. M. Voigt, and A. Keshavarzian, "Alcohol and the Intestine," *Biomolecules*, vol. 5, no. 4, pp. 2573–2588, Oct. 2015, doi: 10.3390/biom5042573.
- [154] M. Xu *et al.*, "Ethanol disrupts vascular endothelial barrier: implication in cancer metastasis," *Toxicol. Sci. Off. J. Soc. Toxicol.*, vol. 127, no. 1, pp. 42–53, May 2012, doi: 10.1093/toxsci/kfs087.
- [155] A. S. Tarnawski *et al.*, "Microvascular abnormalities of the portal hypertensive gastric mucosa," *Hepatol. Baltim. Md*, vol. 8, no. 6, pp. 1488–1494, 1988, doi: 10.1002/hep.1840080604.

- [156] M. T. Siddiqui, Y. Han, D. Shapiro, G. West, C. Fiocchi, and G. A. M. Cresci, “The Postbiotic Butyrate Mitigates Gut Mucosal Disruption Caused by Acute Ethanol Exposure,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 25, no. 3, p. 1665, Jan. 2024, doi: 10.3390/ijms25031665.
- [157] E. M. Connor, M. J. Eppihimer, Z. Morise, D. N. Granger, and M. B. Grisham, “Expression of mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) in acute and chronic inflammation,” *J. Leukoc. Biol.*, vol. 65, no. 3, pp. 349–355, Mar. 1999, doi: 10.1002/jlb.65.3.349.
- [158] S. A. Michie, P. R. Streeter, E. C. Butcher, and R. V. Rouse, “L-selectin and alpha 4 beta 7 integrin homing receptor pathways mediate peripheral lymphocyte traffic to AKR mouse hyperplastic thymus,” *Am. J. Pathol.*, vol. 147, no. 2, pp. 412–421, Aug. 1995.
- [159] Y. Katayama, A. Hidalgo, A. Peired, and P. S. Frenette, “Integrin $\alpha 4\beta 7$ and its counterreceptor MAdCAM-1 contribute to hematopoietic progenitor recruitment into bone marrow following transplantation,” *Blood*, vol. 104, no. 7, pp. 2020–2026, Oct. 2004, doi: 10.1182/blood-2003-12-4157.
- [160] J. L. Murakami *et al.*, “Evidence that $\beta 7$ Integrin Regulates Hematopoietic Stem Cell Homing and Engraftment Through Interaction with MAdCAM-1,” *Stem Cells Dev.*, vol. 25, no. 1, pp. 18–26, Jan. 2016, doi: 10.1089/scd.2014.0551.
- [161] Y.-Y. Fu *et al.*, “T Cell Recruitment to the Intestinal Stem Cell Compartment Drives Immune-Mediated Intestinal Damage after Allogeneic Transplantation,” *Immunity*, vol. 51, no. 1, pp. 90–103.e3, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.immuni.2019.06.003.
- [162] T. Tada and K. Fukuta, “Expression of cell adhesion molecules at the collapse and recovery of haematopoiesis in bone marrow of mouse,” *Anat. Histol. Embryol.*, vol. 39, no. 5, pp. 403–410, Oct. 2010, doi: 10.1111/j.1439-0264.2010.01009.x.
- [163] P. D. Lyons and E. N. Benveniste, “Cleavage of membrane-associated ICAM-1 from astrocytes: involvement of a metalloprotease,” *Glia*, vol. 22, no. 2, pp. 103–112, Feb. 1998, doi: 10.1002/(sici)1098-1136(199802)22:2<103::aid-glia1>3.0.co;2-8.
- [164] R. Zonneveld, R. M. Jongman, A. Juliana, G. Molema, M. van Meurs, and F. B. Plötz, “Serum concentrations of endothelial cell adhesion molecules and their shedding enzymes and early onset sepsis in newborns in Suriname,” *BMJ Paediatr. Open*, vol. 2, no. 1, p. e000312, 2018, doi: 10.1136/bmjpo-2018-000312.
- [165] E. Leung *et al.*, “Bioassay detects soluble MAdCAM-1 in body fluids,” *Immunol. Cell Biol.*, vol. 82, no. 4, pp. 400–409, 2004, doi: <https://doi.org/10.1111/j.0818-9641.2004.01247.x>.
- [166] S. Vermeire *et al.*, “Anti-MAdCAM antibody (PF-00547659) for ulcerative colitis (TURANDOT): a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial,” *The Lancet*, vol. 390, no. 10090, pp. 135–144, Jul. 2017, doi: 10.1016/S0140-6736(17)30930-3.
- [167] R. Battat *et al.*, “Biomarkers Are Associated With Clinical and Endoscopic Outcomes With Vedolizumab Treatment in Ulcerative Colitis,” *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 25, no. 2, pp. 410–420, Jan. 2019, doi: 10.1093/ibd/izy307.
- [168] S. Paul *et al.*, “Soluble Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule 1 and Retinoic Acid are Potential Tools for Therapeutic Drug Monitoring in Patients with Inflammatory Bowel Disease Treated with Vedolizumab: A Proof of Concept Study,” *J. Crohns Colitis*.
- [169] O. E. Andrews, D. Van Ryk, A. Ansari, C. Cicala, A. Fauci, and J. Arthos, “MAdCAM as a potential biomarker of HIV-induced inflammation,” *J. Immunol.*, vol. 196, no. 1_Supplement, p. 208.15–208.15, May 2016, doi: 10.4049/jimmunol.196.Supp.208.15.
- [170] N. J. Kasarpalkar *et al.*, “Frequency of Effector Memory Cells Expressing Integrin $\alpha 4\beta 7$ Is Associated With TGF- $\beta 1$ Levels in Therapy Naïve HIV Infected Women With Low CD4+ T Cell Count,” *Front. Immunol.*, vol. 12, p. 651122, Mar. 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.651122.

- [171] D. Jagtap *et al.*, “sMAdCAM: IL-6 Ratio Influences Disease Progression and Anti-Viral Responses in SARS-CoV-2 Infection,” *Front. Immunol.*, vol. 12, p. 619906, Jun. 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.619906.
- [172] A. K. Singh *et al.*, “Opposing roles for sMAdCAM and IL-15 in COVID-19 associated cellular immune pathology,” *J. Leukoc. Biol.*, vol. 111, no. 6, pp. 1287–1295, May 2022, doi: 10.1002/JLB.3COVBCR0621-300R.
- [173] S. Ikeda *et al.*, “Enteral Feeding Preserves Mucosal Immunity Despite In Vivo MAdCAM-1 Blockade of Lymphocyte Homing,” *Ann. Surg.*, vol. 237, no. 5, pp. 677–685, May 2003, doi: 10.1097/01.SLA.0000064364.40406.EA.
- [174] B. Zarzaur, S. Ikeda, C. Johnson, T. Le, G. Sacks, and K. Kudsk, “Mucosal immunity preservation with bombesin or glutamine is not dependent on mucosal addressin cell adhesion molecule-1 expression,” *J. Parenter. Enter. Nutr.*, vol. 26, no. 5, pp. 265–270, Sep. 2002, doi: 10.1177/0148607102026005265.
- [175] M. Gomez De Agüero *et al.*, “The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development,” *Science*, vol. 351, no. 6279, pp. 1296–1302, Mar. 2016, doi: 10.1126/science.aad2571.
- [176] O. Pabst, R. Zweigerdt, and H. H. Arnold, “Targeted disruption of the homeobox transcription factor Nkx2-3 in mice results in postnatal lethality and abnormal development of small intestine and spleen,” *Dev. Camb. Engl.*, vol. 126, no. 10, pp. 2215–2225, May 1999, doi: 10.1242/dev.126.10.2215.
- [177] C. C. Wang *et al.*, “Homeodomain factor Nkx2-3 controls regional expression of leukocyte homing coreceptor MAdCAM-1 in specialized endothelial cells of the viscera,” *Dev. Biol.*, vol. 224, no. 2, pp. 152–167, Aug. 2000, doi: 10.1006/dbio.2000.9749.
- [178] W. Yu *et al.*, “NKX2-3 transcriptional regulation of endothelin-1 and VEGF signaling in human intestinal microvascular endothelial cells,” *PloS One*, vol. 6, no. 5, p. e20454, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0020454.
- [179] A. Schippers *et al.*, “Mucosal Addressin Cell-Adhesion Molecule-1 Controls Plasma-Cell Migration and Function in the Small Intestine of Mice,” *Gastroenterology*, vol. 137, no. 3, pp. 924–933, Sep. 2009, doi: 10.1053/j.gastro.2009.05.039.
- [180] D. L. Schmucker, T. M. Owen, T. B. Issekutz, L. Gonzales, and R. K. Wang, “Expression of lymphocyte homing receptors a4b7 and MAdCAM-1 in young and old rats,” *Exp. Gerontol.*, 2002.
- [181] D. L. Schmucker, R. L. Owen, R. Outenreath, and K. Thoreux, “Basis for the Age-related Decline in Intestinal Mucosal Immunity,” *Clin. Dev. Immunol.*, vol. 10, no. 2–4, pp. 167–172, 2003, doi: 10.1080/10446670310001642168.
- [182] E. E. Sikorski, R. Hallmann, E. L. Berg, and E. C. Butcher, “The Peyer’s patch high endothelial receptor for lymphocytes, the mucosal vascular addressin, is induced on a murine endothelial cell line by tumor necrosis factor-alpha and IL-1,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 151, no. 10, pp. 5239–5250, Nov. 1993.
- [183] M. Takeuchi and V. R. Baichwal, “Induction of the gene encoding mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1 by tumor necrosis factor alpha is mediated by NF-kappa B proteins.,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 92, no. 8, pp. 3561–3565, Apr. 1995, doi: 10.1073/pnas.92.8.3561.
- [184] S. Arihiro *et al.*, “Differential expression of mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) in ulcerative colitis and Crohn’s disease,” *Pathol. Int.*, vol. 52, no. 5–6, pp. 367–374, May 2002, doi: 10.1046/j.1440-1827.2002.01365.x.
- [185] H. S. Souza, C. C. S. Elia, J. Spencer, and T. T. MacDonald, “Expression of lymphocyte-endothelial receptor-ligand pairs, alpha 4beta 7/MAdCAM-1 and OX40/OX40 ligand in the colon and jejunum of patients with inflammatory bowel disease,” *Gut*, vol. 45, no. 6, pp. 856–863, Dec. 1999, doi: 10.1136/gut.45.6.856.

