

Numéro d'agrément du laboratoire	
Numéro de projet de la commission d'éthique	2020-02
Titre scientifique du projet	
Titre non-technique du projet	Évaluation de l'impact des lymphocytes CD8+ incapables à exprimer IL2RA sur l'homéostasie des cellules T régulatrices dans la maladie du greffon contre l'hôte (GvH) aiguë
Date d'autorisation du projet par la commission d'éthique	30/01/2020
Durée du projet (date de début et de fin)	5 ans (Février 2020 – Janvier 2025)
Le projet fera l'objet d'une analyse rétrospective (oui/non) et dans quel délai	OUI, dans 5 ans
Mots Clés (maximum 10 mots / 100 caractères)	allogreffe, aGVH, CD25, CTL, Treg
Objectif du projet	<p>Recherche fondamentale : oui</p> <p>Recherches translationnelle ou appliquée : non</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 : oui</p>
Décrivez les objectifs du projet (par exemple, les inconnues scientifiques ou les nécessités scientifiques ou cliniques concernées) (1000 caractères maximum)	La maladie du Greffon contre l'Hôte de type aiguë (aGVH) est une complication sévère et fréquente des allogreffes de cellules souches hématopoïétiques. Bien que les lymphocytes T du donneur y jouent un rôle prépondérant, sa précise physiopathologie reste encore inconnue pour la plupart. Récemment, il a été montré que l'IL-2, une cytokine clef pour le développement de toutes les cellules T, est massivement captée par les CD8, privant ainsi les Tregs de l'IL-2 indispensable à leur homéostasie. Pourtant, nous souhaiterions également évaluer l'impact de l'incapacité des lymphocytes T CD8+ d'exprimer l'IL2RA sur l'aGVH et sur l'homéostasie des Tregs après allogreffe.
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)	Découvrir le mécanisme pathologique de l'aGVH sera avantageux soit pour le développement des nouveaux traitements soit pour la mise en place des études cliniques futures. Bien que les lymphocytes T du donneur y jouent un rôle prépondérant, sa précise physiopathologie reste encore inconnue. Cela justifie le fait que les protocoles de prophylaxie couramment utilisés en clinique ne préviennent pas totalement l'aGVH. Enfin, la greffe de moelle osseuse représente souvent le seul moyen possible pour sauver la vie des patients affectés par des conditions hématologiques malignes, soient-elles génétiques ou acquises (cancer).
Quelles sont les espèces animales qui seront utilisées ?	Souris BALB/C et C57BL6/J transgéniques.

Quel est le nombre maximal d'animaux ?	Au cours de ce projet, des souris C57BL/6J transgéniques et BALB/c seront utilisées respectivement comme donneuses et receveuses: 140 souris BALB/c, 38 souris C57BL/6J CD8a-Cre/CD25flox, 20 souris C57BL/6J CD8a-Cre et 38 souris C57BL/6J CD25flox.
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?	La majorité des souris BALB/c développent une aGVH sévère se manifestant par une perte une posture naturelle modifiée (voussure), une diarrhée, une modification de la texture du pelage et/ou l'apparition de lésions au niveau cutané. Le signe clinique le plus significatif est la perte de leur poids initial ($10\% < X < 30\%$). Afin de minimiser le stress des animaux, le mal-être et les effets de cette perte de poids, un gel nutritif (Dietgel®) sera donné aux souris le nécessitant, l'environnement enrichi, et un analgésique administré (Buprénorphine 0.05mg/kg/12h sous la peau. Les animaux seront euthanasiés en cas de mal-être profond.
Application des 3Rs	
1. Remplacement (1000 caractères maximum)	
Indiquez pourquoi des animaux doivent être utilisés et pourquoi des alternatives n'utilisant pas d'animaux ne peuvent être utilisées	La maladie du Greffon contre l'Hôte (GVHD) de forme aiguë est un processus pathologique complexe survenant lorsque les cellules immunocompétentes (lymphocytes T) du donneur réagissent contre les tissus de l'hôte après une greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques. Ces cellules immunocompétentes sont contrôlées par plusieurs des mécanismes différents, cellulaires et moléculaires tous les deux, qui modulent la réaction immunologique et l'inflammation des tissus cibles. Dans ce cadre de complexité, seulement un modèle <i>in vivo</i> peut rendre compte de toutes ces interactions ensemble.
2. Réduction (1000 caractères maximum) Expliquez comment l'utilisation d'un nombre minimum d'animaux est garantie	Le nombre de souris requis pour nos expériences a été calculé au moyen du test statistique de survivance (type log-rank à deux temps de survie) à deux temps de survie), en postulant une probabilité de 85% ($1-\beta = 0.85$) et un niveau de signification de 5% ($\alpha = 0.05$) afin que l'étude détecte une différence entre le groupe contrôle et celui d'intérêt sans atteindre le score limite de 28 +/- 5 jours (donneur C57BL/6J CD25flox) à 35 +/- 5 jours (C57BL/6J CD8a-Cre/CD25flox). En ce qui concerne le nombre de souris donneuses nécessaires par cohorte (1 souris donneuse C57BL/6J pour traiter 4 souris receveuses BALB/c), il a été calculé en considérant le nombre de cellules qui peuvent être extraites de la moelle osseuse (35·10 ⁶ cellules maximum par souris) et les cellules que l'on injectera pour chaque souris (10·10 ⁶ cellules par souris). Par contre, le nombre de $\alpha\beta$ TCR+ splénocytes extraits par chaque rate (environ 40·10 ⁶ de cellules maximum par souris) est largement suffisant pour compléter une cohorte.
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	La greffe de cellules souches hématopoïétiques de souris C57BL/6J donneuses en BALB/c receveuses constitue le modèle le plus commun pour l'étude de la aGVH (<i>Schroeder M. A. et al., Dis Model Mech, 2011</i>) pour (1) sa reproductibilité (2) son phénotype. En fait, ce modèle ressemble à la maladie chez les humains, surtout en ce qui concerne la toxicité au niveau intestinal. En plus, la souris est considérée comme le modèle le plus proche du système immunologique humain.
Expliquez les mesures qui seront prises pour minimiser les effets négatifs sur le bien-être des animaux (douleur, souffrance, inconfort ou dommages permanents).	Le bien-être des animaux sera apprécié tous les jours et leur environnement également enrichi. L'observation sera augmentée à 2 fois par jour si les animaux montrent des signes pathologiques. En cas de mal-être et de douleur, un analgésique sera administré (Buprénorphine 0.05mg/kg/12h sous la peau). D'ailleurs, un gel nutritif et hydratant (Dietgel®) sera distribué dans la cage à tous les animaux qui montreront des difficultés à atteindre leur nourriture et l'eau de boisson.