



La recherche médicale sur les leucémies : **pour que la vie gagne !**

Rétrospective des projets de recherche soutenus
par Laurette Fugain entre 2004 et 2020
(version mise à jour en septembre 2023)



SOUTENIR

la recherche médicale
pédiatrique et adulte sur les leucémies



MOBILISER

autour des Dons de Vie
(sang, plaquettes et moelle osseuse)



AIDER

les patients et leur famille

REMERCIEMENTS

Laurette Fugain, l'association qui lutte contre les leucémies, remercie tout particulièrement les différents acteurs ayant permis la concrétisation de ce projet de brochure présentant les avancées des projets de recherche financés :

- Dominique Duménil et Françoise Moreau-Gachelin, anciennes Directrices de Recherche de l'Inserm et Chercheurs ScienSAs*, pour la qualité de la rédaction et leur implication. Cette brochure est le fruit de leur magnifique travail, créant ainsi un trait d'union indispensable entre les chercheurs et le grand public,
- * : ScienSAs' est un réseau d'échange et de partage entre Scientifiques Séniors et Associations de malades : <http://sciensas.inserm.fr/>
- Le Conseil Scientifique et Médical de l'Association Laurette Fugain, et ses Présidents successifs, pour leur vision ainsi que leurs recommandations pertinentes et argumentées dans la sélection des projets soutenus,
- Isabelle Mercier-Anger, pour son aide précieuse et professionnelle dans le suivi rigoureux des projets de recherche, ainsi que pour sa persévérance dans la collecte des informations ayant permis l'élaboration de cette brochure,
- L'agence PHB Events, pour ses conseils judicieux et Stéphane Desprez, pour la création graphique gracieuse,
- L'imprimerie PPA ESPRINT pour l'impression gracieuse des brochures,
- Et bien sûr, les donateurs, partenaires de l'association : c'est grâce à leur soutien et leur confiance que tous ces projets de recherche ont pu être financés.

SOMMAIRE

- p4 Edito
- p6 Synthèse des avancées globales sur le thème de la recherche
- p10 Notions clés
- p19 Les projets Subventionnés
Contexte scientifique/ Question posée, objectifs / Résultats obtenus / Avancées
- p188 Lexique

**Le plus beau don,
c'est le Don de vie.**



Chers tous,

Depuis 2004, l'Association Laurette Fugain apporte une contribution essentielle au financement de la recherche médicale sur les leucémies et maladies du sang : fin 2023, ce sont plus de 225 projets qui auront été soutenus, pour plus de 10,5 millions d'euros affectés.

Nous apportons une rigueur extrême à l'allocation des fonds dédiés à la recherche. Les projets reçus dans le cadre d'un appel d'offre annuel sont sélectionnés par un Conseil Scientifique et Médical pointu, regroupant les plus grands professeurs en hématologie. Chacun des projets retenu fait l'objet d'une convention juridique. Le versement du financement est effectué en deux fois, une première tranche à la signature de la convention, la seconde après analyse des rapports scientifiques et financiers intermédiaires envoyés à l'issue de la 1^{re} année de recherche, éléments nous permettant de décider du bien-fondé du versement de la 2^e tranche. Nous réclamons ensuite des rapports scientifiques finaux et des bilans financiers détaillés, que nous pointons ligne à ligne pour nous assurer de la conformité des dépenses. A l'issue du projet, nous récupérons les éventuels trop perçus, pour les remettre dans le financement des projets des nouveaux appels d'offres.

Cette exigence, nous avons envie de la partager avec vous, c'est pourquoi nous avons souhaité réaliser un bilan de la contribution de l'Association Laurette Fugain à l'avancement de la recherche sur le thème des leucémies et maladies du sang. Grâce à l'aide de ScienSAs, réseau d'échange et de partage à l'initiative de l'Inserm pour créer un lien entre chercheurs à la retraite et associations de patients, la brochure que nous vous présentons va révolutionner la façon dont vous percevrez la recherche médicale, pour la rendre plus compréhensible à celles et ceux



© Manuelle Toussaint

qui ne font pas partie du monde médical. Avec cette brochure, nous avons l'ambition de rendre la recherche médicale concrète et transparente, de vous donner les clés pour mieux appréhender les projets que nous soutenons et ainsi vous montrer les avancées réelles qu'elle permet pour les malades. Cette édition présente les projets soutenus entre 2004 et 2020.

La recherche médicale, c'est vous, c'est nous. Soyons acteurs de ce monde en perpétuel mouvement, continuons à donner aux chercheurs les moyens de progresser dans leurs recherches, pour les malades.

Stéphanie Fugain



La brutalité du diagnostic de leucémie nous impose un combat quotidien. Des médecins et des chercheurs collaborent jour après jour pour comprendre et trouver comment mener ce combat. L'association Laurette Fugain avec tous ses bénévoles, ses donateurs permet chaque année de financer de nombreux projets de recherche pour que ce combat se transforme en victoire, pas après pas. Merci à l'Association Laurette Fugain. Ensemble sur le chemin de la guérison.

Pr Emmanuel Raffoux - Président du Conseil Scientifique et Médical depuis 2015

Ces dernières années, la recherche sur les altérations génétiques (mutations de l'ADN) portées par les cellules leucémiques a permis des avancées importantes. Plusieurs centaines de formes différentes de leucémies, associées à différentes combinaisons de mutations, ont été identifiées et permettent un meilleur diagnostic, traitement et suivi des patients. Cette caractérisation génétique essentielle, aujourd'hui réalisée efficacement dans les services cliniques, ne fournit cependant pas toujours les informations permettant de mieux traiter les patients atteints de leucémies agressives. Pour cela, les équipes travaillent également à comprendre les conséquences de ces mutations sur les mécanismes complexes survenant au sein des cellules leucémiques et dans leurs interactions avec les cellules environnantes comme les cellules immunitaires. Ces approches permettent d'identifier les vulnérabilités des cellules leucémiques et de développer des thérapies plus efficaces, plus précises et moins toxiques.



Depuis sa création, l'Association Laurette Fugain déploie une énergie extraordinaire et durable pour soutenir ces recherches qui nécessitent fréquemment plusieurs années par projet.

Son conseil scientifique et médical a pour mission d'assurer que les projets sélectionnés présentent les méthodologies appropriées et la rigueur nécessaire à ouvrir des voies vers de nouvelles thérapies. Il est composé de chercheurs et médecins présentant des expertises complémentaires couvrant différents processus biologiques et types de leucémies. Il sélectionne des projets originaux qui associent généralement une équipe de recherche fondamentale et une équipe clinique. Des projets visant à améliorer le bien-être des patients sont également soutenus.

Avec 225 projets financés à ce jour pour un montant de 10,5 millions d'euros, dont 188 projets entre 2004 et 2020 décrits dans cette brochure, l'Association Laurette Fugain représente un acteur de premier plan dans le financement de la recherche sur les leucémies. La remise annuelle d'un prix Laurette Fugain et de bourses permettant d'assister à des congrès scientifiques constituent un encouragement additionnel pour les jeunes chercheurs à poursuivre leurs travaux sur les leucémies.

Je remercie l'Association Laurette Fugain d'avoir su créer, maintenir et amplifier ce soutien indispensable à la communauté de recherche sur les leucémies, le tout avec un dynamisme et un enthousiasme incroyablement communicatif.

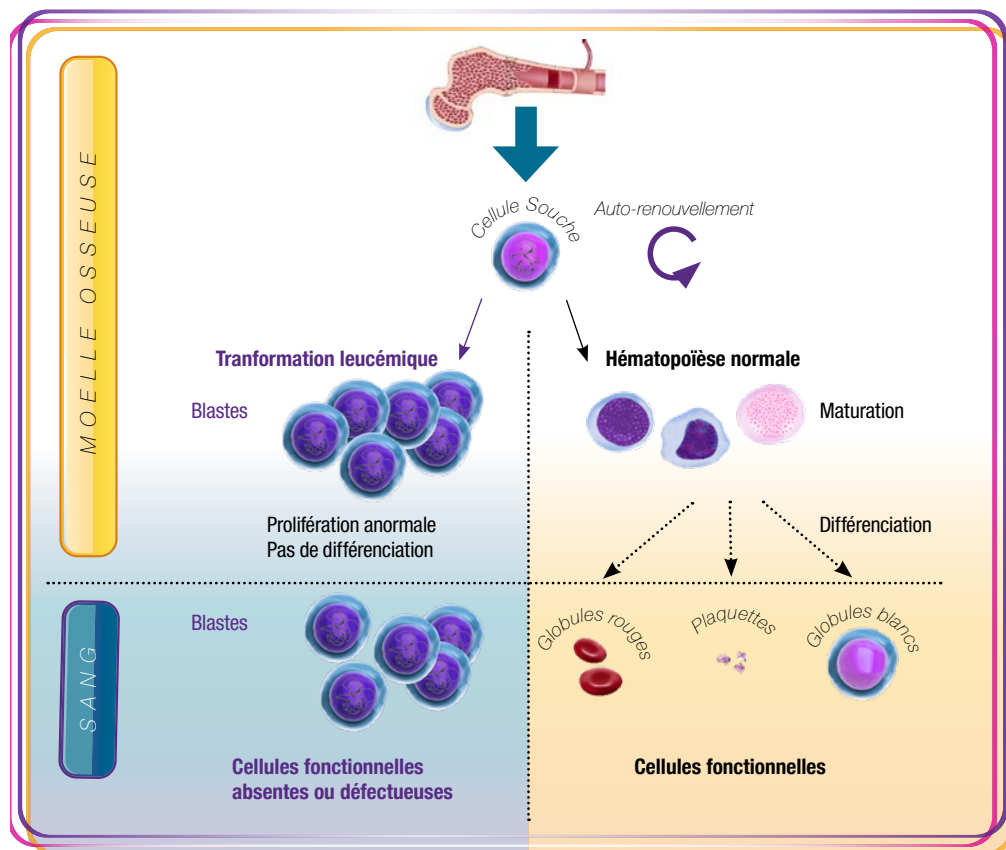
Dr Thomas Mercher

SYNTHÈSE DES PROJETS DE RECHERCHE FINANCÉS PAR L'ASSOCIATION LAURETTE FUGAIN

La leucémie est un *cancer du sang et de la moelle osseuse*.

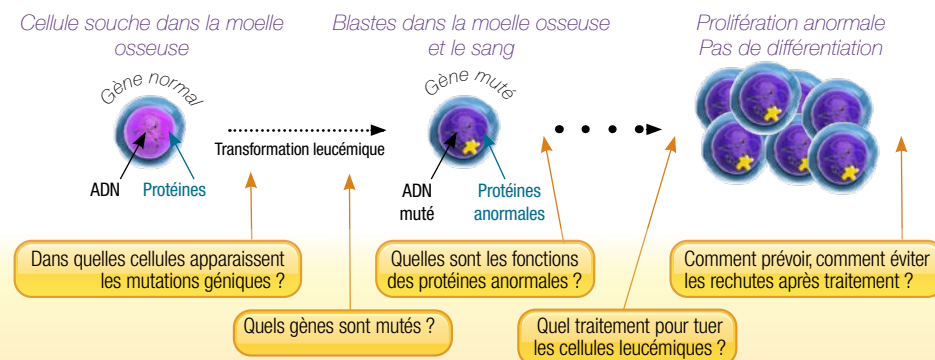
Le siège de la maladie se situe dans *la moelle osseuse* qui est le site de fabrication des cellules sanguines (globules blancs, globules rouges, plaquettes).

Quand certaines *mutations* se produisent dans une cellule normale de la moelle osseuse, la cellule devient cancéreuse. Différentes mutations sont à l'origine des différentes leucémies. Le traitement du patient est différent selon le type et le stade de la leucémie. La connaissance des mutations à l'origine de la leucémie permet d'appliquer une *thérapie ciblée* plus efficace pour tuer la cellule leucémique.



Transformation leucémique et projets de recherche

- * La transformation leucémique est due à l'apparition de mutations dans un ou plusieurs gènes dans une cellule souche.
- * Le génome muté provoque l'expression de protéines anormales dans les blastes leucémiques.



Questions posées dans les projets de recherche

Malgré des progrès très importants réalisés en recherche et en clinique, beaucoup de questions restent posées :

Quelles sont les modifications moléculaires qui transforment une cellule normale du sang en une cellule leucémique ?

Comment améliorer le traitement des patients atteints de leucémie ?

Comment expliquer et prévoir les rechutes observées quelquefois après traitements de certaines leucémies ?

L'ASSOCIATION LAURETTE FUGAIN FINANCE DES PROJETS DE RECHERCHE POUR CONTRIBUER À RÉPONDRE À CES QUESTIONS

Entre 2004 et 2020, l'association a financé 188 projets (dont 18 sont toujours en cours et ne figurent donc pas dans cette édition) sur différents types de leucémie :

1) La leucémie myéloïde chronique (LMC)

Les cellules des patients sont caractérisées par la présence du chromosome de Philadelphie portant le gène muté BCR-ABL. L'imatinib Mesylate (Glivec®) est un traitement efficace de la LMC, il inhibe l'activité de BCR-ABL. Cependant, des résistances à ce médicament sont souvent observées. Comment prédire le développement de cette résistance ? La résistante au Glivec est-elle due à de nouvelles mutations dans la cellule leucémique ? Ces nouvelles mutations peuvent-elles être des marqueurs prédictifs d'une rechute et peuvent-elles aboutir à la prescription d'un nouveau traitement.

2) Les leucémies aigües myéloïdes (LAM)

Elles sont caractérisées par l'accumulation dans le sang de cellules immatures qui prolifèrent activement. Quelles sont les protéines anormales présentes dans la cellule leucémique qui modifient les propriétés de cette cellule ?

Ces leucémies sont traitées par une chimiothérapie souvent associée à une greffe de moelle. Cependant ce traitement est lourd et pas toujours nécessaire. Existe-t-il des « marqueurs » qui permettraient de déterminer la nécessité ou non d'une greffe de moelle ?

3) Les leucémies aigües lymphoblastiques (LAL)

Elles évoluent avec des populations de cellules leucémiques qui présentent des niveaux différents d'agressivité, les plus agressives étant responsables des rechutes. La caractérisation fine de ces cellules agressives est importante pour adapter le traitement.

Les LAL sont associées à un grand nombre de mutations. L'utilisation des mutations comme marqueurs de diagnostic et le lien entre ces marqueurs et le pronostic aideraient à la décision thérapeutique.

4) Les syndromes myélodysplasiques (SMD)

Ils sont caractérisés par des anomalies des cellules souches hématopoïétiques (cellules à l'origine de toutes les cellules du sang localisées dans la moelle osseuse) et se transforment souvent en leucémies aigües.

La caractérisation des anomalies moléculaires dans les cellules du sang de ces patients pourrait permettre de nouvelles thérapies ciblées.

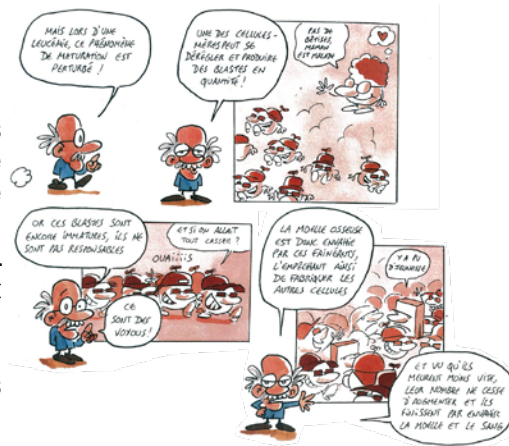
Ces travaux permettent de mieux comprendre les processus intracellulaires qui entraînent l'apparition de la leucémie. Les connaissances acquises chaque jour, au cours d'un long travail de recherche, améliorent l'efficacité des traitements des malades.

Depuis 2004, à l'occasion du Congrès d'hématologie annuelle de la SFH, l'Association Laurette Fugain remet le Prix Laurette Fugain pour reconnaître et récompenser les chercheurs dont les travaux se distinguent par leur excellence. D'autres chercheurs se voient également attribuer une bourse qui leur permet de participer à un congrès d'hématologie de leur choix, souvent à l'étranger, grâce à la Bourse Jeunes Chercheurs Espoirs.

L'Association offre également un soutien financier pour des formations professionnelles destinées au personnel soignant qui souhaite acquérir de nouvelles compétences ou approfondir celles qu'ils possèdent déjà. Cette initiative vise à renforcer leur capacité à accompagner les patients tout au long de leur parcours de soins.



NOTIONS CLÉS



Une leucémie est un cancer qui affecte les cellules hématopoïétiques. Elle se développe dans la moelle osseuse et résulte de la multiplication anormale suite à une mutation d'une cellule souche totipotente ou d'une cellule progénitrice (amplification clonale*). Les cellules leucémiques prolifèrent et s'accumulent dans la moelle osseuse avant de migrer dans le sang périphérique.

Selon la nature lymphoïde ou myéloïde des cellules leucémiques, on parle de leucémies lymphoïdes ou de leucémies myéloïdes. En fonction de la vitesse de l'évolution clinique, elles sont définies comme des leucémies aiguës (évolution rapide) ou des leucémies chroniques (évolution sur plusieurs années). Les cellules de leucémies aiguës et chroniques sont différentes.

- **Dans les leucémies aiguës**, les cellules leucémiques montrent une prolifération et une survie accrues par rapport à une cellule normale. De plus, ces cellules sont bloquées à un stade précis de la différenciation, provoquant une accumulation de ces cellules qui ne peuvent progresser au-delà de ce stade de différenciation. En envahissant la moelle osseuse, ces cellules, appelées blastes leucémiques*, empêchent le développement des autres cellules du sang aboutissant à des cytopénies (déficit quantitatif en cellules) dans les différents lignages du sang.

- **Dans les leucémies chroniques**, les cellules leucémiques ont une prolifération accrue mais sans blocage de la différenciation. Il en résulte l'amplification d'un seul lignage cellulaire qui se traduit par un nombre élevé des cellules du lignage affecté. Ces leucémies sont des néoplasmes lymphoprolifératifs (NLP) ou myéloprolifératifs (NMP). Les syndromes myélodysplasiques (SMD) regroupent des affections clonales de la cellule totipotente. Les SMD sont caractérisés par une hématopoïèse inefficace aboutissant à une ou plusieurs cytopénies périphériques tandis que la moelle présente des anomalies de maturation dans un ou plusieurs lignages hématopoïétiques.

- **Progression leucémique** : Selon une progression ordonnée, un SMD, un NLP ou un NMP peut évoluer en leucémie chronique myéloïde (LMC) ou lymphoïde (LLC) qui finalement peut progresser, au cours d'une crise blastique, vers une leucémie aiguë myéloïde (LAM) ou lymphoïde (LAL).

- **Diversité des leucémies** : Les leucémies sont hétérogènes en termes de caractéristiques biologiques, de progression de pronostic et de réponse à la thérapie. Une concertation mondiale associant des critères morphologiques, immunologiques, cytogénétiques*, biochimiques et génétiques* a abouti à une classification des leucémies en différents types et sous-types et a permis des avancées significatives dans les valeurs pronostiques des traitements. Aussi, au diagnostic, les blastes leucémiques issus de prélèvements sanguins ou de moelle osseuse doivent-ils être caractérisés suivant ces critères pour définir le sous-type de leucémie, en excluant les autres causes d'insuffisance médullaire et pour guider le choix des thérapeutiques.

Bases moléculaires des leucémies :

L'analyse à grande échelle du génome* entier et l'étude détaillée des chromosomes* des blastes de patients leucémiques a eu une grande incidence dans notre compréhension de la leucémogénèse. Elles ont permis d'identifier un grand nombre d'anomalies moléculaires. Ces anomalies sont diverses mais spécifiques d'un sous-type de leucémies ce qui permet de corréler les données biologiques à des pronostics cliniques.

- **Comment sont acquises les anomalies moléculaires ?** - Les mécanismes sont multiples. Les bases qui composent l'ADN* du génome peuvent être changées (mutation) ou modifiées (modification épigénétique). Les chromosomes peuvent échanger des fragments (translocation chromosomique), en perdre (délétion génique) ou en gagner (amplification génique).

- **Quelles sont les conséquences des mutations dans les gènes ?** Les gènes* codent pour des protéines*. Les mutations entraînent une modification de l'activité des protéines. Les protéines mutées vont modifier ou bloquer les programmes normaux de différenciation, prolifération et survie des cellules. Les protéines mutées sont très nombreuses, elles peuvent être regroupées selon leur fonction. Par exemple :

- Un groupe est constitué par les facteurs de transcription* qui régulent l'expression des gènes. Dans l'hématopoïèse normale, ils sont nécessaires à la détermination de la nature de la lignée hématopoïétique et à sa différenciation. Les facteurs de transcription mutés ont perdu la capacité à promouvoir la différenciation, mais sont devenus capables d'empêcher la différenciation des blastes.

- Un autre groupe est constitué par les protéines de signalisation comme les kinases qui activent des voies de signalisation* à l'intérieur de la cellule pour réguler la croissance et la survie de la cellule. Les protéines kinases mutées augmentent la prolifération des cellules dans les néoplasmes prolifératifs et dans les leucémies.

Le processus évolutif qui transforme une leucémie chronique en leucémie aigüe dépend de l'acquisition de mutations additionnelles qui détruisent des mécanismes régulateurs encore fonctionnels dans la phase chronique. C'est pourquoi, des mutations ciblant les différents groupes de protéines sont simultanément détectées dans des blastes leucémiques.

Implications cliniques et thérapeutiques :

La compréhension des mécanismes moléculaires a beaucoup aidé à affiner le diagnostic, établir le pronostic et déterminer le traitement le plus approprié. Plusieurs mutations sont recherchées en routine au diagnostic chez les patients, pour définir des groupes de risque, adapter les traitements et assurer le suivi de la maladie résiduelle*. Connaissant l'impact des protéines mutées sur les dérèglements de la prolifération, de la survie et de la différenciation dans les cellules leucémiques, le rationnel des recherches dans le développement des nouvelles thérapies dites « thérapies ciblées* » est de trouver des molécules qui inhibent ces protéines mutées.

- Ainsi, les **kinases mutées** ont provoqué le développement de drogues inhibitrices de ces kinases ou des voies de signalisation qu'elles activent. Par exemple, dans la leucémie myéloïde chronique, une translocation entre les chromosomes 9 et 22 aboutit à l'expression de la kinase BCR-ABL qui est responsable de la prolifération des cellules leucémiques. L'Imatinib Mesylate (Glivec[®]) en inhibant l'activité de BCR-ABL provoque la mort des cellules leucémiques. L'Imatinib Mesylate est un traitement de référence dans la LMC.

- Un autre exemple est celui de la **thérapie différenciatrice*** à l'acide rétinoïque (ATRA) qui est utilisée pour traiter les leucémies promyélocyaires. Une translocation entre les chromosomes 15 et 17 aboutit à l'expression de la protéine mutée PML-RAR α qui a une activité de facteur de transcription et est responsable du blocage de la différenciation des blastes. L'acide rétinoïque en inhibant l'activité de PML-RAR α lève ce blocage et provoque la différenciation des blastes. L'ATRA est un traitement de référence des leucémies promyélocyaires.

Plusieurs mutations sont acquises dans les cellules leucémiques aigües. En se basant sur l'activité thérapeutique qu'exercent des drogues* différentes sur deux protéines mutées distinctes, beaucoup d'efforts sont actuellement faits pour trouver des combinaisons de drogues ayant une meilleure efficacité pour éliminer les cellules leucémiques que les traitements par une seule drogue. De telles combinaisons de drogues permettent de réduire les doses administrées et de minimiser ainsi les toxicités liées aux traitements.



Signification thérapeutique :

Les traitements proposés pour les leucémies ont longtemps été des chimiothérapies associées ou non à une greffe de moelle osseuse. Cependant la greffe de moelle reste réservée à une minorité de patients en raison de la lourdeur du traitement et de la difficulté à trouver des donneurs compatibles. De plus, l'inconvénient majeur des chimiothérapies est le manque de spécificité car elles détruisent à la fois les cellules cancéreuses et les cellules saines.

Depuis plusieurs années, la découverte permanente de nouvelles altérations moléculaires a stimulé la mise au point de nouvelles drogues anti-cancéreuses. Dans la mesure où les protéines mutées sont spécifiques des cellules cancéreuses, les objectifs ont été de trouver des drogues qui ciblent ces protéines mutées et les inhibent. Les thérapies ciblées sont très attractives parce qu'en ciblant les molécules spécifiques de la cellule cancéreuse, elles ont des effets réduits sur les cellules normales et entraînent moins d'effets secondaires.

Récemment, le domaine des thérapies ciblées a connu des avancées majeures, avec le développement des analyses à haut débit du génome et de l'expression des gènes associées à des analyses informatisées et des biostatistiques. Ceci permet de définir une signature génique par cancer qui peut être prédictive de l'évolution clinique et conduit à mettre en place des essais thérapeutiques basés sur le profil moléculaire des patients.

Cependant, la limite principale des thérapies ciblées est l'émergence d'une résistance à la drogue après une réponse initiale, souvent spectaculaire, au traitement. De nouveau, définir les bases moléculaires des mécanismes de la rechute et de la résistance à la drogue permettra de surmonter cette résistance. Les données collectées sur des collections de tumeurs (tumorothèque) permettent de classifier en sous-groupes les risques de rechute. Ceci est une première avancée dans le développement de thérapies ciblées pour prolonger au maximum les rémissions.



Cette vision très positive de la recherche biomédicale met en évidence que l'avancement simultané des études cliniques et des connaissances biologiques est le fondement de tout progrès thérapeutique.

L'HÉMATOPOÏÈSE

L'hématopoïèse est le processus physiologique qui concourt à la fabrication des cellules* du sang et à leur remplacement continu et régulé.

Les cellules du sang sont les éléments terminaux et fonctionnels de lignages hématopoïétiques* différents. Leur durée de vie est courte : quelques heures pour les polynucléaires, quelques jours pour les plaquettes, quelques jours pour les globules rouges.

| Cellules du sang | Durée de vie | Nombre de cellules produites par jour par l'organisme |
|------------------|----------------|---|
| Globules rouges | 120 jours | 200 milliards |
| Polynucléaires | quelques jours | 40 milliards |
| Plaquettes | 7 jours | 200 milliards |

L'hématopoïèse est donc un processus très actif : chaque jour, environ 10^{12} cellules sanguines sont produites. Par exemple, 2 millions de globules rouges sont produits par seconde.

Cette production est finement contrôlée afin de maintenir constant le nombre de cellules sanguines malgré les variations de consommation liées à des circonstances pathologiques (hémorragies, infections ..).

Les étapes de l'hématopoïèse :

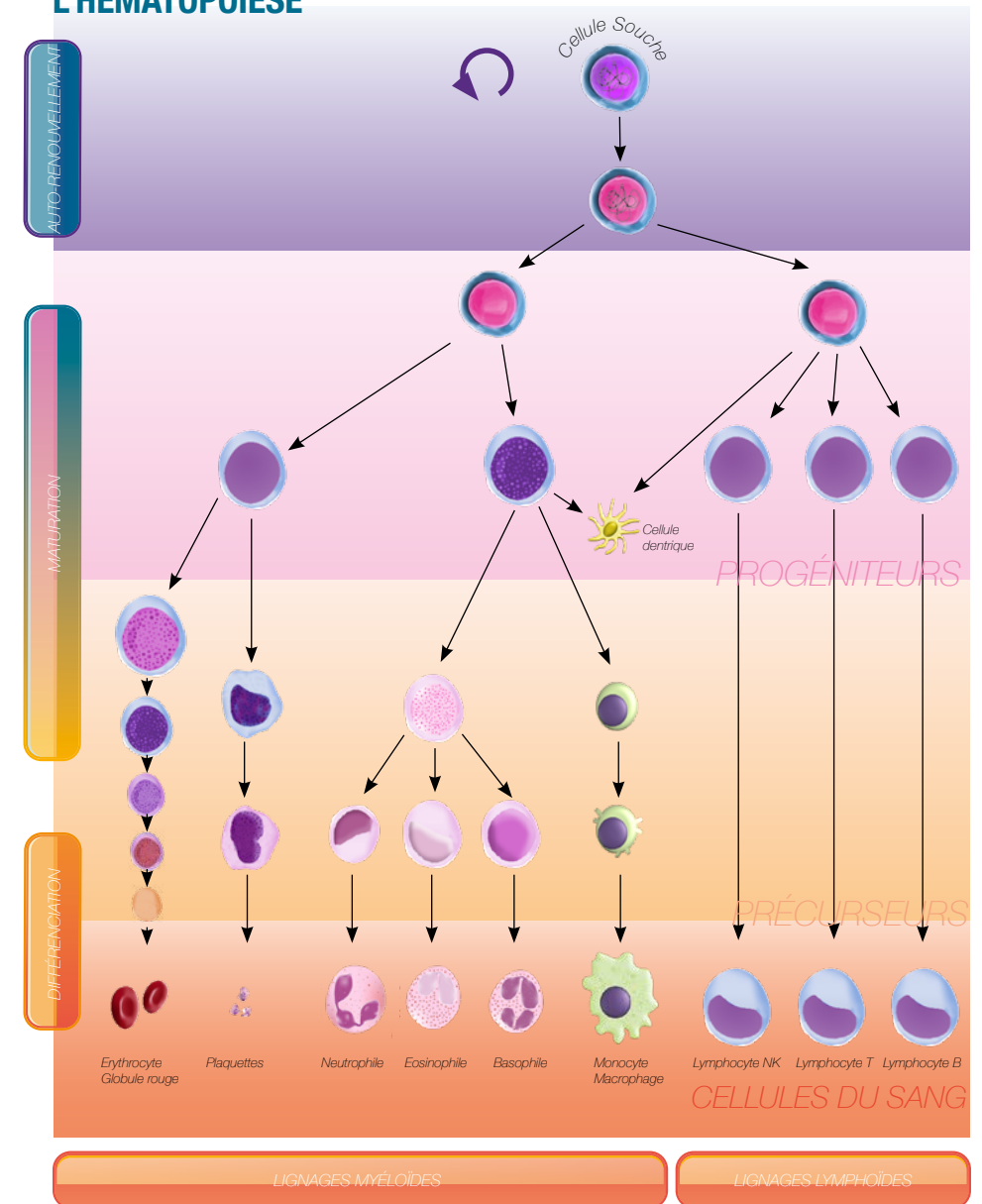
Après la naissance, l'hématopoïèse est localisée exclusivement dans la moelle osseuse.

Toutes les cellules du sang sont produites à partir d'une même cellule indifférenciée appelée cellule souche totipotente ou cellule souche primitive (voir le schéma de l'hématopoïèse ci-après).

Sous l'influence de facteurs stimulants, une cellule souche totipotente s'engage dans la différenciation d'un lignage cellulaire. Elle devient alors un progéniteur. Après plusieurs divisions, les progéniteurs génèrent des précurseurs qui se divisent et mûrissent. Ils constituent la majorité des cellules observées sur un myélogramme (frottis de moelle). La maturation terminale aboutit aux cellules fonctionnelles qui migrent de la moelle dans le sang.

L'hématopoïèse se déroule en 4 étapes au cours desquelles sont produites successivement les cellules souches totipotentes, les progéniteurs, les précurseurs et les cellules matures.

L'HÉMATOPOÏÈSE





• Les cellules souches totipotentes :

Les cellules souches de la moelle constituent la base d'une hématopoïèse efficace. Elles ont deux propriétés essentielles : la capacité d'auto-renouvellement et la capacité de différenciation vers tous les lignages hématopoïétiques :

- l'autorenouvellement est la multiplication à l'identique de la cellule, ce qui maintient intact le réservoir de cellules souches et donc le potentiel de l'hématopoïèse.
- la différenciation est l'engagement irréversible de la cellule vers un ou plusieurs lignages, sous l'influence de facteurs de croissance. La cellule perd sa totipotence et devient une cellule souche engagée.

Le nombre des cellules souches est maintenu constant par un équilibre entre la production des cellules souches par autorenouvellement et la perte des cellules souches par différenciation vers les lignages cellulaires.

Les cellules souches totipotentes ne représentent qu'un faible pourcentage des cellules médullaires (0,01 à 0,05%). Elles ne sont pas identifiables selon des critères morphologiques* mais peuvent être reconnues par certains critères immunologiques*, tel que la présence du marqueur CD34.



• Les progéniteurs :

La première étape de la différenciation d'une cellule souche totipotente est son évolution en un progéniteur engagé vers les lignages lymphoïde ou myéloïde. Le progéniteur lymphoïde génère trois types de lymphocytes (T, B et NK). Le progéniteur myéloïde génère les trois lignages érythroïde, granulo-monocytaire ou mégakaryocytaire. Le progéniteur myéloïde et le progéniteur lymphoïde peuvent générer les cellules dendritiques.

Les progéniteurs ont une capacité d'autorenouvellement réduite. Ils ne sont pas identifiables morphologiquement mais ils acquièrent des marqueurs à leur surface qui sont reconnaissables par des anticorps*.



• Les précurseurs :

Les précurseurs sont les premières cellules identifiables par des critères morphologiques. Ils ont perdu toute capacité d'autorenouvellement. Les précurseurs les plus immatures sont les lymphoblastes qui généreront les lymphocytes T, B et NK, les myéloblastes qui donneront les polynucléaires, les monoblastes qui donneront les macrophages, les proérythroblastos qui donneront les globules rouges et les mégakaryoblastes qui donneront les plaquettes.



• Les cellules matures :

Ce sont les cellules fonctionnelles*. La plupart constitue le système immunitaire qui défend l'organisme contre les infections. Les neutrophiles et les macrophages détruisent les cellules étrangères ou infectées (phagocytose). Les macrophages et les cellules dendritiques expriment à leur surface des fragments des agents pathogènes (antigènes*) afin de les présenter aux lymphocytes B et T. Les lymphocytes B produisent les anticorps qui reconnaissent les antigènes et les détruisent. Les lymphocytes T et NK provoquent la mort des cellules étrangères à l'organisme. Les éosinophiles permettent de lutter contre les parasites et les basophiles interviennent dans les réactions inflammatoires et allergiques. Les plaquettes permettent la coagulation lors d'un saignement. Les globules rouges en transportant l'hémoglobine, assurent l'oxygénation des tissus.