- [186] T. Oshima *et al.*, “TNF- α induced endothelial MAdCAM-1 expression is regulated by exogenous, not endogenous nitric oxide,” *BMC Gastroenterol.*, vol. 1, no. 1, p. 5, Dec. 2001, doi: 10.1186/1471-230X-1-5.
- [187] M. Sasaki *et al.*, “Transfection of IL-10 expression vectors into endothelial cultures attenuates alpha4beta7-dependent lymphocyte adhesion mediated by MAdCAM-1,” *BMC Gastroenterol.*, vol. 3, p. 3, Feb. 2003, doi: 10.1186/1471-230x-3-3.
- [188] K. Lehnert, C. G. Print, Y. Yang, and G. W. Krissansen, “MAdCAM-1 costimulates T cell proliferation exclusively through integrin alpha4beta7, whereas VCAM-1 and CS-1 peptide use alpha4beta1: evidence for ‘remote’ costimulation and induction of hyperresponsiveness to B7 molecules,” *Eur. J. Immunol.*, vol. 28, no. 11, pp. 3605–3615, Nov. 1998, doi: 10.1002/(SICI)1521-4141(199811)28:11<3605::AID-IMMU3605>3.0.CO;2-J.
- [189] H.-S. Kang *et al.*, “Signaling via LTbetaR on the lamina propria stromal cells of the gut is required for IgA production,” *Nat. Immunol.*, vol. 3, no. 6, pp. 576–582, Jun. 2002, doi: 10.1038/ni795.
- [190] M. Fidelle *et al.*, “A microbiota-modulated checkpoint directs immunosuppressive intestinal T cells into cancers,” *Science*, vol. 380, no. 6649, p. eabo2296, Jun. 2023, doi: 10.1126/science.abo2296.
- [191] T. Menon and M. D. Srivastava, “Soluble MAdCAM-1: A Potential Predictor of Clinical Outcome in Inflammatory Bowel Disease (IBD): 700,” *Am. J. Gastroenterol.*, vol. 113, no. Supplement, p. S392, Oct. 2018, doi: 10.14309/00000434-201810001-00700.
- [192] M. Wiendl, E. Becker, T. M. Müller, C. J. Voskens, M. F. Neurath, and S. Zundler, “Targeting Immune Cell Trafficking - Insights From Research Models and Implications for Future IBD Therapy,” *Front. Immunol.*, vol. 12, p. 656452, 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.656452.
- [193] N. J. Wyatt, R. A. Speight, C. J. Stewart, J. A. Kirby, and C. A. Lamb, “Targeting Leukocyte Trafficking in Inflammatory Bowel Disease,” *BioDrugs Clin. Immunother. Biopharm. Gene Ther.*, vol. 35, no. 5, pp. 473–503, Sep. 2021, doi: 10.1007/s40259-021-00496-5.
- [194] Y.-B. Chen *et al.*, “Vedolizumab for the prevention of intestinal acute GVHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a randomized phase 3 trial,” *Nat. Med.*, Jun. 2024, doi: 10.1038/s41591-024-03016-4.
- [195] J. Fu, G. Li, J. Wu, and Z. Wang, “Intestinal IgA positive lymphocytes in acute liver necrosis decrease due to lymphocyte homing disturbance and apoptosis,” *Rev. Esp. Enferm. Dig.*, vol. 111, no. 2, pp. 101–105, Feb. 2019, doi: 10.17235/reed.2018.5656/2018.
- [196] P. Canales-Herrerias *et al.*, “Gut-associated lymphoid tissue attrition associates with response to anti- $\alpha 4\beta 7$ therapy in ulcerative colitis,” *Sci. Immunol.*, vol. 9, no. 94, p. eadg7549, Apr. 2024, doi: 10.1126/sciimmunol.adg7549.
- [197] D. Zheng, T. Liwinski, and E. Elinav, “Interaction between microbiota and immunity in health and disease,” *Cell Res.*, vol. 30, no. 6, pp. 492–506, Jun. 2020, doi: 10.1038/s41422-020-0332-7.
- [198] R. Jefferis, “Antibody therapeutics: isotype and glycoform selection,” *Expert Opin. Biol. Ther.*, vol. 7, no. 9, pp. 1401–1413, Sep. 2007, doi: 10.1517/14712598.7.9.1401.
- [199] P. P. Jonard, J. C. Rambaud, C. Dive, J. P. Vaerman, A. Galian, and D. L. Delacroix, “Secretion of immunoglobulins and plasma proteins from the jejunal mucosa. Transport rate and origin of polymeric immunoglobulin A,” *J. Clin. Invest.*, vol. 74, no. 2, pp. 525–535, Aug. 1984, doi: 10.1172/JCI111450.
- [200] A. Bonner, A. Almogren, P. B. Furtado, M. A. Kerr, and S. J. Perkins, “The nonplanar secretory IgA2 and near planar secretory IgA1 solution structures rationalize their different

- mucosal immune responses,” *J. Biol. Chem.*, vol. 284, no. 8, pp. 5077–5087, Feb. 2009, doi: 10.1074/jbc.M807529200.
- [201] A. Toraño, Y. Tsuzukida, Y. S. Liu, and F. W. Putnam, “Location and structural significance of the oligosaccharides in human Ig-A1 and IgA2 immunoglobulins,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 74, no. 6, pp. 2301–2305, Jun. 1977, doi: 10.1073/pnas.74.6.2301.
- [202] D. Mistry and R. A. Stockley, “IgA1 protease,” *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 38, no. 8, pp. 1244–1248, 2006, doi: 10.1016/j.biocel.2005.10.005.
- [203] M. A. Otten and M. van Egmond, “The Fc receptor for IgA (FcalphaRI, CD89),” *Immunol. Lett.*, vol. 92, no. 1–2, pp. 23–31, Mar. 2004, doi: 10.1016/j.imlet.2003.11.018.
- [204] H. C. Morton and P. Brandtzaeg, “CD89: the human myeloid IgA Fc receptor,” *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, vol. 49, no. 3, pp. 217–229, 2001.
- [205] J. M. Woof and M. W. Russell, “Structure and function relationships in IgA,” *Mucosal Immunol.*, vol. 4, no. 6, pp. 590–597, Nov. 2011, doi: 10.1038/mi.2011.39.
- [206] M. Berth, J. Delanghe, M. Langlois, and M. De Buyzere, “Reference values of serum IgA subclasses in caucasian adults by immunonephelometry,” *Clin. Chem.*, vol. 45, no. 2, pp. 309–310, Feb. 1999.
- [207] M. Chiba, H. Ohta, H. Yagisawa, and O. Masamune, “IgA1 & IgA2 distribution in the intestine,” *Gastroenterol. Jpn.*, vol. 22, no. 1, pp. 18–23, Feb. 1987.
- [208] S. H. Pakkanen *et al.*, “Expression of homing receptors on IgA1 and IgA2 plasmablasts in blood reflects differential distribution of IgA1 and IgA2 in various body fluids,” *Clin. Vaccine Immunol. CVI*, vol. 17, no. 3, pp. 393–401, Mar. 2010, doi: 10.1128/CVI.00475-09.
- [209] C. André, F. André, and C. Fargier, “Distribution of IgA 1 and IgA 2 plasma cells in various normal human tissues and in the jejunum of plasma IgA-deficient patients,” *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 33, no. 2, pp. 327–331, Aug. 1978.
- [210] B. He *et al.*, “Intestinal Bacteria Trigger T Cell-Independent Immunoglobulin A2 Class Switching by Inducing Epithelial-Cell Secretion of the Cytokine APRIL,” *Immunity*, vol. 26, no. 6, pp. 812–826, Jun. 2007, doi: 10.1016/j.immuni.2007.04.014.
- [211] T. B. Tomasi, E. M. Tan, A. Solomon, and R. A. Prendergast, “CHARACTERISTICS OF AN IMMUNE SYSTEM COMMON TO CERTAIN EXTERNAL SECRETIONS,” *J. Exp. Med.*, vol. 121, no. 1, pp. 101–124, Jan. 1965, doi: 10.1084/jem.121.1.101.
- [212] P. Brandtzaeg, “Secretory IgA: Designed for Anti-Microbial Defense,” *Front. Immunol.*, vol. 4, p. 222, 2013, doi: 10.3389/fimmu.2013.00222.
- [213] C. D. Castro and M. F. Flajnik, “Putting J chain back on the map: how might its expression define plasma cell development?,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 193, no. 7, pp. 3248–3255, Oct. 2014, doi: 10.4049/jimmunol.1400531.
- [214] S. Krugmann, R. J. Pleass, J. D. Atkin, and J. M. Woof, “Structural requirements for assembly of dimeric IgA probed by site-directed mutagenesis of J chain and a cysteine residue of the alpha-chain CH2 domain,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 159, no. 1, pp. 244–249, Jul. 1997.
- [215] J. Huang *et al.*, “Site-specific glycosylation of secretory immunoglobulin A from human colostrum,” *J. Proteome Res.*, vol. 14, no. 3, pp. 1335–1349, Mar. 2015, doi: 10.1021/pr500826q.
- [216] R. Plomp, A. Bondt, N. de Haan, Y. Rombouts, and M. Wuhrer, “Recent Advances in Clinical Glycoproteomics of Immunoglobulins (Igs),” *Mol. Cell. Proteomics MCP*, vol. 15, no. 7, pp. 2217–2228, Jul. 2016, doi: 10.1074/mcp.O116.058503.
- [217] F. Malard *et al.*, “Gut microbiota diversity after autologous fecal microbiota transfer in acute myeloid leukemia patients,” *Nat. Commun.*, vol. 12, no. 1, p. 3084, May 2021, doi: 10.1038/s41467-021-23376-6.

- [218] N. W. Palm *et al.*, “Immunoglobulin A Coating Identifies Colitogenic Bacteria in Inflammatory Bowel Disease,” *Cell*, vol. 158, no. 5, pp. 1000–1010, Aug. 2014, doi: 10.1016/j.cell.2014.08.006.
- [219] J. R. Wilmore *et al.*, “Commensal Microbes Induce Serum IgA Responses that Protect against Polymicrobial Sepsis,” *Cell Host Microbe*, vol. 23, no. 3, pp. 302–311.e3, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.chom.2018.01.005.
- [220] P. Brandtzaeg and K. Bjerke, “Human Peyer’s patches: lympho-epithelial relationships and characteristics of immunoglobulin-producing cells,” *Immunol. Invest.*, vol. 18, no. 1–4, pp. 29–45, 1989, doi: 10.3109/08820138909112225.
- [221] S. Hapfelmeier *et al.*, “Reversible microbial colonization of germ-free mice reveals the dynamics of IgA immune responses,” *Science*, vol. 328, no. 5986, pp. 1705–1709, Jun. 2010, doi: 10.1126/science.1188454.
- [222] C. Lindner *et al.*, “Diversification of memory B cells drives the continuous adaptation of secretory antibodies to gut microbiota,” *Nat. Immunol.*, vol. 16, no. 8, pp. 880–888, Aug. 2015, doi: 10.1038/ni.3213.
- [223] O. Pabst, “New concepts in the generation and functions of IgA,” *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 12, no. 12, pp. 821–832, Dec. 2012, doi: 10.1038/nri3322.
- [224] T. Tsuruta, R. Inoue, I. Nojima, T. Tsukahara, H. Hara, and T. Yajima, “The amount of secreted IgA may not determine the secretory IgA coating ratio of gastrointestinal bacteria,” *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, vol. 56, no. 2, pp. 185–189, Jul. 2009, doi: 10.1111/j.1574-695X.2009.00568.x.
- [225] L. A. van der Waaij, P. C. Limburg, G. Mesander, and D. van der Waaij, “In vivo IgA coating of anaerobic bacteria in human faeces,” *Gut*, vol. 38, no. 3, pp. 348–354, Mar. 1996, doi: 10.1136/gut.38.3.348.
- [226] L. A. van der Waaij, G. Mesander, P. C. Limburg, and D. van der Waaij, “Direct flow cytometry of anaerobic bacteria in human feces,” *Cytometry*, vol. 16, no. 3, pp. 270–279, Jul. 1994, doi: 10.1002/cyto.990160312.
- [227] J. J. Bunker *et al.*, “Innate and Adaptive Humoral Responses Coat Distinct Commensal Bacteria with Immunoglobulin A,” *Immunity*, vol. 43, no. 3, pp. 541–553, Sep. 2015, doi: 10.1016/j.immuni.2015.08.007.
- [228] J. D. Planer *et al.*, “Development of the gut microbiota and mucosal IgA responses in twins and gnotobiotic mice,” *Nature*, vol. 534, no. 7606, pp. 263–266, Jun. 2016, doi: 10.1038/nature17940.
- [229] T. C. Cullender *et al.*, “Innate and adaptive immunity interact to quench microbiome flagellar motility in the gut,” *Cell Host Microbe*, vol. 14, no. 5, pp. 571–581, Nov. 2013, doi: 10.1016/j.chom.2013.10.009.
- [230] W. Wu *et al.*, “Commensal A4 bacteria inhibit intestinal Th2-cell responses through induction of dendritic cell TGF- β production,” *Eur. J. Immunol.*, vol. 46, no. 5, pp. 1162–1167, May 2016, doi: 10.1002/eji.201546160.
- [231] X. Liu *et al.*, “Role of the Gut Microbiome in Modulating Arthritis Progression in Mice,” *Sci. Rep.*, vol. 6, p. 30594, Aug. 2016, doi: 10.1038/srep30594.
- [232] M. J. Lodes *et al.*, “Bacterial flagellin is a dominant antigen in Crohn disease,” *J. Clin. Invest.*, vol. 113, no. 9, pp. 1296–1306, May 2004, doi: 10.1172/JCI20295.
- [233] A. Zhernakova *et al.*, “Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity,” *Science*, vol. 352, no. 6285, pp. 565–569, Apr. 2016, doi: 10.1126/science.aad3369.
- [234] M. J. Bonder *et al.*, “The effect of host genetics on the gut microbiome,” *Nat. Genet.*, vol. 48, no. 11, pp. 1407–1412, Nov. 2016, doi: 10.1038/ng.3663.
- [235] G. D. Wu *et al.*, “Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes,” *Science*, vol. 334, no. 6052, pp. 105–108, Oct. 2011, doi: 10.1126/science.1208344.

