

RECONSTITUTION DU SYSTÈME IMMUNITAIRE APRÈS ALLOGREFFE DE CELLULES SOUCHES HÉMATOPOÏÉTIQUES

E. CASTERMANS (1)*, M. HANNON (2)*, P. DRION (3), V. GEENEN (4), Y. BEGUIN (5), F. BARON (6)

RÉSUMÉ : L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (alloHCT) est le traitement de référence pour de nombreux patients atteints d'un cancer hématologique. Son efficacité dépend pour une large part de la destruction des cellules tumorales du receveur par les cellules immunitaires du donneur (effet de la greffe contre la tumeur), démontrant l'intérêt de l'analyse de la reconstitution du système immunitaire du donneur après alloHCT. De plus, le système immunitaire du donneur joue un rôle important dans la prévention et le contrôle des infections après greffe. Enfin, il est responsable de la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD, une redoutable complication des alloHCT consistant en la destruction des organes sains du receveur par les cellules immunitaires du donneur). Dans cet article, après avoir exposé les techniques permettant l'analyse du système immunitaire, nous discuterons les mécanismes et enjeux de la reconstitution immunitaire après alloHCT.

MOTS-CLÉS : Greffe allogénique - Reconstitution immunitaire - Monitoring

IMMUNE RECOVERY FOLLOWING ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC CELL TRANSPLANTATION

SUMMARY : Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHCT) is frequently used as treatment for patients with hematological malignancies. Its efficacy depends in part on the destruction of recipient tumor cells by donor immune cells contained in the graft (graft-versus-tumor effects), underlying the interest of studying donor immune recovery after alloHCT. Further, donor immune cells play an important role in the prevention and treatment of infections after alloHCT, and are the cause of graft-versus-host disease (GVHD). This article reviews the mechanisms of immune recovery after allogeneic hematopoietic cell transplantation (alloHCT), as well as techniques currently used to monitor immune function following alloHCT.

KEYWORDS : *Allotransplantation - Immune recovery - Monitoring*

LE SYSTÈME IMMUNITAIRE NORMAL

Le système immunitaire normal comprend deux grands axes : l'immunité innée dont les acteurs sont les monocytes/macrophages, les polynucléaires, les cellules dendritiques et les cellules tueuses naturelles (NK), et l'immunité acquise dont les acteurs sont les lymphocytes B et T.

Le système acquis possède quatre propriétés fondamentales : diversité, spécificité, mémoire et tolérance vis-à-vis du soi. En effet, les lymphocytes B et T réagissent à un antigène précis (spécificité), ont le potentiel de reconnaître un nombre important d'antigènes (diversité du répertoire), et gardent en mémoire les caractéristiques des antigènes rencontrés. De plus, à l'exception de circonstances pathologiques (maladies auto-immunes), les cellules T et B ne sont pas activées par les antigènes du soi (tolérance).

Les lymphocytes B, issus de la moelle osseuse, sont les vecteurs de l'immunité humorale et produisent des immunoglobulines. L'immunité cellulaire est assurée par les lymphocytes T issus de

la différenciation dans le thymus de précurseurs T provenant de la moelle osseuse. Une coopération étroite existe entre réponses humorale et cellulaire puisque l'aide des cellules T est nécessaire à l'activité des cellules B, tandis que les lymphocytes B sont capables de présenter des épitopes antigéniques aux lymphocytes T.

GREFFES ALLOGÉNIQUES ET ENJEUX DE LA RECONSTITUTION IMMUNITAIRE APRÈS ALLOGREFFE

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (alloHCT) est le traitement de choix de nombreuses néoplasies hématologiques. Il est désormais bien établi qu'une partie importante de l'activité anti-tumorale des allogreffes provient de la destruction des cellules tumorales par les cellules immunitaires du donneur contenues dans la greffe (Graft-Versus-Tumor (GVT) effects) (1). Malheureusement, ces mêmes cellules immunitaires du donneur sont responsables de la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD), une complication redoutable des allogreffes consistant en la destruction des organes du receveur par les lymphocytes T du donneur contenus dans le greffon. Les principales causes de mortalité après allogreffe sont : 1) la progression de la maladie de départ, 2) les infections en présence ou en absence de GVHD, 3) la GVHD en absence d'infection et 4) les toxicités du régime de conditionnement. Trois de ces quatre complications sont favorisées soit par un relatif déficit du système immunitaire (rechute/infection), soit par une réaction trop forte du système immunitaire du donneur contre l'hôte (GVHD),

(1) Docteur en Sciences Biomédicales, (2) Doctorante, Service d'Hématologie, CHU de Liège.