Les cellules matures sont facilement identifiables par - des critères morphologiques : le noyau* des polynucléaires est polylobé, le cytoplasme* est granuleux quant au GR le noyau est expulsé des globules rouges et des critères biochimiques* : des protéines* spécifiques apparaissent à la surface des cellules et sont reconnaissables par des anticorps.

Régulation de l'hématopoïèse :

Trois éléments sont importants pour assurer le bon déroulement de l'hématopoïèse : le microenvironnement médullaire, les vitamines et oligoéléments et les facteurs de croissance.

• Le microenvironnement médullaire participe à l'organisation générale de la moelle.

Les cellules souches sont localisées dans le microenvironnement médullaire constitué de différents types de cellules : certaines cellules maintiennent les capacités d'autorenouvellement des cellules souches, d'autres produisent des facteurs de croissance qui permettent la multiplication des progéniteurs et d'autres produisent des molécules d'adhésion qui retiennent les cellules souches dans le microenvironnement médullaire et les maintiennent dans un état indifférencié.

• Les vitamines et oligoéléments

Certains agissent sur tous les lignages cellulaires. C'est le cas de la vitamine B12 et de l'acide folique qui sont nécessaires à la synthèse de l'ADN et donc à la division cellulaire. Leur déficit entraîne des anomalies de formation dans tous les lignages hématopoïétiques.

D'autres sont nécessaires à la fabrication de protéines spécifiques d'un lignage. C'est le cas du fer, qui est un constituant de l'hémoglobine transportée par les globules rouges.

- **Les facteurs de croissance** (également appelés cytokines, lymphokines ou interleukines)

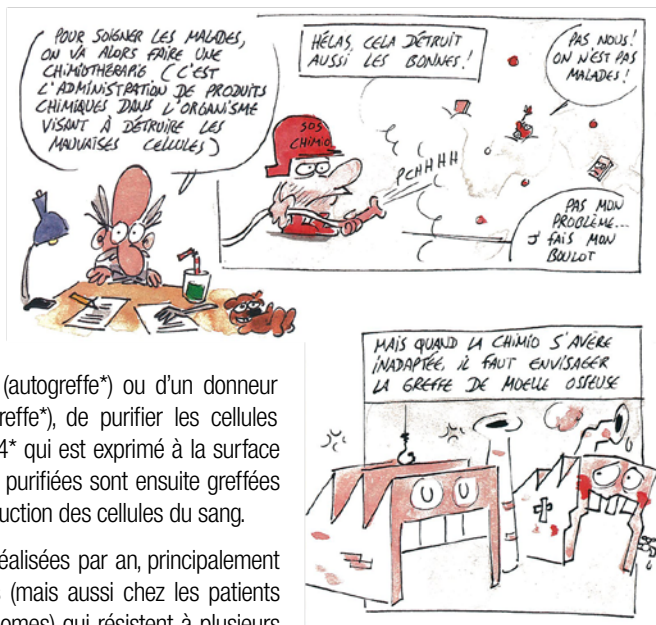
Ils sont nécessaires à la survie, la multiplication, la maturation et la différenciation des cellules hématopoïétiques. Le premier facteur caractérisé a été l'érythropoïétine (EPO). Depuis quelques années de nombreux autres facteurs ont été clonés et synthétisés. Leur rôle dans l'hématopoïèse est de mieux en mieux défini. Ils permettent de grands espoirs dans le traitement des maladies de l'hématopoïèse et certains sont déjà utilisés en thérapeutique.

Les facteurs de croissance reconnaissent des récepteurs* à la surface des cellules-cibles. La liaison du facteur de croissance à son récepteur envoie un ensemble de signaux appelé « voie de signalisation* » à l'intérieur de la cellule.

Application à la thérapie cellulaire :

Les chimiothérapies* utilisées pour tuer les cellules cancéreuses détruisent aussi les cellules hématopoïétiques qui prolifèrent. Pour pallier ces effets secondaires de la chimiothérapie, la thérapie cellulaire* est utilisée. La thérapie cellulaire exploite la capacité d'autorenouvellement des cellules souches. Elle consiste à prélever les cellules de la moelle osseuse du patient (autogreffe*) ou d'un donneur compatible avec le patient (allogreffe*), de purifier les cellules souches (grâce au marqueur CD34* qui est exprimé à la surface des cellules souches). Ces cellules purifiées sont ensuite greffées au patient et vont restaurer la production des cellules du sang.

En France, 1500 allogreffes sont réalisées par an, principalement dans les pathologies leucémiques (mais aussi chez les patients atteints de lymphomes et de myélomes) qui résistent à plusieurs approches thérapeutiques. Les résultats de greffe peuvent être spectaculaires et aboutir à une rémission complète.



LES PROJETS SUBVENTIONNÉS

CONTEXTE SCIENTIFIQUE/ QUESTION POSÉE, OBJECTIFS / RÉSULTATS OBTENUS / AVANCÉES



PROJET SUBVENTIONNÉ n°2004-01

**Leucémies Aigües Promyélocyaires et Organisation Fonctionnelle du Noyau :
Rôle des Corps Nucléaires PML et de la Voie SUMO**

Date de la subvention : 2004 - A. Dejean, Unité Pasteur – Organisation Nucléaire et Oncogénèse- INSERM U579

Contexte scientifique

La leucémie aigüe à promyélocytes (LAP) est caractérisée par un blocage de la maturation de certaines cellules du sang à un stade très précoce. Le laboratoire a montré que les cellules leucémiques de LAP étaient caractérisées par une anomalie génétique correspondant à une fusion entre deux chromosomes. Cette fusion réunit deux gènes : le gène RAR α qui code pour un récepteur à l'acide rétinoïque et le gène PML et conduit à l'expression d'une protéine anormale PML-RAR α responsable du développement des LAP. Une caractéristique unique des cellules leucémiques LAP est leur capacité à reprendre le chemin de la maturation sous l'effet de l'acide rétinoïque (AR). L'administration d'AR par voie orale induit des guérisons chez plus de 90% des patients souffrant de LAP.

Question posée, objectifs

Dans un petit pourcentage de cas, cependant, les patients rechutent et développent une résistance à l'AR. Récemment, une équipe chinoise a pu montrer qu'un dérivé de l'arsenic, un composé utilisé dans la médecine traditionnelle chinoise, était capable d'induire des rémissions chez les patients LAP. Le projet avait pour but de comprendre les mécanismes moléculaires à l'origine de la guérison par l'arsenic des LAP.

Résultats obtenus

L'équipe a montré que la protéine PML-RAR α , sous l'effet de l'arsenic, était étiquetée par une petite protéine, appelée SUMO, et que cet étiquetage conduisait à la dégradation de la protéine PML-RAR α , et donc à la guérison du malade.

Avancées

Cette découverte ouvre la voie à de nouvelles approches thérapeutiques dans le traitement du cancer faisant appel à des molécules susceptibles de moduler cette voie d'étiquetage par SUMO.

PROJET SUBVENTIONNÉ n°2004-02

Induction de la sénescence par le TNF alpha dans les cellules myéloïdes leucémiques : implication de la physiologie des myélodysplasies.

Date de la subvention : 2004 - V. De Mas, INSERM U563, Centre de physiopathologie de l'hôpital Purpan, Toulouse

Contexte scientifique

L'hématopoïèse représente l'ensemble des mécanismes qui assurent le remplacement continu des différentes cellules sanguines. Elle est régulée par des cytokines stimulatrices (facteurs de croissance, Erythropoïétine, GM-CSF...) et des cytokines inhibitrices (TNF α , TGF β ...). Cependant, ce renouvellement peut se dérégler et entraîner des maladies comme des leucémies aigües ou des états pré-leucémiques appelés syndromes myélodysplasiques (SMD). Des travaux ont montré que l'accumulation de certaines cytokines inhibitrices comme le TNF α ou le TGF β , retrouvée dans les SMD par exemple, avaient un effet néfaste sur la production des cellules sanguines normales.

Question posée, objectifs

La télomérase est une enzyme qui a pour fonction de limiter le raccourcissement des télomères (extrémité des chromosomes) et d'éviter les anomalies chromosomiques lors de la prolifération cellulaire, mais son rôle dans l'hématopoïèse n'était pas connu. Ce projet a pour but d'étudier les voies de régulation de la télomérase par les facteurs de croissance et les cytokines inhibitrices dans les cellules hématopoïétiques normales et leucémiques.

Résultats obtenus

Les résultats montrent que la quantité de télomérase est régulée dans la cellule par l'érythropoïétine et le TGF β . Un excès de cytokines inhibitrices comme le TGF β entraîne la diminution de la quantité de cette enzyme. Ces modifications du taux de Télomérase provoquent de profondes altérations de l'hématopoïèse, sont responsables de l'insuffisance médullaire retrouvée dans certaines pathologies comme les SMD (diminution de production des globules rouges et donc anémie) et entraînent une instabilité chromosomique (acquisition d'anomalies chromosomiques) qui favorise une évolution vers la leucémie aigüe.

Avancées

Ces travaux participent à une meilleure connaissance de la physiopathologie de ces maladies et pourraient aboutir à la conception de nouvelles thérapeutiques.

3

PROJET SUBVENTIONNÉ n°2004-03

Comparaison des profils d'expression génique des leucémies aigües lymphoblastiques (LAL) de phénotype B de l'enfant en fonction de la réponse précoce au traitement.

Date de la subvention : 2004 - F. Sigaux, Laboratoire d'hématologie de l'hôpital Saint-Louis à Paris

Contexte scientifique

Même si le pronostic des leucémies lymphoblastiques aigües (LAL) de l'enfant s'est amélioré de façon spectaculaire au cours des 30 dernières années, atteignant 75 à 80% de guérison, encore 1 enfant traité sur 5 rechute. On sait maintenant que la qualité de la réponse aux phases initiales du traitement est un facteur pronostique majeur de la rechute.

Question posée, objectifs

L'hypothèse était que la réponse au traitement dépendait pour partie de la nature des cellules leucémiques présentes au diagnostic de la maladie. L'équipe a recherché des caractéristiques physiopathologiques susceptibles de conférer à ces cellules la capacité de survivre au traitement administré. Pour cela, les niveaux d'expression de l'ensemble des gènes exprimés dans les cellules leucémiques ont été mesurés chez 27 enfants traités de façon comparable (20 patients sensibles et 7 patients résistants).

Résultats obtenus

Cette étude a utilisé des puces à ADN qui permettent de mesurer l'expression de l'ensemble des gènes exprimés dans les cellules de LAL. Cette expression de l'ensemble des gènes a été corrélée à la qualité de la réponse aux phases initiales du traitement. Ainsi, 30 gènes ont été identifiés dont les niveaux d'expression définissent une « signature moléculaire » associée à une mauvaise réponse au traitement et à une évolution défavorable sous traitement.

Avancées

Ce travail montre que les puces à ADN d'expression sont des outils susceptibles d'être utilisés dans les laboratoires hospitaliers pour identifier dès le diagnostic, les patients qui ne répondront pas bien au traitement. Ces résultats doivent être reproduits et confirmés avant que de tels outils soient utilisables en clinique pour la prise en charge des enfants atteints de LAL. On peut cependant imaginer que la mise en évidence de ce type de « signature moléculaire » permettra, dans un proche avenir, de proposer à chaque patient un traitement mieux adapté à sa maladie.

4

PROJET SUBVENTIONNÉ n°2005-01

Facteurs pronostiques des leucémies aigües lymphoblastiques

Date de la subvention : 2004 - J.P. Vernant, Intergroupe LALA/GOELAMS/SAKK national, suisse et belge

Contexte scientifique

Le pronostic des leucémies aigües lymphoblastiques s'est amélioré au cours des dernières années. Cependant un enjeu majeur est d'identifier les malades dont le pronostic de guérison est suffisamment favorable pour leur éviter une greffe de moelle.

Question posée, Objectifs

Cette équipe s'est appliquée à affiner les facteurs pronostiques de la LAL afin de définir pour chaque malade, ses chances de guérison après une chimiothérapie seule. L'allogreffe ne serait réservée qu'aux patients dont les facteurs pronostics sont mauvais. Pour cela, le nombre de cellules de LAL qui subsistent dans la moelle osseuse après chimiothérapie a été analysé.

Résultats obtenus

262 adultes atteints de LAL ont participé à cette étude. Les résultats montrent que la persistance de plus d'une cellule pathologique sur 10 000 cellules de moelle osseuse est indicative d'un risque élevé de rechute. Cette observation incite à réaliser une allogreffe de moelle lorsqu'un donneur compatible est disponible. À l'inverse, moins d'une cellule pathologique sur 10 000 cellules de moelle osseuse permet de prévoir d'excellentes chances de guérison avec la simple poursuite de la chimiothérapie. Cette évaluation de la maladie résiduelle leucémique a été renforcée par la recherche de mutations génétiques dans les gènes IKF1 et NOTCH1.

Avancées

Ces éléments pronostiques serviront à proposer au malade le traitement le moins lourd, qui lui offrira les meilleures chances de guérison.

Date de la subvention : 2005 -D. Bouscary et O. Bernard, Inserm U362 Institut Pasteur et GOELAMS

Contexte scientifique

45% des patients atteints d'une leucémie aigüe myéloblastique (LAM) ont un caryotype normal (les chromosomes sont apparemment normaux). La survie à 5 ans de ces patients est de 40 à 50%. Les causes moléculaires de cette maladie sont hétérogènes. Une mutation du récepteur FLT3 dans cette pathologie est un facteur de mauvais pronostic. Récemment, une mutation dans le gène codant la nucléophosmine (NPM) a été trouvée avec une haute incidence dans ce type de LAM.

Question posée, Objectifs

Deux points ont été développés :

- Déterminer le rôle des mutations de NPM dans les leucémies aigües par construction d'un système expérimental chez la souris (équipe d'O. Bernard)
- Définir la fréquence des mutations de NPM et de FLT3 dans les patients LAM et établir s'il existe un lien entre la présence de ces mutations et les chances de guérison. De plus, comme les patients jeunes qui développent une LAM à caryotype normal sont allogreffés (si présence d'un donneur compatible), cette équipe a recherché si l'allogreffe, associée à la chimiothérapie, améliorait le pronostic de ces patients (équipe de D. Bouscary).

Résultats obtenus

- La protéine NPM mutée a été introduite dans les cellules de moelle de la souris. Aucune souris n'a développé de maladie. Par ailleurs, aucune anomalie n'a été détectée dans le sang, la moelle et les organes de ces souris. L'étude biologique a donc été arrêtée et le mécanisme des leucémies associées aux mutations de NPM reste incompris.
- Les mutations de NPM et du récepteur FLT3 ont été recherchées dans une cohorte de 107 patients atteints de LAM. Les résultats montrent que l'espérance de survie est la meilleure dans le groupe de patients ayant une mutation dans le gène NPM sans mutation dans le gène codant le récepteur FLT3, même lorsqu'ils n'ont pas reçu d'allogreffe.

Avancées

Les patients atteints d'une LAM à caryotype normal, avec mutation de NPM et sans mutation de FLT3 ne doivent donc pas être allogreffés en première intention. L'allo-greffe est favorable uniquement dans le cas où NPM n'est pas muté.

Date de la subvention : 2005 -C. Borg, Etablissement Français du sang, Inserm U645 et Service d'Hématologie du CHU Jean Minjoz de Besançon

Contexte scientifique

Les patients atteints de cancers digestifs sont généralement porteurs de métastases hépatiques, c'est-à-dire que des cellules cancéreuses sont retrouvées au niveau du foie. Pour traiter ces patients, il faut donc non seulement tuer les cellules du cancer digestif mais aussi celles des métastases hépatiques. La thérapie cellulaire consiste à greffer des cellules prélevées chez le patient ou chez un donneur. Ces cellules sont sélectionnées, modifiées ou traitées in vitro avant d'être injectées au malade. La thérapie cellulaire est une alternative aux traitements chimiothérapeutiques.

Question posée, Objectifs

L'objectif de cette étude est de développer une procédure de thérapie cellulaire pour le traitement des cancers digestifs. Il s'agit d'utiliser les cellules immunitaires appelées « cellules tueuses naturelles » issues d'un donneur pour traiter les métastases hépatiques.

Résultats obtenus

Une procédure de purification et de production de cellules tueuses naturelles a été mise en place au sein de l'unité de thérapie cellulaire de l'Etablissement Français du Sang (EFS) Bourgogne Franche Comté. L'équipe de recherche a montré que ces cellules tueuses naturelles étaient capables de reconnaître et de détruire des cellules de cancer du colon résistant à la chimiothérapie. Un protocole de recherche clinique a donc pu être initié (étude NKEGFR-01) avec le soutien de l'INCA (Institut National du Cancer). Les cellules tueuses naturelles sont purifiées à partir d'un donneur familial ou volontaire et activées in vitro. Ces cellules sont ensuite réinjectées par voie intra-artérielle hépatique pour favoriser le transfert des cellules tueuses naturelles dans les lésions hépatiques. Les premiers résultats ont montré l'absence de toxicité spécifique de cette procédure de thérapie cellulaire.

Avancées

L'absence de toxicité de cette procédure de thérapie cellulaire incite à prolonger le développement de ce protocole.

Date de la subvention : 2005 - G. Kroemer, CNRS de l'Institut Gustave Roussy de Villejuif et l'Hôpital Avicenne de Bobigny

Contexte scientifique

NF-kappaB est un facteur de transcription qui participe au contrôle de l'expression du génome dans beaucoup de cellules. Pour être fonctionnel, NF-kappaB doit être activé. Par exemple, dans les cellules du système immunitaire, NF-kappaB est activé en réponse aux agents pathogènes. Quand son activation n'est plus régulée et reste constante, NF-kappaB peut se comporter comme un oncogène. Dans ce cas, NF-kappaB peut empêcher le processus de mort cellulaire et contribuer à la résistance à la chimiothérapie des cellules cancéreuses.

Question posée, Objectifs

Pour déterminer si NF-kappaB peut contribuer à la pathogénie des syndromes myélodysplasiques (SMD) et des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) qui constituent la complication des SMD, l'équipe a recherché si NF-kappaB était activé dans ces pathologies et si l'activation de NF-kappaB était nécessaire à la survie des cellules de SMD et LAM.

Résultats obtenus

L'équipe a donc recherché si l'inhibition de l'activation de NF-kappaB pouvait provoquer la mort des cellules dans les SMD et les LAM. Dans les cellules SMD ou LAM, NF-kappaB est activé par deux protéines ayant une activité kinase : le récepteur Flt3 et la kinase ATM qui convergent sur une enzyme activatrice de la voie NF-kappaB (appelée IKK). Il a été montré que des drogues qui inhibent les activités de ces molécules activatrices de la voie NF-kappaB (le récepteur de Flt3, ATM ou IKK) pouvaient tuer sélectivement les cellules de MDS et de LAM, alors qu'elles sont sans effet sur les cellules normales de la moelle osseuse.

Avancées

La survie des cellules de MDS et de LAM dépend donc de l'activation de NF-kappaB, ses activateurs Flt3, ATM ou IKK constituent donc des cibles thérapeutiques potentielles pour le traitement des MDS et de LAM.

Date de la subvention : 2005 - C. Chomienne et P. Fenaux, Inserm U-718 Hôpital Saint Louis de Paris et l'Hôpital Avicenne de Bobigny

Contexte scientifique

La leucémie chronique à éosinophiles (LCE) est caractérisée par l'accumulation de granulocytes éosinophiles dans le sang et les organes. Elle est due à une anomalie chromosomique qui génère une kinase FIP1L1-PDGFR dont l'activité entraîne la prolifération anormale des éosinophiles. Les patients atteints de LCE peuvent être traités avec l'Imatinib Mesylate (Glivec®) qui inhibe l'activité de la kinase FIP1L1-PDGFR. Toutefois, les études cliniques montrent que ce traitement n'est pas optimum et que des rechutes fréquentes sont observées dues à l'émergence de cellules résistantes au Glivec®.

Question posée, objectifs

L'acide rétinoïque tout-trans (ATRA) est un médicament utilisé en clinique pour la thérapie de la leucémie promyélocytaire aiguë. L'équipe a recherché si l'ATRA seul ou en combinaison avec le Glivec® pouvait avoir un intérêt thérapeutique pour la prise en charge de la leucémie chronique à éosinophiles.

Résultats obtenus

Les travaux réalisés montrent que l'ATRA peut provoquer la mort programmée (apoptose) des cellules leucémiques isolées de patients atteints de LCE. De plus, ils mettent en évidence que l'association de l'ATRA avec l'Imatinib Mesylate exerce un effet anti-leucémique plus important que chacune des drogues séparément.

Avancées

La mise en évidence de l'effet anti-leucémique de l'ATRA, seul ou combiné à des médicaments de type Glivec® peut servir de base pour de futures approches thérapeutiques des leucémies chroniques à éosinophiles.

Date de la subvention : 2005 - D. Maraninchi, Inserm UMR 599 et Institut Paoli Calmettes de Marseille

Contexte scientifique

Les syndromes myéloprolifératifs (SMP) sont des maladies du sang et de la moelle osseuse qui évoluent inéluctablement vers une transformation en leucémie aigüe. Les SMP sont dues à des protéines anormales qui sont générées au cours d'échanges entre deux chromosomes distincts appelés translocations. Le SMP le plus fréquent est la leucémie myéloïde chronique due à une translocation qui engendre la protéine BCR-ABL. Mais il existe des SMP dits atypiques qui sont plus rares et impliquent d'autres translocations.

Question posée, Objectifs

La caractérisation moléculaire de nouvelles translocations dans les SMP atypiques permettra de mieux comprendre les mécanismes de la leucémogénèse et ensuite d'adapter les traitements. L'équipe a pour objectif de caractériser les protéines exprimées anormalement dans les cellules des patients et qui pourraient participer à la prolifération non contrôlée de la cellule leucémique.

Résultats obtenus

L'équipe a identifié dans un SMP atypique une translocation particulière qui génère une protéine PCM1-JAK2. Elle a ensuite montré que cette protéine anormale PCM1-JAK2 était exprimée dans plusieurs patients atteints de SMP atypique mais également dans une leucémie aigüe et dans un lymphome. La protéine PCM1 est connue pour son rôle central dans le contrôle de la division cellulaire. Il est probable que la protéine anormale PCM1-JAK2 favorise la prolifération leucémique suite à un dysfonctionnement de la division cellulaire.

Avancées

La protéine PCM1-JAK2 peut être considérée comme une nouvelle cible thérapeutique dans le traitement des SMP atypiques présentant cette translocation.

Date de la subvention : 2005 - M. Mohty, Institut Paoli Calmettes de Marseille

Contexte scientifique

La leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est une maladie rare, avec environ 600 nouveaux cas en France chaque année. Cette maladie se développe le plus souvent chez les personnes âgées (environ 50 ans), mais toutes les tranches d'âge peuvent être touchées. Les développements médicamenteux de ces 10 dernières années ont permis de traiter les patients avec des médicaments appelés «inhibiteurs de tyrosine kinase». Ces médicaments peuvent empêcher l'activité de la protéine anormale BCR-ABL qui est responsable de cette leucémie. Ainsi, les patients qui reçoivent ces médicaments bénéficient d'une longue rémission.

Question posée, Objectifs

En dépit de ces grandes avancées en matière de traitement, les évolutions de la LMC restent très hétérogènes. Certains patients peuvent présenter rapidement une rechute, malgré le traitement. Pour cette raison, il paraît très important de rechercher chez les patients atteints de LMC de nouveaux marqueurs qui permettent de mieux caractériser le pronostic des patients et d'identifier ceux qui répondront mal au traitement.

Résultats obtenus

De nouveaux marqueurs pronostics utiles pour évaluer l'évolution de la LMC ont été définis. Cependant, ils doivent être validés sur d'autres séries de patients.

Avancées

La caractérisation de nouveaux facteurs pronostics de la LMC permet un meilleur ajustement du traitement. Ces marqueurs pourraient aussi être exploités pour améliorer le pronostic d'autres leucémies.

11 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2005-08

Adhésion, prolifération et leucémogénèse.

Date de la subvention : 2005 - S. Manenti, Inserm et CHU de Purpan Toulouse

Contexte scientifique

Dans la moelle osseuse, certaines cellules qui entourent les cellules immatures à l'origine des cellules du sang, produisent des molécules qui restent dans les espaces intercellulaires, constituant une matrice extracellulaire : le microenvironnement médullaire. Cette matrice joue un rôle important dans le devenir des cellules du sang. Dans le contexte des leucémies aiguës myéloïdes (LAM), la matrice extracellulaire contrôle aussi certaines propriétés des cellules leucémiques.

Question posée, Objectifs

Cette équipe étudie l'importance du microenvironnement médullaire sur la prolifération des cellules leucémiques, ainsi que sur leur résistance aux drogues utilisées dans les protocoles thérapeutiques.

Résultats obtenus

Les résultats montrent que les cellules leucémiques ont un niveau de prolifération plus élevé lorsqu'elles interagissent avec des molécules de la matrice extracellulaire. Cette augmentation de la prolifération des cellules est due à l'accumulation d'une protéine qui participe au contrôle de la prolifération, la phosphatase CDC25A. Ces travaux montrent aussi que la kinase Lyn est surexprimée et suractivée dans les LAMs et qu'elle participe à la prolifération anormale de ces cellules. Ils montrent également que la kinase GSK3beta est activée dans ce système et peut constituer une cible thérapeutique potentielle. L'adhésion à la matrice extracellulaire augmente la résistance des cellules leucémiques, en association avec l'effet de facteurs solubles (Wnt) sécrétés par d'autres cellules de la moelle (les ostéoblastes).

Avancées

Les molécules impliquées dans le contrôle de la prolifération et dans les mécanismes de résistance des cellules leucémiques aux drogues sont de nouvelles cibles thérapeutiques et leur caractérisation ouvre de nouveaux champs d'investigation pour de nouvelles drogues thérapeutiques

12 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2005-09

Analyse des mécanismes permettant la génération in vitro de globules rouges humains. Application à la production de masse dans un but transfusionnel.

Date de la subvention : 2005 - L. Douay, Service Hématologie Biologique, Hôpital Trousseau

Contexte scientifique

La transfusion sanguine est dans de nombreuses situations d'urgence et chroniques le seul traitement symptomatique. L'approvisionnement en produits sanguins repose sur le don volontaire. Chaque année, 90 millions de concentrés de globules rouges (CGR) sont collectés et distribués dans le monde. Mais ces dons seront vite insuffisants face à des besoins transfusionnels grandissants, liés en grande partie au vieillissement de la population.

Question posée, objectifs

Devant le risque de pénurie, un enjeu majeur de santé publique est de disposer de sources complémentaires de globules rouges pour la transfusion sanguine. Dans ce contexte, l'équipe a élaboré un protocole expérimental permettant de produire in vitro des globules rouges fonctionnels utilisables à des fins transfusionnelles. Cette production est réalisée à partir de cellules souches hématopoïétiques qui peuvent générer par différenciation des cellules spécialisées comme les globules rouges.

Résultats obtenus

Des cellules souches hématopoïétiques ont été prélevées dans la moelle d'un volontaire sain et ont été cultivées dans des conditions qui leur permettent de se différencier en globules rouges. L'équipe a contrôlé que les propriétés biochimiques et cellulaires de ces globules rouges produits in vitro étaient identiques à celles des globules rouges prélevés chez des donneurs. Elle a aussi vérifié que ces globules rouges produits in vitro ont une survie et un comportement dans l'organisme (transfusion à des souris et transfusion à un premier receveur humain) comparables à ceux des globules rouges transfusés «Classiques ».

Avancées

Cette étude établit la preuve que la génération de globules rouges fonctionnels à partir de cellules souches hématopoïétiques est possible. Cette production doit maintenant être optimisée pour aboutir à une application clinique transfusionnelle, soulevant de véritables problèmes technologiques compte tenu du volume nécessaire à la production d'un nombre élevé de globules rouges.

13 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2005-10

Interactions récepteurs-ligands dans la lyse NK des leucémies aigües myéloblastiques et mise en place d'un essai clinique d'immunothérapie.

Date de la subvention : 2005 - H. Dombret, Hôpital Saint Louis de Paris

Contexte scientifique

Les cellules NK (pour « natural killer » ou cellules tueuses naturelles) sont des lymphocytes qui ont la capacité de reconnaître et de tuer les cellules tumorales. Plusieurs sous-populations de NK sont identifiables par des marqueurs de surface. Deux sous-groupes prédominants de NK sont appelés « CD56bright » et « CD56dim ». CD56 est un récepteur présent à la surface des NK qui reconnaît des protéines présentes à la surface des cellules tumorales. Ces deux sous-groupes ont des propriétés différentes dans leur fonction et leur localisation dans l'organisme.

Question posée, Objectifs

L'objectif était de comparer les caractéristiques fonctionnelles des cellules NK des patients LAM avec celles des cellules de LAM pour déterminer si le profil des marqueurs de surface des NK permettait de prévoir leur capacité à reconnaître les cellules leucémiques et à les éliminer. Ces analyses ont été menées sur 49 patients atteints de LAM au moment du diagnostic et pendant le traitement de la maladie et lors des éventuelles phases de rechute.

Résultats obtenus

Les résultats montrent que la réduction du nombre de récepteurs sur les NK CD56bright au diagnostic est associée à un risque accru de rechute dans un sous-groupe de patients leucémiques. Ces anomalies s'accompagnent d'une efficacité réduite à détruire les cellules tumorales. Le projet a ainsi mis en évidence des anomalies spécifiques des cellules NK CD56bright dans un groupe de patients de mauvais pronostic, ce qui n'était pas connu auparavant.

Avancées

Sur un plan thérapeutique, ces résultats peuvent conduire à des traitements visant à activer spécifiquement la sous-population « CD56bright », par exemple à l'aide de cytokines, comme l'interleukine 15 (IL-15).

14 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2005-11

Registre des neutropénies sévères : Étude de la corrélation génotype phénotype dans le syndrome de Shwachman Diamond.

Date de la subvention : 2005 - G. Leverger et J. Donadieu, Groupe d'étude des neutropénies de l'Hôpital Trousseau

Contexte scientifique

Les neutropénies congénitales sont des maladies rares caractérisées par un déficit chronique en polynucléaires neutrophiles sanguins entraînant un risque infectieux. Ces patients présentent aussi un risque important de transformation leucémique. La plus fréquente de ces maladies est le syndrome de Shwachman-Diamond (SDS) dans laquelle le gène SBDS (Shwachman-Bodian-Diamond syndrome) est muté. Le groupe français a estimé à 30 % le risque de transformation leucémique (résultats publiés en 2005) chez ces malades.

Question posée, objectifs

Ce groupe a tenté de caractériser les facteurs de risque de ces transformations leucémiques.

Résultats obtenus

Les résultats montrent que chez les patients atteints du syndrome de Shwachman-Diamond :

- des complications hématologiques sévères aboutissent à l'apparition de myélodysplasies et de cytopénies réfractaires non clonales,
- le génotype (c'est-à-dire le type exact de mutations) du gène SBDS n'est pas corrélé avec l'apparition de leucémie ou de cytopénies réfractaires,
- une corrélation forte existe entre l'âge au diagnostic (moins de 3 mois ou au-delà de 3 mois), les paramètres hématologiques du diagnostic (taux de neutrophiles, plaquettes et hémoglobine) et le risque de complications hématologiques sévères,
- une corrélation forte est trouvée entre déficit en vitamine A et cytopénie.

Avancées

Les résultats de cette étude montrent que l'évolution du syndrome de Shwachman-Diamond est complexe. Il faut donc classer les patients SDS en groupes de risque et adapter le traitement aux différents groupes.

15 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2005-12

Epidémiologie et impact pronostique des anomalies moléculaires associés aux leucémies aigües myéloblastiques de l'enfant. Etude Ancillaire du protocole ELAM2.

Date de la subvention : 2005 - P. Ballerini et Landran, Groupe LAME, Hôpital Trousseau de Paris et Hôpital Calmette de Lille

Contexte scientifique

Les LAM de l'enfant constituent un ensemble de pathologies complexes, difficiles à guérir. 80 nouveaux cas par an sont répertoriés en France. Beaucoup de progrès ont été enregistrés depuis le début des années 2000 : reconnaissance des anomalies moléculaires touchant la structure des gènes (cassures, délétions, mutations...) et compréhension des mécanismes de régulation de l'expression de l'information génétique. L'analyse cytogénétique des cellules leucémiques - c'est-à-dire l'étude du nombre et de la structure des chromosomes - reste parmi les critères pronostiques de référence et ont permis de définir trois groupes pronostiques des LAM: (1) les leucémies à bas risque, (2) les leucémies de risque intermédiaire et (3) les leucémies à haut risque. Récemment, des études globales du génome et de l'expression génique dans les cellules leucémiques ont donné des nouvelles informations utiles pour (re) définir le profil pathologique de chaque LAM.

Question posée, objectifs

L'objectif principal de cette étude a été d'analyser l'expression de gènes importants pour la prolifération et l'auto-renouvellement de la cellule leucémique et de mesurer si l'expression de ces gènes avaient une valeur pronostique de la réponse de la maladie aux thérapies.

Résultats obtenus

Cette étude confirme le rôle prépondérant des gènes impliqués dans le développement et dans l'auto-renouvellement des cellules souches hématopoïétiques dans la transformation leucémique, notamment des gènes HOXA et B. Par ailleurs, l'importance des gènes SALL4 et BMI1 a été observée. L'expression inappropriée de ces gènes dans les cellules leucémiques, à des taux significativement plus élevés que dans les cellules hématopoïétiques normales, contribue à définir le risque de rechute des LAM de l'enfant.

Avancées

La caractérisation de l'importance des modifications des gènes HOXA et B, SALL4 et BMI1 permet de considérer que ces gènes pourraient être de nouvelles cibles thérapeutiques pour le traitement des leucémies aigües myéloblastiques de l'enfant.

16 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2006-01

Etude de phase II, multicentrique, en ouvert, évaluant la dasatinib chez les patients atteints de leucémie aigüe myéloblastique (LAM) à core binding factor (CBF) résistants à la chimiothérapie conventionnelle ou en rechute moléculaire. Etude DasaCBF.