- [236] D. A. Peterson, N. P. McNulty, J. L. Guruge, and J. I. Gordon, “IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis,” *Cell Host Microbe*, vol. 2, no. 5, pp. 328–339, Nov. 2007, doi: 10.1016/j.chom.2007.09.013.
- [237] S. Okai *et al.*, “Intestinal IgA as a modulator of the gut microbiota,” *Gut Microbes*, vol. 8, no. 5, pp. 486–492, Sep. 2017, doi: 10.1080/19490976.2017.1310357.
- [238] K. Suzuki *et al.*, “Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 101, no. 7, pp. 1981–1986, Feb. 2004, doi: 10.1073/pnas.0307317101.
- [239] D. Hoces, M. Arnoldini, M. Diard, C. Loverdo, and E. Slack, “Growing, evolving and sticking in a flowing environment: understanding IgA interactions with bacteria in the gut,” *Immunology*, vol. 159, no. 1, pp. 52–62, Jan. 2020, doi: 10.1111/imm.13156.
- [240] J. J. Bunker and A. Bendelac, “IgA Responses to Microbiota,” *Immunity*, vol. 49, no. 2, Aug. 2018.
- [241] J. Fadlallah *et al.*, “Microbial ecology perturbation in human IgA deficiency,” *Sci. Transl. Med.*, vol. 10, no. 439, p. eaan1217, May 2018, doi: 10.1126/scitranslmed.aan1217.
- [242] G. P. Donaldson *et al.*, “Gut microbiota utilize immunoglobulin A for mucosal colonization,” *Science*, vol. 360, no. 6390, pp. 795–800, May 2018, doi: 10.1126/science.aag0926.
- [243] F. Fransen *et al.*, “BALB/c and C57BL/6 Mice Differ in Polyreactive IgA Abundance, which Impacts the Generation of Antigen-Specific IgA and Microbiota Diversity,” *Immunity*, vol. 43, no. 3, pp. 527–540, Sep. 2015, doi: 10.1016/j.immuni.2015.08.011.
- [244] J. L. Kubinak and J. L. Round, “Do antibodies select a healthy microbiota?,” *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 16, no. 12, pp. 767–774, Dec. 2016, doi: 10.1038/nri.2016.114.
- [245] H. Li *et al.*, “Mucosal or systemic microbiota exposures shape the B cell repertoire,” *Nature*, vol. 584, no. 7820, pp. 274–278, Aug. 2020, doi: 10.1038/s41586-020-2564-6.
- [246] C. J. Landers *et al.*, “Selected loss of tolerance evidenced by Crohn’s disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens,” *Gastroenterology*, vol. 123, no. 3, pp. 689–699, Sep. 2002, doi: 10.1053/gast.2002.35379.
- [247] I. Vujkovic-Cvijin *et al.*, “The systemic anti-microbiota IgG repertoire can identify gut bacteria that translocate across gut barrier surfaces,” *Sci. Transl. Med.*, vol. 14, no. 658, Aug. 2022.
- [248] A. Haas *et al.*, “Systemic antibody responses to gut commensal bacteria during chronic HIV-1 infection,” *Gut*, vol. 60, no. 11, pp. 1506–1519, Nov. 2011, doi: 10.1136/gut.2010.224774.
- [249] H. J. M. Harmsen, S. D. Pouwels, A. Funke, N. A. Bos, and G. Dijkstra, “Crohn’s Disease Patients Have More IgG-Binding Fecal Bacteria than Controls,” *Clin. Vaccine Immunol.*, vol. 19, no. 4, pp. 515–521, Apr. 2012, doi: 10.1128/CVI.05517-11.
- [250] B. S. Christmann *et al.*, “Human seroreactivity to gut microbiota antigens,” *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 136, no. 5, pp. 1378–1386.e5, Nov. 2015, doi: 10.1016/j.jaci.2015.03.036.
- [251] J. Fadlallah *et al.*, “Synergistic convergence of microbiota-specific systemic IgG and secretory IgA,” *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 143, no. 4, pp. 1575–1585.e4, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.jaci.2018.09.036.
- [252] E. S. Lim *et al.*, “Early life dynamics of the human gut virome and bacterial microbiome in infants,” *Nat. Med.*, vol. 21, no. 10, pp. 1228–1234, Oct. 2015, doi: 10.1038/nm.3950.
- [253] J. J. Faith *et al.*, “The Long-Term Stability of the Human Gut Microbiota,” *Science*, vol. 341, no. 6141, p. 1237439, Jul. 2013, doi: 10.1126/science.1237439.
- [254] T. Rollenske *et al.*, “Cross-specificity of protective human antibodies against *Klebsiella pneumoniae* LPS O-antigen,” *Nat. Immunol.*, vol. 19, no. 6, pp. 617–624, Jun. 2018, doi: 10.1038/s41590-018-0106-2.

- [255] M. Y. Zeng *et al.*, “Gut Microbiota-Induced Immunoglobulin G Controls Systemic Infection by Symbiotic Bacteria and Pathogens,” *Immunity*, vol. 44, no. 3, pp. 647–658, Mar. 2016, doi: 10.1016/j.immuni.2016.02.006.
- [256] J. P. Rissing, T. B. Buxton, and H. T. Edmondson, “Detection of Specific IgG Antibody in Sera from Patients Infected with *Bacteroides fragilis* by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay,” *J. Infect. Dis.*, vol. 140, no. 6, pp. 994–998, Dec. 1979, doi: 10.1093/infdis/140.6.994.
- [257] J. Benckert *et al.*, “The majority of intestinal IgA⁺ and IgG⁺ plasmablasts in the human gut are antigen-specific,” *J. Clin. Invest.*, vol. 121, no. 5, pp. 1946–1955, May 2011, doi: 10.1172/JCI44447.
- [258] M. A. Koch *et al.*, “Maternal IgG and IgA Antibodies Dampen Mucosal T Helper Cell Responses in Early Life,” *Cell*, vol. 165, no. 4, pp. 827–841, May 2016, doi: 10.1016/j.cell.2016.04.055.
- [259] M. Kim, Y. Qie, J. Park, and C. H. Kim, “Gut Microbial Metabolites Fuel Host Antibody Responses,” *Cell Host Microbe*, vol. 20, no. 2, pp. 202–214, Aug. 2016, doi: 10.1016/j.chom.2016.07.001.
- [260] J. König *et al.*, “Human Intestinal Barrier Function in Health and Disease,” *Clin. Transl. Gastroenterol.*, vol. 7, no. 10, p. e196, Oct. 2016, doi: 10.1038/ctg.2016.54.
- [261] C. Martinoli, A. Chiavelli, and M. Rescigno, “Entry Route of *Salmonella typhimurium* Directs the Type of Induced Immune Response,” *Immunity*, vol. 27, no. 6, pp. 975–984, Dec. 2007, doi: 10.1016/j.immuni.2007.10.011.
- [262] E. Slack *et al.*, “Innate and Adaptive Immunity Cooperate Flexibly to Maintain Host-Microbiota Mutualism,” *Science*, vol. 325, no. 5940, pp. 617–620, Jul. 2009, doi: 10.1126/science.1172747.
- [263] S. Agarwal and L. Mayer, “Diagnosis and Treatment of Gastrointestinal Disorders in Patients With Primary Immunodeficiency,” *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 11, no. 9, pp. 1050–1063, Sep. 2013, doi: 10.1016/j.cgh.2013.02.024.
- [264] E. Oksenhendler *et al.*, “Infections in 252 Patients with Common Variable Immunodeficiency,” *Clin. Infect. Dis.*, vol. 46, no. 10, pp. 1547–1554, May 2008, doi: 10.1086/587669.
- [265] A. Macpherson, U. Y. Khoo, I. Forgacs, J. Philpott-Howard, and I. Bjarnason, “Mucosal antibodies in inflammatory bowel disease are directed against intestinal bacteria,” *Gut*, vol. 38, no. 3, pp. 365–375, Mar. 1996, doi: 10.1136/gut.38.3.365.
- [266] L. Beaugerie, “Clinical, serological and genetic predictors of inflammatory bowel disease course,” *World J. Gastroenterol.*, vol. 18, no. 29, p. 3806, 2012, doi: 10.3748/wjg.v18.i29.3806.
- [267] S. R. Targan *et al.*, “Antibodies to CBir1 Flagellin Define a Unique Response That Is Associated Independently With Complicated Crohn’s Disease,” *Gastroenterology*, vol. 128, no. 7, pp. 2020–2028, Jun. 2005, doi: 10.1053/j.gastro.2005.03.046.
- [268] S. F. Jørgensen *et al.*, “Altered gut microbiota profile in common variable immunodeficiency associates with levels of lipopolysaccharide and markers of systemic immune activation,” *Mucosal Immunol.*, vol. 9, no. 6, pp. 1455–1465, Nov. 2016, doi: 10.1038/mi.2016.18.
- [269] B. Routy *et al.*, “Gut microbiome influences efficacy of PD-1–based immunotherapy against epithelial tumors,” *Science*, vol. 359, no. 6371, pp. 91–97, Jan. 2018, doi: 10.1126/science.aan3706.
- [270] K. M. Williams and R. E. Gress, “Immune reconstitution and implications for immunotherapy following haematopoietic stem cell transplantation,” *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, vol. 21, no. 3, pp. 579–596, Sep. 2008, doi: 10.1016/j.beha.2008.06.003.

