

Numéro d'agrément du laboratoire	
Numéro de projet de la commission d'éthique	2020-113
Titre scientifique du projet	
Titre non-technique du projet	Impact de l'activation des lymphocytes T régulateurs par le TNF-alpha sur la maladie du greffon contre l'hôte xénogénique chez la souris humanisée.
Date d'autorisation du projet par la commission d'éthique	24/09/2020
Durée du projet (date de début et de fin)	Octobre 2020 – Octobre 2025
Le projet fera l'objet d'une analyse rétrospective (oui/non) et dans quel délai	Oui à l'échéance fixée.
Mots Clés (maximum 10 mots / 100 caractères)	GVH, GVT, NSG-HLA, Treg, TNF-alpha
Objectif du projet	<p>Recherche fondamentale : non</p> <p>Recherches translationnelle ou appliquée : oui</p> <p>Test réglementaire et production de routine : non</p> <p>Protection de l'environnement naturel dans l'intérêt de la santé ou du bien-être de l'homme ou de l'animal : non</p> <p>Conservation des espèces : non</p> <p>Enseignement supérieur ou formation : non</p> <p>Enquête médico-légale : non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : non</p> <p>Maintien de colonies d'animaux génétiquement modifiés, non utilisés dans d'autres expériences : non</p>
Décrivez les objectifs du projet (par exemple, les inconnues scientifiques ou les nécessités scientifiques ou cliniques concernées) (1000 caractères maximum)	<p>La maladie du greffon contre l'hôte (GVH) est une complication majeure des greffes de cellules souches hématopoïétiques largement utilisées comme traitement dans les cancers du sang. Or, il a été démontré que l'infusion de lymphocytes T régulateurs (Treg) atténue la GVH xénogénique (xGVH) dans un modèle de souris humanisée. Notre présente étude a donc pour objectifs: (1) de tester la capacité de l'activation des Tregs par le TNF-alpha à augmenter leur capacité d'atténuer la xGVH, (2) d'observer l'impact des Tregs activés sur l'effet greffe-versus-tumeur (GVT) induite par les cellules T du donneur. Le but est donc de démontrer que l'activation <i>in vitro</i> des Tregs par le TNF-alpha augmente leur capacité d'atténuer la GVH dans notre modèle de souris humanisée tout en conservant l'effet GVT (atout majeur de la greffe). In fine, en fonction des résultats de ces recherches, un protocole clinique sera développé visant à infuser des Tregs du donneur activés <i>in vitro</i> par le TNF-alpha chez les patients atteints de GVH chronique réfractaire.</p>

Quels sont les avantages potentiels susceptibles de découler de ce projet (quelles avancées de la science pourraient-elles être attendues ou comment les humains, les animaux ou les plantes pourraient-ils bénéficier du projet)? (1000 caractères maximum)	La survenue de la GVH chez l'homme est une complication sévère, potentiellement mortelle, après une greffe de moelle osseuse. C'est pourquoi nous sommes à la recherche de thérapies efficaces contre cette maladie. Etant donné la possibilité d'étudier l'impact de l'activation des lymphocytes T régulateurs par le TNF-alpha dans un modèle de souris humanisé, nous espérons pouvoir démontrer son effet sur la maladie du greffon contre l'hôte xénogénique et la GVT après greffe. De plus, si les résultats sont encourageants, un protocole clinique pourra être développé dans le but d'infuser des Tregs du donneur activés <i>in vitro</i> par le TNF-alpha chez les patients atteints de GVH chronique réfractaire.
Quelles sont les espèces animales qui seront utilisées ?	Souris NSG HLA-A2
Quel est le nombre maximal d'animaux ?	160 souris
Dans le contexte de ce qui est fait aux animaux, quels sont <u>les effets négatifs attendus</u> sur les animaux, <u>le niveau de gravité</u> probable ou attendu et <u>le sort</u> des animaux?	Nos expériences impliquent l'induction de la maladie du greffon contre l'hôte chez la souris. Les effets négatifs attendus se manifestent par des symptômes progressifs tels qu'une perte de poids, de l'anémie (oreilles et queue blanches), une posture naturelle modifiée (bosse au niveau du dos) et une réduction de la mobilité. Cependant, de par notre expérience, nous pensons que les souris ressentent plus un inconfort lié à l'anémie que réellement une douleur liée aux effets de la GVH, étant donné que les deux symptômes douloureux chez l'homme lors d'une GVH sont absents dans ce modèle. Malgré tout, en cas de manifestations douloureuses, nous prévoyons l'administration de buprénorphine afin d'éviter aux animaux toute douleur inutile. De même, nous utilisons un scoring précis déterminant l'évolution de la GVH et au-delà d'un score pré-déterminé en accord avec la commission d'éthique, les souris seront euthanasiées sans délai.
Application des 3Rs	
1. Remplacement (1000 caractères maximum)	La maladie du greffon contre l'hôte est une pathologie extrêmement complexe. Elle se manifeste dans plusieurs organes différents et fait intervenir toute une série d'acteurs immunitaires agissant étroitement les uns avec les autres. L'étude de cette maladie et ses traitements potentiels nécessite l'utilisation d'un organisme complet et vivant permettant justement à cette composante multi-organique et multi-cellulaire d'avoir lieu pour recréer la maladie dans toute sa complexité.
Indiquez pourquoi des animaux doivent être utilisés et pourquoi des alternatives n'utilisant pas d'animaux ne peuvent être utilisées	Aucune autre méthode alternative n'utilisant pas d'animaux n'est envisageable pour réaliser les études souhaitées (étude GVH et étude GVT) dont la fiabilité est au moins équivalente.
2. Réduction (1000 caractères maximum) Expliquez comment l'utilisation d'un nombre minimum d'animaux est garantie	Nous souhaitons utiliser 160 souris, réparties en deux groupes d'expériences (étude GVH et étude GVT). Le nombre de 160 souris a été calculé statistiquement (via la méthode de Parmar et Machin (survival analysis : a practical approach)) comme étant nécessaire pour avoir un nombre suffisant de souris par groupe expérimental pour permettre de détecter une différence suffisante dans la survie des souris traitées par comparaison avec les souris non traitées.
3. Raffinement (1000 caractères maximum)	

Expliquez le choix des espèces animales et pourquoi le(s) modèle(s) animal(aux) utilisé(s) sont les plus raffinés, eu égard aux objectifs scientifiques	Il n'existe aucun bon modèle de GVH avec des espèces moins sensibles. La souris NSG-HLA-A2, en raison de ses déficits immunitaires, est l'espèce capable d'accepter la plus grande prise de greffe de cellules humaines et d'être le plus proche possible de ce que l'on pourrait observer chez les patients greffés de moelle.
Expliquez les mesures qui seront prises pour minimiser les effets négatifs sur le bien-être des animaux (douleur, souffrance, inconfort ou dommages permanents).	Les souris seront examinées au minimum 1x/j, 7j sur 7j. De plus, comme décrit plus haut, en cas de douleur évidente, de la buprénorphine 0.05mg/kg/12h en injection sous-cutanée sera administrée. De même, en fonction de notre système de scoring de la GVH, toute souris atteignant un score critique sera euthanasiée sans délai, afin d'éviter toute souffrance inutile.