Date de la subvention : 2006 - N. Ifrah, Intergroupe Français des leucémies aigües myéloblastiques (Groupe ALFA et GOELAMS) et laboratoires d'hématologie des CHU de Lille, Saint Louis de Paris, d'Angers et de Toulouse

Contexte scientifique

Une certaine catégorie de leucémies aigües myéloblastiques (LAM) présente des mutations dans les gènes codant les protéines régulatrices qui font partie du complexe CBF, « core binding factor ». Elles sont appelées LAM-CBF. Par ailleurs d'autres mutations sont retrouvées dans les LAM-CBF. Ce sont des mutations dans les gènes codant des molécules à activité kinase (enzymes qui phosphorylent les molécules régulatrices). Une drogue appelée dasatinib est utilisée dans le traitement de ces pathologies pour inhiber l'activité des kinases.

Question posée, objectifs

Ce projet met en place une étude multicentrique de phase II afin d'évaluer l'efficacité du dasatinib dans le traitement des LAM-CBF.

Résultats obtenus

La mise en place de cette étude, qui fait suite à celle qui a été mise en place en 2006 (LAM-CBF2006) a été réalisée par l'attaché de Recherche Clinique d'Angers. Une convention a été signée par 6 hôpitaux. Des outils ont été mis en place pour optimiser la qualité de l'essai : classeurs investigateurs, procédures d'inclusion (notes d'informations pour le patient), fiches de consentement, procédure d'envoi des échantillons, tableau récapitulatif des résultats...

Avancées

Les résultats de cette étude devraient préciser l'effet de cette drogue dans le traitement des LAM-CBF.

17 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2006-02

Caractérisation des mécanismes de résistance à l'imatinib dans les leucémies aigües lymphoblastiques à chromosome Philadelphie et lors de la progression de la Leucémie Myéloïde Chronique.

Date de la subvention : 2006 - S. Hayette et F. Nicoloni, laboratoire de cytogénétique et biologie moléculaire du CH Lyon Sud et le service d'hématologie clinique du CHU de Lyon

Contexte scientifique

L'imatinib Mésylate (Glivec®) est le premier agent thérapeutique utilisé dans le traitement de la Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) et des Leucémies Aigües Lymphoblastiques possédant le chromosome anormal dit chromosome de Philadelphie, (LAL Ph+). Le Glivec® inhibe l'activité de la protéine BCR-ABL qui est exprimée par le chromosome Philadelphie et est responsable de la leucémogénèse. Cependant, certains patients deviennent résistants au traitement.

Question posée, Objectifs

Ce projet de recherche a pour objectif de caractériser les mécanismes de la résistance au Glivec® pour trouver de nouveaux traitements. Il tente d'évaluer si les kinases SRC, en se substituant à la kinase BCR-ABL, seraient responsables de l'insensibilité des cellules leucémiques à l'IM.

Résultats obtenus

L'équipe a réalisé une analyse quantitative des kinases SRC sur des patients atteints de LMC ou de LAL Phi1, au diagnostic, à la réponse sous Imatinib Mésylate ou lors de la résistance sous Imatinib Mésylate (s'il y a lieu). Cette étude a montré que les kinases SRC sont augmentées lors de l'acutisation (phase de transformation) des LMC et LAL Phi et sont associées à l'acquisition de la résistance à l'Imatinib dans 30% des cas de LMC et 100% des cas de LAL Phi+.

Avancées

Ce résultat pourrait avoir un impact majeur sur le choix de la thérapeutique à administrer aux patients atteints de LMC ou de LAL Phi1. En effet, le dasatinib est un inhibiteur spécifique des SRC et serait donc un nouveau traitement possible lors des phases de transformation et de la résistance au Glivec dans ces pathologies.

18 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2006-03

Notch1 et oncogénèse des Leucémies Aigües Lymphoblastiques T (LAL-T)

Date de la subvention : 2006 - V. Asnafi et H. Dombret, Unité d'Investigation Biologique de l'Hôpital Necker Enfants-Malades et le service d'hématologie adulte de l'Hôpital Saint Louis à Paris

Contexte scientifique

La leucémie lymphoblastique aigüe T (LAL-T) est un cancer du sang qui est caractérisé par la prolifération anormale et le blocage dans la maturation de cellules issues de la lignée lymphocytaire T. Le pronostic de cette maladie reste défavorable, notamment en cas de rechute après traitement.

Question posée, Objectifs

Bien que de multiples anomalies génétiques aient été identifiées dans les LAL-T, elles ne permettent pas d'identifier un sous-groupe de patients et de définir un traitement spécifique pour ce sous-groupe. La caractérisation de nouveaux facteurs pronostiques qui identifient des sous-groupes de patients susceptibles de bénéficier d'un traitement plus adapté est donc un enjeu important de la recherche médicale dans ce domaine. La voie de signalisation en aval des récepteurs NOTCH est activée dans 50% des LAL-T pédiatriques. Cette activation est due à des mutations de NOTCH ou d'un de ses régulateurs FBXW7. L'objectif de ce travail a été d'évaluer l'incidence et l'impact pronostique des mutations de NOTCH et FBXW7 dans les LAL-T de l'adulte.

Résultats obtenus

L'étude réalisée auprès de 141 adultes atteints de LAL-T, montre que 62% d'entre eux présentent des mutations de NOTCH1, 24% présentent des mutations de FBXW7 et 28% n'ont pas de mutations dans ces deux gènes. La détection simultanée de mutations dans les gènes NOTCH et FBXW7 est le facteur le plus étroitement associé à une évolution favorable et a une valeur pronostique supérieure à celle de la détection de NOTCH1 seule.

Avancées

Des mutations dans les gènes NOTCH1 et FBXW7 identifient ainsi un groupe important de patients dont la pathologie présente une évolution favorable. L'identification de ces mutations constitue un facteur de bon pronostic et représente un marqueur clinique utilisable pour une classification thérapeutique des patients LAL-T adultes.

19 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2006-04

Etude des anomalies de l'immunité innée dans les syndromes myélodysplasiques : conséquences physiopathologiques et perspectives thérapeutiques

Date de la subvention : 2006 - A. Caignard, Inserm U753 Institut Gustave Roussy à Villejuif et service d'hématologie clinique de l'Hôpital Avicenne à Bobigny

Contexte scientifique

Les syndromes myélodysplasiques (MDS) constituent un groupe de maladies pré-leucémiques qui présentent des anomalies dans les cellules souches de la moelle osseuse. Les cellules immunes cytotoxiques du sang, notamment les cellules NK, NKT et lymphocytes T $\gamma\delta$, sont capables de reconnaître et de détruire les cellules leucémiques. En effet, les cellules leucémiques synthétisent des molécules modifiées que l'on ne retrouve pas dans les cellules normales. Les cellules cytotoxiques reconnaissent ces molécules modifiées et éliminent les cellules qui les synthétisent.

Question posée, Objectifs

Les cellules cytotoxiques des patients atteints de syndromes myélodysplasiques ont-elles les mêmes propriétés que les cellules cytotoxiques normales ? Sont-elles capables de reconnaître les cellules leucémiques ? La fonction des lymphocytes cytotoxiques T $\gamma\delta$ a été étudiée chez des patients myélodysplasiques.

Résultats obtenus

Les résultats montrent que les lymphocytes T (particulièrement les lymphocytes T $\gamma\delta$) sont en nombre réduit chez certains patients MDS. Ces patients développent une maladie autoimmune résultant de la diminution de la réponse immunitaire. Les lymphocytes prolifèrent très peu chez ces patients, ce qui pourrait expliquer la réduction de leur nombre. Par contre, les lymphocytes T $\gamma\delta$ de ces patients sont cytotoxiques et sécrètent des cytokines qui sont toxiques pour les cellules leucémiques.

Avancées

Ces résultats combinés aux résultats antérieurs de l'équipe montrent que les cellules cytotoxiques du sang prolifèrent moins chez les patients MDS que chez les témoins et qu'une restauration de leur fonction pourrait améliorer leur effet anti-leucémique

20 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2006-05

Etude de la domiciliation des cellules souches leucémiques dans les LAM : rôle et régulation du récepteur CXCR4.

Date de la subvention : 2006 - F. Louache, Inserm U790 Institut Gustave Roussy à Villejuif et le service d'hématologie clinique de l'Hôpital Saint Louis à Paris

Contexte scientifique

La leucémie aigüe myéloïde (LAM) est un cancer des globules blancs qui prend naissance dans la moelle osseuse. Son traitement est basé sur des chimiothérapies. Cependant, trop souvent des rechutes dues à une résistance à ces chimiothérapies sont observées. Il est donc essentiel de comprendre comment se développent les mécanismes de résistance aux chimiothérapies dans les leucémies.

Question posée, Objectifs

Le micro-environnement de la moelle osseuse protège les cellules hématopoïétiques normales ou leucémiques. Un ensemble complexe d'interactions entre des molécules circulantes (cytokines et chemokines) et leurs récepteurs exprimés à la surface des cellules est responsable de la domiciliation des cellules hématopoïétiques dans la moelle osseuse. Un rôle majeur dans cette domiciliation est joué par la chemokine SDF-1 et son récepteur CXCR4.

Résultats obtenus

Pour étudier le rôle du couple CXCR4/SDF1 dans les interactions des cellules de LAM avec la moelle osseuse, un modèle de transplantation de cellules leucémiques dans des souris immuno-déficientes a été utilisé. Il a été montré que l'inhibition de CXCR4 ou de SDF1 dans les cellules greffées entraînait une diminution importante du nombre des cellules de LAM dans la moelle. Ainsi, l'inhibition des interactions des cellules leucémiques avec la moelle permet une éradication des cellules leucémiques.

Avancées

Le blocage de CXCR4 pourrait être une stratégie thérapeutique pour empêcher les cellules leucémiques de résider dans la moelle osseuse et entrainer leur élimination.

21 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2006-06

Recherche d'évènements génétiques impliqués dans la pathogénie de la myélofibrose primitive

Date de la subvention : 2006 - C. Bihou-Nabera et S Giraudier, Laboratoire du CHU du Kremlin-Bicêtre, Inserm U602 Hôpital Paul Brousse à Villejuif et service d'hématologie clinique de l'Hôpital Henri Mondor à Créteil

Contexte scientifique

La myélofibrose primitive est caractérisée par la prolifération clonale des cellules souches/progéniteurs hématopoïétiques. Ces cellules sont présentes dans la moelle osseuse et sont capables de générer les différentes lignées sanguines. La prolifération de ces cellules est associée à une myélofibrose. Aucune mutation spécifique de la maladie qui puisse rendre compte du développement du clone cellulaire pathologique n'avait été identifiée.

Question posée, Objectifs

L'objectif de ce travail était de rechercher des anomalies génomiques qui soient spécifiques des cellules en prolifération et de déterminer les conséquences de ces anomalies sur le plan physiopathologique. Des techniques d'analyse du génome de haute résolution ont été utilisées pour étudier l'ensemble des gènes exprimés dans les cellules pathologiques issues de patients.

Résultats obtenus

Cette étude a identifié une anomalie dans le gène FLT3 dans les progéniteurs hématopoïétiques de patients atteints de myélofibrose primitive. L'équipe a montré que cette anomalie était responsable de la prolifération des progéniteurs hématopoïétiques et constituait ainsi une signature de cette pathologie.

Avancées

FLT3 est une kinase dont l'activité peut être inhibée par certaines drogues. Cette étude incite à considérer que les inhibiteurs de la kinase FLT3 pourrait être une option thérapeutique pour le traitement de la myélofibrose primitive.

22 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2006-07

Caractérisation des voies dépendantes de Ras mises en jeu dans les SMD et LAM secondaires : implication de IEX-1 et PP2A

Date de la subvention : 2006 - F. Porteu et M. Fontenay, Inserm U567 Institut Cochin et service d'hématologie de l'Hôpital Cochin à Paris

Contexte scientifique

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) représentent un groupe de maladies pré-leucémiques qui présentent des anomalies au niveau des cellules souches de la moelle osseuse qui donneront les diverses cellules sanguines. La maladie évolue en général vers une leucémie aigüe. La fréquence de ce syndrome est faible (5/100 000) mais augmente avec l'âge (80/100 000 après 80 ans) et est en constante augmentation depuis plusieurs années. La croissance, la prolifération et la différenciation des cellules immatures de la moelle osseuse sont contrôlées par les facteurs de croissance. Les facteurs de croissance en se fixant sur une cellule envoient une cascade de signaux dite voie de signalisation du facteur de croissance à l'intérieur de la cellule. L'érythropoïétine (EPO) est le facteur de croissance des cellules qui produiront les globules rouges. C'est pourquoi le traitement par l'EPO est le traitement de choix pour les anémies chez les patients porteurs d'un SMD de faible risque. Cependant, seulement 2/3 des patients traités par l'EPO répondent à ce traitement ce qui suggère qu'il existe des mécanismes de résistance au traitement.

Question posée, Objectifs

Certaines pathologies sont associées à une suractivation des voies de signalisation des facteurs de croissance. L'objectif principal de ce projet était d'étudier la réponse des cellules immatures de SMD aux facteurs de croissance. L'hypothèse était que ces facteurs de croissance entraînent une trop forte activation d'une voie de signalisation appelée voie des MAP kinases et de leur cible (IEX-1).

Résultats obtenus

Ces études ont donné des résultats inattendus. Alors qu'une augmentation de l'activation des voies de signalisation des facteurs de croissance était attendue, c'est une diminution de cette activation qui a été observée dans les SMD. En effet, dans une étude prospective de 94 patients SMD de faible risque en intention de traitement par l'EPO, une réduction de l'activation de la voie MAP kinase a été observée chez 38 patients. Ces patients se sont avérés être non-répondeurs au traitement par l'EPO. L'activation d'une autre voie de signalisation, la voie ERK-IEX-1, est aussi diminuée chez les patients. Comme cette voie participe à la réparation des dommages à l'ADN et au contrôle de la stabilité du génome, la diminution de son activation chez les patients SMD, pourrait favoriser l'apparition de mutations et conduire à la transformation leucémique.

Avancées

La mise en place d'une thérapie qui pallie à ce défaut de signalisation peut être considérée comme une nouvelle approche thérapeutique pour les SMD.

23 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2006-08

Etude de la résistance à l'imatinib dans les LMC, recherche de gènes prédictifs de la résistance

Date de la subvention : 2006 - B. Turcq, Laboratoire d'hématopoïèse leucémique et cibles thérapeutiques de l'Université Victor Segalen Bordeaux 2 et le Centre Régional de Lutte Contre le Cancer de Bordeaux et du Sud-Ouest

Contexte scientifique

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est caractérisée par la formation d'un gène de fusion BCR-ABL qui provoque la prolifération des cellules leucémiques. L'Imatinib Mesylate (Glivec®) est une drogue qui inhibe l'activité de BCR-ABL. Pour cette raison, le traitement des patients avec l'Imatinib Mesylate constitue le traitement de référence de cette maladie. Cependant dans 20% des cas, des résistances apparaissent et les patients traités rechutent.

Question posée, Objectifs

L'objectif de ce travail a été de rechercher des gènes prédictifs de la résistance à l'Imatinib afin de pouvoir adapter rapidement le traitement.

Résultats obtenus

Deux gènes prédictifs ont été identifiés dans les cellules de LMC : les gènes codant la défensine alpha 1-3 et la défensine alpha 4. Une étude de l'expression de ces défensines a été réalisée chez des patients qui sont sensibles au traitement par l'Imatinib Mesylate et des patients qui sont résistants à ce traitement. Les résultats montrent que l'expression de la défensine alpha 1-3 et de la défensine alpha 4 est fortement augmentée chez les patients résistants. Alors que la rechute ne peut actuellement être identifiée qu'au moment où l'expression de BCR-ABL augmente, l'augmentation des défensines est détectable 6 mois avant la rechute. Par ailleurs, la mesure du niveau d'expression de ces défensines au moment de l'initiation du traitement permet de distinguer les patients répondeurs des patients qui développeront une résistance au traitement.

Avancées

L'expression des défensines est donc un marqueur précoce de la résistance à l'Imatinib et pourrait être utile pour prédire les patients atteints de LMC qui ne répondront pas au traitement.

24 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2006-09

Eradication des cellules leucémiques résiduelles murines par immunothérapie : établissement d'un modèle pré-clinique

Date de la subvention : 2006 - M. Colin, Inserm U817 de l'Institut de Recherche sur le Cancer de Lille et le Service des Maladies du Sang du CHRU de Lille

Contexte scientifique

Malgré de nombreux progrès réalisés dans la lutte anti-tumorale, les thérapies proposées à ce jour sont souvent inefficaces à long terme. Des cellules résistantes à la chimiothérapie apparaissent et sont responsables de rechutes. Il est donc souhaitable de détruire sélectivement ces cellules. Pour ce faire, de nouvelles technologies, comme la thérapie génique (introduction dans une cellule de molécules d'ADN), sont appliquées aux traitements des cancers.

Question posée, objectifs

Les cellules résistantes échappent à la surveillance immunitaire par l'expression de certaines molécules (B7.1 and B7-H1) ou par des modifications épigénétiques qui aboutissent à la modification de l'expression de certains gènes. L'équipe a donc conçu une approche de thérapie génique en créant des outils pour moduler l'expression des gènes impliqués dans ces mécanismes de résistance.

Résultats obtenus

Un vecteur adéno-viral a été construit. L'équipe a pu montrer que ce vecteur induit spécifiquement l'expression d'un ADN dans un modèle de cellules leucémiques résistantes chez la souris.

Avancées

Il est maintenant nécessaire de développer un modèle animal afin de tester la capacité de ce vecteur à induire la mort sélective de cellules leucémiques résiduelles.

25 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2006-10

Evaluation de la chimiosensibilité au cours du traitement d'induction de la LAM par mesure cinétique de la décroissance des blastes en cytométrie de flux.

Date de la subvention : 2008 - F.Lacombe, Laboratoire d'hématologie CHU de Bordeaux et Service des Maladies du Sang du CHU d'Angers

Contexte scientifique

Les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) sont des cancers des cellules du sang. Dans la moelle osseuse, certaines cellules dites « immatures » doivent se différencier pour produire les cellules de notre sang : globules rouges, plaquettes et globules blancs. Les cellules immatures à l'origine des globules blancs peuvent parfois se transformer et perdre leurs fonctionnalités. Les cellules immatures transformées, appelées « blastes », vont se multiplier activement mais ne donneront pas de globules blancs. A côté des blastes, persistent des cellules immatures normales mais leur fonctionnalité est étouffée par les blastes. Le traitement des LAMs consiste à détruire les blastes transformés tout en préservant les cellules immatures normales, qui pourront de nouveau se différencier. Les LAMs se soignent relativement bien avec les traitements actuels, chez les patients de moins de 60 ans. Au-delà de cet âge, ces traitements lourds et toxiques sont mal tolérés par les patients. La moyenne d'âge concernée par la Leucémie Aigüe Myéloblastique touche majoritairement des patients âgés de plus de 60 ans. Il est donc important d'identifier de nouveaux traitements plus efficaces et moins toxiques.

Question posée, Objectifs

Le but de cette étude a été de tester l'efficacité d'une association de deux drogues dans le traitement des LAMs : - la première molécule bloque une activité enzymatique qui favorise la prolifération des cellules, elle est également utilisée pour le traitement d'autres cancers, - la seconde molécule modifie des protéines qui assurent la survie cellulaire, poussant la cellule traitée vers une mort programmée.

Résultats obtenus

Des modèles cellulaires ainsi que des prélèvements issus de moelle de patients ont été utilisés dans ce travail. Dans les deux cas, l'association de ces molécules à des doses très faibles provoque la mort des cellules leucémiques sans induire de toxicité vis-à-vis des cellules immatures normales. Les mécanismes intra-cellulaires pouvant expliquer ce bénéfice ont été partiellement identifiés, les hypothèses de travail sont en cours de vérification.

Avancées

La combinaison de ces deux molécules permet de les utiliser à des doses suffisamment faibles pour ne pas détruire les cellules immatures normales tout en induisant la mort des cellules leucémiques.

26 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2006-11

Caractérisation de l'instabilité génomique des cellules leucémiques dans le modèle de la Leucémie Myéloïde Chronique. Analyse et compréhension de ses conséquences sur la résistance et la progression de la maladie sous traitement par un inhibiteur de tyrosine kinase, l'Imatinib Mesylate (Glivec®).

Date de la subvention : 2006 - C. Roche-Lestienne, Laboratoire de Génétique médicale, l'INSERM U817 et le Service des Maladies du Sang du CHRU de Lille

Contexte scientifique

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est la première leucémie humaine dont la cause directe a été identifiée. Cette leucémie est due à une anomalie chromosomique (chromosome Philadelphie, Ph) qui génère une protéine tyrosine kinase (dite BCR-ABL) dont l'activité empêche les cellules leucémiques de mourir. Non traitée, la maladie évolue vers une phase d'accélération (crise blastique) caractérisée par la présence de cellules indifférenciées dans le sang. Cette phase aiguë est associée à une instabilité génétique de la cellule souche leucémique.

Question posée, Objectifs

Les patients atteints de LMC sont traités avec l'Imatinib Mesylate, Glivec®, drogue qui inhibe l'activité de BCR-ABL. La crise blastique est associée à une perte de réponse à ce traitement. La caractérisation des mécanismes qui aboutissent à la crise blastique est nécessaire pour de meilleurs ajustements thérapeutiques chez les patients dans la phase aiguë de la maladie.

Résultats obtenus

L'équipe a réalisé une analyse du génome des cellules souches leucémiques prélevées chez des patients atteints de LMC résistants au traitement par l'Imatinib Mesylate ou de patients sensibles à l'Imatinib Mesylate. Des altérations dans plusieurs régions du génome sont associées à la perte de réponse thérapeutique au Glivec®. Cette étude souligne que de multiples altérations génétiques se produisent chez les patients atteints de LMC qui, en association avec l'activité de BCR-ABL, sont responsables de la phase aiguë de la maladie et de l'échappement au traitement de la LMC.

Avancées

Ces altérations moléculaires peuvent être considérées comme des cibles thérapeutiques et ouvrent des perspectives d'amélioration des protocoles thérapeutiques des LMC.

27 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2007-01

Analyse multiparamétrique des leucémies/lymphomes T/NK/Myéloïdes immatures comme modèle de cancers arrêtés proche des cellules souches cancéreuses

Date de la subvention : 2007 - E. Macintyre, Hôpital Necker à Paris

Contexte scientifique

Le traitement d'une leucémie aigüe est déterminé principalement par son appartenance à la lignée lymphoïde ou myéloïde. Cette appartenance est basée historiquement sur la morphologie et la détection des protéines exprimées à la surface, mais l'est de plus en plus par des analyses moléculaires. Cependant, il est fréquent de constater que les cellules immatures de nombreuses leucémies aigües présentent à la fois des caractéristiques lymphoïdes et myéloïdes ce qui rend difficile leur classification et par voie de conséquence l'ajustement du traitement.

Question posée, objectifs

Existe-t-il des marqueurs moléculaires des cellules leucémiques immatures qui permettraient de mieux les caractériser et de mieux adapter le traitement ? Ces marqueurs pourraient être ceux qui ont été caractérisés dans les cellules immatures normales (les LMP pour Lymphoid primed Multipotent Progenitors).

Résultats obtenus

Une analyse multiparamétrique de l'ensemble des gènes exprimés et du génome a été réalisée sur un grand nombre de leucémies immatures. Les résultats montrent que des marqueurs permettent de distinguer les leucémies à cellules dendritiques des leucémies myéloïdes ou lymphoïdes. Des marqueurs permettant de distinguer leucémies lymphoïdes et myéloïdes sont plus difficiles à identifier. Cependant une anomalie a été observée dans le complexe CBF (constitué de RUNX1 et CBFβ) qui est un régulateur majeur de l'hématopoïèse. D'autre part, des modifications de l'état de méthylation (qui reflète l'activité des gènes) ont été observées pour certains gènes dans les leucémies lymphoïdes LAL-T immatures.

Avancées

La capacité à moduler l'état de méthylation des gènes représente une voie prometteuse de traitement des leucémies. Par ailleurs, d'autres marqueurs phénotypiques sont en cours de caractérisation. Ces marqueurs pourraient permettre la réorientation des patients des protocoles LAM et LAL vers des protocoles de leucémies immatures plus appropriés.

28 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2007-02

Fréquence et valeur pronostique des mutations de PAX5 dans les LAL-B de l'adulte

Date de la subvention : 2007 - E. Delabesse, Hôpital de Toulouse

Contexte scientifique

Les leucémies aigües lymphoblastiques B (LAL-B) sont caractérisées par la prolifération non contrôlée de cellules lymphocytaires B bloquées dans la différenciation. Les progrès de la chimiothérapie ont amélioré grandement le pronostic des LAL-B, en particulier chez l'enfant. Les progrès thérapeutiques sont moindres chez les adultes, principalement du fait d'une plus grande toxicité médicamenteuse et de la diversité des mutations trouvées dans ces maladies. Un traitement alternatif à la chimiothérapie est la greffe de moelle osseuse qui permet une guérison définitive dans la majorité des cas, mais est une intervention très lourde. Une meilleure connaissance de la biologie des LAL permettra de définir des marqueurs pronostiques qui pourraient être des outils décisionnels dans le choix du traitement en fonction de ce pronostic.

Question posée, Objectifs

Ces dernières années, le développement des techniques à haut débit pour analyser le génome a permis une analyse systématique des mutations survenant dans le génome des cellules leucémiques au cours du développement de la maladie. Récemment, une étude américaine a montré que le gène PAX5, gène essentiel à la différenciation lymphoïde B, était muté dans 39% des LAL de l'enfant, représentant une des mutations les plus fréquentes de ces leucémies. Ce projet avait pour objectif de déterminer si ces mutations étaient également présentes chez les patients adultes et si ces mutations pouvaient représenter un critère de décision pour les cliniciens entre un traitement de type chimiothérapie ou la greffe de moelle osseuse.

Résultats obtenus

Une série de 117 patients inclus dans le protocole national GRAALL03 visant à améliorer la prise en charge des LAL-B de l'adulte, a été analysée. Elle représente la plus large cohorte de patients adultes étudiée dans le monde. Des mutations de PAX5 ont été détectées dans 34% des patients adultes ce qui est similaire à la fréquence des mutations chez l'enfant. De plus, ces mutations sont de même nature que les mutations de PAX5 décrites dans les LAL de l'enfant.

Avancées

Ces mutations n'ont pas montré de valeurs pronostiques qui permettent de prendre en compte les mutations de PAX5 pour décider du meilleur traitement.

29 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2007-03

Immunothérapie des hémopathies malignes par le clonage du récepteur de la transferrine.

Date de la subvention : 2007 - O. Hermine, Hôpital Necker à Paris

Contexte scientifique

Les leucémies sont dues à la fois à une prolifération non contrôlée et à un blocage de la maturation de cellules immatures présentes dans la moelle osseuse, appelées blastes. Actuellement, les thérapies proposées ciblent la prolifération cellulaire de ces cellules et ne sont pas assez efficaces car de nombreuses rechutes sont observées. Ce projet vise à cibler la maturation des blastes de la moelle osseuse. Le fer est une molécule qui joue un rôle important dans cette maturation. L'équipe a montré que les cellules leucémiques étaient plus sensibles à la privation en fer que les cellules normales.

Question posée, Objectifs

Une privation en fer peut-elle être un moyen de lever le blocage de maturation des blastes leucémiques ? Mieux caractériser les mécanismes de cette sensibilité à la carence en fer des cellules leucémiques ouvrirait la voie à des traitements innovants et mieux tolérés.

Résultats obtenus

L'équipe a montré que les cellules leucémiques peuvent être carencées en fer quand elles sont traitées par des agents chélateurs ou un anticorps qui bloquent l'entrée du fer dans les cellules. Les cellules carencées cessent de proliférer, se différencient et à terme, meurent. Cette stratégie thérapeutique s'est avérée prometteuse chez un patient atteint de leucémie.

Avancées

Ces traitements pourraient être particulièrement efficaces sur les cellules initiatrices de leucémies qui sont à l'origine des rechutes. De plus, un modèle de leucémie au laboratoire a été établi afin de confirmer les hypothèses ainsi que pour tester de nouvelles associations thérapeutiques. Ceci constitue les étapes qui précèdent un essai thérapeutique chez l'homme.

30 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2007-04

Rôle de la Fludarabine sur la niche hématopoïétique.

Date de la subvention : 2007 - V. Maguer-Satta et M. Berger, CHU Clermont-Ferrand et Inserm de Lyon

Contexte scientifique

Les Leucémies Lymphoïdes Chroniques (LLC) sont des leucémies qui touchent les cellules lymphoïdes et atteignent le plus souvent les adultes de plus de 55 ans. Dans 30 à 40% des cas, cette leucémie nécessite un traitement à la Fludarabine qui détruit les cellules leucémiques. Cependant, la Fludarabine semble avoir un effet toxique sur les cellules souches hématopoïétiques. Ces cellules donnent naissance à l'ensemble des cellules du sang. Si les propriétés des cellules souches sont altérées, la production des cellules du sang est modifiée (diminution du nombre de globules rouges ou de globules blancs) et de graves troubles s'en suivent.

Question posée, objectifs

La Fludarabine a-t-elle un effet sur les cellules souches hématopoïétiques normales ? Si ce médicament altérait les cellules souches normales, son utilisation pourrait être remise en cause à moins que la protection simultanée des cellules souches hématopoïétiques normales ne soit possible.

Résultats obtenus

Le traitement des cellules souches hématopoïétiques par la Fludarabine modifie leurs propriétés de migration et d'adhérence. De plus, ce médicament semble être toxique pour les cellules « nourricières » de la moelle osseuse qui entourent les cellules souches hématopoïétiques. Lors de la production des cellules du sang par l'organisme, les cellules souches se décollent des cellules nourricières. Dans le cas d'un traitement par la Fludarabine, les cellules souches hématopoïétiques colleraient de façon anormale aux cellules nourricières de la moelle osseuse et ne pourraient plus générer les cellules du sang. Ces résultats pourraient expliquer la diminution du nombre des cellules du sang observée chez les patients traités par la Fludarabine.

Avancées

Ce résultat souligne l'importance de comprendre les mécanismes d'action de la Fludarabine utilisée comme agent thérapeutique dans les LLC. La Fludarabine est efficace pour tuer les cellules leucémiques, mais elle peut modifier les propriétés de migration et d'adhérence des cellules souches hématopoïétiques qui sont nécessaires à la production de toutes les cellules du sang. Pallier cet inconvénient est donc un enjeu majeur pour la thérapie de ces leucémies.

31 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2007-05

Résistance des cellules leucémiques lymphoïdes chroniques-B dans la cytotoxicité cellulaire dépendante du Rituximab.

Date de la subvention : 2007 - A. Quillet-Mary, Hôpital Purpan de Toulouse

Contexte scientifique

Ce travail porte sur les Leucémies Lymphoïdes Chroniques-B (LLC-B). Cette leucémie touche les cellules lymphoïdes de type B (lymphocytes B). 2500 nouveaux cas en France sont détectés chaque année. Le traitement standard de cette maladie associe une chimiothérapie (Fludarabine + cyclophosphamide) et le rituximab, un anticorps monoclonal (FCR). Cependant un nombre important de rechutes est observé après ce traitement.

Question posée, objectifs

Ce projet vise à mettre en place un diagnostic qui serait établi très tôt après le début du traitement. Ce diagnostic étant plus fiable aiderait à l'orientation thérapeutique. Deux questions sont posées :

- L'évolution du nombre des différentes cellules du sang dans les 2 ans qui suivent le traitement est-elle corrélée à l'évolution de la maladie ?
- L'existence d'une population de cellules leucémiques résistantes aux traitements est-elle un indicateur prédictif de la rechute ?

Résultats obtenus

Si, un an après arrêt du traitement, la proportion de cellules leucémiques dans le sang des patients traités est supérieure à 1%, il y a de fortes chances de rechute. Une population de cellules résistantes à la chimiothérapie a été identifiée, cette population est responsable de la rechute de la maladie. Ces cellules résistantes sont en cours de caractérisation.

Avancées

La détection de cellules leucémiques ainsi que de la population cellulaire résistante dans le sang des patients, 1 an après le traitement, est un indicateur de la rechute de la maladie. L'étape suivante consiste à rechercher un moyen d'éradiquer cette population cellulaire résistante à la chimiothérapie, ce qui constituerait un progrès important dans le traitement des LLC-B.

32 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2007-06

Etude et caractérisation de l'effet des agents modulant l'épigénétique sur la voie de la signalisation NF-KappaB dans les syndromes myélodysplasiques

Date de la subvention : 2005 - G. Kroemer, Institut Gustave Roussy à Villejuif et Hôpital Avicenne à Bobigny

Contexte scientifique

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des états pré-leucémiques du sujet âgé qui évoluent dans 30% des cas en leucémie aigüe myéloblastique (LAM). Le traitement des SMD est dans l'ensemble assez décevant particulièrement dans les SMD de « haut risque ». L'allogreffe de cellules souches reste le seul traitement curatif, mais n'est accessible qu'aux patients suffisamment jeunes et ayant un donneur familial. Il a été montré qu'une voie de signalisation* (appelée voie de signalisation NF-KappaB) impliquée dans le contrôle de la mort cellulaire était anormalement activée dans les cellules de patients atteints de SMD.

Question posée, objectifs

Une nouvelle approche thérapeutique pourrait être d'empêcher l'activation de cette voie de signalisation. Une molécule, la 5-azacytidine (AZA) qui agit sur les protéines de cette voie de signalisation NF-KappaB et inhibe son activation est actuellement utilisée dans le traitement des SMD. L'équipe a cherché à caractériser le mode d'action de cette molécule.

Résultats obtenus

Les résultats de cette équipe ont confirmé que le traitement par l'azacytidine induisait la mort cellulaire en inhibant la voie de signalisation NF-KappaB. Par ailleurs, ils ont caractérisé une molécule qui serait responsable de l'activation de cette voie de signalisation. Il s'agit d'une kinase* appelée ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) qui joue un rôle dans la réparation de l'ADN. Ces travaux suggèrent que l'azacytidine aurait un effet à la fois sur la mort cellulaire et sur la réparation de l'ADN.