- [271] R. Seggewiss and H. Einsele, “Immune reconstitution after allogeneic transplantation and expanding options for immunomodulation: an update,” *Blood*, vol. 115, no. 19, pp. 3861–3868, May 2010, doi: 10.1182/blood-2009-12-234096.
- [272] L. J. D’Orsogna *et al.*, “Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Recipients Have Defects of Both Switched and IgM Memory B Cells,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 15, no. 7, pp. 795–803, Jul. 2009, doi: 10.1016/j.bbmt.2008.11.024.
- [273] A. M. Glas *et al.*, “B-cell-autonomous somatic mutation deficit following bone marrow transplant,” *Blood*, vol. 96, no. 3, pp. 1064–1069, Aug. 2000.
- [274] B. Omazic, I. Lundkvist, J. Mattsson, J. Permert, and I. Näsman-Björk, “Memory B lymphocytes determine repertoire oligoclonality early after haematopoietic stem cell transplantation,” *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 134, no. 1, pp. 159–166, Sep. 2003, doi: 10.1046/j.1365-2249.2003.02260.x.
- [275] T. N. Small, W. H. Robinson, and D. B. Miklos, “B Cells and Transplantation: An Educational Resource,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 15, no. 1, pp. 104–113, Jan. 2009, doi: 10.1016/j.bbmt.2008.10.016.
- [276] M. Bemark, J. Holmqvist, J. Abrahamsson, and K. Mellgren, “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.*, vol. 167, no. 1, pp. 15–25, Dec. 2011, doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04469.x.
- [277] P. Aucouturier *et al.*, “Long lasting IgG subclass and antibacterial polysaccharide antibody deficiency after allogeneic bone marrow transplantation,” *Blood*, vol. 70, no. 3, pp. 779–785, Sep. 1987.
- [278] I. Näsman-Björk and I. Lundkvist, “Oligoclonal dominance of immunoglobulin VH3 rearrangements following allogeneic bone marrow transplantation,” *Bone Marrow Transplant.*, vol. 21, no. 12, pp. 1223–1230, Jun. 1998, doi: 10.1038/sj.bmt.1701261.
- [279] F. Malard, J. Dore, B. Gaugler, and M. Mohty, “Introduction to host microbiome symbiosis in health and disease,” *Mucosal Immunol.*, vol. 14, no. 3, pp. 547–554, May 2021, doi: 10.1038/s41385-020-00365-4.
- [280] A. K. Holmer *et al.*, “Biomarkers are associated with clinical and endoscopic outcomes with vedolizumab treatment in Crohn’s disease,” *Ther. Adv. Gastroenterol.*, vol. 13, p. 175628482097121, Jan. 2020, doi: 10.1177/1756284820971214.
- [281] D. Goode *et al.*, “Sex Hormones Selectively Impact the Endocervical Mucosal Microenvironment: Implications for HIV Transmission,” *PLoS ONE*, vol. 9, no. 5, p. e97767, May 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0097767.
- [282] F. Malard, B. Gaugler, and M. Mohty, “Faecal microbiota transplantation in patients with haematological malignancies undergoing cellular therapies: from translational research to routine clinical practice,” *Lancet Haematol.*, vol. 9, no. 10, pp. e776–e785, Oct. 2022, doi: 10.1016/S2352-3026(22)00223-X.
- [283] T. Tada, N. Inoue, D. T. Widayati, and K. Fukuta, “Role of MAdCAM-1 and its ligand on the homing of transplanted hematopoietic cells in irradiated mice,” *Exp. Anim.*, vol. 57, no. 4, pp. 347–356, Jul. 2008, doi: 10.1538/expanim.57.347.
- [284] A. Staffas *et al.*, “Nutritional Support from the Intestinal Microbiota Improves Hematopoietic Reconstitution after Bone Marrow Transplantation in Mice,” *Cell Host Microbe*, vol. 23, no. 4, pp. 447–457.e4, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.chom.2018.03.002.
- [285] R. Y. Gao *et al.*, “Bile acids modulate colonic MAdCAM-1 expression in a murine model of combined cholestasis and colitis,” *Mucosal Immunol.*, vol. 14, no. 2, pp. 479–490, Mar. 2021, doi: 10.1038/s41385-020-00347-6.

- [286] J. B. J. Ward *et al.*, “Ursodeoxycholic acid and lithocholic acid exert anti-inflammatory actions in the colon,” *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, vol. 312, no. 6, pp. G550–G558, Jun. 2017, doi: 10.1152/ajpgi.00256.2016.
- [287] J. Storek *et al.*, “Immunity of patients surviving 20 to 30 years after allogeneic or syngeneic bone marrow transplantation,” *Blood*, vol. 98, no. 13, pp. 3505–3512, Dec. 2001, doi: 10.1182/blood.v98.13.3505.
- [288] C. Baumgartner *et al.*, “Humoral immune function in pediatric patients treated with autologous bone marrow transplantation for B cell non-Hodgkin’s lymphoma. The influence of ex vivo marrow decontamination with anti-Y 29/55 monoclonal antibody and complement,” *Blood*, vol. 71, no. 5, pp. 1211–1217, May 1988.
- [289] S. Cohen and T. Freeman, “Metabolic heterogeneity of human gamma-globulin,” *Biochem. J.*, vol. 76, no. 3, pp. 475–487, Sep. 1960, doi: 10.1042/bj0760475.
- [290] M. J. van Tol *et al.*, “The origin of IgG production and homogeneous IgG components after allogeneic bone marrow transplantation,” *Blood*, vol. 87, no. 2, pp. 818–826, Jan. 1996.
- [291] J. Kabbert *et al.*, “High microbiota reactivity of adult human intestinal IgA requires somatic mutations,” *J. Exp. Med.*, vol. 217, no. 11, p. e20200275, Nov. 2020, doi: 10.1084/jem.20200275.
- [292] P. Roll, K. Muhammad, G. Stuhler, U. Grigoleit, H. Einsele, and H.-P. Tony, “Effect of ATG-F on B-cell reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation,” *Eur. J. Haematol.*, vol. 95, no. 6, pp. 514–523, Dec. 2015, doi: 10.1111/ejh.12524.
- [293] M. Jendraszak *et al.*, “Impact of Biometric Patient Data, Probiotic Supplementation, and Selected Gut Microorganisms on Calprotectin, Zonulin, and sIgA Concentrations in the Stool of Adults Aged 18-74 Years,” *Biomolecules*, vol. 12, no. 12, p. 1781, Nov. 2022, doi: 10.3390/biom12121781.
- [294] K. Moor *et al.*, “High-avidity IgA protects the intestine by enchainning growing bacteria,” *Nature*, vol. 544, no. 7651, pp. 498–502, Apr. 2017, doi: 10.1038/nature22058.
- [295] D. A. Peterson *et al.*, “Characterizing the interactions between a naturally primed immunoglobulin A and its conserved *Bacteroides thetaiotaomicron* species-specific epitope in gnotobiotic mice,” *J. Biol. Chem.*, vol. 290, no. 20, pp. 12630–12649, May 2015, doi: 10.1074/jbc.M114.633800.
- [296] Y. Li, L. Jin, and T. Chen, “The Effects of Secretory IgA in the Mucosal Immune System,” *BioMed Res. Int.*, vol. 2020, p. 2032057, 2020, doi: 10.1155/2020/2032057.
- [297] S. C. Bischoff *et al.*, “Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy,” *BMC Gastroenterol.*, vol. 14, no. 1, p. 189, Dec. 2014, doi: 10.1186/s12876-014-0189-7.
- [298] J. M. Wells *et al.*, “Homeostasis of the gut barrier and potential biomarkers,” *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, vol. 312, no. 3, pp. G171–G193, Mar. 2017, doi: 10.1152/ajpgi.00048.2015.
- [299] L. Dollé, H. Q. Tran, L. Etienne-Mesmin, and B. Chassaing, “Policing of gut microbiota by the adaptive immune system,” *BMC Med.*, vol. 14, p. 27, Feb. 2016, doi: 10.1186/s12916-016-0573-y.
- [300] O. Pabst and E. Slack, “IgA and the intestinal microbiota: the importance of being specific,” *Mucosal Immunol.*, vol. 13, no. 1, pp. 12–21, Jan. 2020, doi: 10.1038/s41385-019-0227-4.
- [301] K. Hiippala *et al.*, “The Potential of Gut Commensals in Reinforcing Intestinal Barrier Function and Alleviating Inflammation,” *Nutrients*, vol. 10, no. 8, p. 988, Jul. 2018, doi: 10.3390/nu10080988.

- [302] B. Pietrzak, K. Tomela, A. Olejnik-Schmidt, A. Mackiewicz, and M. Schmidt, “Secretory IgA in Intestinal Mucosal Secretions as an Adaptive Barrier against Microbial Cells,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, no. 23, p. 9254, Dec. 2020, doi: 10.3390/ijms21239254.
- [303] E. W. Rogier, A. L. Frantz, M. E. C. Bruno, and C. S. Kaetzel, “Secretory IgA is Concentrated in the Outer Layer of Colonic Mucus along with Gut Bacteria,” *Pathog. Basel Switz.*, vol. 3, no. 2, pp. 390–403, Apr. 2014, doi: 10.3390/pathogens3020390.
- [304] J. M. Shapiro *et al.*, “Immunoglobulin A Targets a Unique Subset of the Microbiota in Inflammatory Bowel Disease,” *Cell Host Microbe*, vol. 29, no. 1, pp. 83–93.e3, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.chom.2020.12.003.
- [305] C. Moon *et al.*, “Vertically transmitted faecal IgA levels determine extra-chromosomal phenotypic variation,” *Nature*, vol. 521, no. 7550, pp. 90–93, May 2015, doi: 10.1038/nature14139.
- [306] L. Han *et al.*, “Intestinal Microbiota at Engraftment Influence Acute Graft-Versus-Host Disease via the Treg/Th17 Balance in Allo-HSCT Recipients,” *Front. Immunol.*, vol. 9, p. 669, Apr. 2018, doi: 10.3389/fimmu.2018.00669.
- [307] L. Han *et al.*, “Intestinal Microbiota Can Predict Acute Graft-versus-Host Disease Following Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation,” *Biol. Blood Marrow Transplant.*, vol. 25, no. 10, pp. 1944–1955, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.bbmt.2019.07.006.

ANNEXE

Article 2: Unconventional T Cells Influence Clinical Outcome After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation

Journal of Clinical Immunology (2024) 44:139
https://doi.org/10.1007/s10875-024-01741-6

RESEARCH



Unconventional T Cells Influence Clinical Outcome After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation

Lama Siblany^{1,2} · Nicolas Stocker^{1,2} · Laure Ricard^{1,2} · Eolia Brissot^{1,2} · Rémy Duléry^{1,2} · Anne Banet^{1,2} · Simona Sestili^{1,2} · Ramdane Belhocine² · Zoé Van de Wyngaert^{1,2} · Agnès Bonnin^{1,2} · Antoine Capes^{1,2} · Tounes Ledraa^{1,2} · Pauline Beurier¹ · Karen Fadel^{1,2} · Mohamad Mohty^{1,2} · Béatrice Gaugler^{1,2} · Florent Malard^{1,2}

Received: 27 November 2023 / Accepted: 20 May 2024

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2024

Abstract

We evaluated the impact of early recovery of mucosal-associated invariant T cells (MAIT) and gamma-delta ($\gamma\delta$) 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. The 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 to be more cytotoxic. Moreover, MAIT cell frequency was correlated with the frequency of $V\delta 2^+$ T cells with a better correlation observed with $V\delta 2^+CD26^+$ than with the $V\delta 2^+CD26^-$ T cell subset. By using the composite endpoint graft-versus-host disease (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 acute GvHD (aGvHD). These results suggest that MAIT cell reconstitution may provide mitigating 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 there was 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.

Keywords Allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT) · Mucosal-associated invariant T cells (MAIT) · $V\delta 2^+$ T cells · Acute graft-versus-host disease

Introduction

Allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT) is the only curative treatment for many patients with malignant and non-malignant hematological diseases. Immune

reconstitution after allo-HCT is a critical parameter for successful transplantation. 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 major histocompatibility complex (MHC) molecules, unconventional T cells recognize lipid and metabolite antigens presented by non-conventional conserved antigen-presenting molecules [2]. Mucosal-associated invariant T (MAIT) cells express the semi-invariant T cell receptor (TCR) $V\alpha 7.2$ 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 the CD69 activation marker, the production

Béatrice Gaugler and Florent Malard equal senior co-authorship.