(3) Chargé de Cours, Chef de Service, Animalerie Centrale, CHU de Liège,

(4) Professeur, Laboratoire d'Immunoendocrinologie, Centre d'Immunologie, CHU de Liège.

(5) Professeur, Chef de Service, (6) Maître de recherches FNRS, Service d'Hématologie, CHU de Liège.

* Ces auteurs ont contribué identiquement au travail.

peut-être partiellement attribuable à un déficit de développement des cellules immunitaires régulatrices, dont les lymphocytes T-régulateurs (T-regs) (2). Ces données soulignent l'intérêt des analyses étudiant la reconstitution immunitaire après allogreffe.

Les greffes conventionnelles sont associées à une incidence élevée de morbidité et de mortalité liée à la procédure, limitant leurs indications à des patients relativement jeunes et en bon état général. Malheureusement, l'âge médian des patients lors du diagnostic d'une néoplasie hématologique susceptible de bénéficier d'une alloHCT, varie de 60 à 70 ans. Cette observation a conduit plusieurs groupes à développer de nouveaux protocoles d'allogreffe après un régime de conditionnement non myéloablateur (c'est-à-dire ne détruisant pas la moelle du receveur, encore appelées «mini-greffes») (3-5). Ces derniers sont basés sur une approche en deux étapes : 1) administration d'un traitement très immunosuppresseur permettant le contrôle de la réaction de l'hôte contre la greffe (permettant ainsi d'éviter le rejet de la greffe) et de la GVHD et 2) la destruction des cellules malignes par l'effet GVT (4, 6). Ils permettent à des patients plus âgés (jusqu'à 75 ans) de bénéficier d'une allogreffe (7-9).

TECHNIQUES D'ÉVALUATION DE LA RECONSTITUTION IMMUNITAIRE APRÈS GREFFE ALLOGÉNIQUE

Quatre catégories de techniques permettent aujourd'hui un suivi rapproché de la reconstitution du système immunitaire après allogreffe: 1) analyse par cytométrie de flux des phénotypes (CD) lymphocytaires; 2) mesure par PCR quantitative du taux des cercles d'excision du récepteur des lymphocytes T (TCR) (TREC) présents dans les lymphocytes T sanguins; 3) évaluation de la diversité du répertoire du TCR des lymphocytes T périphériques; 4) analyse de la reconstitution T spécifique à certains pathogènes, tels le cytomegalovirus (CMV) ou l'herpes virus (HSV).

PHÉNOTYPAGE LYMPHOCYTAIRE

La cytométrie en flux est l'outil le plus fréquemment employé dans l'évaluation de la reconstitution immunitaire après greffe. Les discriminations entre sous-populations lymphocytaires après alloHCT sont habituellement obtenues par marquage des antigènes membranaires comme décrit dans le tableau I.

Il est communément admis que le pourcentage de cellules T naïves est corrélé à celui des cellules T ayant quitté récemment le thymus (10).

TABEAU I. DÉFINITION DES SOUS-POPULATIONS LYMPHOCYTAIRES PAR CYTOMÉTRIE DE FLUX

Type de lymphocyte	Marqueur(s)
Lymphocytes T totaux (18)	CD3+
Lymphocytes T auxiliaires naïfs (18)	CD3+ CD4+ CD45RA+
Lymphocytes T auxiliaires mémoires (18)	CD3+ CD4+ CD45RO+
Lymphocytes T cytotoxiques naïfs (18)	CD3+CD8+CD11alow
Lymphocytes T cytotoxiques mémoires (18)	CD3+CD8+CD11ahigh
Lymphocytes T régulateurs (31)	CD4+FoxP3+
Lymphocytes NK (18)	CD3-CD56+
Lymphocytes centraux mémoires (32)	CD3+CD8+CD62L+CCR7+
Lymphocytes effecteurs mémoires (32)	CD3+CD8+CD62L-CCR7-
Lymphocytes B naïfs (18)	CD19+(ou CD20+)IgD+
Lymphocytes B mémoires (18)	CD19+(ou CD20+)IgD-

Plus récemment, il a été proposé que le phénotype CD4+CD45RA+CD31+ pourrait mieux correspondre aux émigrants thymiques récents (11).