Avancées

La molécule ATM pourrait être une nouvelle cible thérapeutique dans les syndromes myélodysplasiques.

Date de la subvention : 2007 - J.J. SOTTO, Hôpital de Lille, Hôpital de Nîmes pour les groupes ALFA et GOELAMS

Contexte scientifique

Les LAM caractérisées par les anomalies cytogénétiques: t(8;21) qui implique les chromosomes 8 et 21 ou inv(16) qui implique le chromosome 16 constituent un sous-groupe de leucémies (groupe CBF) qui sont considérées comme de relativement bon pronostic. En effet, elles présentent un taux élevé de Rémission Complète (RC), plus élevé comparativement aux autres sous-groupes de LAM. Néanmoins, 30 à 50 % de ces patients rechutent, une fréquence qui reste trop élevée. Des mutations dans les gènes KIT, RAS et FLT3 ont été caractérisées dans les LAM du groupe CBF et semblent associées à un mauvais pronostic.

Question posée, Objectifs

Le protocole CBF-2006 a été élaboré par les deux principaux groupes français impliqués dans le traitement des LAM (ALFA et GOELAMS) pour réaliser la première étude internationale sur un grand nombre de patients atteints de LAM de type CBF. Le but est de déterminer si les mutations dans les gènes KIT, FLT3 ou RAS ont une valeur pronostique de rechute.

Résultats obtenus

200 patients traités de façon homogène ont été inclus dans ce protocole. L'analyse des mutations a pu être réalisée sur 194 d'entre eux. Cette étude confirme l'incidence élevée de ces mutations au sein des LAM-CBF (environ 50% des LAM avec t(8;21) et les 75% des LAMs avec inv(16) sont mutées). Parmi ces mutations, seules les mutations de FLT3 ont une valeur pronostique indépendante (augmentation du risque de rechute).

Avancées

La recherche des mutations de FLT3 au diagnostic d'une LAM-CBF devrait permettre de cibler au mieux les indications thérapeutiques, en particulier en ce qui concerne la réalisation d'une greffe allogénique en première rémission complète.

Date de la subvention : 2007 - F. Pfumio, Hôpital Cochin et Hôpital Trousseau à Paris

Contexte scientifique

Les leucémies aigües lymphoblastiques T ont un pronostic qui reste péjoratif malgré des avancées majeures dans les traitements. Ces leucémies sont hétérogènes d'un point de vue cellulaire et génétique au diagnostic et à la rechute. Elles contiennent des populations de cellules qui diffèrent par leur degré d'agressivité. L'agressivité des cellules est définie par leur capacité à proliférer en culture in vitro et à former des tumeurs quand elles sont greffées dans des souris dépourvues de défense immunitaire.

Question posée, Objectifs

Des marqueurs qui permettent de distinguer les différents types de cellules ont été recherchés dans un modèle de leucémie aigüe lymphoblastique T obtenu par greffe des cellules leucémiques dans des souris immunodéficientes.

Résultats obtenus

L'équipe a montré que la transplantation des cellules leucémiques dans des souris immunodéficientes était un bon modèle pour l'étude des leucémies aigües lymphoblastiques T. Ce modèle permet d'étudier les différentes populations cellulaires leucémiques. De plus, cette équipe a montré que l'expression concomitante de deux protéines (CD34 et CD7) à la surface des cellules leucémiques permettait de discriminer les populations de cellules leucémiques les plus agressives.

Avancées

Ces modèles de greffe de cellules leucémiques dans les souris immunodéficientes sont intéressants pour tester de nouvelles thérapies qui permettraient d'empêcher le développement et la rechute de la maladie.

35 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2007-09

Etude, dans les syndromes myéloprolifératifs, des rôles respectifs de Stat5 a et b et du potentiel thérapeutique que représente leur régulation par la voie PPAR/ Stat5.

Date de la subvention : 2007 - S. Prost, Hôpital de Versailles et Hôpital Saint Louis à Paris

Contexte scientifique

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est une affection clonale qui touche la cellule souche hématopoïétique. Les cellules leucémiques expriment la protéine BCR-ABL qui a une activité tyrosine kinase. C'est pourquoi les inhibiteurs d'activité tyrosine kinase (ITKs) constituent actuellement le traitement de référence de la LMC. Toutefois, la faible sensibilité des cellules souches leucémiques (CSL) aux ITKs ne permet pas leur élimination. Il en résulte la mise en place d'une maladie résiduelle et la rechute des patients à l'arrêt du traitement. Par conséquent, une guérison complète passe par le développement de stratégies thérapeutiques qui, en association avec les traitements par les ITKs, seraient capables de tuer les cellules souches leucémiques.

Question posée, Objectifs

Les protéines STAT5 sont nécessaires à la fonction de la protéine BCR-ABL et au maintien des cellules souches leucémiques. L'équipe avait précédemment décrit que la Pioglitazone permettait une diminution de l'expression de STAT5 dans les cellules leucémiques. L'objectif est actuellement de déterminer si la Pioglitazone est efficace pour réduire les cellules souches leucémiques de patients au diagnostic.

Résultats obtenus

En utilisant des tests de culture in vitro, il a été observé que la Pioglitazone diminuait la proportion de CSLs et avait un effet thérapeutique qui s'ajoutait à celui des ITKs. Plus précisément, la Pioglitazone permet d'éliminer le groupe des CSL « quiescentes » qui sont naturellement résistantes aux ITKs. Ces travaux in vitro ont constitué le rationnel biologique pour le lancement d'un essai clinique de phase II (ACTIM), piloté par le Professeur Philippe Rousselot, qui vise à étudier l'efficacité de l'association d'un ITK (Glivec®) et de la pioglitazone (Actos®) pour la réduction de la maladie résiduelle de patients atteints de LMC et traités par le Glivec®.

Avancées

Le traitement de patients atteints de LMC avec une combinaison de Pioglitazone + ITK permet d'envisager la suppression de la maladie résiduelle et le risque de rechute associé au traitement par les ITKs seuls.

36 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2007-10

Dysrégulation du couple télomères-téломérase dans la leucémogénèse : applications diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques.

Date de la subvention : 2007 - E. Wattel, Hôpital Ed Herriot de Lyon

Contexte scientifique

Les réarrangements chromosomiques et génétiques caractérisent les cellules du clone leucémique. Ces anomalies acquises sont favorisées par un raccourcissement anormal ou une absence de protection des télomères. Les télomères sont les extrémités des chromosomes. Une enzyme, la télomérase, est responsable du maintien de la longueur des télomères. Si les télomères sont trop courts ou mal protégés, des fusions télomériques peuvent se produire lorsque la cellule se divise ce qui aboutit à un nombre anormal de chromosomes dans les cellules filles. Dans les cellules leucémiques avec réarrangements chromosomiques, les télomères sont significativement plus courts que dans les cellules ayant un caryotype normal. D'autre part, l'activité de la télomérase, est différente selon le type de la leucémie.

Question posée, objectifs

Le projet consiste à étudier les facteurs impliqués dans la protection des télomères, l'activité de l'enzyme télomérase et les modifications moléculaires créées par les anomalies chromosomiques dans les cellules de patients atteints de leucémie aigüe.

Résultats obtenus

Ce groupe a mis en évidence une molécule (DEK) qui régule le niveau d'expression de l'enzyme télomérase dans les LAM, les LMC et les LLC. Les mécanismes d'action de cette molécule DEK ont été étudiés. De plus, le groupe a montré que le niveau d'expression de l'enzyme télomérase est corrélé à la réponse à la chimiothérapie et à la survie.

Avancées

La longueur des télomères ainsi que le niveau d'expression de l'enzyme télomérase constitue un facteur pronostique des LAM mais aussi dans d'autres types de leucémies. Les molécules régulatrices qui modulent la longueur des télomères et l'activité télomérase pourraient être de nouvelles cibles thérapeutiques.

37 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2007-11

Expression et mécanismes d'activation du gène EVI1 dans les LAM de l'enfant

Date de la subvention : 2007 - H. Lapillonne, Hôpital Trousseau et Hôpital Saint Louis à Paris

Contexte scientifique

Les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) de l'enfant ont de mauvais pronostic, les patients présentant une survie globale inférieure à 60%. L'analyse cytogénétique des cellules de moelle reste l'élément pronostique essentiel dans cette pathologie mais les différents groupes cytogénétiques établis sont très hétérogènes.

Question posée, Objectifs

Le gène EVI1 code pour un régulateur de la mégacaryopoïèse, processus biologique qui génère les plaquettes du sang. Plusieurs études ont montré qu'une augmentation de l'expression de ce gène, et donc une plus grande quantité de la protéine dans les cellules cancéreuses, était associée à un risque élevé d'évolution défavorable des cancers. Les questions étaient de déterminer si l'expression de EVI1 était augmentée dans les LAM de l'enfant et d'évaluer son intérêt pronostique.

Résultats obtenus

L'expression du gène EVI1 a été analysée dans une cohorte de LAM pédiatriques. Dans un des sous-groupes cytogénétiques, 27% présentent une augmentation de l'expression de EVI1. Une association avec certains critères moléculaires de mauvais pronostic déjà connus a été trouvée. Par contre, il n'a pas été observé de différence en terme de survie dans les LAM qui présentent une hyperexpression de EVI1.

Avancées

Il existe un groupe de LAM pédiatriques qui peut être caractérisé par une hyperexpression de EVI1 et qui semble associé à des critères cliniques et biologiques de mauvais pronostic.

38 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2007-12

Etude de la reconstitution précoce des cellules NK après greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques.

Date de la subvention : 2007 - A. Caignard et J. Henri Bourhis, Institut Gustave Roussy à Villejuif

Contexte scientifique

Les cellules Natural Killer (NK) sont des lymphocytes capables de tuer d'autres cellules et qui jouent un rôle important dans l'immunité. Ces cellules participent notamment au rejet de la greffe (effet GVL) lors de la transplantation de cellules souches hématopoïétiques (CSH) allogéniques (dans le cas de la greffe allogénique ou allogreffe, donneur et receveur sont différents mais compatibles) chez les patients leucémiques. Les cellules NK suscitent un grand intérêt car elles sont capables de détruire les cellules cancéreuses, dont les blastes leucémiques. De plus, elles sont les premières cellules lymphoïdes à reconstituer le système immunitaire après une greffe de CSH.

Question posée, Objectifs

Chez les patients atteints de LAM, la fonction des cellules NK est fortement altérée, ce qui pourrait réduire l'efficacité de la reconstitution hématopoïétique après greffe. Pour mieux comprendre le rôle des cellules NK au cours de la reconstitution immune après greffe, le comportement de ces cellules chez des patients ayant une leucémie myéloïde aiguë (LAM) et ayant reçu une greffe de CSH allogénique a été analysé.

Résultats obtenus

La fonction et la morphologie des cellules NK ont été étudiées chez 35 patients LAM, 30 et 60 jours après la greffe de CSH. Le statut des NK a été mesuré par leur capacité à détruire des cellules leucémiques in vitro et par la mesure de certaines de leurs activités fonctionnelles. Au jour 30, après greffe de CSH, les NK de patients LAM sont fonctionnelles. Au jour 60 après la greffe, une diminution de l'activité des NK est observée spécifiquement chez les patients LAM. Ceci suggère qu'une augmentation de l'activité des NK après greffe de CSH allogéniques est importante pour la réussite de la transplantation.

Avancées

Chez les patients atteints de LAM, une modulation précoce de l'activité des cellules NK pourrait améliorer l'effet de la greffe de CSH allogéniques.

Réponse des cellules souches leucémiques à l'hypoxie : étude de la prolifération, du cycle cellulaire et de l'apoptose induite par des chimiotoxiques.

Date de la subvention : 2007 - V. Praloran, CHU de Bordeaux

Contexte scientifique

A l'état normal, les cellules souches de la moelle osseuse sont maintenues à des concentrations basses en oxygène (hypoxie) ce qui leur permet de rester à l'état de quiescence, phénomène essentiel à leur survie lors d'agressions externes.

Question posée, objectifs

Quel est le rôle de l'hypoxie dans la résistance primaire des cellules souches leucémiques (CSL) aux chimiothérapies usuelles ? En effet, certaines rechutes de leucémies pourraient être dues à la persistance dans la moelle de CSL quiescentes, insensibles à la chimiothérapie. L'équipe a donc mis au point un système de culture des cellules souches leucémiques à basse pression d'oxygène afin d'étudier le rôle de l'hypoxie dans le maintien des cellules souches à l'état de quiescence au cours de la résistance aux chimiothérapies.

Résultats obtenus

Le travail a été réalisé sur les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL). Il a montré que une forte hypoxie (0,1% d'O₂) induisait la quiescence des cellules souches de LAL comme elle le fait pour les CSH normales. Par ailleurs, par des techniques de culture et après greffe à des souris immunodéficientes, il a été montré que les CSL quiescentes résistaient au 5-Fluoro-Uracile alors que cette drogue détruit les cellules qui prolifèrent.

Avancées

Ce projet se poursuit avec l'analyse des mécanismes de la quiescence des CSL en hypoxie pour explorer des voies permettant d'agir spécifiquement sur ces cellules en quiescence sans toxicité pour les CSH.

Recherche de facteurs prédictifs de la réponse à l'azacytidine et à l'érythropoïétine dans les syndromes myélodysplasiques de l'adulte : étude génomique et épigénomique à haut débit.

Date de la subvention : 2008 - C. Preudhomme et P. Fenaux, Hôpital Avicenne de Bobigny et CHRU de Lille

Contexte scientifique

Les syndromes myélodysplasiques sont des pathologies des sujets âgés, qui évoluent fréquemment vers une leucémie aiguë difficile à traiter. Les syndromes myélodysplasiques sont associés notamment à une anémie récidivante nécessitant des transfusions régulières de globules rouges. L'efficacité des transfusions peut être améliorée par un traitement par l'érythropoïétine et/ou par l'azacytidine.

Question posée, objectifs

L'objectif de cette étude était de rechercher par une analyse systématique de tout le génome des patients, l'existence d'anomalies génétiques et de mutations ponctuelles qui pourraient être prédictives d'une meilleure réponse à l'azacytidine.

Résultats obtenus

Ces études génétiques ont été réalisées chez les patients atteints de myélodysplasie qui sont dépendants des transfusions et sont traités avec l'érythropoïétine seule ou l'azacytidine seule ou une combinaison d'érythropoïétine et d'azacytidine. Les études génétiques ont été corrélées avec les données cliniques afin de déterminer si certaines anomalies sont associées à une meilleure efficacité et /ou une efficacité prolongée du traitement par l'azacytidine.

Avancées

Cette étude est la première étude génétique à grande échelle, menée en parallèle avec une étude clinique thérapeutique rigoureuse chez les patients atteints de myélodysplasies qui pourrait permettre de prédire une réponse favorable à l'azacytidine.

41 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2008-02

Analyse du profil d'expression des micro-ARNs dans les LAL-T de l'enfant : étude des relations entre les facteurs SCL/TAL1, HOX11L2/TLX3 et les miARNs dans le développement des LAL-T et sur l'activité des cellules souches leucémiques T (CSL-T)

Date de la subvention : 2008 - Irina NAGUIBNEVA, CEA à Fontenay aux roses

Contexte scientifique

Les leucémies aiguës lymphoblastiques T (LAL-T) constituent 10 à 15 % des LAL diagnostiquées chez les enfants. Elles résultent de la transformation maligne des thymocytes qui génèrent les lymphocytes T. Environ 50% des LAL-T présentent des altérations spécifiques dans les gènes codant pour les facteurs de transcription TAL1 et TLX3. Les microARNs (miR) sont des petites molécules d'ARN qui participent à la régulation de l'expression des gènes. La dérégulation des miRs est associée au développement de nombreuses pathologies humaines. Ils représentent de nouveaux marqueurs diagnostiques de la pathologie.

Question posée, Objectifs

Cette étude propose d'étudier le rôle des miR dans la transformation maligne des thymocytes dans les LAL-T. L'expression de 3 miR : miR125b, miR99a et miR100 est augmentée dans les LAL-T qui présentent une altération de TLX3. Elle est détectée dans les thymocytes et diminue quand ces cellules se différencient.

Résultats obtenus

Ces travaux montrent que TLX3 contrôle l'expression des miR125b, miR99a et miR100. Ils indiquent que le rôle de miR-125b est d'augmenter le nombre des cellules T en accroissant leur prolifération et en diminuant leur mort. Par ailleurs, l'inhibition de TLX3 qui contrôle l'expression de miR-125b ou la suppression de miR-125b inhibe la prolifération des cellules leucémiques.

Avancées

Ces résultats établissent un lien original entre l'altération du facteur de transcription TLX3 et l'augmentation de miR-125b qui est associé à la prolifération des cellules leucémiques. Ils démontrent la contribution des miRNAs à la transformation leucémique des thymocytes et permettront de déterminer si les miRNAs constituent des cibles thérapeutiques potentielles.

42 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2008-03

Réponses des cellules souches leucémiques à l'hypoxie : études de la prolifération, du cycle cellulaire et de l'apoptose induite par chimiothérapie.

Date de la subvention : 2007 - V. Praloran et A. Pigneux, CHU de Bordeaux

Contexte scientifique

Dans la moelle osseuse, certaines cellules dites « immatures » doivent se différencier pour produire les cellules du sang : globules rouges, plaquettes et globules blancs. Dans la moelle osseuse des patients atteints de leucémies aiguës myéloblastiques (LAM), les cellules immatures appelées « blastes » se transforment, se multiplient activement et perdent leurs capacités à se différencier pour former les globules blancs. A côté des blastes, persistent des cellules immatures normales, mais leurs fonctionnalités sont étouffées par les blastes.

Question posée, Objectifs

Le traitement de la LAM consiste à détruire les blastes transformés tout en préservant les cellules immatures normales, qui pourront de nouveau se différencier pour former les cellules du sang. La leucémie aiguë myéloblastique touche majoritairement des patients âgés de plus de 60 ans. Les LAM se soignent relativement bien avec les traitements actuels, pour les patients de moins de 60 ans. Au-delà de cet âge, ces traitements lourds et toxiques sont mal tolérés par les patients. Il est donc important d'identifier de nouveaux traitements plus efficaces et moins toxiques.

Résultats obtenus

Au cours de cette étude, les effets de l'association de deux molécules ont été étudiés. La première molécule bloque une activité enzymatique qui favorise la prolifération des cellules. Elle est connue pour son efficacité dans d'autres cancers. La seconde molécule pousse la cellule traitée vers la mort en modifiant les interactions entre les protéines qui assurent la survie cellulaire. Ces deux molécules ont été utilisées à des doses suffisamment faibles pour ne pas induire de toxicité vis-à-vis des cellules immatures normales tout en potentialisant la mort des cellules leucémiques. Les effets de ces deux molécules associées sur des cellules de LAM cultivées in vitro et sur des prélèvements issus de moelles de patients en culture ont été analysés. Dans les deux cas, l'association de ces molécules à des doses très faibles induit la mort des cellules leucémiques. Les mécanismes intra-cellulaires pouvant expliquer ce bénéfice sont en cours d'étude.

Avancées

L'association de ces deux molécules à faible dose permet de traiter les patients. Ce traitement est mieux toléré par le patient tout en étant efficace pour tuer les cellules leucémiques.

Analyse de la valeur pronostique et du rôle fonctionnel de SUZ12 dans les leucémies aigües myéloïdes (LAM) à caryotype normal de l'adulte.

Date de la subvention : 2008 - C. Chabannon, Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy et Institut Paoli-Calmettes de Marseille

Contexte scientifique

Les leucémies sont des cancers affectant les cellules de la moelle osseuse qui produisent les cellules du sang. L'objectif de ce travail était d'identifier de nouveaux marqueurs pronostiques pour les leucémies aigües myéloïdes (LAM) à caryotype normal de l'adulte qui représentent environ la moitié des leucémies aigües de l'adulte. Ce groupe de leucémies est très hétérogène : certains patients ont une maladie de bon pronostic alors que d'autres développent des formes plus graves. L'agressivité de ces leucémies ne peut être prédite au diagnostic car les chromosomes des cellules leucémiques sont normaux.

Question posée, Objectifs

Certaines protéines modifient l'ADN sans en altérer la séquence. Elles participent ainsi au contrôle de l'expression des gènes. Ces modifications qui sont indépendantes de la séquence de l'ADN et sont transmissibles constituent une signature épigénétique. Les méthyl-transférases (par exemple SUZ12) font partie de ces protéines. La question était de rechercher si une signature épigénétique pouvait permettre l'identification de nouveaux marqueurs pour adapter le traitement à l'agressivité de la maladie, et ce dès le diagnostic.

Résultats obtenus

L'équipe a utilisé des techniques d'analyse du génome à haute résolution pour caractériser la signature épigénétique des cellules de LAM à caryotype normal. Ce travail a permis de définir une signature épigénétique qui distingue les leucémies de bon pronostic des leucémies de mauvais pronostic. L'intérêt de cette signature épigénétique est en cours de confirmation dans une cohorte de patients plus importante que le groupe initial.

Avancées

L'utilisation de ce marqueur laisse entrevoir une meilleure prévision du pronostic de ces leucémies et donc une amélioration du traitement en fonction de leur agressivité.

Développement d'une thérapie différenciatrice CD44 ciblée des leucémies aigües myéloïdes (LAM)

Date de la subvention : 2008 - F. Smadja-Joffe, Hôpital Saint Louis de Paris et CHU de Nantes

Contexte scientifique

Les LAM5 représentent un sous-groupe de leucémies aigües myéloïdes (LAM). Les LAM5 sont caractérisées par l'accumulation dans la moelle osseuse et le sang de cellules monoblastiques très indifférenciées. Les LAM5 répondent mal à la chimiothérapie et sont de mauvais pronostic. L'équipe avait montré précédemment que la molécule CD44 qui est à la surface des cellules monoblastiques leucémiques peut être reconnue par un anticorps spécifique anti-CD44. La liaison de CD44 par l'anticorps anti-CD44 provoque la différenciation des cellules leucémiques en monocytes et représente une possibilité de thérapie par différenciation des LAM5.

Question posée, Objectifs

Dans le but d'optimiser cette thérapie, l'équipe a étudié les mécanismes impliqués dans la différenciation des cellules leucémiques en monocytes qui est induite par la fixation de l'anticorps anti-CD44 sur sa cible.

Résultats obtenus

L'équipe a montré que la fixation de l'anticorps anti-CD44 sur sa cible induit la production par la cellule leucémique des cytokines qui sont nécessaires à la différenciation des monoblastes leucémiques en monocytes différenciés. Elle a ensuite recherché si l'action différenciatrice des anticorps anti-CD44 a lieu dans toutes les LAM ou seulement dans certains types de LAM. Des blastes représentatifs d'un éventail des différents sous-types de LAM ont été traités par des anticorps anti-CD44. Ce traitement a induit leur différenciation. La production de cytokines différenciatrices par ces différents types de blastes est en cours d'analyse.

Avancées

Ces travaux suggèrent que de telles cytokines différenciatrices pourraient améliorer la thérapie des LAM5.

Date de la subvention : 2008 - Jean Soulier – André Baruchel - Hôpital Saint-Louis, Paris

Contexte scientifique

Les leucémies des grands enfants et des adolescents sont rares et, de ce fait, moins bien connues que celles des jeunes enfants. Elles sont aussi plus difficiles à guérir.

Question posée, objectifs

Les travaux de cette équipe avaient pour objectif de rechercher les anomalies génomiques à l'origine de ces leucémies aigües lymphoblastiques de la lignée B (LAL-B) des adolescents en employant de nouvelles technologies d'analyse du génome (de l'ADN).

Résultats obtenus

Les résultats ont permis d'identifier une nouvelle anomalie récurrente, une microdélétion (une petite partie du chromosome est absente) touchant le gène ERG. Cette délétion a été observée chez 29 des 897 enfants âgés de 1 à 17 ans traités pour des LAL-B. La microdélétion d'ERG définit un nouveau sous-type distinct de LAL-B présentant des caractéristiques particulières et un excellent taux de guérison.

Avancées

Cette nouvelle anomalie génomique est maintenant recherchée systématiquement dans le bilan diagnostique de routine. Elle a permis de progresser dans l'évaluation du risque de rechute et dans l'adaptation du traitement des LAL-B.

Date de la subvention : 2008 - E. Cramer, Hôpital Cochin à Paris

Contexte scientifique

Les plaquettes sanguines ont pour fonction principale l'arrêt rapide du saignement. La thrombopénie ou diminution des plaquettes s'accompagne d'un syndrome hémorragique. Elle peut être une complication sévère des leucémies et être également une conséquence des chimiothérapies anti-cancéreuses. Les plaquettes sont produites par les mégacaryocytes qui sont des cellules géantes présentes dans la moelle osseuse.

Question posée, Objectifs

Comment les plaquettes sont-elles libérées dans le sang, quels sont les mécanismes impliqués et peut-on influencer cette libération ?

Résultats obtenus

Cette équipe a montré que 3 paramètres influençaient la libération des plaquettes dans le sang:

- la présence de cellules stromales qui adhèrent aux mégacaryocytes et empêchent la libération des plaquettes,
- la présence des cellules endothéliales sur les parois des vaisseaux sanguins qui favorisent la libération,
- les forces physiques de la circulation sanguine qui aident à la libération. Des analyses en vidéo-microscopie ont montré que les mégacaryocytes, qui sont des cellules ayant plusieurs noyaux, se divisent sous l'influence du flux sanguin et que chaque partie du mégacaryocyte peut produire des plaquettes de nature différente.

Avancées

La compréhension des mécanismes régulant la formation des plaquettes permettra de contrôler ou d'influencer le nombre de plaquettes produites. Ainsi, dans les cas d'insuffisance plaquettaire (thrombopénie) souvent associée aux chimiothérapies, il sera possible de stimuler la formation de plaquettes pour aider les patients thrombopéniques.

47 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2008-09

Etude des mécanismes moléculaires responsables des syndromes myéloprolifératifs : rôle des mutations de TET2 dans les syndromes myéloprolifératifs

Date de la subvention : 2008 - F. Delhommeau, INSERM U790 Institut Gustave Roussy Villejuif et Hôpital St Antoine, Paris

Contexte scientifique

Les syndromes myéloprolifératifs (SMP) sont caractérisés par la sur-production de certaines cellules du sang dans la moelle osseuse. Cette équipe a mis en évidence la présence de mutations du gène TET2 dans les SMP et dans d'autres cancers du sang comme les leucémies aiguës myéloïdes. TET2 est une enzyme qui modifie une des bases de l'ADN. Les mutations du gène qui code pour la protéine TET2 modifient la fonction de la protéine, ce qui a des répercussions sur l'expression de gènes importants pour la formation des cellules du sang.

Question posée, Objectifs

Le projet est de mieux comprendre la fonction de TET2. Deux questions sont posées : (1) quelle est la fréquence des mutations de TET2 chez les patients atteints de SMP et dans quelles cellules de la moelle osseuse ces mutations sont-elles présentes ? (2) quelles sont les anomalies des propriétés des cellules souches hématopoïétiques quand la protéine TET2 est supprimée ?

Résultats obtenus

Les mutations de TET2 ont été recherchées dans une cohorte de 706 patients atteints de SMP. La fréquence des mutations de TET2 est de 13% dans l'ensemble des SMP, mais elle monte à 20% dans les formes les plus graves. Ces mutations sont présentes dans des cellules immatures de la moelle. Elles sont donc des événements précoces qui surviennent très tôt dans la maladie.

Avancées

Les mutations de TET2 pourraient participer à la fois à l'initiation des SMP et à leur évolution en leucémie aiguë. La connaissance des anomalies moléculaires qui caractérisent les SMP permettrait de développer des stratégies thérapeutiques ciblant celles qui initient la maladie en même temps que celles qui en déclenchent les symptômes.

48 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2009-01

Mutations et valeur pronostique de TET2 dans la LMC et les LAM

Date de la subvention : 2009 - C. Preudhomme / F. Guilhot- Hôpital Saint Louis de Paris et CHRU de Lille

Contexte scientifique

Parmi les hémopathies myéloïdes, on peut distinguer biologiquement et cliniquement, les leucémies myéloïdes chroniques (LMC), les syndromes myéloprolifératifs (SMP), les syndromes myélodysplasiques (SMD) et les leucémies aiguës myéloïdes (LAM). Dans chacune de ces entités des anomalies moléculaires ont été identifiées comme la translocation chromosomique BCR-ABL dans la LMC et des mutations de NPM1 dans les LAM. Ces anomalies moléculaires sont considérées comme responsables de la maladie.

Question posée, Objectifs

Récemment des mutations dans les gènes TET2, IDH1/2, DNMT3a, ASXL1 ont été caractérisées dans les SMD et SMP. Ces gènes codent pour des protéines qui provoquent une modification chimique (méthylation) de l'ADN qui conditionnera l'expression des gènes. Cette étude avait pour but de déterminer la fréquence de ces mutations et leur valeur pronostique dans la LMC et les LAM.

Résultats obtenus

Les résultats montrent que dans la LMC, les mutations de TET2 et IDH 1/2 sont très rares. Par contre des mutations de ASXL1 sont trouvées dans 7% des LMC, mais elles sont sans impact sur le pronostic. Des mutations de TET2, IDH1/2 et DNMT3a sont trouvées dans les LAM qui ont déjà une mutation de NPM1. Elles sont associées à un mauvais pronostic. Ainsi, cette observation justifie l'option thérapeutique d'une allogreffe de moelle osseuse chez les patients porteurs de ces mutations.

Avancées

Ces résultats établissent que les mutations dans les gènes IDH1/2 et DNMT3a sont fréquentes dans le groupe des LAM mutées pour NPM1. En raison de leur valeur pronostique, la détection de ces mutations a été incluse dans le protocole 0701 qui concerne les LAM des patients âgés de 50-70 ans.

49 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2009-02

Implication de la voie de la glutamine et des acides aminés essentiels dans la biologie des leucémies aigües myéloïdes

Date de la subvention : 2009 - Didier Bouscary, Hôpital Cochin de Paris

Contexte scientifique

Les traitements actuels des leucémies aigües myéloïdes (LAM) reposent le plus souvent sur une chimiothérapie intensive et, chez les sujets jeunes, sur les procédures d'auto-greffe ou d'allo-greffe. Les principales voies de recherche actuelles, dans le domaine des LAM, recherchent des altérations moléculaires qui pourraient constituer des cibles pour des traitements spécifiques.

Question posée, Objectifs

Le glucose et la glutamine sont des éléments nutritifs essentiels à la croissance et à la survie des cellules. Leur utilisation par les cellules cancéreuses est dérégulée dans certains cancers. L'objectif de ce travail a été d'étudier le rôle de la glutamine dans la survie des cellules leucémiques de patients atteints de LAM.

Résultats obtenus

Les données montrent qu'une privation brutale en glutamine provoquée par un composant chimique : l'asparaginase, entraîne la mort des cellules leucémiques. La glutamine pénètre dans la cellule en se liant à son récepteur exprimé à la surface des cellules. La suppression de ce récepteur entraîne les mêmes effets que la privation en glutamine, confirmant l'importance de la glutamine pour la survie des cellules leucémiques. Les recherches en cours ont pour objectif de comprendre le mécanisme de la mort cellulaire induite par la privation en glutamine.

Avancées

Ces données nouvelles montrent l'intérêt potentiel de l'asparaginase dans le traitement des LAM. Elles amènent aussi à rechercher des molécules capables d'inhiber le métabolisme de la glutamine dans la cellule et qui pourraient constituer de nouveaux outils thérapeutiques.

50 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2009-03

Caractérisations biologique et clinique de l'infection par l'herpesvirus humain de type 6-B après allogreffe de sang placentaire : cibles cellulaires, influence du profil de reconstitution immunitaire et conséquences cliniques.

Date de la subvention : 2009 - BM Imbert-Marcille et P Chevallier, CHU de Nantes

Contexte scientifique

Les allogreffes (cellules greffées prélevées chez une autre personne que le donneur) de cellules souches hématopoïétiques représentent un des traitements des patients atteints de leucémies. Ces allogreffes exposent le patient à différents risques et notamment à des infections bactériennes et virales. La fréquence de ces infections peut être influencée par le type de greffon. En particulier, les greffes de sang placentaire (encore appelé sang de cordon) semblent être associées à une haute fréquence de ces infections.

Question posée, Objectifs

Parmi les virus concernés, l'herpesvirus humain de type 6 (HHV6) a été découvert récemment. Pour mieux comprendre les conséquences de cette infection virale, 65 patients ayant reçu une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques pour traiter un cancer hématologique ont été étudiés.

Résultats obtenus

La moitié de ces patients a été greffée à l'aide d'un sang placentaire et l'autre moitié par des cellules souches provenant du sang périphérique d'un donneur non familial. Chez ces patients, différents paramètres viraux (présence ou non du virus dans le sang, et quantité), paramètres immunologiques et hématologiques (types et quantité de cellules présentes dans le sang) ont été suivis tous les 15 jours pendant les 6 mois suivant la greffe. Les conséquences de l'infection pour le patient, notamment en terme de durée d'aplasie et de besoins en transfusions, de prise de la greffe, de rechute, de survenue de complications, telles qu'une maladie du greffon contre l'hôte ou d'autres infections ont été déterminées. Les résultats montrent que les infections HHV6 sont beaucoup plus fréquentes après allogreffe de sang placentaire. 84% des patients ayant reçu une greffe placentaire sont infectés alors que seulement 23,5% des patients de l'autre groupe développent une infection HHV6. Cette augmentation se traduit par des durées d'infection plus longues dans le groupe « cordon ». De plus, les patients infectés ont des durées d'aplasie plus longues et des besoins de transfusion plus importants que les patients non infectés. Quant à l'étude immunologique, elle montre que les types cellulaires qui apparaissent progressivement après la greffe diffèrent en fonction du type de greffon. En particulier, chez les patients « cordons », un des types cellulaires capables de produire de l'HHV6 (lymphocytes T CD4+) est présent plus précocement et en quantités plus importantes après la greffe.