✉ Florent Malard
florent.malard@inserm.fr

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

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

Published online: 01 June 2024

Springer

of cytotoxic granules such as perforin and granzyme, and the secretion of pro-inflammatory cytokines [2, 4]. Another type of unconventional T cell is $\gamma\delta$ T cells, among them, $V\delta 2^+$ T cells are predominant in the peripheral blood in most adults. $V\delta 2^+$ T cells are activated by phosphoantigens associated with butyrophilin [5]. In the context of allo-HCT, it has been reported that an increased number of MAIT cells in perfused grafts was 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 $V\delta 2^+$ T cells was significantly reduced by post-transplant cyclophosphamide which induced a delayed recovery following haploidentical HCT. Patients having the lowest $\gamma\delta$ and $V\delta 2^+$ T cell counts at day 30 after allo-HCT had a significantly higher risk of Epstein-Barr virus (EBV) viremia [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 cell reconstitution 2 months after transplantation was associated with 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 $V\delta 2$ T cells subset on day 28 post-transplant was associated with a lower risk of aGvHD [10]. A recent study identified two subsets of $V\delta 2^+$ T cells according to CD26 expression, which is an enzyme that participates in T cell activation. $V\delta 2^+$ T cells that express CD26 are characterized by higher cytokine production, whereas $V\delta 2^+CD26^-$ T cells are oriented to a cytotoxic profile [11].

In this context, we evaluated the influence of early recovery of MAIT and $V\delta 2^+$ 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 peripheral blood mononuclear cells (PBMC) collected at day 20–30 after allo-HCT and no history of aGvHD before PBMC sampling. The original population size was 97 patients, we excluded 21 patients who had developed GvHD before the date of PBMC sampling. Median follow-up time among surviving patients was

Table 1 Patients' characteristics

	All patients <i>n</i> = 76
Median age in years (range)	56 (19–73)
Sex	
Male	39 (51%)
Female	37 (49%)
Disease (%)	
Myeloid	58 (76%)
Acute myeloid leukemia	44 (58%)
Myelodysplastic syndrome	5 (6%)
Myeloproliferative neoplasm	9 (12%)
Lymphoid	16 (21%)
Precursor lymphoid neoplasm	10 (13%)
Non-Hodgkin lymphoma	4 (6%)
Hodgkin lymphoma	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%)
CMV serostatus donor-recipient pair	
Positive/Negative	9 (12%)
Negative/Positive	14 (18%)
Positive/Positive	39 (51%)
Negative/Negative	14 (18%)
GvHD grade 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, non-myeloablative; GvHD, graft-versus-host disease

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

134 months (range 30–236). 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%). Fifty-eight patients (76%) had myeloid malignancies, 16 patients (21%) lymphoid tumors, and 2 (3%) aplastic anemia. The majority (88%) of patients received a peripheral blood stem cell (PBSC) graft. Twenty-seven patients had a matched related donor, 36 a matched unrelated donor and 11 a haploidentical donor. The majority of patients received a fludarabine busulfan based reduced toxicity conditioning regimen ($n = 56$, 74%). 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 aGvHD onset. Absolute counts of T cells, MAIT and $\gamma\delta$ T cells are provided in Supplemental Table 1. Absolute values were only available for 65 allo-HCT patients. MAIT cells were identified at day 20–30 post-transplant using flow cytometry and defined as $CD3^+ TCRV\alpha 7.2^+ CD161^+$ as previously described (Fig. 1A). We observed a significant lower percentage of MAIT cells among $CD3^+$ T cells at day 20–30 post-transplant compared with healthy controls (Fig. 1B, $p = 0.033$). The majority of MAIT cells from patients were $CD8^+$ (Supplemental Fig. 6A) and we did not observe differences in the percentage of double-negative $CD4^-CD8^-$, double positive $CD4^+CD8^+$, $CD4^+$ or $CD8^+$ MAIT cells between patients and healthy controls (Supplemental Fig. 6B–E, $p = 0.1$, $p = 0.8$, $p = 0.7$, $p = 0.3$). 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, $p < 0.0001$, $p = 0.002$, respectively), 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 higher expression of CD69 in 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 lower 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, $p = 0.9$, $p = 0.8$, respectively). Finally, we looked at the percentage of $CD69^+$ in MAIT cells at day 20–30 in allo-HCT patients according

to recipient/donor CMV serological status and did not observe a significant difference in the percentage of $CD69^+$ in MAIT cells between R^+ versus R^- (Supplemental Fig. 7B, $p = 0.2$) and between R^+/D^- versus all others (Supplemental Fig. 7A $p = 0.1$). In addition to CMV serological status, we also investigated the impact of CMV reactivation and did not find any impact on the percentage of $CD69^+$ in MAIT cells at day 20–30 post-transplantation (Supplemental Fig. 7C, $p = 0.7$). These results show that MAIT cells in allo-HCT patients at day 20–30 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 performed an analysis of their impact on the outcome of allo-HCT using the composite endpoint GRFS as the primary endpoint. A receiver operating characteristic (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 outcome. We observed that patients with a higher MAIT cell frequency at day 20–30 (cut-off value = 0.75% of $CD3^+$ cells) had a 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, $p = 0.0036$). Furthermore, in patients with a higher MAIT cell frequency at day 20–30 there was also a tendency toward lower cumulative incidence of relapse and NRM (Supplemental Fig. 2A–B, $p = 0.16$ and $p = 0.08$ respectively), while, we did not observe an influence of the percentage of MAIT cells on the cumulative incidence of grade 2–4 aGvHD (Supplemental Fig. 2C, $p = 0.92$), grade 3–4 aGvHD (Supplemental Fig. 8A, $p = 0.3$) and gastro-intestinal aGvHD (GI-aGvHD) (Supplemental Fig. 10A, $p = 0.2$). We then analyzed the impact of the absolute numbers of MAIT cells at day 20–30 after allo-HCT on the clinical outcome in allo-HCT patients. Similarly to what we found when we use MAIT cell frequency, we found that patients with a higher concentration of MAIT cells (cut-off value = 2.39 MAIT cell/ μ l) have a tendency toward higher GRFS, better OS and higher DFS (Supplemental Fig. 11A–C, $p = 0.1$, $p = 0.2$, $p = 0.1$ respectively). This lack of significance is likely due to the loss of statistical power as we have absolute values for only 65 patients. In addition, we observed that CD69 expression by MAIT cells had an impact on outcome. The group of patients with a low CD69 expression (cut-off value = 21% of MAIT cells) had an increased cumulative incidence of grade 2–4 aGvHD (Fig. 2D $p = 0.04$), while we did not observe an influence of the CD69 expression by MAIT cells on the cumulative incidence of grade 3–4 aGvHD (Supplemental Fig. 8B, $p = 0.3$), and GI-aGvHD (Supplemental Fig. 10B, $p = 0.2$). We did

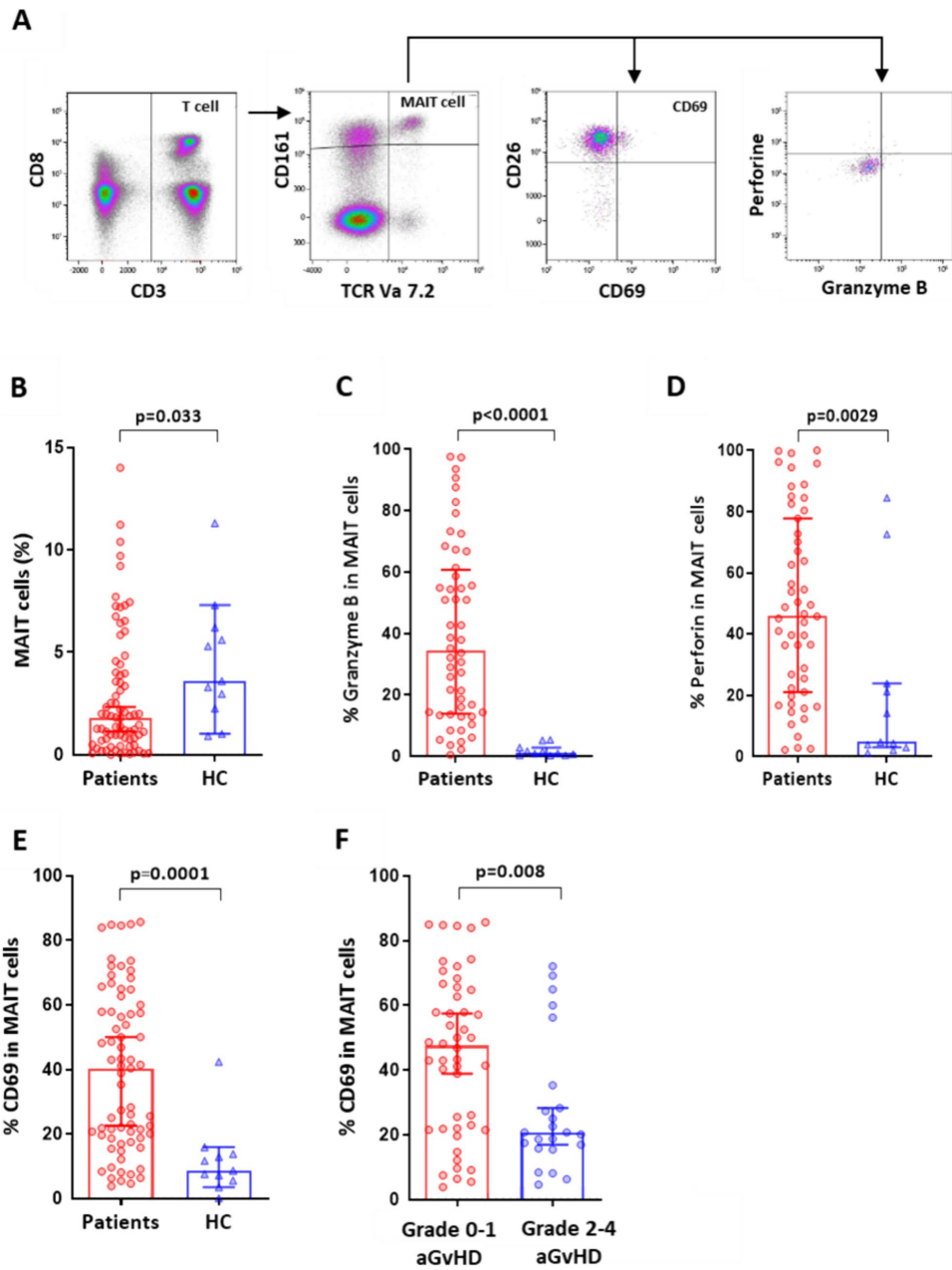


Fig. 1 Frequency, activation, and cytotoxicity profile of MAIT cells in allo-HCT patients and healthy controls. (A) A representative density plot analysis of MAIT cells, with expression of CD69, perforin and granzyme B in peripheral blood of allo-HCT patients at day 20–30 post-transplantation. (B) Frequency 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⁺ in MAIT cells for allo-HCT patients ($n=71$) and HC ($p=0.0001$). (F) Percentage of CD69⁺ in MAIT cells according to GVHD grade of allo-HCT 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

not find differences in OS, GRFS, DFS, and cumulative incidence of NRM and relapse depending on CD69 expression (data not shown). Given the impact of PTCy on aGVHD, and since frequency of CD69 in MAIT cells is associated in univariate analysis with the CI of grade 2–4 aGVHD, we evaluated the impact of PTCy on frequency of CD69 expression by MAIT cells at day 20–30 after allo-HCT. We found that the frequency of CD69 expression by MAIT cell is lower in patients treated with PTCy compared to those who did not receive PTCy (Fig. 2F, $p=0.03$). In addition, we performed a multivariate analysis taking into account the frequency of MAIT cells expressing CD69 and the use of PTCy and confirm that patients with higher frequency of MAIT CD69⁺ cells had a lower CI of grade 2–4 aGVHD ($p=0.042$).