QUANTIFICATION DES CERCLES D'EXCISION DES TCR (TREC)

Les TCR sont des protéines dimères qui appartiennent à la superfamille des immunoglobulines et dont le rôle est de reconnaître un déterminant antigénique (épitope) spécifique. Chaque individu possède environ 10e7 clones de lymphocytes T de TCR différents, qui le rendent capable de faire face à un large éventail microbien. Cette énorme diversité des TCR ne résulte pas de gènes de TCR distincts, qui encombreraient sous cette forme la majorité du génome. L'information génétique est condensée en fragments de gènes (Fig. 1) qui sont recombinés entre eux au cours de la différenciation intrathymique des lymphocytes T : ce processus est appelé recombinaison somatique. La partie variable des TCR est ainsi codée par une combinaison des segments «variable (V)», «diversité (D)» et «jonction (J)». Un quatrième segment «constant (C)» encode les domaines protéiques constants du TCR. Le réarrangement des segments géniques encodant la partie variable des TCR, à l'origine de la diversité du répertoire des cellules T, est catalysé par deux enzymes, RAG-1 et RAG-2 (Recombination Activating Gene 1 et 2). Après ligation des extrémités codantes, l'ADN recombiné sera transcrit et traduit en protéine de TCR. Par ailleurs, au cours de ces processus enzymatiques,

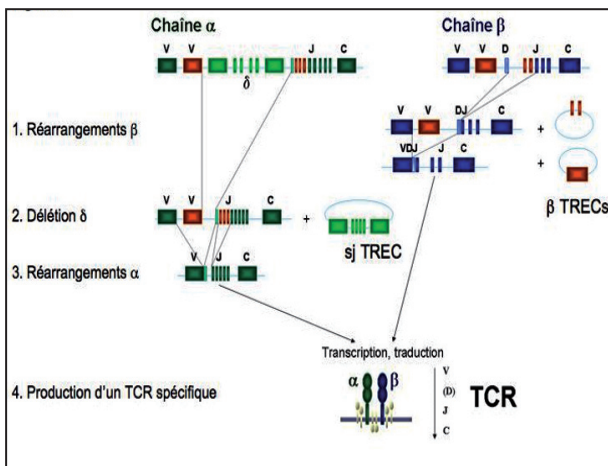


Figure 1. La recombinaison somatique. La séquence des chaînes protéiques α et β du TCR est codée par des dizaines de fragments de gènes V (variable), D (diversity) et J (junction) qui permettent la condensation de l'information génétique. Les recombinaisons de ces fragments ont lieu dans un ordre systématique et engendrent, tout au long de la maturation intrathymique des précurseurs de lymphocytes T, l'excision de fragments d'ADN « déchet », les TREC. Selon leur étape de conception, on distingue différents types de TREC, dont les plus connus sont le sjTREC et les 13 β TREC.

les fragments d'ADN non codants se retrouvent excisés de l'ADN génomique. Leurs extrémités se lient : ils deviennent des TREC, cercles d'excision du TCR (12-14). Les TREC ne semblent pas présenter de rôle spécifique. Ils sont présents dans les lymphocytes T matures qui quittent le thymus et ne sont pas dupliqués lors des divisions cellulaires subséquentes, car ils restent circularisés en dehors de l'appareil chromosomique. On considère actuellement la mesure des sjTREC par PCR quantitative comme le biomarqueur de référence de la thymopoïèse (12-14). Lors d'une allo-HCT, les traitements de conditionnement, la GvHD et les traitements prophylactiques de cette dernière altèrent le microenvironnement thymique et les thymocytes en maturation, ce qui diminue le nombre de lymphocytes T créés (diminution du nombre de TREC) ainsi que la diversité des clones (altération du répertoire lymphocytaire, cf ci-dessous).

DIVERSITÉ DU RÉPERTOIRE LYMPHOCYTAIRE

Une analyse du répertoire TCR ou BCR (B cell receptor) peut être réalisée par cytométrie en flux ou PCR (15-17). Après greffe allogénique, une contraction du pool de lymphocytes T et une réduction de la diversité des TCR sont clairement associées à une immunodéficience clinique. La reconstitution du système immunitaire est souvent caractérisée par l'émergence de populations de cellules T mono- ou oligoclonales reflétant des réponses immunitaires spécifiques envers un antigène en particulier : antigènes allogéniques (GvHD et GvT), antigènes viraux tels que CMV ou EBV. La diversité clonale des lymphocytes B périphériques est réduite après

greffe allogénique, mais la reconstitution rapide de leur diversité contraste avec celle des cellules T. Cette différence pourrait refléter la synthèse continue de lymphocytes B rencontrée tout au long de la vie, par comparaison avec le déclin de la fonction thymique chez l'adulte.