Avancées

Cette étude montre le lien entre l'infection HHV6 et la greffe de sang placentaire. Dans la mesure où ces greffes sont de plus en plus pratiquées, la question qui se pose maintenant est de savoir si l'administration d'un traitement antiviral aurait un intérêt pour limiter notamment la durée de séjour en secteur stérile et le nombre de transfusions.

51 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2009-04

Cellules souches de leucémie myéloïde chronique (LMC) : nouveaux marqueurs prédictifs de résistance et d'instabilité génétique

Date de la subvention : 2009 - A. Turhan, Universités de Poitiers et Paris XI

Contexte scientifique

Dans la leucémie myéloïde chronique (LMC), les cellules malignes sont caractérisées par la présence d'une anomalie chromosomique : le chromosome Philadelphie qui est responsable de la survenue de cette leucémie. Des médicaments dits « thérapies ciblées » ont été développés qui touchent uniquement les cellules leucémiques et permettent aujourd'hui des rémissions chez quasiment tous les malades.

Question posée, Objectifs

Si les cellules leucémiques ne sont pas éradiquées rapidement, des résistances peuvent survenir. Elles sont dues à des anomalies génétiques supplémentaires, avec notamment des mutations qui empêchent les médicaments de trouver leur cible. Par ailleurs, les « cellules souches » à l'origine de la maladie sont très rares et difficiles à identifier. Elles doivent cependant être totalement éliminées afin que l'arrêt du traitement chez les patients qui semblent guéris, ne conduise pas à des rechutes de la leucémie.

Les objectifs de ce travail étaient de développer des techniques qui permettent (1) de comprendre la survenue des mutations sous thérapies ciblées (2) d'identifier et de quantifier les cellules souches leucémiques.

Résultats obtenus

Cette étude montre que les cellules souches leucémiques persistent en effet chez les patients en rémission complète, un test pour les identifier a été mis au point. Le but est maintenant de déterminer si ce test peut être utilisé pour des décisions d'arrêt du traitement.

Avancées

S'il existait une corrélation entre la présence des cellules souches leucémiques et la rechute de la LMC, ce test permettrait de prendre une décision quant à l'arrêt des traitements, coûteux et parfois difficiles à tolérer.

52 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2009-05

Fréquence et valeur pronostique de nouvelles mutations récemment décrites dans les LAL-B de l'adulte (protocole GRAALL03)

Date de la subvention : 2009 - Eric Delabesse, CHU de Toulouse

Contexte scientifique

Les leucémies aiguës lymphoblastiques de la lignée B (LAL-B) résultent à la fois d'un blocage de la différenciation des cellules immatures de la moelle osseuse (cellules à l'origine des cellules du sang) et d'une prolifération incontrôlée.

Question posée, objectifs

De nouvelles mutations dans les gènes des cellules d'enfants atteints de LAL-B ont été décrites. Le projet consiste à étudier si ces nouvelles mutations existent aussi dans les LAL-B de l'adulte et à déterminer si ces mutations ont une valeur pronostique.

Résultats obtenus

46 LAL-B de l'adulte ont été analysées. La fréquence d'une délétion (disparition d'un morceau d'ADN) de certains gènes (EBF1, IKZF1, ADD3 et RB1) ou d'une région génique (région 13q14) est plus élevée dans les LAL-B de l'adulte que dans celles de l'enfant. Cependant il n'a pas été retrouvé de corrélation entre la présence ces délétions (EBF1, IKZF1, ADD3 et RB1) et la survie des patients. La seule valeur pronostique retrouvée concerne les gènes CDKN2A et CDKN2B.

Avancées

L'analyse de ces mutations n'a pas permis de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques innovantes ni d'identifier de mutations à valeur pronostique.

53 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2009-06

Inhibition du facteur de transcription leucémogène, HoxA9, dans les leucémies aigües myéloblastiques par des ligands spécifiques de l'ADN

Date de la subvention : 2009 - MH David-Cordonnier / C. Preudhomme, Inserm et CHRU de Lille

Contexte scientifique

Les leucémies aigües myéloblastiques (LAM) sont des cancers des cellules du sang. Dans la moelle osseuse, les cellules immatures à l'origine des cellules du sang, peuvent parfois se transformer et perdre leur fonction. Dans ce cas, elles ne généreront plus les cellules fonctionnelles du sang. Les LAMs se soignent relativement bien par des traitements de chimiothérapie ou par des greffes de moelle. Cependant ces traitements lourds et toxiques sont le plus souvent mal tolérés par les patients. Il est donc important d'identifier de nouveaux traitements plus efficaces et moins toxiques. Plusieurs groupes de recherche ont trouvé que les cellules leucémiques de patients atteints de LAM contenaient une protéine HoxA9 qui pourrait être à l'origine de la transformation leucémique. Cette protéine est trouvée spécifiquement dans les cellules leucémiques et pas dans les cellules normales.

Question posée, Objectifs

Cette équipe recherche de nouveaux moyens pour supprimer la fonction de la protéine HoxA9 dans les cellules leucémiques. HoxA9 se fixe sur des séquences spécifiques de l'ADN pour induire la synthèse d'autres protéines. Empêcher HoxA9 de se fixer sur l'ADN permettrait d'éliminer les effets de la protéine anormalement exprimée et de transformer les cellules cancéreuses en cellules saines. L'équipe a développé des molécules chimiques de synthèse capables de se fixer sur les cibles ADN à la place de la protéine HoxA9.

Résultats obtenus

Des petites molécules synthétiques qui lient la séquence d'ADN sur lesquelles se fixe HoxA9 ont été synthétisées. Ces molécules entrent en compétition avec HoxA9 et empêchent sa fixation à l'ADN. Ainsi, HoxA9 ne peut plus agir dans les cellules leucémiques.

Avancées

L'utilisation de molécules chimiques ciblant des molécules actives dans la transformation leucémique constitue une approche intéressante. Supprimer les effets biologiques de la protéine HoxA9 paraît spécialement intéressant dans la mesure où cette protéine n'est exprimée que dans les cellules leucémiques..

54 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2009-07

Étude génétique et fonctionnelle des syndromes myéloprolifératifs atypiques

Date de la subvention : 2009 - E Lippert, CHU de Bordeaux et de Toulouse

Contexte scientifique

Dans les « syndromes myéloprolifératifs » (SMP), les cellules immatures de la moelle osseuse prolifèrent de façon anormale mais se différencient normalement en cellules matures. On observe donc dans cette pathologie un excès de cellules matures. Par contre dans les myélodysplasies (SMD), la différenciation est anormale, asynchrone, entraînant la mort prématurée de nombreuses cellules. Il existe un groupe de maladies qui associent à la fois des caractéristiques myéloprolifératives et myélodysplasiques, ces pathologies sont appelées « syndromes myéloprolifératifs atypiques » (SMPa).

Question posée, Objectifs

Le but de ce travail est de déterminer les anomalies moléculaires spécifiques des pathologies SMPa. Dans les SMP ou SMD classiques, les gènes codant des tyrosine-kinases, enzymes indispensables à la prolifération cellulaire, sont modifiés. Par contre, dans la majorité des cas de SMPa, les gènes codant ces tyrosine-kinases sont normaux, il faut donc rechercher d'autres types d'anomalies.

Résultats obtenus

Récemment, il a été montré que des petits ARNs (micro-ARN) jouaient un rôle dans la régulation de l'expression des gènes. Ce travail a montré que le micro-ARN (miR10) joue ce rôle de régulateur de l'expression génique et que son expression est très anormale dans les SMPa. Cette anomalie pourrait donc être responsable d'une dérégulation de l'expression de plusieurs gènes dans les SMPa.

Avancées

Ces travaux participent à une meilleure compréhension du rôle des petits ARN dans les phénomènes de transformation. Actuellement, le développement de nouvelles drogues ciblant ces petits ARN dans des cellules de patients atteints d'hémopathie est en pleine expansion. Ces travaux permettent d'envisager de nouvelles cibles thérapeutiques dans les SMPa.

Etude des cibles des protéines PLZF/RARA et PLZF en relation avec les protéines du groupe polycomb dans les leucémies aigües myéloïdes

Date de la subvention : 2009 - E. Duprez, Institut Paoli-Calmettes de Marseille

Contexte scientifique

Dans un grand nombre d'hémopathies malignes, les protéines du groupe Polycomb ou PcG sont modifiées. Ces protéines jouent un rôle important dans la régulation de l'expression génique. En induisant ou réprimant spécifiquement l'expression de certains gènes, elles sont particulièrement importantes pour le développement du corps et pour l'identité et la survie des cellules du sang.

Question posée, objectifs

Ce laboratoire a montré que la protéine de fusion anormale PLZF/RARA qui est exprimée dans les cellules de patients atteints d'une forme de leucémie aigüe, se lie aux protéines Polycomb. En conséquence, la protéine PLZF/RARA modifie l'activité des protéines Polycomb, provoquant leur fixation anormale sur certains gènes dont l'expression est ainsi modifiée. Ce projet vise à identifier les gènes cibles des protéines Polycomb dont l'expression est modifiée quand les PcG sont liées à la protéine de fusion PLZF/RARA dans les cellules leucémiques.

Résultats obtenus

Les gènes cibles des protéines Polycomb liées par la protéine PLZF/RARA ont été identifiées. Leur régulation anormale par les protéines Polycomb pourrait être responsable de la mauvaise réponse de ces malades aux traitements. Un défaut similaire de fixation des protéines Polycomb sur les gènes a été retrouvé dans d'autres types de leucémies aigües myéloïdes.

Avancées

La compréhension du rôle de la protéine de fusion PLZF/RARA est une avancée significative dans la compréhension des mécanismes de leucémogénèse. L'intérêt clinique et biologique de ces modifications doit être confirmé.

Identification de facteurs biologiques de stratification thérapeutique dans les leucémies aigües lymphoblastiques T (LAL-T) de l'adulte (protocole GRAAL05)

Date de la subvention : 2009 - V. Asfani / H.Dombret, Hôpital Necker et Hôpital Saint Louis à Paris

Contexte scientifique

Les leucémies aigües lymphoblastiques T (LAL-T) sont des cancers rares de l'adulte jeune. Ils correspondent à une prolifération incontrôlée des cellules immatures du tissu sanguin.

Question posée, objectifs

La compréhension des mécanismes moléculaires de transformation des cellules normales en cellules cancéreuses ont fait de grands progrès. Cependant, il faut identifier les mutations qui seraient responsables de la résistance à la chimiothérapie et associées à un fort risque de rechute. Une analyse extensive des différentes mutations géniques qui pourraient être à l'origine de la rechute a été réalisée dans une large série de LAL-T.

Résultats obtenus

Les résultats ont montré que dans 70% des LAL-T, il existe une mutation dans le gène codant la protéine NOTCH1 et/ou la protéine FBXW7. La présence de ces mutations constitue un bon pronostic pour la réponse au traitement.

Avancées

Il est donc maintenant possible de réaliser une classification des LAL-T basée sur la présence ou non de ces mutations et d'adapter le traitement.

57 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2009-10

Etude des interactions lymphocytaires fonctionnelles au sein des ganglions de patients atteints de Leucémie Lymphoïde Chronique.

Date de la subvention : 2009 - Nadine Varin-Blank - Université Paris 13 - Bobigny

Contexte scientifique

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est due à une accumulation des lymphocytes B dans la moelle, le sang, la rate et les ganglions lymphatiques.

Question posée, objectifs

Pourquoi les lymphocytes B de LLC s'accumulent-ils dans les ganglions ? Quels sont les mécanismes mis en jeu ? Peut-on, grâce à des techniques de marquage spécifique des lymphocytes, visualiser et suivre les différents types de cellules présentes dans le sang et dans les ganglions au cours de la maladie et au cours de traitements.

Résultats obtenus

L'équipe a montré que plusieurs protéines contribuaient à l'accrochage et à la migration au sein des ganglions. L'expression de ces protéines est modulée, de manière coordonnée, en fonction de la gravité de la maladie. Les cellules des patients les plus évolutifs sont retenues dans les ganglions qui servent de sorte de réservoir de cellules tumorales. La structure des ganglions des patients est altérée et provoque la rétention des cellules.

Avancées

Les protéines impliquées dans l'accrochage et la migration dans les circuits ganglionnaires pourraient être de nouvelles cibles thérapeutiques. En ciblant ces protéines, il serait possible d'augmenter la remise en circulation des cellules lymphocytaires tumorales, ce qui pourrait les rendre accessibles aux traitements comme l'immunothérapie .

58 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2010-01

Caractérisation transcriptomique d'une sous-population chimio-résistante dans la leucémie lymphoïde chronique.

Date de la subvention : 2010 - A. Quillet-Mary - Inserm U563 - Toulouse

Contexte scientifique

La leucémie lymphoïde chronique B (LLC-B) est la leucémie la plus fréquente en Occident chez l'adulte. La maladie résulte de l'accumulation dans le sang, la moelle osseuse et les tissus lymphoïdes, de lymphocytes monoclonaux d'apparence normale. Les mécanismes moléculaires intervenant dans la physiopathologie de la LLC-B sont mal connus et les rechutes après chimiothérapie sont fréquentes.

Question posée, objectifs

Il existe une sous-population de cellules extrêmement chimiorésistantes au sein des cellules tumorales qui serait à l'origine des rechutes. L'équipe tente de mettre en évidence des protéines qui seraient présentes en quantité anormale (augmentation ou diminution) dans les cellules de cette sous-population cellulaire. Cette modification du niveau de certaines protéines dans la cellule pourrait être à l'origine du cancer.

Résultats obtenus

Plusieurs protéines anormalement exprimées dans les cellules issues de cette sous-population cellulaire ont été caractérisées et leur rôle potentiel dans la LLC-B est en cours d'étude.

Avancées

Ces marqueurs spécifiques des cellules souches cancéreuses à l'origine de la LLC-B pourraient être la cible de nouvelles thérapies. Ces thérapies cibleraient spécifiquement les cellules chimiorésistantes à l'origine de la tumeur.

Date de la subvention : 2010 - Dr MJ Mozziconacci- Institut Paoli-Calmettes- Marseille

Contexte scientifique

Le développement des leucémies myéloïdes est associé à l'apparition d'un certain nombre de mutations dans des gènes connus. Actuellement, des études systématiques du génome des cellules leucémiques sont menées pour caractériser le plus grand nombre de gènes mutés qui participent au développement de ces pathologies.

Question posée, objectifs

Le but de ce projet était d'identifier et de caractériser de nouvelles molécules participant à la survenue des leucémies myéloïdes. Il devrait contribuer à une classification plus précise et plus pointue de ces maladies, permettant de trouver de nouveaux facteurs pronostiques et de nouveaux traitements.

Résultats obtenus

Par les stratégies de séquençage à haut débit qui permettent une analyse globale de l'ensemble des gènes d'une cellule, des mutations au niveau de plusieurs gènes ont été identifiées. Ces mutations et leur fréquence ont été caractérisées dans différentes catégories de leucémies myéloïdes. En particulier, les mutations du gène ASXL1 ont pu être associées à un pronostic défavorable dans certaines de ces leucémies.

Avancées

La recherche systématique de ces mutations pourrait faire partie des analyses réalisées dans ces pathologies au diagnostic et favorisera le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques avec combinaison de drogues.

Date de la subvention : 2010 - Nathalie DROIN – Inserm – Institut Gustave Roussy – Villejuif

Contexte scientifique

La LMMC se caractérise par une accumulation dans la moelle des os, le sang et souvent la rate d'une forme particulière de globules blancs appelés monocytes. Cette leucémie n'est pas très fréquente. Elle touche les personnes âgées (l'âge moyen au diagnostic est 72 ans). A l'heure actuelle il n'existe aucun traitement curateur, même si la décitabine stabilise, voire améliore la survie des patients.

Question posée, objectifs

Dans la LMMC, les cellules souches hématopoïétiques portent au moins une et souvent plusieurs mutations. Le pronostic est d'autant plus mauvais que le nombre de mutations est grand. Existe-t-il des marqueurs génétiques spécifiques de la LMMC et si oui, quelle est la valeur pronostique de ces marqueurs ?

Résultats obtenus

En collaboration avec le groupe francophone des Myélodysplasies (GFM), un essai clinique a confirmé l'efficacité de la décitabine chez 40% des patients atteints de LMMC. Par ailleurs, ce travail suggère que les expressions des gènes c-JUN et c-MYB pourraient constituer des marqueurs de la LMMC. D'autre part, l'étude des mutations du gène ASXL1 montre que ces mutations sont un facteur de mauvais pronostic.

Avancées

Un score pronostique a été établi à partir de 5 variables (âge, taux d'hémoglobine, le nombre de plaquettes et de globules blancs, mutation ASXL1). Ce score permet d'identifier les patients les plus graves et de proposer un traitement approprié.

61 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2010-04

Recherche par analyse de la séquence de l'ensemble des exons de nouveaux gènes mutés dans les syndromes myélodysplasiques humains

Date de la subvention : 2010 - O. Bernard, Inserm U985 - Institut Gustave Roussy-Villejuif

Contexte scientifique

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) humains évoluent généralement en leucémies aiguës. Cette évolution est caractérisée par l'acquisition de mutations. L'identification de ces mutations et l'analyse de la chronologie de leur apparition au cours du développement de la maladie sont des étapes majeures dans la mise en place de thérapies ciblées.

Question posée, objectifs

Le projet a pour but d'identifier les mutations acquises dans les SMD et d'analyser leur dynamique d'apparition au cours de l'évolution du syndrome myélodysplasique en leucémie aiguë pour un même patient. Cette étude devrait permettre de comprendre comment se produit l'évolution des SMD en leucémies aiguës.

Résultats obtenus

Dans un premier temps, les chercheurs ont recherché les mutations existantes dans 18 gènes décrits comme étant mutés chez les patients atteints de SMD. 70 % des 221 patients analysés ont des mutations dans l'un de ces 18 gènes. Cette étude, qui doit être élargie à 350 patients dans le cadre d'un PHRC, montre par ailleurs, que les mutations des gènes BCOR et BCORL1 détectées dans certaines cellules de la moelle au début de la maladie, ont un impact défavorable sur le pronostic. Dans une deuxième approche, utilisant le séquençage à haut débit, la séquence des gènes des cellules tumorales et des cellules non tumorales a été comparée chez 48 patients. L'analyse met en évidence 10 mutations différentes par patient, plusieurs mutations peuvent être présentes dans une même cellule tumorale et certaines mutations ne sont présentes que dans une fraction des cellules de la moelle.

Avancées

Le dépistage précoce des mutations dans les SMD permet d'évaluer au mieux le pronostic en complément de l'index international de pronostic (IPSS-R) et ainsi d'élaborer la meilleure stratégie de traitement.

62 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2010-05

Leucémies Aigües Promyélocyaires induites secondairement à un traitement anticancéreux : Recensement des cas, analyse clinico-biologique et identification de mécanismes moléculaires de leucémogénèse.

Date de la subvention : 2010 - Christine Chomienne, Hôpital Saint-Louis - Paris et Pierre Fenaux, Hôpital Avicenne - Bobigny

Contexte scientifique :

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) se développent fréquemment suite au traitement d'un autre cancer. La Leucémie Aigüe Promyélocytaire ou LAP est un sous-type de LAM. Elle est due à une cassure chromosomique qui provoque l'association des gènes PML et RARA. Elle est notamment induite (LAPi) chez les patients ayant eu un cancer du sein traité avec le Mitoxantrone.

Question posée, objectifs :

Une première étude de l'équipe portant sur une cohorte de 106 patients, atteints de LAPi, a incité à réduire l'utilisation du médicament Mitoxantrone dans le traitement des cancers. Cependant, la proportion de formes induites de LAP reste importante et rend nécessaire de nouvelles études pour comprendre les mécanismes moléculaires de la rechute en LAPi.

Résultats obtenus :

Les cas de LAPi ont été recensés dans une cohorte de 280 patients inclus dans le protocole national APL2006. Parmi les 42 patients atteints de LAPi qui ont été identifiés, la proportion des LAPi faisant suite à un cancer du sein est élevée (35%) et la proportion de LAPi faisant suite à un cancer de la prostate est forte (26%). Une approche moléculaire a été mise au point, pour caractériser le point exact de la cassure chromosomique à l'origine des LAPi. Un test en levure qui permet d'étudier la stabilité génétique de la région de l'ADN dans laquelle survient la cassure chromosomique a été mis au point et a permis de montrer que cette région de l'ADN présente une instabilité spécifique qui est en partie à l'origine des LAPi. Cette région de l'ADN pourrait présenter des sensibilités différentes à subir des cassures selon le type de traitement reçu par le patient.

Avancées

Ce test pourra désormais être utilisé pour étudier plus particulièrement l'impact des traitements anticancéreux dans la survenue de la cassure chromosomique à l'origine des LAPi.

Rôle de la protéine CD34, des récepteurs NOTCH et de la voie ERK/MAPK dans le développement des LAL-T humaines, en particulier pour l'activité des cellules initiant les leucémies.

Date de la subvention : 2010 - Françoise Pflumio - Commissariat à l'Energie Atomique et aux énergies alternatives, Paris

Contexte scientifique

Les leucémies aiguës lymphoblastiques T (LAL-T) sont des leucémies qui touchent les lymphocytes. Au cours du développement des LAL-T, des populations hétérogènes de cellules apparaissent qui diffèrent par leur agressivité. Elles peuvent être distinguées par la présence de certaines protéines à la membrane cellulaire. Le laboratoire a développé des conditions pour étudier ces cellules humaines soit en culture in vitro, soit dans des souris sans système immunitaire.

Question posée, objectifs

L'objectif est de déterminer quels sont les facteurs génétiques et les facteurs moléculaires qui déterminent l'apparition des différentes cellules leucémiques au cours du développement des LAL-T.

Résultats obtenus

Pour effectuer ce travail, un réseau de collaboration avec des médecins de la région parisienne et lyonnaise a été mis en place afin d'avoir accès à des cellules leucémiques ainsi qu'à des plasmas (extraits sanguins sans cellules) de malades. L'équipe a détecté des différences génétiques entre les cellules agressives et les cellules moins agressives des LAL-T. Elle a identifié un facteur, appelé interleukine 18 (IL18) qui a la capacité de stimuler la croissance des cellules de LAL-T à la fois en culture in vitro et in vivo lorsque les cellules sont greffées dans les souris. Ce facteur appartient à la famille des facteurs proinflammatoires et les patients atteints de LAL-T en produisent plus que les personnes normales. Quand les cellules de LAL-T sont greffées à des souris, les cellules leucémiques peuvent elles-mêmes entraîner la production de ce facteur par la souris. Les études en cours tentent de déterminer le site et les cellules responsables de la production de ce facteur.

Avancées

La présence du facteur IL18 pourrait s'avérer être un facteur pronostique important pour les patients atteints de LAL-T.

Recherche de profils d'expression protéique des lymphoblastes de moelle osseuse, en relation avec les facteurs pronostiques des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) de l'enfant

Date de la subvention : 2010 - O. Costa – Faculté de Médecine et de Pharmacie - Rouen

Contexte scientifique

Actuellement, la gravité de la leucémie LAL de l'enfant est évaluée, en fonction de l'âge, selon les critères suivants : nombre de globules blancs dans le sang et altérations chromosomiques.

Question posée, objectifs

De nouveaux marqueurs devraient permettre de mieux appréhender la gravité de la maladie et de proposer une meilleure thérapie. La comparaison de l'ensemble des protéines exprimées dans les cellules saines et dans les cellules leucémiques pourrait apporter des éléments pour comprendre la cause de la maladie. L'analyse qualitative et quantitative des protéines présentes dans les cellules leucémiques et dans les cellules normales a été réalisée.

Résultats obtenus

Les protéines exprimées par les cellules leucémiques ont été analysées chez 13 patients. 6 protéines ont une expression qui est différente entre les cellules leucémiques et les cellules normales. 4 sont en quantité plus grande (la Calponine 2, la PSMB2, la P1TP et l'HSPC263) et 2 sont en quantité plus faible (la Protéine Kinase CK2 et la Septine). Actuellement, l'équipe développe des tests pour quantifier rapidement ces protéines dans les lymphoblastes des patients et étudie la relation entre la quantité de ces protéines et l'évolution de la maladie.

Avancées

Ces résultats identifient de nouveaux marqueurs qui pourraient être utilisés comme facteurs pronostic de l'évolution clinique des LAL. Ils peuvent permettre de déceler précocement un risque évolutif défavorable associé à une trop forte expression des protéines décrites. Ces protéines pourraient être la cible de nouvelles thérapies.

Constitution d'un centre de ressources biologiques national destiné à la recherche de facteurs prédictifs de la GvHD

Date de la subvention : 2010 - Régis Peffault de Latour et Boris Calmels, CRYOSTEM, Hôpital Saint Louis - Paris

Contexte scientifique :

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) est le seul traitement curatif de nombreuses maladies du sang (leucémie, lymphome, aplasie médullaire). Une allogreffe ou greffe allogénique est une greffe faite dans un receveur avec des cellules d'un donneur.

Une complication majeure de ce traitement est la réaction du greffon contre l'hôte (GVH) qui survient dans plus de 50% des cas et la GVH est la première cause de décès après greffe.

Question posée, objectifs :

Une cohorte nationale a été créée (CRYOSTEM) avec le soutien de la Société francophone de greffe de moelle et de Thérapie cellulaire. Cette cohorte associe 33 des 36 unités de greffe françaises et 23 centres de ressources biologiques. Les objectifs sont :

- 1- La constitution d'une collection d'échantillons biologiques homogènes et de qualité associés à des données cliniques,
- 2- La mise à disposition de la communauté scientifique, académique et industrielle de ces échantillons pour des études de grande envergure sur les complications de l'allogreffe de CSH.

Résultats obtenus :

Aujourd'hui, CRYOSTEM dispose de 200 000 échantillons issus de 5000 patients et 2000 donneurs traités de manière standardisée. 3000 échantillons ont été valorisés dans des projets de recherche qui étudient les facteurs prédictifs de la GVH.

Avancées :

A terme, cette étude conduira à l'amélioration de la prise en charge des patients allogreffés grâce à une meilleure compréhension des complications de la GVH, au développement de tests de diagnostic et à de nouvelles thérapeutiques.

Caractérisation des gains du bras court du chromosome 2 (2p) par SNP-array dans les leucémies lymphoïdes chroniques stades Binet B/C.

Date de la subvention : 2010 - Florence Nguyen Khac - Laurent Sutton - Hôpital Pitié-Salpêtrière- Paris et Hôpital Victor Dupouy – Argenteuil.

Contexte scientifique

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la plus fréquente des leucémies de l'adulte dans les pays occidentaux. Elle est caractérisée par la prolifération clonale et l'accumulation de lymphocytes B matures dans le sang, la moelle osseuse, les ganglions et la rate. Les événements oncogéniques (modifications de l'ADN qui conduisent à la leucémie) à l'origine du développement de la Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC) sont peu connus.

Question posée, objectifs

Ce projet de recherche a porté sur l'analyse globale du chromosome 2 (2p) dans les leucémies lymphoïdes chroniques stades Binet B/C. Le pronostic de la leucémie lymphoïde chronique étant extrêmement variable selon les patients, des classifications pronostiques ont été développées pour adapter le traitement au rythme évolutif de la maladie. La classification de Binet est utilisée en Europe : les leucémies lymphoïdes chroniques sont classées en fonction du taux d'hémoglobine, du nombre de plaquettes et des atteintes ganglionnaires.

Résultats obtenus

L'étude de 141 échantillons de LLC, par des techniques d'analyses globales du génome et d'analyses de l'expression des gènes en ARN et en protéines, a permis d'identifier, sur le bras court du chromosome 2, deux régions d'intérêt, impliquant les gènes XPO1 et BIRC6. Ces 2 gènes codent pour des protéines qui ont un rôle dans la résistance à la mort cellulaire. Elles pourraient donc jouer un rôle important dans la LLC.

Avancées

L'analyse des anomalies chromosomiques observées dans les cellules de ces leucémies lymphoïdes chroniques a permis d'identifier des protéines impliquées dans les processus tumoraux, ce qui pourrait avoir un impact sur la prise en charge thérapeutique.

67 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2010-10

Les enzymes de déubiquitinylation DéUBiquitinases (DUBs) : de nouvelles cibles thérapeutiques dans la leucémie lymphoïde chronique ?

Date de la subvention : 2010 - Dr M. Deckert - Inserm Unité 576, Université de Nice Sophia Antipolis. Hôpital de l'Archet. Nice

Contexte scientifique

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la forme de leucémie la plus fréquente chez l'adulte dans le monde occidental. La LLC se traduit par des complications hématologiques graves dues à l'accumulation de cellules B leucémiques. Ces cellules leucémiques présentent une capacité à résister à un processus de mort cellulaire appelé apoptose. Cet échappement aux mécanismes de la mort cellulaire est dû à la surexpression anormale de protéines qui empêchent la mort cellulaire, comme la protéine Mcl-1. Parmi les mécanismes moléculaires qui rendent compte de la surexpression de Mcl-1, le laboratoire a montré le rôle des enzymes cellulaires déubiquitinyloses DUBs. Les DUBs contrôlent la dégradation des protéines de la cellule et leur activité est souvent perturbée dans les cancers.

Question posée, objectifs

Pourquoi les cellules B leucémiques ne sont-elles pas éliminées chez les patients atteints de Leucémie Lymphoïde Chronique ? Le processus d'apoptose met en jeu plusieurs protéines enzymatiques et l'une d'entre elles est sans doute altérée dans les cellules leucémiques, entraînant la mauvaise élimination des cellules. Ce projet de recherche avait pour objectif d'identifier les enzymes DUBs qui empêchent la dégradation de la protéine Mcl-1 et favorisent la survie des cellules B leucémiques.

Résultats obtenus

La protéine DUB USP14 a été identifiée dans les cellules leucémiques. Les résultats montrent que DUB USP14 empêche la dégradation de Mcl-1 et provoque ainsi la survie accrue des cellules B leucémiques.

Avancées

Ces travaux indiquent que les enzymes DUBs sont des cibles thérapeutiques potentielles dans les leucémies. Ils constituent une étape essentielle dans le développement de nouveaux traitements de la LLC-B.

68 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2010-11

Evaluation de l'alloréactivité NK anti-tumorale en fonction du degré d'incompatibilité HLA entre cellule NK et cible: De la théorie à la thérapie cellulaire.

Date de la subvention : 2010 - Dr Vincent Vieillard - Inserm Unité 543, Hôpital Pitié- Salpêtrière- Paris

Contexte scientifique

Les cellules Natural Killer (NK) ont la capacité de distinguer une cellule normale d'une cellule leucémique. Cette reconnaissance se fait par l'intermédiaire de marqueurs spécifiques, les KIR, exprimés à la surface des cellules NK. Les KIR reconnaissent les molécules HLA présentes à la surface de pratiquement toutes les cellules de l'organisme. Les molécules HLA sont particulières à chaque individu, sont déterminées génétiquement et confèrent ainsi une « carte d'identité » individuelle. À la surface d'une cellule anormale, comme la cellule leucémique, le profil de ces molécules est modifié ce qui va provoquer leur destruction par les cellules NK.

Question posée, objectifs

L'objectif des études était de déterminer dans deux études cliniques multicentriques réalisées en France, le rôle exact joué par ces cellules NK dans la destruction des cellules leucémiques.

Résultats obtenus

Dans une première étude, des cellules NK ont été injectées chez un patient en rechute d'une leucémie aigüe myéloïde (LAM). Aucun effet adverse n'a été observé. Les cellules NK injectées se sont amplifiées et ont été capables de détruire les cellules tumorales. Une seconde étude est en cours sur des patients atteints de LAM et traités par une greffe de sang de cordon. Les cellules NK sont parmi les premières cellules à se reconstituer après la greffe. Il reste à optimiser les procédures de sélection des cellules NK qui seront greffées.

Avancées

Ces travaux indiquent que les cellules NK pourraient être des outils thérapeutiques dans les LAM.

Date de la subvention : 2011 - N. Dulphy - N. Boissel, Hôpital Saint-Louis, Paris

Contexte scientifique

Les Leucémies Aigües Myéloblastiques (LAM) résultent d'un blocage de l'évolution d'une cellule « mère » vers les cellules matures et fonctionnelles du sang (globules rouges et globules blancs). Ces cellules « mères », bloquées dans leur processus de différenciation, envahissent la moelle osseuse et le sang. Les LAM sont les leucémies aigües les plus fréquentes chez l'adulte.

Question posée, objectifs

Le projet s'intéresse au rôle de certaines cellules cytotoxiques du système immunitaire du patient, les cellules Natural Killer (tueuse naturelle, NK), dans l'élimination des cellules leucémiques. En effet, le système immunitaire est un système de défense de l'organisme contre les corps étrangers dont les cellules cancéreuses. Les cellules NK font partie de ce système immunitaire de défense. Si elles sont activées, elles sont capables de tuer les cellules tumorales. Les objectifs de ce projet sont 1) d'analyser les interactions fines entre les cellules NK et les cellules leucémiques pour comprendre comment la cellule leucémique peut échapper à son élimination par la cellule NK, 2) d'étudier les caractéristiques des cellules NK directement chez le patient leucémique au diagnostic puis à la rémission complète.

Résultats obtenus

Les résultats montrent que la cellule leucémique est capable de diminuer, à la surface de la cellule NK, le nombre de molécules qui contribuent à son élimination. Ainsi, la cellule leucémique échappe à la destruction par les cellules NK. Par ailleurs, l'étude des cellules NK chez les patients a montré que ces cellules présentaient des anomalies de fonction : défaut dans la production de facteurs solubles requis pour la mobilisation du système immunitaire (cytokines), dans la transduction des signaux intracellulaires, et la mise en place des capacités cytotoxiques. Cette étude a donc décrit des défauts de la réponse immunitaire médiée par les cellules NK. Ces défauts conduisent à la survie de la cellule leucémique et entraînent une augmentation du risque de rechute pour les patients.

Avancées

Ce travail propose une nouvelle approche dans le traitement de la leucémie aigüe myéloblastique : il faut renforcer les défenses immunitaires du patient en rétablissant les facultés de cellules NK à tuer les cellules cancéreuses.