Finally, the analysis of the influence of the cytotoxicity profile of MAIT cells on the outcome of allo-HCT revealed that the group of patients having granzyme B above the ROC threshold (cut-off value = 15% of MAIT cells) had lower cumulative incidence of grade 2–4 aGVHD (Fig. 2E $p=0.01$), and a higher relapse but no impact was observed on NRM and cumulative incidence of grade 3–4 aGVHD (Supplemental Fig. 2D, E, $p=0.05$, $p=0.51$, supplemental Fig. 8C $p=0.3$, respectively). In contrast, we found that patients having perforin above the ROC threshold had lower cumulative incidence of grade 3–4 aGVHD (Supplemental Fig. 8D, $p=0.03$), whereas no impact of perforin was observed on cumulative incidence of grade 2–4 aGVHD, NRM and relapse (cut-off value = 50.1% of MAIT cells) (data not shown). These results suggest that MAIT cell reconstitution may provide mitigating effects early after allo-HCT depending on their activation markers and functional status.

Vδ2⁺ 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 γδ T cells, in particular, the most frequently represented

in the periphery the Vδ2⁺ T cell subset, early after allo-HCT. We did not observe a significant difference in the frequency of Vδ2⁺ 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 Vδ2⁺ T cells. In fact, the expression of CD26 by γδ T cells has previously been shown to discriminate two functional subsets, those expressing CD26 producing higher levels of cytokines and the CD26⁻ subset being more cytotoxic [11]. Thus, the analysis of CD26 expression revealed a significant higher percentage of Vδ2⁺ T cells expressing CD26 (Fig. 3C, $p=0.0004$) at day 20–30 post-transplant compared to healthy controls. We then examined (by flow cytometry) the intracellular expression of perforin and granzyme B by Vδ2⁺ T cells. As expected, a significant higher perforin and granzyme B expression was detected in Vδ2⁺CD26⁻ T cells compared to Vδ2⁺CD26⁺ T cells (Fig. 3D, E, $p=0.03$, $p=0.024$, respectively). Conversely, we observed a lower intracellular expression of INF-γ in Vδ2⁺CD26⁻ T cells as compared to Vδ2⁺CD26⁺ T cells (Fig. 3F, $p=0.003$). Perforin and granzyme B expression were significantly higher in both subsets of Vδ2⁺ T cells from allo-HCT patients compared to healthy controls (Fig. 3G, H, I, J, $p=0.0062$, $p=0.0001$, $p=0.0003$, $p<0.0001$, respectively). However, INF-γ expression by Vδ2⁺ T cells between allo-HCT patients ($n=18$) and healthy controls was not significantly different (Supplemental Fig. 3A, B, $p=0.5$, $p=0.6$ respectively). These results suggest the presence of functionally different subsets of Vδ2⁺ T cells early after allo-HCT according to the expression of CD26, Vδ2⁺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 with the frequency of Vδ2 T cells (Fig. 4A, $r=0.49$, $p<0.0001$). Moreover, the correlation was stronger between MAIT cell frequency and the subset of Vδ2⁺CD26⁺ T cells (Fig. 4B, $r=0.49$, $p<0.0001$) compared to Vδ2⁺CD26⁻ T cells ($r=0.32$, $p=0.0008$) (data not shown), in line with the previous work showing a similar transcriptional profile between MAIT and Vδ2⁺CD26⁺ T cells, suggesting that these cells are triggered by related activation signals [11].

Circulating Vδ2⁺ T Cell Frequency Early After allo-HCT was Associated with Better Clinical Outcome and a Lower Risk of Relapse

We also evaluated the impact of Vδ2⁺ T cells at day 20–30 on clinical events in allo-HCT patients, especially Vδ2⁺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 Vδ2⁺CD26⁺ T cells above the ROC threshold at day 20–30 (cut-off value = 3.23% of CD3⁺ cells) had a significantly better GRFS (Fig. 5A, $p=0.004$), OS

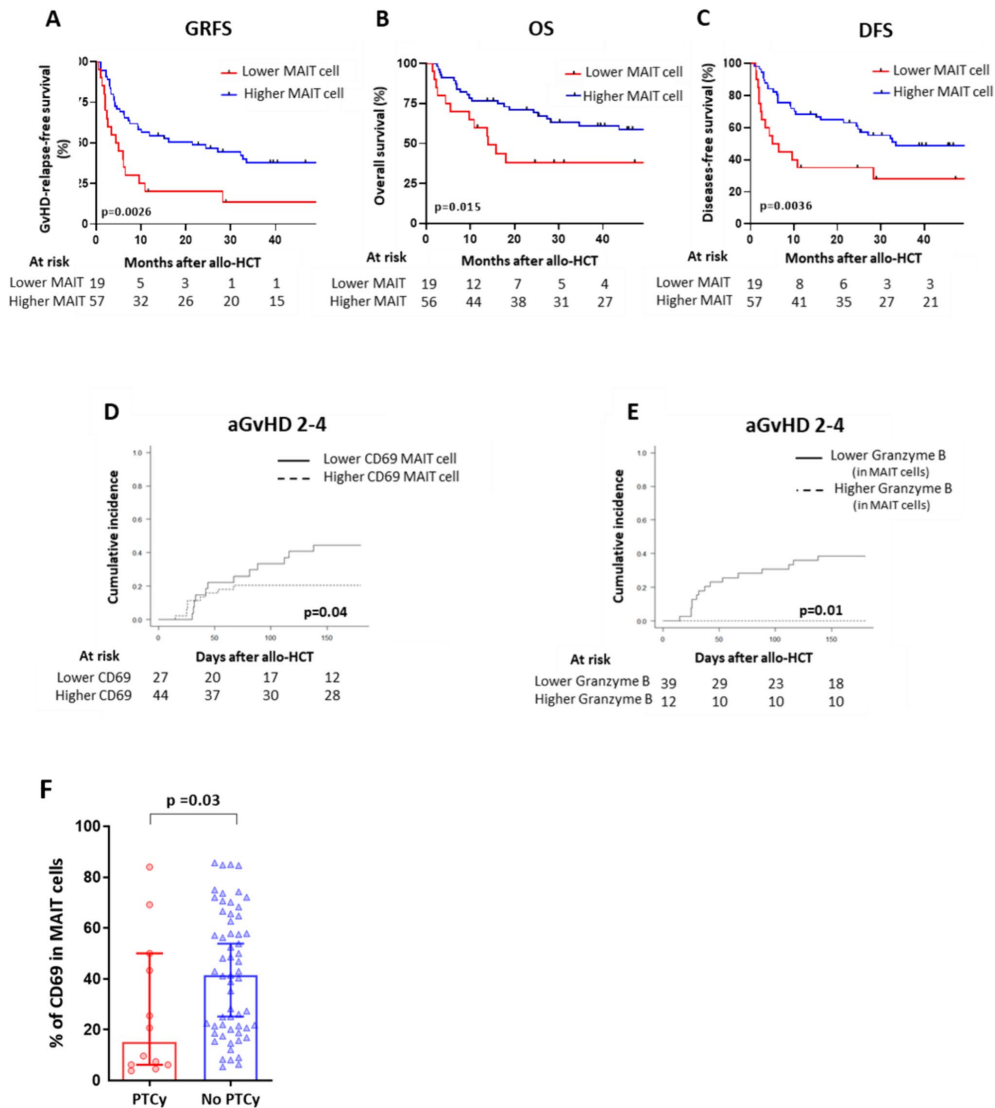


Fig. 2 Circulating MAIT cells early after allo-HCT were associated with clinical outcome. (A, B, C) Kaplan-Meier analysis of GRFS, OS, DFS of allo-HCT patients according to MAIT cell frequency ($n=76$, $p=0.0026$, $p=0.015$, $p=0.0036$, respectively). (D) Cumulative incidence of aGvHD in allo-HCT patients 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 $p=0.01$). (F) Percentage of CD69⁺ in MAIT cells according to the PTCy treatment of allo-

HCT patients at day 20–30 post-transplantation ($n=71$, $p=0.03$). 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 AUC. NRM: non-relapse mortality, OS: overall survival, DFS: disease-free survival, GRFS: GvHD-free, relapse-free survival, aGvHD: acute graft-versus-host disease. Each dot represents a single patient; error bars represent median with interquartile range

(Fig. 5B, $p=0.05$) and DFS (Fig. 5C, $p=0.03$). Furthermore, although patients with a higher frequency of $V\delta 2^+CD26^+$ T cell have a tendency toward a lower cumulative incidence of NRM, and relapse (Fig. 5E-F, $p=0.25$ and $p=0.24$ respectively), there was no difference in the cumulative incidence of grade 2–4 aGvHD (Fig. 5D, $p=0.99$), cumulative incidence of grade 3–4 aGvHD (Supplemental Fig. 9A, $p=0.1$) and GI-aGvHD (Supplemental Fig. 10D, $p=0.5$). Furthermore, we evaluated the impact of absolute concentration of $V\delta 2^+CD26^+$ T cells at day 20–30 (cut off value of $V\delta 2^+CD26^+$ T cells 2.1 cell/ μ l) on clinical events in allo-HCT patients. Similarly to what we found when we use $V\delta 2^+CD26^+$ T cell frequency, we observed that patients with a higher absolute concentration of $V\delta 2^+CD26^+$ T cells at day 20–30 had a tendency toward a higher GRFS, OS and DFS (Supplemental Fig. 11, D-F $p=0.1$, $p=0.3$, $p=0.1$ respectively). This lack of significance is likely due to the loss of statistical power as we have absolute values for only 65 patients. We also evaluated the impact of $V\delta 2^+$ T cells, independently of CD26 expression, on clinical events in allo-HCT patients. We observed that patients with a frequency of $V\delta 2^+$ T cells above the ROC threshold at day 20–30 (cut-off value = 3.72% of $CD3^+$ cells) 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 lower relapse (Supplemental Fig. 4D, $p=0.04$). However, we did not observe an impact of $V\delta 2^+$ T cell frequency on the cumulative incidence of grade 2–4 (Supplemental Fig. 4E, $p=0.5$), grade 3–4 aGvHD (Supplemental Fig. 4G, $p=0.1$) and GI-aGvHD (Supplemental Fig. 10C, $p=0.8$), as well as NRM in allo-HCT patients (Supplemental Fig. 4F, $p=0.4$). Finally, the analysis of the influence of the cytotoxicity profile of $V\delta 2^+$ T cells on the outcome of allo-HCT revealed that the group of patients having perforin or granzyme B above the ROC threshold (cut-off value of perforin = 74% of $V\delta 2^+$ T cells, cut-off value of granzyme B = 65.9% of $V\delta 2^+$ T cells) had a lower 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 grade 2–4 aGvHD and GI-aGvHD in allo-HCT patients (data not shown). In contrast, we found that patients having granzyme B above the ROC threshold, had lower cumulative incidence of grade 3–4 aGvHD (Supplemental Fig. 9B $p=0.04$), whereas no impact of perforin was observed (Supplemental Fig. 9C $p=0.06$). Finally, regarding the impact of absolute numbers of $V\delta 2^+$ T cells, we observed that patients with a higher absolute concentration $V\delta 2^+$ T cells above the ROC threshold at day 20–30 (cut-off value = 1.3 cell/ μ l) had a tendency toward a higher GRFS, OS, DFS (Supplemental Fig. 11, G-I $p=0.1$, $p=0.5$, $p=0.3$ respectively). These results revealed that the impact of $V\delta 2^+$ 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 $V\delta 2$ T cells in allo-HCT patients has indicated that these T cells may impact post-transplant outcomes. We demonstrated that both populations were involved in patient outcome. In particular, we found that patients with a higher MAIT cell frequency had an improved OS, in accordance with previous studies. In a mouse model, recipient MAIT cells can prevent GvHD in the colon by promoting intestinal barrier function and regulating gut microbiota composition [12]. 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 lower gut GvHD [6]. In addition, it appears that MAIT cell reconstitution is linked to the intestinal microbiota [6, 7, 15]. A recent study reported that MAIT cell frequency early after allo-HCT was associated with the diversity of the intestinal microbiome and correlated with a favorable outcome with less aGvHD [1]. In our study, we found a lower expression of CD69⁺ in MAIT cells in patients who experienced grade 2–4 aGvHD as well as an increased cumulative incidence of grade 2–4 aGvHD for patients below the threshold for CD69⁺ in MAIT cells. These data suggest that a high frequency of activated markers in MAIT cells may be protective against aGvHD. The mechanism by which MAIT cells may protect against 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 levels [7]. MAIT cells are best known for their production of cytotoxic mediators and cytokines upon activation, such as perforin and granzymes, IFN γ , TNF- α , and IL-17, although the latter is not considered to be produced in abundance by circulating MAIT cells in the steady state [16]. In the context of aGvHD, a preclinical study demonstrated that recipient MAIT cells protect against acute gut GvHD in an IL-17 dependent manner [12]. 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. Of note, Bhattacharyya et al. previously reported that the majority of peripheral blood MAIT cells were of donor origin at 1 month after allo-HCT [7], and while we were not able to assess specifically MAIT cell chimerism in our study, 74 patients (97%) had full donor whole blood chimerism at time of MAIT cells analysis, while the remaining 2 patients (3%) had a mixed chimerism. Furthermore, our results showing a decrease