ANALYSE DE LA RECONSTITUTION IMMUNITAIRE SPÉCIFIQUE

Le contrôle immunitaire des infections virales persistantes (famille de l'herpès : HSV, CMV) requiert une réponse coordonnée de différentes populations cellulaires : les CD4⁺ (coordinateurs des effecteurs), les CD8⁺ (effecteurs principaux), les lymphocytes B. Le CMV est présent sous forme latente chez environ 50% de la population adulte, le HSV-I chez 90%. La plupart des individus sains présentent une population de lymphocytes CD8⁺ mémoires spécifiques du CMV. Après allogreffe, l'immunosuppression liée à la greffe ainsi que l'emploi d'immunosuppresseurs peuvent rompre cet équilibre et entraîner une infection.

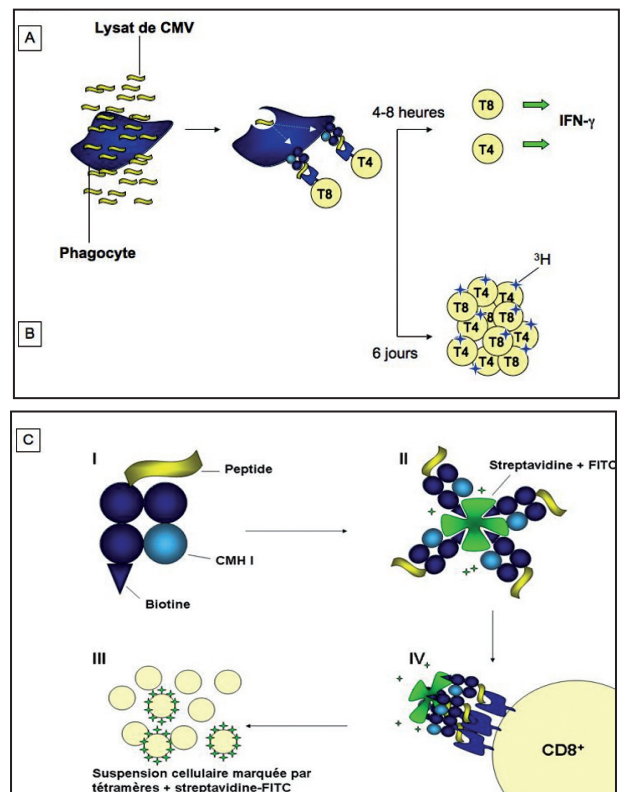


Figure 2. Analyse de la fréquence et des capacités fonctionnelles d'une population T CMV-spécifique. En (A), les tests de sécrétion d'IFN γ par les T CD4 et CD8 sont réalisés quelques heures après internalisation des antigènes du CMV par des phagocytes présentateurs (monocytes sanguins et lymphocytes B). Après quelques jours *in vitro*, une expansion clonale CD4 et CD8 est induite (B) et peut être mesurée par incorporation de ^3H dans l'ADN des cellules en mitose. En (C), les tétramères sont constitués de 4 monomères de CMH associés chacun à un peptide du CMV et réunis par un fluorochrome. Ils lient uniquement les TCR des lymphocytes spécifiques de leur peptide, permettant de la sorte l'identification de ces derniers au sein d'une population polyclonale.

L'estimation d'une population lymphocytaire CMV-spécifique peut être évaluée par (18) :

- Des tests de sécrétion d'IFN- γ (Fig. 2)

La sécrétion d'IFN- γ est évaluée après culture au contact d'un lysat de CMV. Elle reflète la capacité des lymphocytes CD4+ et CD8+ à synthétiser l'IFN- γ au contact de phagocytes ayant incorporé les peptides du CMV. La sécrétion d'IFN- γ est ensuite mesurée par cytométrie et combinée aux marqueurs CD4/CD8 et CD69 (marqueur précoce d'activation exprimé préalablement à la sécrétion de cytokines après stimulation antigénique).