Date de la subvention : 2011 - S.A. Susin - H. Merle-Béral, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris.

Contexte scientifique

La mort cellulaire programmée (MCP) est essentielle pour le développement et le maintien du nombre de cellules immunitaires dans l'organisme. C'est ce qu'on appelle l'homéostasie des cellules immunitaires. Il a été décrit que des aberrations dans la régulation de la MCP sont fréquentes dans les cellules cancéreuses. Un déséquilibre entre prolifération et mort cellulaire programmée a été observé dans les cellules de patients atteints de Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC), leucémie la plus fréquente chez l'adulte dans les pays occidentaux.

Question posée, objectifs

Comprendre et connaître les mécanismes impliqués dans la mort cellulaire programmée permettrait de développer de nouvelles stratégies afin de contrôler la MCP et d'améliorer ainsi le traitement de la LLC.

Résultats obtenus

Les travaux montrent que si l'on provoque une liaison entre le récepteur lymphocytaire CD47 présent à la surface des cellules leucémiques et un peptide soluble et stable (appelé PKHB1), on induit la MCP. L'induction de la MCP est également observée dans les cellules B normales mais avec une efficacité moindre que dans les cellules de LLC. Elle est aussi observée dans les lymphocytes B de LLC provenant de patients qui sont réfractaires aux traitements classiques. Ces résultats ont été confirmés in vitro (sur un large échantillon de lymphocytes B purifiés à partir du sang de patients atteints de LLC) et in vivo (sur un modèle murin de xénogreffe tumorale), validant l'efficacité de cette thérapie dans la LLC.

Avancées

Ce projet scientifique développé en partenariat entre biologistes, cliniciens et chimistes, a permis une diffusion rapide et efficace de la recherche sur les voies moléculaires régulant la mort cellulaire des lymphocytes B dans la LLC. En élargissant les connaissances acquises dans le domaine de la MCP, ces résultats ouvrent la voie vers une thérapie visant à éliminer spécifiquement les cellules tumorales.

71 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2011-03

Mécanisme d'action de l'approche immunothérapie utilisant un nouvel ADN adjuvant associé à l'acide rétinoïque.

Date de la subvention : 2011 - Dr Rose Ann Padua – Christine Chomienne - U 940 Inserm et Hôpital Saint-Louis, Paris.

Contexte scientifique

Les modèles animaux de leucémie sont des outils utiles pour tester différentes stratégies thérapeutiques. Des modèles murins de leucémie promyélocytaire ont été construits par injection de cellules leucémiques à des souris immunodéficientes. Ces modèles servent d'outils pré-cliniques pour comprendre les mécanismes du développement de la leucémie (leucémogénèse) et pour tester de nouvelles approches thérapeutiques.

Question posée, objectifs

La combinaison de l'acide rétinoïque (ATRA) et de l'arsenic (ATO) est le traitement actuel de la leucémie promyélocytaire chez l'homme. Les souris modèles porteuses de leucémie promyélocytaire répondent de la même façon que l'homme à ce traitement. L'objectif du projet est de déterminer si l'injection d'un adjuvant (une molécule qui stimule et renforce le système immunitaire, donc les défenses de l'organisme contre tout corps étranger) en plus des molécules ATRA et ATO peut augmenter la survie des souris modèles.

Résultats obtenus

Les résultats montrent que 90% des souris modèles leucémiques survivent après le traitement ATRA+ATO+adjuvant alors que 60% survivent après traitement ATRA+ATO et 100% meurent sans traitement.

Avancées

L'addition de l'adjuvant, qualifié de vaccin par l'équipe, améliore fortement l'efficacité du traitement combinant l'acide rétinoïque et l'arsenic. Des essais cliniques chez les patients sont programmés.

72 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2011-04

RESILTAML – Chimiorésistance, cellules souches et flexibilité métabolique dans les leucémies aigües myéloïdes : applications thérapeutiques.

Date de la subvention : 2011 - Dr Jean-Emmanuel Sarry - Pr Christian Récher - Hôpital Purpan, Toulouse.

Contexte scientifique

Les Leucémies Aigües Myéloïdes (LAM) humaines représentent un groupe hétérogène d'hémopathies clonales. Les chercheurs ont mis en évidence une nouvelle population de cellules, les cellules souches leucémiques (CSL) dans le sang ou la moelle des patients atteints de leucémie. Les rechutes observées après une première chimiothérapie intensive sont causées par la résistance de ces cellules souches leucémiques au traitement.

Question posée, objectifs

L'équipe étudie les mécanismes de résistance au traitement dans les cellules souches lors de la rechute de la maladie. L'objectif est de développer de nouvelles thérapies ciblant ces cellules souches responsables des rechutes.

Résultats obtenus

L'équipe a construit des modèles animaux de LAM par injection de cellules leucémiques humaines à la souris. L'étude des mécanismes biochimiques et du métabolisme dans les cellules souches leucémiques et dans les cellules chimiorésistantes ont été étudiés dans ces modèles. Une flexibilité métabolique exacerbée pourrait être à l'origine de la chimiorésistance des cellules leucémiques.

Avancées

Cette étude permettra de caractériser les perturbations responsables de la résistance à la chimiothérapie. A terme, des médicaments capables de contrecarrer les perturbations du métabolisme observées dans les cellules chimiorésistantes pourraient permettre de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant spécifiquement ces cellules résistantes dans le traitement de ces maladies.

73 PROJET SUBVENTIONNÉ N°2011-05

Aide au traitement des leucémies aigües myéloïdes (LAM) basée sur les analyses posttranscriptionnelles.

Date de la subvention : 2011 - Eric Wattel, Faculté de Médecine - Lyon-Sud et Hervé Dombret, Hôpital Saint Louis – Paris

Contexte scientifique :

La polychimiothérapie (utilisation de plusieurs drogues différentes pour un seul traitement) intensive représente la base du traitement des leucémies aigües myéloblastiques (LAM) de l'adulte et de l'enfant. La majorité des malades obtient une rémission mais de nombreux patients rechutent et le taux de guérison reste insatisfaisant. Ces leucémies sont caractérisées à l'aide de biomarqueurs comme le caryotype médullaire (arrangement standard de l'ensemble des chromosomes d'une cellule de la moelle osseuse) ou par la présence de mutations dans certains gènes.

Question posée, objectifs :

Le génome (ADN) est transcrit en ARN messager (ARNm) avant d'être traduit en protéines. L'objectif de ce projet était de tester l'hypothèse que des anomalies de l'ARN messager (ARNm) et non une anomalie du gène comme une mutation ou une délétion pouvait contribuer au développement des LAM et influencer la réponse au traitement.

Résultats obtenus :

Les ARNm de cellules leucémiques myéloïdes ont été analysés à grande échelle sur des « puces ». Des modifications dans l'expression et la structure de certains ARNm ont été identifiées et ont pu être associées à la réponse au traitement ainsi qu'à la survie des malades.

Avancées

A terme, la connaissance de ces anomalies dans les ARNm peut aboutir à la définition d'un nouveau facteur pronostique et à de nouveaux traitements personnalisés des leucémies aigües myéloïdes.

74 PROJET SUBVENTIONNÉ N°2011-06

Projet d'étude de génomique à haut débit dans les syndromes myélodysplasiques de haut risque. Etude des facteurs pronostiques de réponse aux agents hypométhylants.

Date de la subvention : 2011 - Lionel Adès, Hôpital Avicenne – Bobigny et Claude Preudhomme, CHRU Lille

Contexte scientifique :

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des maladies hématologiques caractérisées par une baisse du nombre de globules blancs, globules rouges et plaquettes. Des formes de SMD dites de haut risque ont une probabilité d'évolution en leucémie aigüe myéloblastique (LAM) dans plus de 30 % des cas. La greffe de moelle était le seul espoir de guérison de cette maladie. Avec l'émergence des agents hypoéméthylants comme l'azacytidine, la survie des SMD de haut risque s'est considérablement améliorée. Les agents hypoéméthylants modifient l'état chimique de l'ADN ce qui entraîne un ralentissement de la croissance cellulaire. Désormais, l'azacytidine est le traitement de référence des SMD de haut risque pour les patients non candidats à l'allogreffe.

Question posée, objectifs :

Les causes de cette maladie restent mal connues, mais les SMD sont fréquemment associés à des mutations dans certains gènes. Cependant, l'impact de ces mutations sur la réponse au traitement n'est pas clairement établi et demande à être étudié de manière complète sur des populations de SMD ayant reçu le même traitement. Ce projet de recherche a analysé l'impact des mutations des gènes associées aux SMD chez 100 patients traités par azacytidine. La séquence de ces gènes a été systématiquement déterminée chez ces patients afin de réaliser une stratification thérapeutique fine des patients basée sur la nature des mutations identifiées.

Résultats obtenus :

La valeur pronostique de ces mutations a été évaluée sur les paramètres habituels de survie globale et de rechute. Ce travail a permis de définir trois groupes de patients ayant une survie très différente en fonction du type de mutations rencontrées. Dans le groupe présentant des mutation(s) de pronostic défavorable (mutation de TP53 ou de U2AF1) la survie est de 11 mois, dans le groupe présentant des mutations de pronostic favorable (mutation de ASXL1 ou de SRSF2) elle est de 30 mois et dans le groupe intermédiaire (autre(s) mutation(s)) elle est de 20 mois.

Avancées

Ces résultats posent les bases d'une classification moléculaire pronostique des SMD traités par azacytidine. Aide au traitement des leucémies aigües myéloïdes (LAM) basée sur les analyses posttranscriptionnelles.

75 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2011-07

Etude de la Reconstitution Immunitaire après Allogreffe de Sang Placentaire amplifié ex vivo.

Date de la subvention : 2011 - Pr JL Taupin - Noël Milpied - UMR CNRS 5164 et CHU- Bordeaux.

Contexte scientifique

Le sang placentaire contient des cellules souches en faible quantité. Les Unités de Sang Placentaire (USP) sont une alternative, en l'absence de donneur apparenté ou non apparenté, pour l'Allogreffe (greffe de cellules d'une personne à une autre) de cellules souches hématopoïétiques. Le Pr Milpied a conduit, à Bordeaux, en collaboration très étroite avec l'Etablissement Français du Sang, une étude clinique de faisabilité de l'amplification par culture in vitro des cellules souches à partir de ces USP « pauvres » (protocole GRAPA), avant la greffe du patient avec une seule USP.

Question posée, objectifs

Ce projet a pour but de comparer la reconstitution du système immunitaire chez les receveurs greffés soit avec des cellules souches amplifiées in vitro à partir d'une USP, soit par la méthode classique avec une ou deux USP non amplifiées. Le système immunitaire est le système de défense de l'organisme contre tout corps étranger, les lymphocytes (T, B et NK) en sont les principaux effecteurs.

Résultats obtenus

Aucune différence significative n'a été trouvée entre les deux méthodes de reconstitution. Les nombres de lymphocytes totaux, de lymphocytes T, B et NK ainsi que de leurs sous-populations sont équivalents entre les deux groupes de receveurs. Une étude plus approfondie de la fonction du thymus (le thymus est l'organe qui produit les lymphocytes T à partir des cellules souches du greffon) a montré une reconstitution légèrement meilleure dans le groupe greffé par la méthode classique.

Avancées

Cette étude réalisée sur un petit nombre de patients suggère que l'amplification in vitro des cellules souches ne perturbe pas le développement du nouveau système immunitaire, dérivé du greffon. Ces résultats devront être contrôlés dans des études incluant plus de patients, mais sont très encourageants.

76 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2011-08

Etude fonctionnelle de RET une nouvelle tyrosine mutée dans les leucémies myéloïdes chroniques atypiques.

Date de la subvention : 2011 - Dr Cyril Broccardo, Pr Eric Delabesse - Inserm U1037 et CHU Purpan - Toulouse.

Contexte scientifique

Les cellules du sang remplissent de nombreuses fonctions dans l'organisme, elles véhiculent les nutriments et l'oxygène jusqu'aux organes et assurent la défense immunitaire de l'organisme. Ces cellules sont produites à partir de cellules souches présentes dans la moelle osseuse, une proportion constante de chaque type de cellules sanguines (globules rouges, globules blancs) est maintenue. Ce processus s'appelle l'hématopoïèse. L'hématopoïèse est régulée par des facteurs externes aux cellules sanguines et par des facteurs internes aux cellules, localisés dans l'information génétique de la cellule (l'ADN). Pour que chaque cellule souche produise plusieurs millions de cellules sanguines, il faut qu'elle se divise tout en conservant la totalité de son ADN. A chaque division, la cellule mère copie son ADN avant d'en transmettre une copie à chaque cellule fille. Pendant ce processus de «réplication» de l'ADN, certaines erreurs peuvent être commises. Ces erreurs sont des mutations. Si une mutation touche un gène important dans le contrôle de l'hématopoïèse, elle peut entraîner une perturbation dans l'équilibre entre les différents types de cellules sanguines produites. Une mutation peut donner un avantage de multiplication à un type de cellule donné, c'est ce qui se passe dans les leucémies.

Question posée, objectifs

L'équipe cherche à identifier les mutations responsables de l'apparition des leucémies myéloïdes chroniques atypiques et à comprendre leur rôle dans le programme de l'hématopoïèse.

Résultats obtenus

L'ADN d'un enfant de 6 mois et l'ADN d'une personne âgée présentant des symptômes identiques de leucémie ont été étudiés. L'équipe a observé une mutation dans le même gène chez les deux patients : le gène RET, gène contrôlant le programme de l'hématopoïèse. Elle a analysé les mécanismes cellulaires perturbés par cette mutation du gène RET. L'enfant de 6 mois a été finalement greffé et est guéri. Quant au patient âgé, il ne répondait pas au traitement classique de chimiothérapie utilisé contre ce type de leucémie. Sachant que le gène RET est aussi muté dans certains cancers de la thyroïde, l'équipe a eu l'idée d'utiliser chez ce patient leucémique une molécule efficace dans les cancers de la thyroïde, ce qui a permis de stabiliser sa maladie.

Avancées

Cette étude confirme que le même gène peut être muté dans des cancers d'organes différents. C'est pourquoi, une analyse du génome de la tumeur pour caractériser les mutations apparues dans les cellules tumorales de chaque patient permet d'adapter la thérapie en fonction des anomalies génomiques.

77 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2011-09

Caractérisation des leucémies aigües à basophiles t(X ;6)/MYB-GATA1 et autres hémopathies à basophiles.

Date de la subvention : 2011 - Dr Eric Lippert - Pr François-Xavier Mahon - CHU de Bordeaux, Pessac.

Contexte scientifique

Les leucémies aigües résultent d'une anomalie acquise de l'ADN dans les cellules de la moelle osseuse qui fabriquent le sang. Ces dernières années ont vu la découverte de beaucoup de ces anomalies soit par l'étude des chromosomes, soit par les techniques de biologie moléculaire qui permettent d'étudier directement la composition des gènes. La connaissance de ces anomalies génétiques peut permettre une classification des leucémies, ce qui est important pour leur compréhension, pour l'appréciation de leur gravité, voire pour leur traitement qui peut être basé sur l'anomalie génétique (thérapie ciblée).

Question posée, objectifs

Beaucoup de ces anomalies génétiques sont récurrentes, c'est à dire qu'elles sont trouvées chez plusieurs patients. Plusieurs cas de nourrissons présentant un type très particulier de leucémie aigüe ont été décrits par l'équipe. Ce projet avait pour but d'identifier l'anomalie génétique impliquée dans ce type de leucémie aigüe.

Résultats obtenus

Chez ces nourrissons, deux anomalies ont été observées : la présence de cellules immatures de la lignée basophile (les précurseurs des polynucléaires basophiles) détectées par numération dans le sang et une anomalie chromosomique particulière : une translocation entre les chromosomes X et 6. Cette anomalie génétique modifie deux molécules (MYB et GATA1) importantes pour la maturation des cellules de la moelle. L'équipe a pu reproduire in vitro et in vivo les anomalies des basophiles générées par la translocation, confirmant ainsi son rôle dans cette leucémie particulière.

Avancées

Si le fonctionnement de ces molécules anormales dans la régulation des voies cellulaires mises en jeu dans la transformation leucémique est confirmé, il sera alors possible d'inhiber leur activité et de proposer un traitement spécifique aux nourrissons atteints de ce type de leucémie.

78 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2011-11

Implications physiopathologiques et perspectives thérapeutiques de l'adaptateur Lnk dans les syndromes myéloprolifératifs.

Date de la subvention : 2011 - Laura Velazquez – Jean-Jacques Kiladjian - UMR U978 Inserm et Université Paris 13, Bobigny.

Contexte scientifique

Dans les Syndromes MyéloProlifératifs (SMPs), les cellules immatures de la moelle osseuse prolifèrent de façon anormale mais se différencient normalement en cellules matures, ce qui entraîne un excès de cellules matures. Cette évolution est caractérisée par l'acquisition de mutations dans certains gènes comme la mutation Jak2 dont l'importance dans le développement des SMPs est bien connue. Ce projet porte sur les mutations récemment identifiées dans le gène LNK, qui entraînent l'expression d'une protéine Lnk anormale.

Question posée, objectifs

La protéine normale Lnk joue un rôle dans la transmission des signaux venant de l'extérieur de la cellule. Le projet a pour but de comprendre comment les mutations de la protéine Lnk modifient la fonction de la protéine dans les cellules des SMPs. Cette compréhension permettra de développer des stratégies cellulaires et moléculaires pour l'utilisation thérapeutique de Lnk dans les SMPs.

Résultats obtenus

Dans un premier temps, les chercheurs ont mis au point un protocole de purification des cellules contenant la protéine Lnk mutée afin d'analyser les modifications de la signalisation associées à l'expression de la protéine mutée. Ils ont détecté une augmentation de 3 voies de signalisation qui jouent un rôle fondamental dans le maintien du bon fonctionnement de la cellule : les voies Jak2, Stat5 et Erk et montré que cette augmentation était une conséquence de la mutation de Lnk. A partir d'une cohorte de 317 patients SMPs, les chercheurs ont observé que les mutations de Jak2, mutations très fréquemment observées dans les SMPs et Lnk co-existent avec une haute fréquence chez les patients, suggérant une possible coopération entre ces 2 protéines mutées pour augmenter la prolifération des cellules de SMPs.

Avancées

Ces résultats suggèrent que l'inhibition de la protéine mutée Lnk en même temps que l'inhibition de la protéine mutée Jak2 pourraient être utilisées comme thérapie ciblée pour inhiber la prolifération des cellules de patients SMP exprimant les protéines mutées Lnk et Jak2.

79 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2011-12

Caractérisation de nouvelles mutations dans les thrombocytémies essentielles et les myélofibroses primitives.

Date de la subvention : 2011 - Willam Vainchenker – Vincent Ribrag - U 1009 Inserm et IGR, Villejuif.

Contexte scientifique

Les thrombocytémies essentielles (TE) et les myélofibroses primitives (MF) sont des syndromes myéloprolifératifs (SMP) dans lesquels les mutations dans les gènes JAK2 et MPL sont fréquemment décrites. Ainsi, jusqu'à récemment, les mutations dans les gènes JAK2 et MPL étaient trouvées dans 30 à 40% des TE et des MF.

Question posée, objectifs

Quels sont les gènes qui sont mutés dans les TE et MF qui ne portent pas les mutations Jak2 et MPL ? Afin de rechercher ces gènes, le séquençage systématique du génome de 39 patients TE et 3 patients MF dans lesquels les mutations JAK2 et MPL n'ont pas été détectées, a été réalisé.

Résultats obtenus

Les résultats de cette étude montrent qu'en moyenne, 2 mutations sont détectées par patients. De plus, 21 des 39 patients TE (54%) portent une mutation dans le gène de la calréticuline (CALR) suggérant un rôle important de CALR dans le développement des SMP sans mutation de JAK2 et MPL.

Avancées

Cette haute fréquence de la mutation CALR dans les TE indique que la détection de la mutation CALR devient un outil diagnostique majeur dans le cadre de l'exploration d'un probable syndrome myéloprolifératif.

80 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2012-01

Nouvelles approches thérapeutiques ciblées dans les leucémies aigües lymphoblastiques induites par BCR-ABL.

Date de la subvention : 2012 - Jacques Ghysdael, Laurent Chauvin - U1005 Inserm et Institut Curie, Orsay.

Contexte scientifique

La translocation chromosomique t(9 ;22) amenant l'expression de la protéine BCR-ABL est l'événement génétique initiateur de la leucémie myéloïde chronique (LMC) et de 30 % des leucémies aigües lymphoblastiques B (LAL-B) chez l'adulte. Au cours des dernières années, plusieurs inhibiteurs ont été développés qui inhibent directement l'activité de l'oncoprotéine BCR-ABL, tels que l'Imatinib et le Nilotinib. Contrairement aux bonnes réponses cliniques observées dans la LMC, les LAL-B qui expriment BCR-ABL ne répondent que partiellement à ces inhibiteurs, et requièrent de nouvelles stratégies thérapeutiques. Une des causes de la résistance des ces LAL-B aux inhibiteurs de BCR-ABL est que ces leucémies présentent de nombreuses autres altérations génétiques qui sont absentes dans la LMC.

Question posée, objectifs

Une altération fréquente et de mauvais pronostic est la perte d'une des 2 copies du gène Ikaros (IKZF1). La modélisation de cette situation dans la souris a montré que la perte d'une copie d'Ikaros accélère de façon considérable l'émergence des LAL-B induites par BCR-ABL. Pour comprendre les bases moléculaires de cet effet accélérateur, le laboratoire a recherché les gènes dont l'expression change quand il y a perte d'Ikaros dans ces cellules leucémiques. Le récepteur au facteur de croissance IGF1 (IGF1R) a été identifié. Il est connu pour avoir un rôle facilitateur de la transformation maligne et plusieurs inhibiteurs de ce récepteur ont été développés par l'industrie pharmaceutique.

Résultats obtenus

Un modèle murin de LAL-B induites par BCR-ABL dans lequel il est possible d'éliminer expérimentalement le gène codant IGF1R, a été créé pour analyser la fonction de ce récepteur IGF1R dans les cellules leucémiques. Les résultats montrent que IGF1R est nécessaire à l'expansion des cellules leucémiques chez la souris. Un inhibiteur pharmacologique de IGF1R (petite molécule délivrable par voie orale et obtenue de la société Novartis) a des effets anti-leucémiques, à condition qu'il soit combiné au traitement par le Nilotinib. Il prolonge de façon considérable les effets anti-leucémiques de Nilotinib en réduisant fortement le taux de rechute.

Avancées

Ces travaux ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques dans le traitement des LAL-B induites par BCR-ABL.

81 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2012-02

Implication du récepteur PTK7 dans la leucémogénèse.

Date de la subvention : 2012 - Thomas Prebet – Norbert Vey - CRCM- Institut Paoli-Calmettes, Marseille.

Contexte scientifique

La leucémie aigüe myéloïde (LAM) est caractérisée par la multiplication incontrôlée de cellules myéloïdes immatures envahissant la moelle osseuse et empêchant la production des cellules sanguines normales. Le traitement standard des patients repose sur des chimiothérapies intensives permettant d'obtenir, dans la majorité des cas, une rémission clinique et une disparition des cellules malignes. Néanmoins, la rechute est fréquente en raison de cellules malignes résistantes qui sont localisées dans la moelle osseuse, à l'abri de l'effet des chimiothérapies, ce qui leur permet de réinitier plus tard la maladie. Il est important de comprendre comment les cellules leucémiques résistent aux chimiothérapies afin de mieux progresser vers le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques capables de contrôler la maladie.

Question posée, objectifs

L'équipe a précédemment montré qu'un récepteur de la signalisation intracellulaire : PTK7, est trouvé en quantité anormalement élevée dans une large majorité des LAM, conférant une résistance aux chimiothérapies et un pronostic défavorable pour les patients. Le projet a pour but d'étudier le mode d'action de ce récepteur PTK7 pour comprendre son rôle dans les LAM.

Résultats obtenus

Les travaux démontrent que le récepteur PTK7 a la capacité d'induire le recrutement de cellules sanguines dans la moelle osseuse et à agir de concert avec un autre récepteur présent à la surface des cellules dans le processus de leucémogénèse. La fonction de ce récepteur peut être bloquée par des anticorps monoclonaux.

Avancées

Ces données vont permettre la mise en place d'une stratégie thérapeutique utilisant des anticorps monoclonaux pour bloquer la fonction du récepteur PTK7 dans les cellules malignes.

82 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2012-03

Mécanismes et biomarqueurs associés aux mutations IDH dans les leucémies aigües myéloïdes.

Date de la subvention : 2012 - Virginie Penard-Lacronique, Stéphane de Botton - U 985 Inserm et IGR-Villejuif.

Contexte scientifique

Les leucémies aigües myéloïdes (LAM) qui sont des tumeurs hétérogènes sur le plan clinique et biologique, ont une évolution spontanée qui est rapide et agressive. Dans les LAM sont présentes des mutations qui touchent les gènes Isocitrate deshydrogenase 1 (IDH1) et 2 (IDH2). Ces mutations surviennent très précocement au cours du processus de transformation cellulaire. Elles sont notamment responsables de la production d'un métabolite, le 2-hydroxyglutarate (2-HG) qui s'accumule anormalement dans les cellules, il est aussi retrouvé dans des liquides biologiques (liquide céphalo-rachidien, plasma/sérum, urine).

Question posée, objectifs

Ce projet a pour but de déterminer le rôle de la mutation du gène IDH2 dans l'émergence des LAM.

Résultats obtenus

Le taux de métabolite 2-HG présent dans le sérum d'une cohorte de patients atteints de LAM avec mutation IDH, a été mesuré et semble être un bon facteur diagnostique chez les patients. D'autre part, l'étude des propriétés biologiques de la protéine mutée IDH2 a été réalisée dans un modèle murin. Dans la souris, l'expression de IDH2 muté provoque l'apparition de leucémies myéloïdes et lymphoïdes. Le traitement de ces animaux par un inhibiteur de IDH2 dirigé contre la mutation, provoque la différenciation des cellules leucémiques et la régression des maladies.

Avancées

Le métabolite 2-HG peut être considéré comme un biomarqueur utile cliniquement pour le diagnostic et le suivi des patients.

Pharmaco-génomique et chimiorésistance dans les cellules primaires de leucémie aigüe myéloïde de l'adulte.

Date de la subvention : 2012 - Meyling Cheok, Bruno Quesnel - UMR S1172 et IRCL, Lille.

Contexte scientifique

Les leucémies aigües myéloïdes (LAM) sont les leucémies aigües les plus fréquentes chez l'adulte. Les LAM sont généralement traitées par chimiothérapie. Après une période de rémission, les rechutes sont fréquentes dues à l'apparition d'une résistance aux traitements.

Question posée, objectifs

L'objectif de ce projet était d'étudier les mécanismes à l'origine de ces résistances. La présence d'altérations du génome dans les cellules leucémiques est maintenant clairement établie et il est probable que certaines de ces altérations sont à l'origine du mécanisme de non réponse au traitement.

Résultats obtenus

Un test de sensibilité aux différents médicaments a été réalisé sur plus de 220 échantillons de patients atteints de LAM au diagnostic. Ce test a mis en évidence une grande variation de sensibilité entre les patients. De plus, si un patient est résistant à un médicament il est souvent résistant, aussi, aux autres médicaments. Les nouveaux moyens d'analyse du génome et de l'expression des gènes ont permis de mettre en évidence des anomalies moléculaires qui pourraient avoir un rôle clé dans la résistance aux traitements. L'analyse de l'ensemble de ces données est encore en cours.

Avancées

L'étude conjuguée de la sensibilité aux médicaments et des anomalies moléculaires dans les LAM devrait apporter une meilleure compréhension des mécanismes qui permettent aux cellules de LAM de résister aux traitements.

Études moléculaires et cellulaires de l'architecture des syndromes myélodysplasiques humains.

Date de la subvention : 2012 - Olivier Bernard - François Dreyfus - U 985 Inserm – IGR, Villejuif -Hopital Cochin, Paris.

Contexte scientifique

Les leucémies aigües sont des cancers qui résultent de l'accumulation de mutations dans le génome d'une cellule hématopoïétique qui aboutit à la transformation en cellule leucémique.

Question posée, objectifs

Ce projet a pour but d'analyser la dynamique d'apparition des mutations qui sont à l'origine du développement des myélodysplasies.

Résultats obtenus

Cette étude associe des techniques de biologie cellulaire pour purifier les cellules des patients et des approches moléculaires de séquençage du génome qui permettent des « analyses à haut débit » d'un grand nombre d'échantillons. Ces analyses sont en cours. Les résultats seront corrélés avec les données cliniques des patients, dans le cadre d'un programme national de recherche hospitalière qui étudie plusieurs centaines de patients.

Avancées

Les gènes mutés identifiés peuvent être considérés comme des cibles pour des médicaments et permettront le développement de nouvelles thérapies.

Thérapies innovantes des leucémies aigües myéloblastiques (LAM) en ciblant la différenciation cellulaire par la chélation du fer.

Date de la subvention : 2012 - Ivan Moura - Olivier Hermine - U1163 Inserm et Institut Imagine – Necker, Paris.

Contexte scientifique

Les leucémies aigües myéloïdes (LAM) représentent 70 % des leucémies aigües. Les traitements par chimiothérapie visent à diminuer la prolifération des cellules myéloïdes immatures (myéloblastes) en provoquant leur différenciation en cellules plus matures ou leur mort. Il est connu qu'une modification de l'ADN par hyperméthylation participe à la survenue des LAM. Des médicaments comme la 5-azacytidine réduisent cette hyperméthylation et facilitent la différenciation et la mort des myéloblastes leucémiques, ils sont ainsi utilisés dans le traitement des LAM.

Question posée, objectifs

Le laboratoire avait observé que, dans les cellules de LAM, le gène qui code pour le récepteur à la vitamine D est caractérisé par une hyperméthylation et que cette méthylation excessive joue un rôle dans la prolifération des cellules leucémiques. L'objectif de ce projet était d'exploiter cette observation pour améliorer la thérapie des LAM.

Résultats obtenus

Sur des cellules leucémiques de patients atteints de LAM, il a été observé que d'une part la vitamine D, d'autre part la diminution de la quantité de fer disponible dans le sang étaient capables de provoquer la différenciation des cellules leucémiques en myéloblastes normaux. Le traitement des cellules leucémiques par la 5-azacytidine permet de restaurer la capacité des cellules à répondre à la vitamine D. Des chélateurs de fer permettent de capturer le fer circulant et de diminuer sa disponibilité. Ainsi, l'association vitamine D + chélateurs de fer à la 5-azacytidine est un traitement prometteur pour les LAM.

Avancées

Ces travaux constituent une avancée importante dans la compréhension du rôle du récepteur à la vitamine D dans les LAM et ouvrent des pistes prometteuses pour la thérapie des LAM.

**Bio-FAMILY: Acides gras polyinsaturés dans la LAM du sujet jeune
Étude biologique ancillaire .**

Date de la subvention : 2012 - Olivier Hérault - UMR7292 - Faculté de Médecine - Tours, Emmanuel Gyan - Service d'hématologie et thérapie cellulaire, CHU de Tours.

Contexte scientifique

Les leucémies aigües myéloblastiques (LAM) accompagnées d'une cytogénétique défavorable nécessitent la mise au point de nouveaux traitements.

Deux équipes complémentaires se sont associées pour cette recherche : la première, LNOx (Leukemic Niche and Redox metabolism), travaille sur le rôle du stress oxydatif sur les cellules leucémiques (le stress oxydatif est la réponse des cellules à une agression par des radicaux libres produits le plus souvent par l'inflammation, le tabagisme, une alimentation trop riche en graisses ou l'alcool...). La deuxième équipe, FILO (French Innovative Leukemia organization) travaille sur les cellules leucémiques.

Question posée, objectifs

L'hypothèse de départ était que les acides gras polyinsaturés (aussi appelés oméga-3) présents dans les huiles de poissons pouvaient avoir un rôle destructeur des cellules leucémiques. Ces acides gras entraîneraient l'apparition d'un stress oxydatif par l'activation d'une voie métabolique (la voie NRF-2/KEAP-1).

Les équipes ont étudié l'effet de l'injection intraveineuse d'une émulsion d'huile de poisson en association avec le traitement chimiothérapeutique classique de la LAM à caryotype défavorable.

Résultats obtenus

30 patients de moins de 64 ans ont été inclus dans l'étude. Le taux de succès de la chimiothérapie n'est pas augmenté par l'injection d'huile de poissons alors que la concentration en acides gras polyinsaturés est augmentée dans le sang des patients traités. L'activation de la voie NRF-2/KEAP-1 n'a pas été retrouvée.

Avancées

L'injection intraveineuse d'émulsion d'huile de poisson ne modifie pas la réponse des cellules leucémiques au traitement de chimiothérapie. Elle pourrait être utilisée dans d'autres pathologies.

87 PROJET SUBVENTIONNÉ N°2012-08

Caractérisation phénotypique et fonctionnelle des populations lymphocytaires B régulatrices et de leurs interactions dans la Leucémie Lymphoïde Chronique associée ou non à des manifestations auto-immunes

Date de la subvention : 2012 - Nadine Varin-Blanck, Université Paris 13 - Bobigny et Alain Delmer, CHU - Reims

Contexte scientifique :

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la plus fréquente des leucémies de l'adulte. Son évolution est très variable, mais les formes les plus agressives restent incurables. Il existe des sites « sanctuaires » de la maladie où sont localisées les cellules tumorales les plus prolifératives. La maladie peut se compliquer par la production d'anticorps dirigés contre des cellules normales, (auto-immunité). Ces complications peuvent engager le pronostic vital, en rendant le traitement de la LLC difficile.

Question posée, objectifs :

Ce projet de recherche a porté sur la caractérisation des cellules qui sont responsables de ces réactions auto-immunes dans le sang des patients atteints de LLC et sur la recherche de marqueurs moléculaires susceptibles de permettre le repérage de ces cellules.