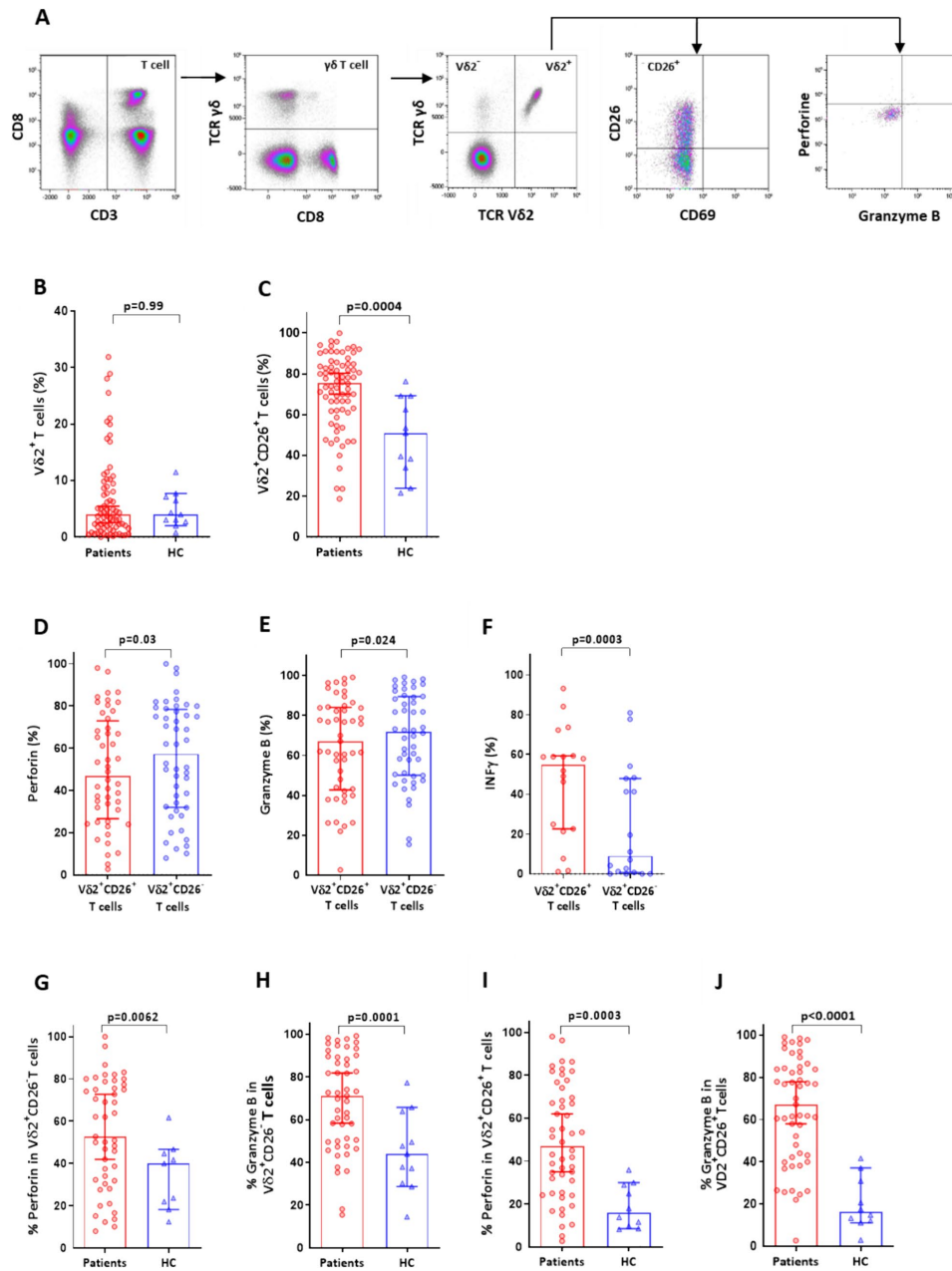


Fig. 3 Frequency, activation, and cytotoxicity profile of V δ 2⁺ T cells in allo-HCT patients and healthy controls. (A) A representative density plot analysis of V δ 2⁺ T cells and expression of CD26, perforin and granzyme B in peripheral blood of allo-HCT patients at day 20–30 post-transplantation. (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 ($p=0.0001$). (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

in the frequency of MAIT cells in allo-HCT patients compared to healthy controls at day 20–30 post-transplantation are in line with data previously reported by Solders et al. [13]. However, our study showing that MAIT cells were in great majority CD8⁺ as for healthy controls, contrasts with the data previously published by Solders et al. where a greater proportion of CD4⁻CD8⁻ MAIT cells was reported [13]. This discrepancy could be explained by the number of patients analyzed (76 patients in our cohort versus 10 patients for Solder's study) or by different clinical parameters. In this 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 cells [11]. We showed an increase in V δ 2⁺ T cells expressing CD26 in patients compared to healthy controls, probably due to the condition of patients after allo-HCT where they can be triggered by infections during the first months after transplantation. 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-infection and anti-tumoral effects already reported. As for MAIT cells, V δ 2⁺ T cell frequencies were reported to correlate with peri-engraftment intestinal α -diversity after allo-HCT when matched stool samples were analyzed [1]. Unfortunately, we were not able to correlate our data frequencies with the 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.

Our study has several limitations, in particular regarding the heterogeneity of the population in term of conditioning regimen, stem cell source and immunosuppression. Importantly, we did not find any effect of conditioning regimen intensity or stem cell source on MAIT CD69⁺ cells and CD26⁺V δ 2⁺ T cells. In contrast, patients that received PTCy have lower number of MAIT CD69⁺ cells. Nevertheless, multivariate analysis taking into account MAIT CD69⁺ cells and use of PTCy and confirm that patients with higher expression of CD69⁺ in MAIT cells had a lower CI of grade 2–4 aGvHD. Overall, while it seems important to confirm our finding in a larger cohort of patients, our results strongly suggest an impact of MAIT CD69⁺ cells and CD26⁺V δ 2⁺ T cells on patients' outcome irrespective of donor source and immunosuppression.

This study provides new information on the influence of MAIT and V δ 2⁺ T cells in the 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 an 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-Croizatier, Paris, France)] was established to serve as a baseline reference group. 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. 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 receptor blocking agent (Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Germany) 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

Fig. 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)

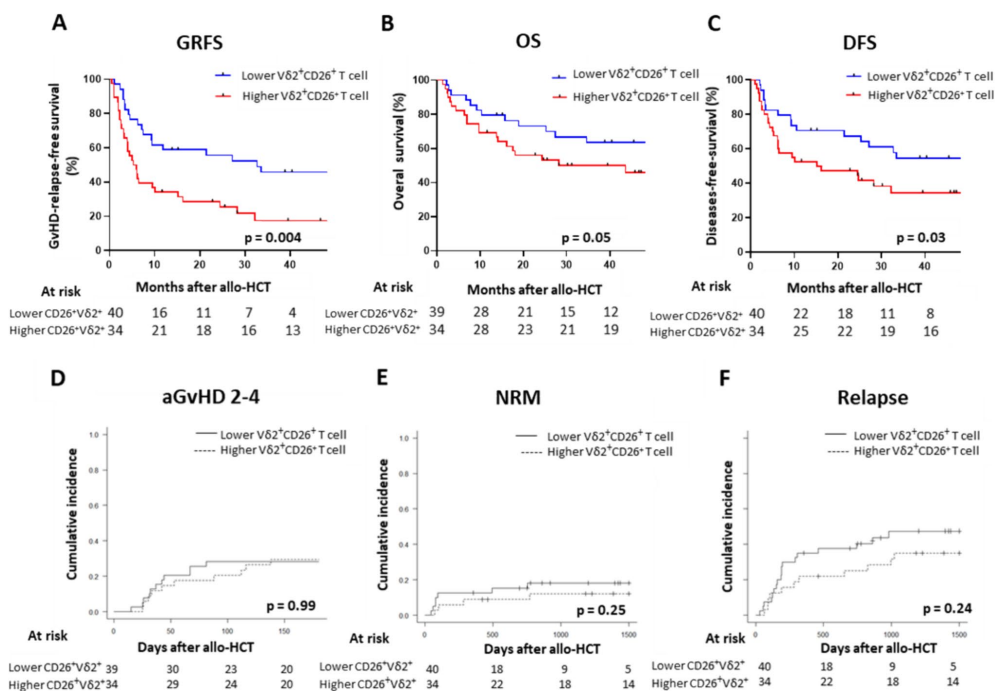
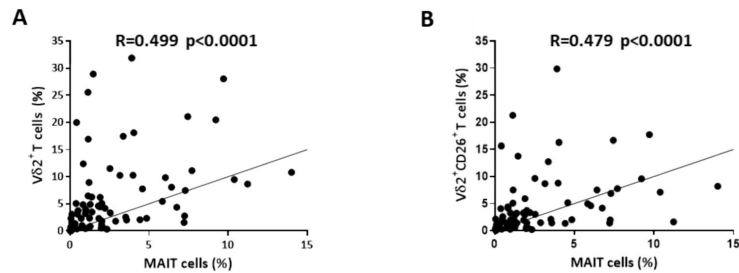


Fig. 5 Frequency of circulating V δ 2⁺CD26⁺ T cells early after allo-HCT was associated with better clinical outcome. (A, B, C) Kaplan-Meier analysis of GRFS, OS, and DFS of allo-HCT patients according to CD26 expression by V δ 2⁺ T cells ($n=76$, $p=0.004$, $p=0.05$, $p=0.03$, respectively). (D) Cumulative 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 ($n=74$, $p=0.24$). 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 AUC. NRM: non-relapse mortality, OS: overall survival, DFS: disease-free survival, GRFS: graft-versus-host disease free, relapse-free survival, aGvHD: acute graft-versus-host disease

(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); and anti-CD161(PE) (Miltenyi Biotec). 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); anti-TCR $\gamma\delta$ (PECy5. 5), anti-CD3 (AA750), anti-TCR V δ 2 (PB) (Beckman Coulter, Villepinte, France); anti-CD161 (PE) (Miltenyi Biotec). Cells were then fixed and permeabilized with BD Cytotfix/Cytoperm (BD Biosciences) 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 min at 4°C. Ultra-Comp eBeads (Invitrogen) were used for antibody compensation. Data were acquired on a Cytotflex flow cytometer (Beckman Coulter) and analyzed using Kaluza Analysis software v2.1 (Beckman Coulter). At least 100 000 events in total were acquired for each sample and we defined a threshold of 300 events for CD3 to analyze MAIT and V δ 2 T cells. All patients ($n = 76$) fulfill these 300 events thresholds.