- Des tests lymphoprolifératifs

La prolifération lymphocytaire peut également être mesurée à la suite d'une incubation en présence d'un lysat de CMV ou d'une solution d'antigène CMV-pp65, suivie d'un test d'incorporation de 3h.

- Des tétramères

Dans le cas du CMV, des tétramères HLA-A2.1, HLA-A2.4 ou HLA-B7 sont chargés au moyen d'un peptide dérivé du CMV-pp65 (19). L'incubation au contact des tétramères peut être suivie d'une analyse de cytométrie de flux, complétée par le marquage des populations lymphocytaires suivantes : CD8, CD45RA, CD27/CD28 (récepteurs de co-stimulation) ou de cytokines intracellulaires (IFN- γ).

CINÉTIQUE DE LA RECONSTITUTION IMMUNITAIRE (Fig. 3)

CELLULES NK

Immédiatement après alloHCT, les progéniteurs issus du greffon s'implantent dans la

moelle osseuse et commencent leur différenciation. La reconstitution de l'immunité innée précède celle du système adaptatif : les cellules NK circulantes différenciées à partir de ces progéniteurs rejoignent déjà les valeurs normales 1 mois après allogreffe (15-17; 20).

Ces cellules NK contribuent à la défense précoce contre les infections virales; leur reconstitution est d'ailleurs accélérée en cas d'infection à CMV (15). Par ailleurs, les NK matures du greffon peuvent entraîner une réaction antitumorale (GVT), notamment dans le cas des leucémies myéloïdes aiguës lors des greffes haploidentiques (21). Au cours des greffes haploidentiques, donneur et receveur ne présentent qu'un haplotype HLA identique, créant une inadéquation dans le couple KIR (p58) du donneur/HLA (HLA-C) du receveur, et générant de la sorte une population de cellules NK spécifiquement dirigées contre les cellules du receveur. L'éventuel rôle anti-tumoral des NK en cas de greffe HLA-identique reste plus controversé (22).

CELLULES B

Les cellules B néoformées à partir des progéniteurs du greffon expriment un phénotype qui correspond à celui des lymphocytes B de nouveau-né (15-17). Cependant, la reconstitution des clones lymphocytaires B reste précoce et contraste avec celle, tardive, des lymphocytes T : cette dissemblance pourrait refléter la production continue de cellules B (en comparaison avec le déclin de l'activité thymique) durant la vie adulte. Les taux augmentent ensuite jusqu'à devenir supranormaux 1 à 2 ans après la greffe (15). Par ailleurs, les plasmocytes et lymphocytes B quiescents du receveur résistent partiellement à la plupart des régimes de conditionnement, ce qui explique, durant les six premiers mois postgreffe, un pattern d'anticorps corrélé à celui du receveur pré-greffe (17). Une déficience de l'immunité protectrice humorale envers les pathogènes viraux et bactériens est observée après greffe. En effet, l'impact d'une HCT sur les Ig se manifeste par : 1) diminution des Ig circulantes; 2) changements de classe d'Ig altérés; 3) perte de la complexité des réarrangements des gènes des Ig (17).

Les GvHD aiguë et chronique sont toutes deux associées à une reconstitution B retardée (15-17). De plus, les lymphocytes B ont été impliqués dans la pathogénie de la GvHD chronique (23), et un traitement par rituximab (un anticorps monoclonal humain anti-CD20, qui est fortement exprimé par les lymphocytes B) s'est révélé efficace chez certains patients présentant

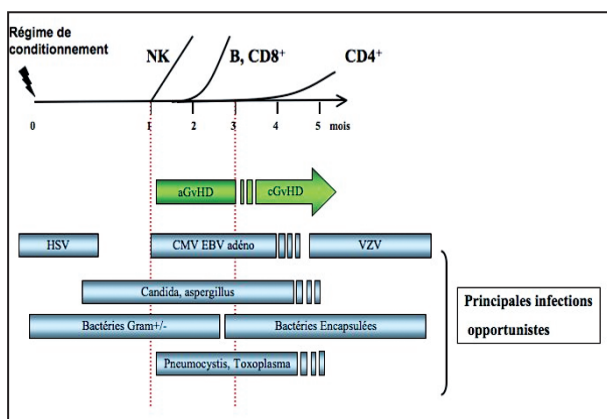


Figure 3. Reconstitution immunitaire après allogreffe de moelle myéloablatrice. Une ligne du temps représentant la cinétique de la reconstitution des populations lymphocytaires (en haut) et les périodes au cours desquelles surviennent les principales infections opportunistes (en bas). HSV : Herpes Simplex Virus; CMV : Cytomégalovirus; EBV : Epstein-Barr virus; adéno, adénovirus; VZV : virus de la varicelle et du zona; aGVHD : maladie du greffon contre l'hôte aiguë; cGVHD : maladie du greffon contre l'hôte chronique.

une GvHD chronique réfractaire (24). Une substitution par Ig intraveineuses est souvent nécessaire en cas de GvHD chronique.