Résultats obtenus :

Cette étude montre que des cellules lymphocytaires en perturbant la protection antitumorale naturelle contribuent à la formation de foyers tumoraux résistants. Elle a permis d'identifier des marqueurs moléculaires (cytokines, facteurs, récepteurs de chimiokines) qui sont présents spécifiquement dans les cellules impliquées dans l'auto-immunité au cours de la LLC. Ces marqueurs sont exprimés à des taux variables en fonction de l'agressivité de la maladie et permettent de différencier des patients aux stades précoces de la maladie qui ont un fort risque d'évolution.

Avancées

La caractérisation de nouveaux marqueurs dans les cellules impliquées dans la réponse immunitaire anti-tumorale peut offrir l'opportunité de tester de nouveaux traitements plus personnalisés chez les patients atteints de LLC présentant ou non des manifestations auto-immunes.

88 PROJET SUBVENTIONNÉ n°2012-09

Vers une nouvelle classification des leucémies aigües adultes et pédiatriques.

Date de la subvention : 2012 - Elisabeth Macintyre – Hoda Harb - Hôpital Necker Paris.

Contexte scientifique

Le traitement des leucémies aigües (LA) est classiquement choisi selon le caractère lymphoïde ou myéloïde des cellules leucémiques, qui est identifié sur des critères microscopiques ou par des marqueurs protéiques exprimés sur les cellules. Les développements des techniques de biologie moléculaire permettent désormais l'identification de « signatures génétiques » qui caractérisent avec une grande précision la nature des cellules leucémiques et nécessitent une révision des classifications des leucémies aigües.

Question posée, objectifs

Les travaux récents du laboratoire ont identifié plusieurs anomalies génétiques dans les LA de la lignée lymphoïde T, en particulier une modification du gène RUNX1. Le but du projet est de comprendre le mécanisme impliquant RUNX1 dans la transformation d'une cellule immature lymphoïde T en une cellule leucémique bloquée dans sa maturation.

Résultats obtenus

RUNX1 est un facteur qui participe à la régulation de l'expression du génome. Les anomalies du gène RUNX dans les cellules leucémiques entraînent des modifications de la régulation de l'expression de gènes qui participent au développement lymphoïde T précoce. Ces gènes sont en cours de caractérisation. D'autre part, des analyses moléculaires ont été utilisées pour identifier un ensemble de marqueurs cellulaires qui permettent une distinction rapide de la nature lymphoïde ou myéloïde des cellules leucémiques.

Avancées

L'association de l'ensemble des données moléculaires et de l'ensemble des marqueurs cellulaires devrait permettre une meilleure évaluation du risque de rechute des leucémies et, par extrapolation, le choix du traitement le plus approprié.

Biomarqueurs dans la réaction du greffon contre l'hôte aigüe : rôle diagnostique et pronostique.

Date de la subvention : 2013 - Marie Robin et Marie-Hélène Schlägelter, Hôpital Saint Louis, Paris

Contexte scientifique :

La réaction du greffon contre l'hôte (GVH) est une complication majeure chez les patients ayant reçu une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (souvent appelée « greffe de moelle osseuse ». Dans une allogreffe, les cellules greffées viennent d'un donneur. La GVH est la conséquence de la reconnaissance par les cellules immunitaires du donneur présentes dans le greffon, des antigènes HLA du receveur qu'elles considèrent comme étrangers. Les lymphocytes T attaquent les tissus et les organes du receveur. La réaction de GVH qui se développe peut-être aigüe ou chronique. La GVH est principalement combattue par un traitement aux corticoïdes et l'échec du traitement est souvent le résultat du développement d'une résistance aux corticoïdes.

Question posée, objectifs :

Actuellement, le diagnostic clinique de la GVH est réalisé à partir d'une biopsie dont l'analyse histologique permet de classer les GVH par grades, en fonction de leur acuité. Ces grades permettent aux médecins d'évaluer le pronostic des patients atteints de GVH aigüe. Le but de cette étude est de trouver d'autres « marqueurs » pour évaluer plus efficacement et plus rapidement le risque de GVH. A cette fin, des dosages de plusieurs biomarqueurs connus pour être associés à une GVH ont été étudiés.

Résultats obtenus :

2 des biomarqueurs sont la Calprotectine et d'alpha 1 antitrypsine qui sont dosés dans les fèces. 7 autres biomarqueurs (REG-3alpha, IL-8, HGF, Elafin, le récepteur soluble du TNFalpha, le récepteur soluble de l'IL2 et le ST2) sont dosés simultanément dans le plasma. Ces dosages ont été réalisés chez 204 patients greffés. Les données de cette étude montrent que les dosages de ces biomarqueurs sont adaptés à la prédiction d'une GVH et sont aussi utiles pour prédire le développement d'une cortico-résistance si la GVH était soignée par un traitement aux corticoïdes.

Avancées :

La pratique de ces dosages chez le patient greffé permet de mieux évaluer le risque de GVH et ainsi d'améliorer la prise en charge des patients en initiant plus précocement le traitement de la GVH.

Caractérisation des populations cellulaires impliquées dans l'origine et/ou le contrôle de la rechute des Leucémies Lymphoïdes Chroniques B.

Date de la subvention : 2013 - Anne Quillet-Mary, Centre de Recherche sur le Cancer - Toulouse et Loïc Ysebeart, CHU Toulouse

Contexte scientifique :

En dépit de progrès thérapeutiques considérables, la leucémie lymphoïde chronique de type B (LLC) reste incurable comme en témoigne le taux élevé de rechute. L'équipe a récemment mis en évidence dans le sang de tous les patients atteints de LLC, une sous-population de lymphocytes B leucémiques extrêmement résistants aux traitements chimiothérapeutiques. Cette sous-population peut à elle seule « régénérer » la maladie suggérant qu'elle est à l'origine des rechutes. En parallèle, des cellules du système immunitaire (lymphocytes T CD4+) potentiellement impliquées dans la rechute ont été identifiées. Ainsi, une relation entre les cellules leucémiques et les cellules immunitaires pourrait favoriser l'échappement tumoral des lymphocytes B leucémiques et la résurgence du clone leucémique.

Question posée, objectifs :

L'objectif du projet était de caractériser cette sous-population de lymphocytes B leucémiques résistants aux traitements chimiothérapeutiques pour identifier de nouveaux marqueurs cellulaires prédictifs de la rechute et définir de nouvelles stratégies thérapeutiques qui éradiquent durablement le clone leucémique à l'origine des rechutes.

Résultats obtenus :

Une étude réalisée sur une cohorte de 83 patients a permis d'établir une corrélation entre le nombre de lymphocytes T CD4+ et la fréquence des rechutes. D'autre part, la sous-population de lymphocytes B chimio-résistants est significativement augmentée chez les patients en rechute précoce (1 an post-traitement). Ainsi ces études permettent de considérer le nombre de lymphocytes T CD4+ comme un facteur prédictif de la survie chez les patients traités pour une LLC et de définir de nouveaux marqueurs cellulaires de la rechute précoce. L'analyse des gènes exprimés par la sous-population de lymphocytes B leucémiques chimio-résistants a mis en évidence l'augmentation d'un marqueur cellulaire dans cette sous-population. En collaboration avec un laboratoire pharmaceutique, un anticorps contre ce marqueur a été développé. Cette sous-population cellulaire s'est avérée sensible à l'immunothérapie par cet anticorps. Ces données ont conduit à un essai clinique de phase I par le laboratoire producteur de l'anticorps.

Avancées

Cette étude a permis de définir de nouveaux marqueurs biologiques de la rechute précoce et d'identifier une protéine permettant une thérapie ciblée sur les cellules de LLC, y compris les cellules initiatrices de la rechute et résistantes aux traitements actuels.

Caractérisation des cellules initiatrices des syndromes myélodysplasiques à l'aide du modèle de souris immunodéficientes

Date de la subvention : 2013 - Pr Dominique Bonnet -UMR-S 940 - Hôpital Saint-Louis, Paris et Pr Pierre Fenaux, Hôpital Avicenne, Bobigny

Contexte scientifique :

Les myélodysplasies (MDS) forment un groupe hétérogène de maladies ayant en commun un dysfonctionnement de la moelle osseuse aboutissant à une production anormale des cellules du sang. Un tiers environ des MDS évolue vers une leucémie aigüe.

La moelle osseuse contient deux types de cellules spécifiques: les cellules souches hématopoïétiques (CSH) qui produisent les différents types de cellules du sang et les cellules du stroma médullaire qui constituent un tissu de soutien permettant la multiplication et la différenciation des CSH.

Question posée, objectifs :

Les deux objectifs principaux du projet étaient - de comprendre le rôle des cellules du stroma médullaire dans l'évolution de la maladie - de mettre au point un modèle préclinique de MDS afin de pouvoir tester des médicaments.

Résultats obtenus :

Ce projet a été développé grâce à des prélèvements de moelle osseuse de patients faits lors du diagnostic, avec leur consentement. Les cellules du stroma médullaire de patients MDS ont été comparées à celles du stroma médullaire de personnes du même âge ne présentant pas de MDS. Les cellules des patients présentent des anomalies et en particulier ont une capacité réduite à proliférer quand elles sont cultivées in vitro. Les auteurs ont mis au point un système de vidéo en microscopie pour étudier les relations entre les cellules du stroma et les cellules hématopoïétiques de moelle osseuse de patients MDS ou de personnes sans MDS quand elles sont cultivées in vitro ensemble, pendant plusieurs jours. Ils ont constaté que des cellules hématopoïétiques normales cultivées en présence de cellules du stroma de patients MDS ont un comportement anormal. Les anomalies moléculaires qui expliquent ce comportement anormal sont en cours d'études.

Avancées :

La compréhension des anomalies moléculaires induites par les cellules du stroma de patients MDS dans des cellules hématopoïétiques normales ouvrira de nouvelles perspectives thérapeutiques.

Ce modèle de coculture de cellules du stroma et de cellules hématopoïétiques permettra de tester l'efficacité de ces nouvelles cibles thérapeutiques.

Rôle du CD9 dans les leucémies aigües lymphoblastiques de l'enfant présentant un remaniement ETV6/RUNX1

Date de la subvention : 2013 - Marie-Dominique Galibert, CNRS Rennes et Virginie Gandemer, CHU Rennes

Contexte scientifique :

Les leucémies aigües lymphoblastiques de la lignée B (LAL-B) sont l'un des cancers pédiatriques les plus fréquents. De manière récurrente, un réarrangement entre les chromosomes 2 et 21 est observé dans les LAL-B ce qui provoque l'expression d'une protéine anormale ETV6/RUNX1. Cette translocation chromosomique est un facteur de bon pronostic. Cependant 10% des patients rechutent tardivement et la rechute se produit fréquemment dans des « niches sanctuaires extra-hématopoïétiques » (testicules, ovaires et système nerveux central).

Question posée, objectifs :

Pour comprendre le processus de leucémogénèse dans les LAL-B ETV6/RUNX1, l'équipe a analysé l'expression des gènes dans les cellules de LAL-B et observé que le gène CD9 était exprimé différemment dans les cellules leucémiques par rapport aux cellules normales. Cette observation posait la question du rôle de cette protéine transmembranaire CD9 dans les cellules leucémiques.

Résultats obtenus :

Les données montrent que chez les patients leucémiques, la protéine CD9 confère une capacité d'adhésion et de migration aux lymphoblastes exprimant ETV6/RUNX1. La greffe des cellules leucémiques dans des modèles murins montre que CD9 favorise la dissémination des cellules leucémiques dans la moelle osseuse et dans les testicules.

Avancées

Ces données suggèrent que le blocage de l'activité de CD 9 (par exemple par un anticorps bloquant anti CD9) pourrait être une démarche thérapeutique pour limiter la dissémination des cellules leucémiques chez les patients ayant une LAL-B.

Date de la subvention : 2013 - Anne Murati, Centre de Cancérologie - Marseille et Jérôme Rey, Institut Paoli Calmettes - Marseille

Contexte scientifique :

Les syndromes myéloprolifératifs (SMP) sont des hémopathies malignes chroniques avec une production en excès de cellules du sang sans blocage de maturation. Parmi les SMP, on distingue la polyglobulie de Vaquez (PV), la thrombocythémie essentielle (TE) et la myélofibrose primitive (MFP). Ces hémopathies atteignent les lignées du sang productrices des globules rouges (PV) et/ou des plaquettes (TE, MFP). Elles débutent par une phase chronique d'hyperprolifération cellulaire, qui peut évoluer vers une transformation en leucémie aigüe myéloïde. Le risque de transformation en leucémie aigüe est particulièrement important dans la MFP (10 à 20% des cas). Dans le cas de PV et TE, la transformation en leucémie aigüe myéloïde peut être précédée ou non par une phase de transition avec une myélofibrose.

Question posée, objectifs :

L'objectif de ce travail était d'approcher les mécanismes moléculaires qui sous-tendent les évolutions hématologiques de ces SMP. La stratégie a été de rechercher si des mutations étaient présentes dans 79 gènes qui ont été décrits comme étant mutés dans d'autres hémopathies myéloïdes. Les mutations ont été recherchées au sein d'une cohorte de 124 patients atteints de myélofibrose au cours de la MFP ou post-TE et post PV.

Résultats obtenus :

Les données montrent que les myélofibroses sont hétérogènes d'un point de vue moléculaire ce qui permet de classer ces maladies en différents groupes selon la nature des mutations détectées. La confrontation des données moléculaires et des données cliniques et biologiques est en cours afin d'évaluer l'impact pronostique de ces mutations sur la survie et la progression en leucémie aigüe.

Avancées

L'identification des mutations devrait permettre d'anticiper l'évolution des myélofibroses afin d'agir sur la transformation en leucémie aigüe et sur la réponse au traitement.

Date de la subvention : 2013 - Jean Soulier et Régis Peffault de Latour, Hôpital St-Louis, Paris et Pierre Fenaux, Hôpital Avicenne, Bobigny

Contexte scientifique :

L'aplasie médullaire idiopathique est une maladie qui entraîne une insuffisance de cellules matures fonctionnelles dans le sang alors que l'origine de la maladie est un défaut dans une cellule immature qui se trouve dans la moelle osseuse. Cette maladie peut évoluer vers un syndrome myélodysplasique (SMD) ou une leucémie aigüe myéloïde (LAM), c'est ce qu'on appelle « transformation » ou « leucémogénèse ».

Question posée, objectifs :

Quels sont les gènes ou l'expression des gènes qui pourraient être modifiés au cours de cette transformation des aplasies médullaires idiopathiques en SMD ou LAM ?

Résultats obtenus :

L'équipe a collecté des échantillons de moelle osseuse de patients au moment du diagnostic d'aplasie et des échantillons de patients au moment de la progression en SMD ou LAM. Des différences dans les gènes exprimés dans les cellules des patients ont été recherchées dans les deux étapes. Les résultats sur 25 paires d'échantillons au diagnostic et en transformation collectés chez les patients suivis à l'hôpital Saint-Louis et Robert Debré ont détecté plusieurs mutations dans le génome des cellules en transformation qui n'existent pas dans les cellules de la moelle au moment du diagnostic : monosomies 7 (une seule copie du chromosome 7 au lieu de 2), des délétions du gène RUNX1 et d'autres plus rares. Toutefois d'autres facteurs qui pourraient être liés au terrain génétique ou aux défenses immunitaires du patient sont aussi impliqués dans le contrôle de la transformation.

Avancées :

La connaissance de ces gènes mutés permet de suivre la progression tumorale au cours de l'aplasie médullaire. Il reste à comprendre les co-facteurs qui favorisent cette transformation tumorale chez le patient.

95 PROJET SUBVENTIONNÉ N°2013-07

Rôle des régulateurs post-transcriptionnels Pumilio-1 et Pumilio-2 dans la leucémogénèse.

Date de la subvention : 2013 - Isabelle Dusanter, Institut Cochin – Paris et Didier Bouscary, Groupe Hospitalier Cochin - Paris

Contexte scientifique :

Une des caractéristiques des cellules leucémiques est leur multiplication excessive. Les mécanismes impliqués dans cette multiplication excessive des cellules leucémiques présentent de fortes analogies avec les mécanismes impliqués dans la multiplication des cellules souches hématopoïétiques (CSH) normales. En effet, les CSH doivent se multiplier activement pour assurer le renouvellement constant de l'ensemble des cellules du sang. Cette équipe a décrit précédemment que les protéines Pumilio-1 et Pumilio-2 jouent un rôle dans la survie et la prolifération ainsi que dans la fonction des CSH.

Question posée, objectifs :

Au vu de la fonction de Pumilio-1/2 dans les CSH, ce projet avait pour objectif de rechercher une implication possible de Pumilio-1 et Pumilio-2 dans le développement des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) et lymphoïdes (LAL-T).

Résultats obtenus :

La présence de Pumilio-1 et Pumilio-2 a été analysée dans des lignées et échantillons primaires de patients atteints de leucémies aiguës myéloïdes (80 échantillons) ou lymphoïdes (130 échantillons). Les données indiquent que toutes les cellules leucémiques expriment les facteurs Pumiios et que cette expression est plus intense dans les cellules les plus indifférenciées. Il a été observé que la suppression de l'expression de Pumilio-1 ou Pumilio-2 dans les cellules leucémiques entraîne leur mort. Ainsi, Pumilio-1 et Pumilio-2 sont nécessaires à la croissance des cellules de leucémies aiguës myéloïdes ou lymphoïdes.

Avancées

Cette étude indique que Pumilio-1 et Pumilio-2 pourraient constituer de nouvelles cibles thérapeutiques, dont il faut maintenant activement décrypter le mode de fonctionnement à l'échelle moléculaire.

96 PROJET SUBVENTIONNÉ N°2013-08

Etude du rôle des niches médullaires dans la régulation du phénotype SP et de la chimiorésistance des blastes de patients atteints de leucémie aiguë myéloblastique (LAM) ; Un nouveau mécanisme de résistance aux drogues médiées par l'adhésion au stroma ?

Date de la subvention : 2013 - Marie-Caroline Le Bousse-Kerdilès, Inserm Villejuif et Jean-Valère Malfuson, Hôpital de Percy - Clamart

Contexte scientifique :

Les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) se développent à partir d'une cellule souche leucémique (CSL) capable d'auto-renouvellement, de chimio-résistance et qui peut reconstituer la maladie. Le devenir de ces CSL est régulé dans l'environnement de la moelle osseuse, au sein de niches hématopoïétiques (stroma) qui favorisent leur auto renouvellement et leur survie. Les CSL sont les cellules tumorales les plus tumorigènes et les plus résistantes aux chimiothérapies. Un mécanisme de résistance des CSL aux chimiothérapies pourrait être médié par le stroma participant ainsi à la rechute des patients après traitement.

Question posée, objectifs :

Cette étude a pour objectif de mieux comprendre les mécanismes d'interactions entre les CSL et leur environnement constitué par la niche médullaire mésenchymateuse chez les patients atteints de LAM.

Résultats obtenus :

Les données montrent que le stroma médullaire peut induire/maintenir/amplifier la fonctionnalité des CSL dans la leucémie aiguë myéloblastique. Des marqueurs cellulaires et moléculaires ont été identifiés pour permettre de mieux caractériser les CSL. Ainsi, des molécules de type ABC-transporteurs ont été identifiées dans les cellules CSL. Ils sont importants pour la fonctionnalité de la CSL au contact du stroma. Les ABC-transporteurs fonctionnent comme des pompes qui provoquent l'efflux actif de substances vers l'extérieur de la cellule. En particulier, ils provoquent la sortie de la cellule des drogues utilisées en chimiothérapie. Ces résultats expliqueraient les résistances aux chimiothérapies médiées par le stroma et reposant sur l'activation d'ABC-transporteurs.

Avancées

A long terme, ces nouveaux résultats qui impliquent le stroma médullaire dans la chimiorésistance des blastes de patients atteints de LAM, favoriseront le développement de stratégies thérapeutiques ciblant préférentiellement la cellule souche leucémique chimiorésistante dans son environnement afin de diminuer au maximum le risque de rechute.

97 PROJET SUBVENTIONNÉ N°2013-09

Rôle de la protéine tyrosine kinase AXL dans les leucémies myéloïdes : Etude de la signalisation, de la dérégulation et de la coopération oncogénique

Date de la subvention : 2013 - Jean-Max Pasquet, Université Victor Segalen - Bordeaux et François-Xavier Mahon, CHU Bordeaux

Contexte scientifique :

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est caractérisée moléculairement par la fusion de 2 chromosomes qui entraîne l'expression d'une protéine anormale Bcr-Abl. La protéine Bcr-Abl est une enzyme qui a une activité Tyrosine Kinase responsable de la prolifération et de la survie des cellules leucémiques. Une molécule, l'imatinib (Glivec™) est capable d'inhiber l'activité Tyrosine Kinase de Bcr-Abl et a été utilisée comme premier traitement de la LMC. Cependant, des résistances à l'imatinib apparaissent chez 20% des patients atteints de LMC. Le nilotinib est un autre inhibiteur de l'activité Tyrosine Kinase de Bcr-Abl, y compris dans les formes de LMC devenues résistantes à l'imatinib. Cependant chez les patients traités au nilotinib, des résistances se développent aussi, générant des rechutes de la maladie.

Question posée, objectifs :

Ce projet de recherche a pour but de comprendre les mécanismes de la résistance au traitement par le nilotinib. Le récepteur à activité tyrosine kinase, AXL, est activé dans de nombreux cancers. La quantité et l'activité de AXL ont été analysées dans une étude rétrospective chez des patients atteints de LMC, aux différents stades de la maladie.

Résultats obtenus :

L'étude montre que l'expression de AXL est augmentée chez les patients devenus résistants au nilotinib. AXL agit avec deux autres kinases LYN et SYK pour provoquer cette résistance au nilotinib.

Avancées

Cette étude permet de considérer AXL comme une nouvelle cible thérapeutique pour soigner la LMC. Il reste à préciser les différentes possibilités de ciblage d'AXL dans la LMC.

98 PROJET SUBVENTIONNÉ N°2013-10

Identification de nouveaux marqueurs immunologiques spécifiques de rechute dans la leucémie aigüe lymphoblastique B de l'enfant (étude LABMI)

Date de la subvention : 2013 - Dr Isabelle Pellier- CHU, Angers- Pr Pascale Jeannin- CHU, Angers

Contexte scientifique :

Les rechutes des leucémies aigües lymphoblastiques B (LAL) sont relativement rares chez l'enfant (1 à 2 %). Cependant, il est nécessaire de mettre en évidence les possibilités de rechute le plus rapidement possible afin de mieux les prévenir.

Question posée, objectifs :

Comment prédire les rechutes dans la leucémie aigüe lymphoblastique B de l'enfant ? Cette étude fait partie du protocole européen de traitement des rechutes de leucémies aigües lymphoblastiques (LAL) de l'enfant, l'essai IntReALL. Vingt-cinq unités d'hématologie pédiatrique françaises participent à cet essai. Le but spécifique du groupe est d'identifier de nouveaux marqueurs immunologiques qui pourraient empêcher le système immunitaire d'éliminer les cellules leucémiques et pourraient être des marqueurs annonciateurs de rechute.

Résultats obtenus :

Le sang d'enfants en rechute a été comparé au sang d'enfants du même âge traités pour une LAL-B et en rémission complète.

Les premières analyses montrent :

- une diminution du nombre de cellules immunitaires appelées cellules natural killer capables de tuer des cellules tumorales,
- une augmentation du taux d'une molécule capable d'inhiber les cellules du système immunitaire (une cytokine appelée IL-10) dans le sérum des enfants en rechute. Ces deux marqueurs seraient les témoins d'un système immunitaire moins efficace, cependant, ces résultats doivent être confirmés sur un plus grand nombre d'enfants.

Avancées

Ces facteurs immunologiques, qui pourraient être présents chez l'enfant avant même le diagnostic de la rechute, pourraient permettre de mettre en évidence, très précocement, les risques de rechute et éventuellement d'adapter le traitement.

Etude de la génotoxicité sur les ovocytes de souris des agents de chimiothérapie utilisés dans les leucémies aigües.

Date de la subvention : 2014 - Blandine Courbière, Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie, Marseille et Thomas Prebet, Institut Paoli Calmettes, Marseille

Contexte scientifique :

Le troisième plan Cancer (2014-2019) a mis en avant la nécessité de préserver la qualité de vie après cancer et en particulier la préservation de la fertilité. Dans le cas de leucémies aigües, il peut être parfois difficile de congeler les ovocytes avant chimiothérapie à cause de l'urgence à débiter le traitement.

Question posée, objectifs :

L'équipe a étudié les conséquences de la chimiothérapie (cytarabine et daunorubicine) sur le fonctionnement des ovaires chez la souris, les ovocytes humains étant indisponibles pour la recherche.

Résultats obtenus :

La cytarabine et la daunorubicine n'ont pas d'effet sur la réserve ovarienne et sur les taux d'ovulation et de fécondation. En revanche, des lésions de l'ADN des ovocytes ont été observées bien que les ovocytes restent fécondants. Après 12 semaines (ce qui correspond à 4 cycles ovariens chez la femme), les ovocytes n'avaient plus de lésions de l'ADN.

Avancées :

Ces résultats permettent de proposer aux patientes une stimulation ovarienne et la conservation des ovocytes deux ans après la fin de la chimiothérapie.

Identification des mécanismes moléculaires et cellulaires responsables des thrombocythémies essentielles sporadiques dites « TE triple négatives » par des techniques de séquençage de nouvelle génération

Date de la subvention : 2014 - Isabelle PLO et Vincent Ribrag, Institut Gustave Roussy, Villejuif

Contexte scientifique :

Les thrombocythémies essentielles (TE) sont des maladies hématologiques malignes chroniques et sont caractérisées par un excès de plaquettes. L'équipe porteuse du projet a identifié un certain nombre de mutations responsables de la maladie. Ces mutations induisent une plus grande activation d'une voie de signalisation (la voie JAK2), ce qui entraîne une prolifération anormale des cellules à l'origine de la formation des plaquettes.

Question posée, objectifs :

Les mutations décrites sont à l'origine de 80 à 90% des cas de TE. Le but de ce projet est d'identifier de nouvelles mutations qui pourraient être responsables des cas de TE dont l'origine n'est pas connue.

Résultats obtenus :

Grâce à un séquençage du génome dans la partie des gènes qui codent pour les protéines, les chercheurs de l'équipe ont mis en évidence de nouvelles mutations dans des cas sporadiques de TE dont l'origine n'est pas connue. Des études fonctionnelles sont en cours pour déterminer la fonction des nouveaux mutants dans la pathologie.

Avancées :

Les résultats de ce travail permettront de proposer de nouveaux traitements mieux adaptés pour les cas de TE dont l'origine n'est pas connue.

Rôle de la voie BMP dans la résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinases indépendante de l'oncogène des cellules souches leucémiques de Leucémie Myéloïde Chronique

Date de la subvention : 2014 - Véronique Maguer-Satta - Centre de Recherche sur le Cancer- Lyon et Franck Nicolini - CHU - Lyon

Contexte scientifique :

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un cancer des cellules du sang. Comme dans d'autres cancers, certains patients développent des résistances aux traitements, ce qui entraîne une rechute de la maladie. Cette résistance est développée par une petite population de cellules cancéreuses qui ont des caractéristiques de cellules souches (CS) (la cellule souche permet le renouvellement des cellules du sang).

Question posée, objectifs :

Pour obtenir la guérison, les CS cancéreuses qui sont devenues résistantes au traitement, doivent être éliminées. À cette fin, la compréhension des mécanismes moléculaires qui conduisent à cette résistance aux traitements est indispensable.

Résultats obtenus :

Cette équipe avait observé, lors du diagnostic de la LMC, que les cellules de stroma qui entourent les CS cancéreuses produisent des quantités anormalement élevées de la protéine BMP. Cette étude montre que la protéine BMP joue un rôle important dans la croissance des CS cancéreuses. De plus, BMP est responsable du mécanisme qui permet aux CS cancéreuses d'échapper à la mort provoquée par les traitements administrés pour tuer les cellules cancéreuses.

Avancées

Ce projet a permis de comprendre un mécanisme de résistance au traitement de la LMC. BMP est identifiée comme une nouvelle cible thérapeutique pertinente pour tuer les CS cancéreuses chez les patients et éviter la rechute de la leucémie.

Rôle de l'autophagie et des caspases au cours de la différenciation macrophagique des monocytes. Application à l'étude de la Leucémie MyéloMonocytaire Chronique (LMMC)

Date de la subvention : 2014 - Patrick Auberger, Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire, Nice et Laurence Legros, Hôpital de l'Archet, Nice

Contexte scientifique :

La leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) touche habituellement les sujets âgés, l'âge moyen au moment du diagnostic étant d'environ 70 ans. La LMMC se caractérise par l'accumulation de monocytes (globules blancs) dans le sang. Ces monocytes chez un sujet non malade se différencient en macrophages qui sont responsables en partie de la réponse antibactérienne. Dans la LMMC, la transformation du monocyte en macrophage ne se fait pas, provoquant une diminution du nombre de macrophages chez ces patients, ce qui peut expliquer les complications infectieuses, quelquefois fatales, observées au cours de cette pathologie.

Question posée, objectifs :

Le but du projet était d'identifier les causes du défaut de différenciation des monocytes en macrophages observées chez les patients atteints de LMMC, afin de définir des stratégies thérapeutiques pour rétablir la différenciation du monocyte en macrophage.

Résultats obtenus :

Les chercheurs de l'équipe ont montré que l'activité des enzymes appelées caspases est indispensable à la différenciation des monocytes sains en macrophages. En comparant l'activité des caspases dans les monocytes sains et les monocytes de patients LMMC, les chercheurs ont montré que l'activation des caspases était insuffisante chez les patients LMMC. L'étude des mécanismes moléculaires responsables de cette baisse d'activité des caspases dans les monocytes de patients LMMC a mis en évidence le rôle du récepteur purinergique P2RY6 dans cette insuffisance. L'inhibition de P2RY6 dans les monocytes LMMC permet de rétablir la différenciation des monocytes en macrophages.

Avancées :

La connaissance du rôle du récepteur purinergique P2RY6 pour relancer la différenciation déficiente des monocytes en macrophages chez les patients atteints de LMMC ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques basées sur l'utilisation des inhibiteurs de P2RY6 pour traiter les patients LMMC.

Fonctions pro-oncogéniques de la voie Wnt/Frizzled non canonique dans la LAL-T et implications thérapeutiques

Date de la subvention : 2014 - Jacques Ghysdael, Institut Curie, Orsay et Hervé Dombret, Hôpital Saint-Louis, Paris

Contexte scientifique :

Les leucémies lymphoblastiques aigües du lignage T (LAL-T) sont des pathologies hétérogènes qui résultent de multiples mutations génétiques amenant à l'expansion de cellules immatures non fonctionnelles.

Question posée, objectifs :

L'équipe se propose de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques pour les LAL-T en déterminant les voies de signalisation moléculaires impliquées dans le développement de la maladie et/ou le développement de la résistance au traitement des LAL-T.

Résultats obtenus :

Les résultats montrent qu'une protéine particulière, une enzyme appelée Calcineurine, est anormalement activée dans les LAL-T, indiquant que l'activation de la Calcineurine pourrait avoir un rôle dans le développement de la maladie. L'équipe a démontré que de multiples signaux coopèrent pour activer la calcineurine, en particulier, les CAMkinases. Ainsi, l'inhibition de l'activité de la Calcineurine, ou des CAMkinases qui sont impliquées dans l'activation de la Calcineurine pourrait empêcher le développement de la maladie. Des inhibiteurs des CAMkinases sont en cours de développement dans l'industrie pharmaceutique.

Avancées :

L'identification de nouvelles cibles moléculaires ouvre des perspectives pour la mise au point de nouvelles thérapies dans les LAL-T.

Etude du rôle des longs ARN non codants dans les leucémies aigües myéloblastiques

Date de la subvention : 2014 - Pierre Brousset et Christian Recher, CHU Purpan - Toulouse

Contexte scientifique :

L'ADN est le support de l'information génétique de chaque individu. Il est composé de séquences codantes (transcrites en ARN messagers qui sont traduits à leur tour en protéines) et de séquences non-codantes (non transcrites, ou transcrites en ARN, mais non traduits). Le rôle de ces ARN non codants reste inconnu pour la plupart d'entre eux.

Question posée, objectifs :

Le projet propose d'étudier le rôle physiologique et pathologique des longs ARN non codants (lncRNA) dans la leucémie aigüe myéloïde (LAM).

Résultats obtenus :

12 lncRNA ont été spécifiquement associés à la maladie. L'un d'entre eux pourrait servir de biomarqueur : l'équipe a mis en évidence qu'une faible expression de ce biomarqueur était associée à un bon pronostic. Un autre lncRNA pourrait avoir un rôle dans le développement des leucémies aigües myéloïdes.

Avancées :

L'exploration de la classe des ARN non codants pourrait rapidement donner accès à des outils moléculaires de choix pour de futures thérapies, de nouveaux tests diagnostiques et aider au pronostic.

Date de la subvention : 2014 - Bernard Bonotte, Inserm Besançon et Eric Deconinck, CHU Besançon

Contexte scientifique :

L'allogreffe de cellules souches est le traitement qui permet la guérison des patients atteints de leucémies aiguës. Malheureusement, dans un cas sur 2, ce traitement entraîne des effets secondaires redoutables appelés réaction du greffon contre l'hôte (GvHD). A ce jour, les seules thérapies possibles pour cette GvHD utilisent des traitements par des corticoïdes à forte dose et par des immunosuppresseurs souvent délétères et inefficaces dans un cas sur 2.

Question posée, objectifs :

Ce projet de recherche avait pour objectif d'étudier une nouvelle thérapie susceptible d'éviter la réaction du greffon contre l'hôte.

Résultats obtenus :

Cette équipe a mis au point une méthode pour générer des cellules immunosuppressives à partir d'un type de globules blancs circulants dans le sang: les monocytes. La caractérisation de ces cellules qui sont appelées HuMoSC est en cours pour comprendre les mécanismes par lesquels elles seraient capables de prévenir la GvHD.

Avancées

Ces cellules qui exercent des effets immunosuppresseurs pourraient être utilisées comme « régulateurs naturels » pour prévenir le rejet du greffon contre l'hôte.