Stimulation of PBMCs

After thawing of PBMCs, they were cultured in complete medium at 2×10^6 /mL and stimulated with 50ng/ml IL-12 and IL-18 for 24 h with the addition of BD GolgiStop and BD GolgiPlug (BD Biosciences) after 8 h. For cytokine analysis, activated cells were 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 Biosciences) 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 Biotec) antibodies for 30 min 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 the Mann-Whitney Test. For analysis of two groups, the Wilcoxon matched pairs test was employed. The cumulative incidence of aGvHD, relapse, and NRM was estimated, and the groups were compared using Gray's test. Relapse was defined as the competitive risk for 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. DFS was calculated from the date of allo-HCT to the time of relapse, progression or death whichever occurred first. Refined GRFS was defined as a combination of survival without evidence of relapse/progression, grade 3–4 aGvHD, and extensive chronic GvHD [17]. 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 day 20–30 after allo-HCT were evaluated by constructing ROC curves and then calculating the area under the ROC 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).

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s10875-024-01741-6>.

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

Author Contributions All authors listed on the manuscript have contributed substantially to this work. LS, MM, BG, and FM designed the study, LS, NS, LR, PB, KF, and BG, performed the experimental analysis, LS and FM performed the statistical analysis, EB, RD, AB, SS, RB, ZvdW, AB, AC, TL, MM and FM provided patients samples et collected clinical data, LS, BG and FM prepared the manuscript and figures for publication. All authors reviewed the manuscript.

Funding None.

Data Availability The dataset supporting the conclusions of this article are available from the corresponding author upon reasonable request.

Declarations

Competing Interests NS reports lecture honoraria from Janssen, Abbvie et AstraZeneca all outside the submitted work. EB reports research funding, honorarium, speaker's fees and travel expenses from Novartis, Astellas, Alexion, Jazz Pharmaceuticals, Gilead, MSD, Keocyt, Amgen, Beigen, Pierre Fabre, Pfizer, Celgene/BMS and Sanofi all outside the submitted work. RD reports research funding from Ligue contre le Cancer, Arthur Sachs, Monahan Foundation, Servier Foundation, Philippe Foundation, DCP AP-HP, honoraria from Novartis and Takeda, non-financial support from Kite Pharma / Gilead, all outside the submitted work. ZvdW reported honoraria from Janssen-Cilag, BMS, Sanofi. 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. FM reports lecture honoraria from Therakos/Mallinckrodt, BMS, MSD, Sanofi, Novartis, Aztra Zeneca and JAZZ Pharmaceuticals, all outside the submitted work. The other authors declare no competing financial interests.

References

1. Andriova H, van den Brink MRM, Markey KA. An unconventional view of T cell reconstitution after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Front Oncol*. 2020;10:608923. <https://doi.org/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. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112008>.
3. Treiner E, Duban L, Bahram S, Radosavljevic M, Wanner V, Tilloy F, Affaticati P, Gilfillan S, Lantz O. Selection of evolutionarily conserved mucosal-associated invariant T cells by MR1. *Nature*. 2003;422(6928):164–9. <https://doi.org/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):473–86. <https://doi.org/10.1002/JLB.4RI0118-023R>.
5. Sandstrom A, Peigne CM, Leger A, Crooks JE, Konczak F, Gesnel MC, Breathnach R, Bonneville M, Scotet E, Adams EJ. The intracellular B30.2 domain of butyrophilin 3A1 binds phosphoantigens to mediate activation of human Vgamma9Vdelta2 T cells. *Immunity*. 2014;40(4):490–500. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.03.003>.
6. Gao MG, Hong Y, Zhao XY, Pan XA, Sun YQ, Kong J, Wang ZD, Wang FR, Wang JZ, Yan CH, Wang Y, Huang XJ, Zhao XS. 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. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.720354>.
7. Bhattacharyya A, Hanafi LA, Sheih A, Golob JL, Srinivasan S, Boeckh MJ, Pergam SA, Mahmood S, Baker KK, Gooley TA, Milano F, Fredricks DN, Riddell SR, Turtle CJ. Graft-derived reconstitution of mucosal-associated invariant T cells after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;24(2):242–51. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2017.10.003>.
8. Ravens S, Schultze-Florey C, Raha S, Sandrock I, Drenker M, Oberdorfer L, Reinhardt A, Ravens I, Beck M, Geffers R, von Kaisenberg C, Heuser M, Thof F, Ganser A, Forster R, Koenecke C, Prinz I. 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. <https://doi.org/10.1038/ni.3686>.
9. Stocker N, Gaugler B, Labopin M, Farge A, Ye Y, Ricard L, Brisot E, Dulery R, Sestili S, Battipaglia G, Mediavilla C, Paviglianiti A, Banet A, Van De Wyngaert Z, Ledraa T, Mohty M, Malard F. 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. <https://doi.org/10.1002/cti2.1171>.
10. Minculescu L, Marquart HV, Ryder LP, Andersen NS, Schjoedt I, Friis LS, Kornblit BT, Petersen SL, Haastrup E, Fischer-Nielsen A, Reekie J, Sengelov H. 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. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01997>.
11. Wragg KM, Tan HX, Kristensen AB, Nguyen-Robertson CV, Kelleher AD, Parsons MS, Wheatley AK, Berzins SP, Pellicci DG, Kent SJ, Juno JA. 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. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107773>.
12. Varelias A, Bunting MD, Ormerod KL, Koyama M, Oliver SD, Straube J, Kuns RD, Robb RJ, Henden AS, Cooper L, Lachner N, Gartlan KH, Lantz O, Kjer-Nielsen L, Mak JY, Fairlie DP, Clouston AD, McCluskey J, Rossjohn J, Lane SW, Hugenholtz P, Hill GR. Recipient mucosal-associated invariant T cells control GVHD within the colon. *J Clin Invest*. 2018;128(5):1919–36. <https://doi.org/10.1172/JCI91646>.
13. Solders M, Erkers T, Gorchs L, Poirat T, Remberger M, Magalhaes I, Kaibe H. Mucosal-associated Invariant T cells display a poor reconstitution and altered phenotype after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Front Immunol*. 2017;8:1861. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01861>.
14. Kawaguchi K, Umeda K, Hiejima E, Iwai A, Mikami M, Nodomi S, Saida S, Kato I, Hiramatsu H, Yasumi T, Nishikomori R, Kondo T, Takaori-Kondo A, Heike T, Adachi S. 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. <https://doi.org/10.1007/s12185-018-2442-2>.
15. Konuma T, Kohara C, Watanabe E, Takahashi S, Ozawa G, Suzuki K, Mizukami M, Nagai E, Jimbo K, Kaito Y, Isobe M, Kato S, Takahashi S, Chiba A, Miyake S, Tojo A. 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):1462–73. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900681>.
16. Hinks TSC, Marchi E, Jabeen M, Olshansky M, Kurioka A, Pediongo TJ, Meehan BS, Kostenko L, Turner SJ, Corbett AJ, Chen Z, Klenerman P, McCluskey J. Activation and in vivo evolution of the MAIT cell transcriptome in mice and humans reveals tissue repair functionality. *Cell Rep*. 2019;28(12):3249–3262e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.07.039>.
17. 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):610–1. <https://doi.org/10.1038/bmt.2015.305>.

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

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Résumé : L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (allo-CSH) est un traitement curatif pour diverses hémopathies, mais son impact sur le microbiote intestinal et la récupération hématopoïétique post-greffe suscite un intérêt croissant. Dans notre première partie, nous avons étudié la relation entre les niveaux de MAdCAM-1 soluble (sMAdCAM-1), la dysbiose et la récupération hématopoïétique chez 279 patients traités par allo-CSH. Nous avons observé une diminution significative de sMAdCAM-1 post-greffe, corrélée à la diversité du microbiote, notamment chez les patients recevant des antibiotiques anti-anaérobiques avant le jour 0. Les patients avec des niveaux plus bas de sMAdCAM-1 ont montré un retard dans la récupération des neutrophiles et des plaquettes. Ces résultats soulignent l'importance de l'axe MAdCAM-1/ $\alpha4\beta7$ et suggèrent un lien entre l'exposition aux antibiotiques, la dysbiose et la récupération hématopoïétique post-allo-CSH, mettant en avant l'intérêt des interventions ciblant le microbiote, comme le transfert de microbiote fécal (TMF). Dans notre seconde étude préliminaire portant sur 150 patients traités par allo-CSH pour une leucémie aiguë myéloïde, nous avons examiné les altérations du microbiote et la réponse immunitaire IgA et IgG post-greffe. Les concentrations des IgA et IgG, ont diminué après allo-CSH et sont demeurées basses à un an post-greffe. Les patients présentaient des niveaux élevés de sIgA et de bactéries ciblées par les sIgA par rapport aux contrôles sains, cependant aucune différence n'a été observée pour les IgG. Les patients traités au cyclophosphamide post-greffe (PTCy) avaient plus de bactéries ciblées par les sIgA par rapport aux patients n'ayant pas reçus du PTCy. D'autre part, il y avait une grande variabilité du pourcentage de bactéries fécales reconnues par les IgG sériques. Les patients qui ont un pourcentage de bactéries fécales reconnues par les IgG sériques supérieur à la médiane à J30 avaient une tendance d'une meilleure survie sans survenue de la maladie et une tendance de moins de rechute. Enfin, l'analyse de la spécificité des IgG sériques vis-à-vis de *E.faecalis* a montré une fixation variable de ces anticorps sur ce pathogène entre les patients.

Mots clés : allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, microbiote intestinal, antibiotiques, récupération hématopoïétique, sMAdCAM-1, MAdCAM-1/ $\alpha4\beta7$, transfert de microbiote fécal, IgA, IgG

Abstract: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) is a curative treatment for various hematological disorders, but its impact on the intestinal microbiota and hematopoietic recovery post-transplantation is of growing interest. Firstly, we investigated the relationship between levels of soluble MAdCAM-1 (sMAdCAM-1), dysbiosis, and hematopoietic recovery in 279 patients undergoing allo-HSCT. We observed a significant decrease in sMAdCAM-1 post-transplantation, correlated with microbiota diversity, particularly in patients receiving anti-anaerobic antibiotics before day 0. Patients with lower levels of sMAdCAM-1 showed delayed recovery of neutrophils and platelets. These findings underscore the importance of the MAdCAM-1/ $\alpha4\beta7$ axis and suggest a link between antibiotic exposure, dysbiosis, and hematopoietic recovery, highlighting the potential benefits of interventions targeting the microbiota, such as fecal microbiota transplantation (FMT). In a separate exploratory analysis involving 150 patients undergoing allo-HSCT for acute myeloid leukemia (AML), we investigated the alterations in microbiota composition and the immune response, focusing on IgA and IgG levels post-transplantation. Levels of IgA and IgG decreased after allo-HSCT and remained low at one-year follow-up. Interestingly, patients displayed heightened levels of secretory IgA (sIgA) and bacteria targeted by sIgA compared to healthy controls, with no significant differences observed for IgG. Patients treated with post-transplant cyclophosphamide (PTCy) exhibited higher levels of bacteria targeted by sIgA compared to those not receiving PTCy. Furthermore, there was substantial variability in the percentage of fecal bacteria recognized by serum IgG. Patients with serum IgG recognizing fecal bacteria above the median at day 30 showed a trend towards improved disease-free survival and lower relapse rates. Lastly, the analysis of serum IgG specificity against *E. faecalis* highlighted diverse binding patterns of these antibodies to the pathogen across patients, suggesting individualized immune responses post-transplantation.

Keywords: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation intestinal microbiota, antibiotics, hematopoietic recovery, sMAdCAM-1, MAdCAM-1/ $\alpha4\beta7$, fecal microbiota transplantation, IgA, IgG