CELLULES T (FIG. 4)

Une profonde déficience en lymphocytes T apparaît précocement après l'alloHCT (15-17). La reconstitution du pool lymphocytaire T s'organise ensuite à partir de trois sources:

- 1) lymphocytes T résiduels du receveur (minoritaires);
- 2) lymphocytes T matures du greffon (voie thymo-indépendante);
- 3) lymphocytes T naïfs issus de la différenciation des cellules souches et progéniteurs du donneur dans le thymus du receveur (voie thymo-dépendante).

Les lymphocytes T résiduels du receveur ne jouent pratiquement aucun rôle après greffe myéloablatrice (car, ils sont généralement éliminés par le régime de conditionnement). Par contre, ils semblent jouer un rôle les premiers mois après minigreffe (25, 26), notamment en prévenant des infections par le CMV en cas de patient CMV séropositif et donneur CMV séro-négatif (18, 27).

La voie thymo-indépendante constitue la source majeure de lymphocytes T les 3-6 premiers mois chez les patients jeunes, et bien au-delà de la première année postgreffe chez les patients plus âgés (10, 20, 28). Cette voie thymo-indépendante est généralement plus efficace dans la population CD8+ que CD4+, ce qui entraîne, par conséquent, une récupération plus rapide de la population CD8+ après alloHCT (29). Le phénotype des lymphocytes T générés par expansion périphérique est généralement de type mémoire, bien que les lymphocytes T CD4+ naïfs puissent également subir une certaine expansion périphérique tout en maintenant leur phénotype naïf. Enfin, le défaut majeur de la voie thymo-indépendante est qu'elle génère des lymphocytes T de spécificités relativement restreintes, puisque tous les lymphocytes créés le sont à partir d'un nombre de clones limité au départ. Il est généralement admis que ce sont les lymphocytes T proliférant selon cette voie thymo-indépendante qui sont les principaux effecteurs de la GVHD et de l'effet GvT (29).

La voie thymo-dépendante prend le relais de la voie-thymo-indépendante 3 à 6 mois après greffe chez les patients jeunes (< 50 ans) (15-17). Dans la voie thymo-dépendante, les cellules souches et les précurseurs lymphoïdes du donneur colonisent la moelle du receveur et donnent

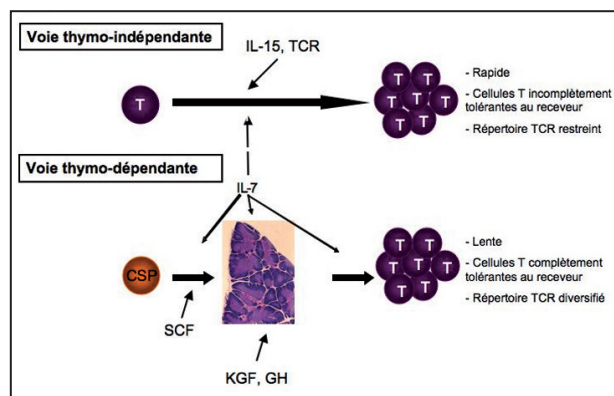


Figure 4. Voies de la reconstitution lymphocytaire T après HCT allogénique. La voie thymo-indépendante assure la reconstitution immunitaire à court terme et l'effet de la greffe contre la tumeur (GvT), mais cause la maladie du greffon contre l'hôte chronique (GVHD), tandis que la voie thymo-dépendante assure la reconstitution immunitaire à long terme. CSP : Cellules Souche Pluripotente; T : lymphocyte T; TCR : Récepteur des lymphocytes T; SCF : Facteur de croissance des Cellules Souches; KGF : Facteur de croissance des Kératinocytes; GH : hormone de croissance; IL : Interleukine.

naissance à des pré-lymphocytes T qui migrent ensuite vers le thymus dans lequel ils subissent leur différenciation. L'intervention de cette voie au cours de la reconstitution T a été démontrée plus rapide chez les patients jeunes que chez les patients âgés en raison de l'atrophie thymique induite par l'âge (12, 13). La voie thymo-dépendante crée, par recombinaison somatique, des millions de lymphocytes T de spécificités différentes, assurant de la sorte la diversité des clones T en périphérie, qui sont tolérants vis-à-vis des cellules du receveur.

Marqueurs des lymphocytes T fraîchement issus du thymus, les TREC ont permis une meilleure compréhension de la cinétique de reconstitution des populations T après HCT (12-14). Ainsi, on constate une augmentation des lymphocytes T matures (augmentation des lymphocytes T sans augmentation -voire même avec diminution- parallèle du nombre de TREC) pendant les trois premiers mois post-alloHCT, confirmant que la phase initiale de la reconstitution immunitaire est bien due à la prolifération des lymphocytes T matures contenus dans le greffon (14). La néogenèse T (mise en évidence par une augmentation du nombre de TREC concomitante à l'augmentation du nombre de lymphocytes T) ne devient significative que 6 mois après la greffe chez les jeunes adultes. Elle est plus précoce chez les enfants, et nettement plus tardive (voire absente) chez les adultes plus âgés (10).

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'amélioration de la connaissance des différentes voies de la reconstitution immunitaire n'a pas pour but unique le monitoring des

patients après HCT. Cette source d'informations plébiscitera également certaines stratégies thérapeutiques futures : amélioration de la voie thymo-indépendante par apport d'interleukine 7 (Il-7); administration de facteur de croissance des kératinocytes (KGF), d'inhibiteurs de la testostérone ou d'hormone de croissance (30) pour «booster» la thymopoïèse; augmentation du nombre de progéniteurs lymphocytaires dans le greffon; infusions lymphocytaires post-HCT; vaccination du donneur ou du receveur (15-17).

RERMERCIEMENTS

M. Hannon est aspirante Télévie et F. Baron, Maître de Recherche du Fonds National de la Recherche Scientifique (FNRS), Belgique. E. Castermans est soutenue par le plan fédéral cancer. Ces travaux sont soutenus en partie par le FNRS et par la Fédération Belge contre le Cancer.

BIBLIOGRAPHIE

1. Appelbaum FR.— Haematopoietic cell transplantation as immunotherapy. *Nature*, 2001, **411**, 385-389.
2. Nguyen VH, Zeiser R, Negrin RS.— Role of naturally arising regulatory T cells in hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2006, **12**, 995-1009.
3. McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA, et al.— Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies : replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood*, 2001, **97**, 3390-3400.
4. Baron F, Storb R.— Allogeneic hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning as treatment for hematologic malignancies and inherited blood disorders (Review). *Molecular Therapy*, 2006, **13**, 26-41.
5. Baron F, Sandmaier BM, Storer BE, et al.— Extended mycophenolate mofetil and shortened cyclosporine failed to reduce graft-versus-host disease after unrelated hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007, **13**, 1041-1048.
6. Baron F, Sandmaier BM.— Current status of hematopoietic stem cell transplantation after nonmyeloablative conditioning. *Curr Opin Hematol*, 2005, **12**, 435-443.
7. Baron F, Maris MB, Sandmaier BM, et al.— Graft-versus-tumor effects after allogeneic hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning. *J Clin Oncol*, 2005, **23**, 1993-2003.
8. Baron F, Storb R, Storer BE, et al.— Factors associated with outcomes in allogeneic hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning after failed myeloablative hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol*, 2006, **24**, 4150-4157.
9. Willems E, Baron F, Baudoux E, et al.— Non-myeloablative transplantation with CD8-depleted or unmanipulated peripheral blood stem cells : a phase II randomized trial. *Leukemia*, 2009, **23**, 608-610.
10. Castermans E, Baron F, Willems E, et al.— Evidence for neo-generation of T cells by the thymus after nonmyeloablative conditioning. *Haematologica*, 2008, **93**, 240-247.
11. Kohler S, Thiel A.— Life after the thymus : CD31+ and CD31- human naive CD4+ T-cell subsets. *Blood*, 2009, **113**, 769-774.
12. Douek DC, Vescio RA, Betts MR, et al.— Assessment of thymic output in adults after haematopoietic stem-cell transplantation and prediction of T-cell reconstitution. *Lancet*, 2000, **355**, 1875-1881.
13. Weinberg K, Blazar BR, Wagner JE, et al.— Factors affecting thymic function after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 2001, **97**, 1458-1466.
14. Hochberg EP, Chillemi AC, Wu CJ, et al.— Quantitation of T-cell neogenesis in vivo after allogeneic bone marrow transplantation in adults. *Blood*, 2001, **98**, 1116-1121.
15. Storek J, Witherspoon RP.— Immunological reconstitution after hemopoietic stem cell transplantation. In : Atkinson K, Champlin R, Ritz J, Fibbe WE, Ljungman P, Brenner MK, editors. *Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation*. Cambridge, UK : Cambridge University Press, 2004, 194-226.
16. Keever-Taylor CA.— Immune Reconstitution after Allogeneic Transplantation. In : Soiffer RJ, editor. *Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. Totowa : Humana Press, 2008, 377-420.
17. Parkman R, Weinberg KI.— Immunological reconstitution following hematopoietic stem cell transplantation. In: Appelbaum FR, Forman SJ, Negrin RS, Blume KG, editors. *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation*, 4nd Edition. Boston. *Blackwell Science*, 2009, 222-231.
18. Baron F, Storer B, Maris MB, et al.— Unrelated donor status and high donor age independently affect immunologic recovery after nonmyeloablative conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2006, **12**, 1176-1187.
19. Mohty M, Mohty AM, Blaise D, et al.— Cytomegalovirus-specific immune recovery following allogeneic HLA-identical sibling transplantation with reduced-intensity preparative regimen. *Bone Marrow Transplant*, 2004, **33**, 839-846.
20. Baron F, Schaaf-Lafontaine N, Humblet-Baron S, et al.— T-cell reconstitution after unmanipulated, CD8-depleted or CD34-selected nonmyeloablative peripheral blood stem-cell transplantation. *Transplantation*, 2003, **76**, 1705-1713.
21. Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, et al.— Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science*, 2002, **295**, 2097-2100.
22. Baron F, Petersdorf EW, Gooley T, et al.— What is the role for donor natural killer cells after nonmyeloablative conditioning? *Biol Blood Marrow Transplant*, 2009, **15**, 580-588.
23. Miklos DB, Kim HT, Miller KH, et al.— Antibody responses to H-Y minor histocompatibility antigens correlate with chronic graft-versus-host disease and disease remission. *Blood*, 2005, **105**, 2973-2978.
24. Kharfan-Dabaja MA, Mhaskar AR, Djulbegovic B, et al.— Efficacy of rituximab in the setting of steroid-refractory chronic graft-versus-host disease: a systematic review and meta-analysis. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2009, **15**, 1005-1013.

25. Baron F, Baker JE, Storb R, et al.— Kinetics of engraftment in patients with hematologic malignancies given allogeneic hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning. *Blood*, 2004, **104**, 2254-2262.
26. Baron F, Sandmaier BM.— Chimerism and outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning. *Leukemia*, 2006, **20**, 1690-1700.
27. Maris M, Boeckh M, Storer B, et al.— Immunologic recovery after hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning. *Exp Hematol*, 2003, **31**, 941-952.
28. Storek J, Dawson MA, Storer B, et al.— Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation. *Blood*, 2001, **97**, 3380-3389.
29. Crooks GM, Weinberg K, Mackall C.— Immune reconstitution: from stem cells to lymphocytes. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2006, **12**, 42-46.
30. Morrhaye G, Kermani H, Legros JJ, et al.— Impact of growth hormone (GH) deficiency and GH replacement upon thymus function in adult patients. *PLoS One*, 2009, **4**, 5668.
31. Humblet-Baron S, Sather B, Anover S, et al.— Wiskott-Aldrich syndrome protein is required for regulatory T cell homeostasis. *J Clin Invest*, 2007, **117**, 407-418.
32. Berger C, Jensen MC, Lansdorp PM, et al.— Adoptive transfer of effector CD8+ T cells derived from central memory cells establishes persistent T cell memory in primates. *J Clin Invest*, 2008, **118**, 294-305.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au
Dr F. Baron, Service d'Hématologie, CHU de Liège,
4000 Liège, Belgique
e-mail : F.Baron@ulg.ac.be