Date de la subvention : 2014 - Florence Nguyen Khac, Centre de Recherche des Cordeliers - Paris et Véronique Leblond, Hôpital Pitié-Salpêtrière - Paris

Contexte scientifique :

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est la plus fréquente des leucémies de l'adulte dans les pays occidentaux. De nombreuses rechutes apparaissent après traitement. Il apparaît nécessaire de proposer des traitements adaptés à chaque pathologie (médecine personnalisée).

Question posée, objectifs :

L'équipe se propose de trouver de nouvelles cibles de traitement pour la LLC.

Résultats obtenus :

Les chercheurs ont montré que, dans 16% des patients avec une LLC de stade avancé, les cellules tumorales portent une anomalie chromosomique : un gain du bras court du chromosome 2. De plus, ils ont montré que le gène XPO1, localisé dans cette région, jouait un rôle important dans la résistance aux traitements.

Avancées :

Cette anomalie doit être recherchée avant toute décision thérapeutique car elle constitue un marqueur important de la résistance aux traitements. Le gène XPO1 pourrait constituer une cible intéressante pour la mise au point de nouvelles molécules, ce qui permettrait d'optimiser les traitements.

Impact d'un nouveau marqueur épigénétique sur la réponse aux traitements des cellules de leucémies aigües myéloïdes.

Date de la subvention : 2014 - Estelle Duprez, Inserm Marseille et Norbert Vey, Institut Paoli Calmettes - Marseille

Contexte scientifique :

Les leucémies aigües myéloïdes (LAM) sont caractérisées par une augmentation de globules blancs anormaux dans la moelle osseuse et dans le sang. Dans plus de la moitié des cas, des anomalies dans les chromosomes sont détectées dans les cellules leucémiques des patients. Elles permettent d'adapter au mieux les traitements et de prédire un risque de rechute. Dans les cas de LAM pour lesquels aucune anomalie chromosomique n'est détectée (LAM-CN), un groupe de protéines, les protéines Polycomb, sont suspectées jouer un rôle dans le développement de la leucémie. Les protéines Polycomb contribuent à l'édification de la structure du chromosome et constituent des marques épigénétiques reconnaissables par des anticorps. Dans certaines cellules leucémiques, ces marques épigénétiques sont désorganisées.

Question posée, objectifs :

Ce projet de recherche avait pour objectif de découvrir des marqueurs épigénétiques qui caractérisent les cellules de LAM-CN et de déterminer si ces marqueurs avaient une valeur prédictive pour l'évolution de la maladie et la réponse au traitement par des chimiothérapies utilisant des épigénétiques.

Résultats obtenus :

L'étude de 51 échantillons de LAM-CN, par des techniques utilisant des anticorps qui reconnaissent les marqueurs Polycomb, a permis d'identifier le marqueur H3K27me3HIST1+ et de montrer que la présence de ce marqueur avait un effet favorable sur la survie des patients, ce qui pourrait s'expliquer par une meilleure réponse à la chimiothérapie. Les modifications biochimiques et biologiques associées à la présence du marqueur H3K27me3HIST1+ dans la cellule leucémique sont en cours d'étude dans des modèles de LAM chez la souris. Ces modèles permettront de tester la réponse à la chimiothérapie des cellules leucémiques possédant ce marqueur.

Avancées :

Cette étude a mis en évidence le double intérêt du marqueur épigénétique H3K27me3HIST1+ comme outil pronostique pour les LAM-CN et comme outil prédictif de la réponse à un type de chimiothérapie.

Modélisation de l'évolution clonale des leucémies aigües myéloïdes traitées par agents épigénétiques

Date de la subvention : 2014 - Jean Soulier, Inserm U944 - Institut Universitaire d'Hématologie- Hôpital Saint-Louis - Paris et Hervé Dombret, Service d'Hématologie - Hôpital Saint-Louis- Paris.

Contexte scientifique :

De nouveaux traitements sont en cours de développement pour la prise en charge des personnes âgées trop fragiles pour recevoir des chimiothérapies lourdes.

Des agents « épigénétiques » agissant sur la quantité de molécules synthétisées par la cellule sont à l'étude. Ils pourraient bloquer l'expression de « gènes du cancer » (oncogènes) qui facilitent le développement des cellules cancéreuses ou à l'inverse, forcer la lecture de gènes « anti-cancer » (gènes dits « suppresseurs de tumeur ») qui ralentiraient la croissance tumorale.

Question posée, objectifs :

L'équipe a évalué les effets de plusieurs agents épigénétiques sur les cellules de leucémie aigüe myéloïde (LAM). Les principaux résultats de cette étude concernent les effets de l'azacitidine sur les progéniteurs granulomonocytaires dans les syndromes myélodysplasiques de haut risque et les leucémies aigües myéloïdes.

Résultats obtenus :

Les chercheurs ont établi une corrélation entre les mutations présentes dans les différentes populations de cellules leucémiques avant et après traitement par l'azacitidine et la capacité à proliférer de ces différentes populations cellulaires. Ils ont mis en évidence qu'une population cellulaire correspondant à 1-10% des cellules de la maladie, résiste à l'azacitidine. Cette population cellulaire est donc un réservoir qui résiste à l'action de la drogue et joue un rôle dans les rechutes de la maladie.

Avancées :

Un test biologique qui permettrait de mieux identifier les patients dont les leucémies sont susceptibles de répondre à l'azacitidine est en cours de développement.

Implications des mutations familiales de GATA2 dans les myélodysplasies et les leucémies aigües myéloïdes.

Date de la subvention : 2014 - Eric Delabesse, CHU Purpan, Toulouse et Jean Donadieu, Hôpital Trousseau, Paris

Contexte scientifique :

Le processus de production des cellules du sang, appelé hématopoïèse, est finement contrôlé par certains gènes. Quand ces gènes sont altérés (mutation, surreprésentation ou absence), l'hématopoïèse devient aberrante provoquant des maladies du sang (hémopathies). Parmi celles-ci, les Leucémies Aigües Myéloïdes (LAM) sont caractérisées par la multiplication incontrôlée de cellules immatures bloquées dans leur différenciation: les blastes. Au niveau moléculaire, l'apparition de la leucémie nécessite au moins deux altérations génétiques : une première qui va induire un état pré-leucémique (myélodysplasies MDS) et une seconde qui va favoriser le développement de la leucémie.

Question posée, objectifs :

Le travail a été initié suite à l'étude d'une famille présentant 4 cas de leucémies et de myélodysplasies. Le gène GATA2 joue un rôle important dans la formation des cellules du sang. Une mutation familiale dans le gène GATA2 a été identifiée chez ces patients.

Le projet était de séquencer le gène GATA2 chez les patients atteints de neutropénies afin de préciser si la mutation de GATA2 pouvait être un facteur prédictif du développement de la MDS. L'objectif du projet était aussi de comprendre comment les modifications de GATA2 perturbent le déroulement de l'hématopoïèse et d'identifier les mutations secondaires pouvant favoriser l'évolution vers la MDS et la LAM chez ces patients.

Résultats obtenus :

Des familles porteuses de mutations dans le gène GATA2 ont été identifiées. 79 patients ont été diagnostiqués et leur évolution a été suivie. Elle est marquée, à l'adolescence ou chez l'adulte jeune, par une fréquente évolution en MDS et/ou LAM. D'autre part, le séquençage de l'ensemble des gènes de ces patients a été réalisé afin d'identifier les événements additionnels pouvant expliquer l'évolution vers le stade de LAM ou de MDS des patients mutés pour GATA2. Les résultats sont en cours d'analyse.

Pour comprendre comment les modifications de GATA2 perturbent le déroulement de l'hématopoïèse et induit une leucémie, la maladie a été modélisée dans une souris porteuse de la mutation GATA2. Le modèle murin est en cours d'analyse.

Avancées :

La mutation du gène GATA2 apparaît comme un outil pour un meilleur dépistage et une prise en charge précoce des patients.

Analyse de l'efficacité de composés de Pyridopyrazines pour le traitement des leucémies aigües myéloblastiques.

Date de la subvention : 2015 - Ronan Quéré, Université de Bourgogne, Dijon et Denis Caillot, Hôpital le Bocage, Dijon

Contexte scientifique :

La Leucémie Aigüe Myéloïde (LAM) est la plus fréquente des leucémies aigües. Les traitements thérapeutiques actuels, basés sur une polychimiothérapie longue et intensive sont associés à des rechutes fréquentes. Il apparaît donc important d'identifier d'autres molécules chimiques pour traiter les LAM. La capacité et l'efficacité de différents composés chimiques (issus de la Chimiothèque Nationale de l'Institut Curie-Paris) à éliminer les cellules leucémiques ont été testées dans des modèles de souris développant des LAM. Un nouveau composé chimique de la famille des Pyrido[4,3-b]Quinoxalines (PyQ) capable d'inhiber la croissance des cellules leucémiques a été identifié.

Question posée, objectifs :

Les objectifs de ce projet de recherche sont de caractériser les cibles moléculaires affectées par PyQ dans la cellule leucémique et d'analyser l'effet de ce composé sur des cellules de LAM issues de patients.

Résultats obtenus :

Au niveau mécanistique, le PyQ est un agent qui s'intercale dans les membranes périphériques des cellules et peut ainsi modifier les fonctions des récepteurs présents dans ces membranes et les voies de signalisation que ces récepteurs contrôlent. Le CD45 est une protéine à activité tyrosine phosphatase, exprimé par les cellules hématopoïétiques. CD45 est impliqué dans la régulation de la fonction de plusieurs récepteurs à cytokines qui sont les molécules qui contrôlent la prolifération des cellules leucémiques.

Des études de microscopie ont montré que la localisation du CD45 dans les membranes des cellules est différente dans les cellules leucémiques et les cellules hématopoïétiques saines. Le PyQ modifie cette localisation de CD45. En conséquence, les blastes leucémiques de patients souffrant de LAM disparaissent quand ils sont traités avec PyQ, alors que des cellules non leucémiques ne sont pas affectées.

Sur un modèle de souris développant des LAM, un retard significatif du développement de la leucémie est observé dans les souris traitées par PyQ.

Avancées :

Le PyQ pourrait servir de traitement de consolidation à la chimiothérapie afin d'augmenter le taux de rémission complète à long terme des patients atteints d'une leucémie.

Identification de facteurs biologiques de stratification et de thérapie ciblée dans les Leucémies Aigües Lymphoblastiques T de l'enfant (protocole national FRALLE 2000)

Date de la subvention : 2015 - Vahid Asnafi, Institut Necker-Enfants Malades, Paris et Arnaud Petit, Centre de Recherche Saint-Antoine, Paris

Contexte scientifique :

Les Leucémies Aigües Lymphoblastiques T (LAL-T) sont des formes rares d'hémopathies malignes. Elles se développent à partir de cellules immatures de la moelle osseuse appelées cellules souches médullaires. Les LAL-T surviennent majoritairement chez des sujets âgés de 10 à 30 ans.

Question posée, objectifs :

La compréhension des mécanismes moléculaires qui provoquent le développement des cellules leucémiques offre des perspectives de développement de nouveaux traitements. L'objectif du projet était de caractériser des anomalies moléculaires/génétiques au diagnostic qui permettent de meilleurs choix thérapeutiques pour améliorer la prise en charge des patients et diminuer leur risque de rechute.

Résultats obtenus :

Les gènes NOTCH1, RAS et PTEN participent à une voie de signalisation importante dans les cellules leucémiques. Le séquençage des gènes NOTCH1/RAS/PTEN a été réalisé dans une cohorte de 220 LAL-T pédiatriques.

Le profil des mutations dans chacun de ces 3 gènes NOTCH1/RAS/PTEN a montré que les mutations de ces gènes constituent un facteur prédictif d'une survie favorable chez l'adulte et chez l'enfant. Il permet d'identifier les patients qui présentent un faible risque de rechute.

Avancées :

Ces travaux ont trouvé une application directe dans la prise en charge thérapeutique des LAL-T qui fait appel à une stratification du traitement en fonction du statut de mutation des gènes NOTCH1/RAS/PTEN.

Etude de l'influence de l'épigénétisme dans le développement de la leucémie lymphoïde chronique afin de proposer des thérapies personnalisées

Date de la subvention : 2015 - Yves Renaudineau et Christian Berthou, CHRU Morvan, Brest

Contexte scientifique :

La cytosine est une des 4 bases qui constituent l'ADN. Elle peut subir différentes modifications qui influencent l'expression des gènes. L'ensemble de ces modifications définit le profil épigénétique de l'ADN. Des altérations du profil épigénétique de l'ADN jouent un rôle dans la genèse des cancers. La cytosine peut être modifiée par un mécanisme appelé méthylation. Des augmentations ou des diminutions de la méthylation des cytosines sont associées à la Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC) mais leur impact sur les résultats cliniques sont mal compris.

Question posée, objectifs :

L'objectif de l'étude est d'identifier les défauts de méthylation de la cytosine chez des patients atteints de LLC et de déterminer si ces défauts épigénétiques peuvent être utilisées comme outils de diagnostic de la LLC, afin de développer la thérapie la mieux adaptée pour un patient identifié.

Résultats obtenus :

La quantification des méthylations des cytosines a été réalisée avec l'ADN des lymphocytes B d'une cohorte de patients atteints de LLC et comparée à celle de lymphocytes B prélevés chez des sujets sains. Cette quantification a permis de répartir les patients en trois groupes. Ces 3 groupes correspondent à des stades différents de la progression de la LLC. Ces résultats démontrent que la méthylation des cytosines est un mécanisme important au cours de la progression de la LLC. Ils ouvrent des perspectives thérapeutiques basées sur des médicaments qui ciblent les enzymes modifiant les cytosines de l'ADN.

Avancées :

Ce projet a permis de mieux comprendre l'importance des modifications épigénétiques lors de l'évolution de la LLC (intérêt diagnostique), ce qui à terme devrait permettre d'agir sur ces modifications et de proposer des thérapeutiques innovantes.

Etude des altérations de la réparation de l'ADN dans les cellules souches hématopoïétiques de patients atteints de leucémie myélomonocytaire chronique.

Date de la subvention : 2015 - Françoise Porteu - Inserm U1170, Institut Gustave Roussy- Villejuif -Eric Solary - Département d'oncologie médicale, Institut Gustave Roussy - Villejuif

Contexte scientifique :

Les cellules sanguines ont pour origine une cellule souche hématopoïétique (CSH) présente dans la moelle osseuse. Les CSH sont douées de capacités d'auto-renouvellement et de différenciation vers les différentes lignées sanguines. Tout au long de leur vie, les CSH subissent des stress pouvant induire des lésions de l'ADN. Si ces lésions sont mal réparées, cela entraîne des défauts en cascade dans la cellule qui peuvent mener à leur transformation.

La leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) est une maladie de la CSH qui se traduit par un taux de monocytes supérieur à 1000/mm³. Cette maladie du vieillissement (l'âge moyen au diagnostic est 72 ans) reste incurable. Le seul traitement est une allogreffe de CSH, mais il est rarement réalisé compte-tenu de l'âge. Un taux élevé de dommages à l'ADN est observé dans les cellules de patients atteints de LMMC. Les mutations apparaissent dans les CSH et s'accumulent progressivement.

Question posée, objectifs :

Quelle est la cause de cette accumulation de mutations ? L'hypothèse testée par l'équipe est la présence d'un défaut des mécanismes de réparation de l'ADN chez ces patients.

Résultats obtenus :

L'équipe a montré que les CSH des patients ont une capacité réduite à réparer les cassures de l'ADN. Elles ne répondent pas à une stimulation par la Thrombopoïétine (TPO), un facteur de croissance qui est indispensable pour maintenir la fonction des CSH et qui accélère la réparation des cassures de l'ADN. L'équipe a ensuite testé les effets d'une molécule mimant la TPO, l'eltrombopag. Chez les patients traités par cette molécule, une restauration du taux de plaquettes et une diminution des besoins en transfusions sont observés améliorant grandement leur qualité de vie.

Avancées :

Cette recherche pourrait permettre à terme d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques chez les patients atteints de LMMC comme stimuler la réparation de l'ADN dans les CSH afin de prévenir l'accumulation d'anomalies génétiques et empêcher l'évolution de la maladie vers la transformation aigüe.

Capture moléculaire du clone pré-leucémique dans les leucémies aigües myéloïdes : analyse différentielle de l'hématopoïèse normale et pré-leucémique à l'échelon unicellulaire.

Date de la subvention : 2015 - François Delhommeau - UMR938 - Centre de recherche Saint-Antoine - Paris - Olivier Legrand - Service d'hématologie clinique et thérapie cellulaire - Hôpital Saint-Antoine, Paris.

Contexte scientifique :

Les leucémies aigües myéloïdes (LAM) sont les leucémies aigües les plus fréquentes dans la population adulte (70% des leucémies aigües). Leur développement dépend de la transformation d'une cellule souche hématopoïétique (CSH) suite à l'acquisition progressive de multiples lésions chromosomiques et/ou génomiques. Des lésions génétiques acquises ont été retrouvées très tôt au cours du développement de la maladie. Le groupe de cellules contenant cette lésion moléculaire précoce est appelé « clone pré-leucémique ». Ces clones pré-leucémiques pourraient être des « réservoirs de la rechute ».

Question posée, objectifs :

L'équipe propose d'identifier les lésions chromosomiques ou génomiques (mutations, délétions, réarrangements...) présentes dans le clone pré-leucémique dans le but de mieux éliminer ces clones cellulaires qui peuvent servir de réservoirs leucémiques. Cette étude est réalisée à l'échelle unicellulaire sur des échantillons médullaires de LAM prélevés au diagnostic.

Résultats obtenus :

L'équipe a rencontré de nombreux problèmes pour isoler les cellules des clones pré-leucémiques à l'échelle unicellulaire : les cellules doivent être triées selon certains critères et déposées dans une plaque de culture à raison d'une seule cellule par puits. La majorité des cellules étaient dégradées au cours de ces étapes. L'équipe s'est adaptée à ces difficultés grâce à l'utilisation de matériel plus sophistiqué et à de nombreuses collaborations.

Finalement, l'équipe a obtenu des résultats intéressants : deux gènes sont apparus régulièrement mutés dans les clones pré-leucémiques : les gènes TET2 et DNMT3A. L'inhibition de l'expression des gènes TET2 ou/et DNMT3A dans les clones pré-leucémiques entraîne différentes variations du transcriptome (ensemble des ARNs d'une cellule) dans les cellules pré-leucémiques. Les différences de modifications de l'expression génique dans les cellules pré-leucémiques selon que l'expression du gène DNMT3A ou du gène TET2 est inhibée sont en cours d'étude.

Avancées :

Le ciblage thérapeutique et l'éradication de ce clone pré-leucémique en exploitant ces différences d'expression, pourraient constituer une thérapie de choix dans le traitement des LAM.

Efficacité des protéines de choc thermique (HSP) dans les syndromes myéloprolifératifs.

Date de la subvention : 2015 - Carmen Garrido, Inserm UMR1231 - Faculté de Médecine - Dijon et François Girodon, Service hématologie biologique - CHU de Dijon.

Contexte scientifique :

Les néoplasies myéloprolifératives (NPM) sont des maladies hématologiques chroniques qui peuvent évoluer spontanément vers des formes agressives de très mauvais pronostic. La forme la plus sévère des NPM est la Myélofibrose Primitive.

Il a été montré que certaines protéines de choc thermique (Heat Shock Proteins-HSP), notamment HSP90, jouent un rôle dans le contrôle de la prolifération de cellules de la Myélofibrose Primitive. L'inhibition de HSP90 réduit la prolifération de ces cellules.

Question posée, objectifs :

Cependant, quand la protéine HSP90 est inhibée, il a été observé que la synthèse d'autres HSP est augmentée, en particulier celle de HSP27 dans les cellules de la Myélofibrose Primitive.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer le rôle potentiel d'HSP27 dans la survenue de la Myélofibrose Primitive.

Résultats obtenus :

Les auteurs montrent qu'effectivement HSP27 joue un rôle pivot dans la régulation de la prolifération cellulaire. Dans un modèle murin de myélofibrose, l'inhibition de cette protéine HSP27 provoque une diminution de la taille de la rate des souris atteintes de myélofibrose et entraîne la prolifération des cellules précurseurs des plaquettes sanguines (deux caractéristiques classiques des myélofibroses). De plus, les auteurs ont observé que les concentrations sanguines et cellulaires d'HSP27 chez des patients atteints de myélofibrose étaient élevées en comparaison à des sujets sains.

Avancées :

L'ensemble de ces résultats valide le rôle de HSP27 dans la Myélofibrose Primitive et indique que HSP27 représente une cible thérapeutique dans cette maladie.

Evaluation d'une approche de médecine personnalisée dans les leucémies aigües myéloïdes basée sur le criblage à haut-débit, ex vivo, de la sensibilité des cellules leucémiques aux chimiothérapies.

Date de la subvention : 2015 - Marie Briet - Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie - CHU d'Angers - Norbert Ifrah - Service des maladies du Sang - CHU d'Angers.

Contexte scientifique :

La leucémie aigüe myéloïde est une maladie grave qui touche des personnes âgées de 65 ans en moyenne. La gravité de la maladie tient à la fréquence des rechutes et à la résistance au traitement par chimiothérapie.

Question posée, objectifs :

Ce projet avait pour objectif d'évaluer la capacité d'un grand nombre de chimiothérapies, environ 160, à éliminer les cellules leucémiques.

Résultats obtenus :

L'efficacité des chimiothérapies a été évaluée in vitro sur une plateforme de criblage à haut débit mise en place pour ce projet. Après avoir validé cette méthode de criblage à haut débit pour estimer la sensibilité des cellules leucémiques aux chimiothérapies, le profil de chimiosensibilité des échantillons de 80 patients atteints de leucémie aigüe a été analysé. Les résultats de cette étape ont permis d'identifier de nouvelles molécules d'intérêt dans le traitement de la leucémie aigüe myéloïde, de montrer qu'il existe un profil de chimiosensibilité particulier à chaque patient et qu'une relation existe entre les caractéristiques moléculaires de la maladie et le profil de réponse aux chimiothérapies.

Avancées :

Cette approche qui permet d'adapter le traitement aux caractéristiques de la maladie de chaque patient ouvre des perspectives pour la prise en charge quotidienne des malades. L'intégration des informations fournies par le criblage à haut débit de la sensibilité des cellules leucémiques aux chimiothérapies dans la décision thérapeutique pourrait améliorer la prise en charge clinique.

Mort cellulaire programmée induite par des peptides agonistes du récepteur CD47: une nouvelle stratégie pour le traitement de la leucémie lymphoïde chronique.

Date de la subvention : 2015 - Santos A. Susin, Centre de Recherches des Cordeliers, Paris et Magali Letarff-Tavernier, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

Contexte scientifique :

La Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC) est la plus fréquente des leucémies de l'adulte. Cette hémopathie est caractérisée par la prolifération incontrôlée de lymphocytes B dans le sang et la moelle osseuse. Des traitements utilisant de nouvelles molécules ont été développés récemment mais la résistance aux drogues reste la cause majeure des échecs thérapeutiques.

Question posée, objectifs :

La protéine CD47 est exposée à la surface des lymphocytes et son activation peut déclencher la mort des lymphocytes. L'objectif de l'étude était de déterminer si l'activation de CD47 dans les cellules leucémiques pourrait être utilisée comme stratégie thérapeutique pour traiter les patients atteints de LLC résistantes à toutes les chimiothérapies.

Résultats obtenus :

Des molécules capables d'activer CD47 ont été développées. L'activité de ces molécules a été testée sur des échantillons de sang de patients atteints de LLC dont certaines étaient des formes agressives et rebelles à toute thérapeutique. Ces molécules se sont avérées capables de provoquer spécifiquement la mort des cellules B leucémiques, alors qu'elles n'ont pas d'effet sur des cellules B normales.

Avancées :

Ce travail ouvre des perspectives très encourageantes pour explorer une nouvelle voie thérapeutique impliquant l'activation de CD47, pour juguler les formes les plus résistantes de LLC.

L'hypothèse d'un axe lymphocytaire iNKT/T « innate-memory » anti-tumoral dans la leucémie myéloïde chronique

Date de la subvention : 2015 - André Herbellin, Pôle Biologie Santé, Poitiers et Lydia Leroy, Centre d'Investigation Clinique, Poitiers

Contexte scientifique :

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est une hémopathie maligne qui est caractérisée par une translocation chromosomique qui entraîne la fusion de deux gènes, ABL et BCR. La conséquence est l'expression d'une protéine anormale BCR-ABL qui est une protéine tyrosine kinase dont l'activité provoque la prolifération incontrôlée des cellules myéloïdes.

Question posée, objectifs :

Les cellules leucémiques expriment des protéines anormales. Ces protéines spécifiques de la cellule leucémique peuvent être reconnues par le système immunitaire qui deviendra alors capable d'éliminer les cellules leucémiques.

L'objectif du projet était de développer des traitements qui associent un agent thérapeutique qui stimule la reconnaissance des protéines tumorales par le système immunitaire avec un agent thérapeutique qui inhibe l'activité de la protéine BCR-ABL, afin de mieux contrôler la LMC.

Résultats obtenus :

Le Dasatinib, un médicament inhibiteur de tyrosine kinase BCR-ABL. L'interferon- α est une molécule capable de rendre le système immunitaire anti-leucémique plus efficace en favorisant le développement de lymphocytes T particuliers appelés, les T innés.

Le Dasatinib est un médicament inhibiteur de la tyrosine kinase BCR-ABL. L'interferon- α est une molécule capable de rendre le système immunitaire anti-leucémique plus efficace en favorisant le développement de lymphocytes T particuliers appelés, les T innés. Le Dasatinib a été administré en combinaison avec l'interferon- α à des patients atteints de LMC.

De manière remarquable, les cellules T innées dont le nombre est augmenté par l'interferon- α ont favorisé l'élimination des cellules leucémiques après 12 mois de traitement. De plus, 50 % des patients ayant reçu l'association Dasatinib/interferon- α n'ont pas rechuté après 6 mois d'arrêt de traitement, suggérant que les cellules T innées pourraient constituer un marqueur prédictif de réussite d'arrêt de traitement.

Avancées :

Ces travaux pourraient contribuer à une meilleure prise en charge des patients lorsque la question de l'arrêt du traitement est posée. Le ciblage thérapeutique des cellules T innées par l'interferon- α permettrait de conduire la grande majorité des patients après arrêt du traitement, à une rémission clinique de la maladie.

Analyses génétiques et fonctionnelles des leucémies aigües mégacaryoblastiques de l'enfant

Date de la subvention : 2015 - Thomas Mercher, Institut Gustave Roussy - Villejuif et Judith Landman Parker, Hôpital Trousseau - Paris

Contexte scientifique :

Les leucémies sont des cancers des cellules de la moelle osseuse qui produit les cellules du sang. Certaines leucémies sont spécifiques de l'enfant. Bien qu'environ 80% des leucémies de l'enfant présentent une bonne réponse au traitement et un bon pronostic, 20% d'entre elles représentent toujours un défi clinique, avec une résistance aux traitements conventionnels.

Question posée, objectifs :

Le but de ce projet est de mieux comprendre les processus de développement de certaines Leucémies Aigües Myéloïdes (LAM) de l'enfant dans lesquelles une translocation chromosomique ETO2-GLIS2 a été identifiée, en 2012 au laboratoire. Cette protéine ETO2-GLIS2 est aberrante et ne s'exprime pas dans une cellule normale. Elle résulte de la fusion de deux protéines ETO2 et GLIS2 normalement indépendantes dans la cellule. L'objectif de ces travaux est double : 1-Etudier des échantillons de patients pour définir les caractéristiques des patients présentant la fusion ETO2-GLIS2 ; 2- Etudier les mécanismes moléculaires qui font que la protéine de fusion ETO2-GLIS2 conduit à une leucémie. A l'avenir, cette protéine pourrait constituer une cible thérapeutique pour les patients.

Résultats obtenus :

En collaboration avec les réseaux de la Société Française des Cancers de l'Enfant (SFCE), 257 échantillons de leucémies aigües myéloïdes (LAM) pédiatriques ont été criblés pour détecter la présence de la fusion ETO2-GLIS2. Pour cela, une méthode de détection de la protéine ETO2-GLIS2 a été développée qui identifie efficacement ces patients et permet maintenant de les orienter préférentiellement vers une greffe de moelle osseuse.

Les cellules de ces patients sont rares et des modèles pour multiplier ces cellules dans des conditions physiologiques ont été développés. Ces modèles représentent une source de cellules facilement accessibles pour étudier comment la fusion ETO2-GLIS2 conduit des cellules normales à devenir leucémiques. Ainsi, il a été montré que l'expression de ETO2-GLIS2 provoque une prolifération anormale des cellules souches à l'origine des cellules sanguines. Elle modifie aussi fortement l'expression d'autres gènes dont certains sont connus pour être associés à une mauvaise réponse aux traitements dans d'autres cancers. En bloquant l'activité de cette protéine, il est possible d'inhiber la prolifération des cellules leucémiques.

Avancées :

Ces résultats fournissent donc de nouvelles pistes pour le développement d'approches thérapeutiques plus ciblées sur les LAM de l'enfant et présentant éventuellement moins de toxicité. De nouvelles molécules pharmacologiques pourront être testées dans les modèles cellulaires développés.

Etude des mécanismes de résistance des adénovirus au brincidofovir

Date de la subvention : 2015 - Jérôme Le Goff, Inserm U941- Hôpital Saint-Louis - Paris et Jean-Hughes Dalle - Hôpital Robert Debré - Paris

Contexte scientifique :

Les adénovirus sont des virus dont le matériel génétique est de l'ADN. Ils infectent un large spectre de cellules et sont responsables d'infections fréquentes et parfois sévères chez les enfants greffés de moelle ou de cellules souches hématopoïétiques. Aucun médicament ayant une autorisation de mise sur le marché n'est actuellement disponible pour traiter ces infections.

Question posée, objectifs :

Afin de mieux contrôler les infections par les adénovirus et mieux les éradiquer, l'équipe a étudié les mécanismes d'action des virus dans la cellule infectée et les mécanismes de résistance des cellules humaines aux virus.

Deux stratégies ont été utilisées :

- Modifier le génome du virus artificiellement afin de caractériser les parties du génome responsables de la résistance ou de la sensibilité aux anti-virus
- Etudier l'expression des gènes cellulaires induite en réponse à l'infection des adénovirus et ceci en présence ou en absence d'une drogue antivirale, le brincidofovir.

Résultats obtenus :

La première stratégie a permis d'identifier des parties du génome du virus responsables de la résistance aux anti-virus.

La deuxième stratégie a permis de déterminer la nature des molécules activées ou inhibées en réponse à l'infection virale.

Avancées :

Ces travaux permettront d'identifier de nouvelles stratégies antivirales. La caractérisation des mutations du génome viral responsables de la résistance aux anti-virus permettra d'anticiper les risques d'échec thérapeutique chez les patients porteurs de ces virus mutés.

Amélioration de la viabilité des cellules souches hématopoïétiques dépendant de la voie Notch en conditions anoxiques dans les produits de thérapie cellulaire à usage clinique.

Date de la subvention : 2015 - Benoît Marteyn et Valérie Lapiere, Institut Gustave Roussy, Villejuif

Contexte scientifique :

Les Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH) sont localisées dans la moelle osseuse. Elles représentent 1 à 5% des cellules moelle osseuse. Les CSH peuvent être isolées et purifiées à partir de prélèvements de sang d'un donneur. Elles sont capables de régénérer une hématopoïèse complète reconstituant l'ensemble des lignées érythroïde, lymphoïde et myéloïde du sang. Ainsi, elles sont utilisées dans les procédures de greffe de moelle pour soigner les lymphomes, myélomes et leucémies. L'efficacité des prises de greffes est directement liée aux conditions de conservation des CSH transplantées. A ce jour, en raison de leur courte durée de vie, les CSH isolées du sang d'un donneur qui ne peuvent pas être transplantées sous 48h après leur recueil, sont congelées pour un stockage à court ou à long terme. Cependant, les manipulations de congélation/décongélation sont préjudiciables à la viabilité des CSH et à leur capacité de greffe.

Question posée, objectifs :

L'objectif de cette étude est d'optimiser les conditions de conservation des CSH isolées du sang d'un donneur afin d'améliorer leur viabilité et fonctionnalité et de faciliter les processus de conditionnement, de conservation et de transport des greffons.

Résultats obtenus :

Un protocole standardisé de purification et de typage des cellules souches hématopoïétiques a été établi à partir des prélèvements de sang frais. Les conditions de conservation (température, concentration) ont été optimisées. La viabilité et la fonctionnalité in vitro (capacité clonogénique, prolifération et différenciation) des cellules souches hématopoïétiques CD34+ dans les produits de cytophérèse frais ou conservés à 4°C pendant 7 jours ont été comparées. Elles ne sont pas significativement différentes, démontrant que les cellules souches hématopoïétiques purifiées à partir des prélèvements sanguins peuvent être conservées pendant 7 jours à 4°C.

Avancées :

Ce projet a montré que les cellules souches hématopoïétiques purifiées à partir de prélèvements sanguins gardent leurs propriétés après 7 jours de conservation à 4°C. Cela permet de considérer que la congélation des CSH utilisée jusqu'à présent pour les conserver en attendant de les greffer, mais qui est associée à une mort importante des CSH, peut être évitée.

Recherche des mutations acquises pré-tumorales dans une population de patients présentant de façon successive ou concomitante, une hémopathie lymphoïde et myéloïde.

Date de la subvention : 2016 - Bernard Olivier - Inserm U1170 - Institut Gustave Roussy - Villejuif. Pierre Fenaux- Service d'Hématologie Seniors, Hôpital Saint-Louis - Paris.

Contexte scientifique :

Un gène est dit suppresseur de tumeur ou « anti-oncogène » a pour fonction d'empêcher l'emballement de la division cellulaire. Il arrive que dans certain cancer, la fonction des protéines codées par de tels gènes suppresseurs soit annulée par une mutation du gène. Le plus connu des gènes suppresseurs est le gène qui code pour la protéine p53.

Dans les hémopathies de type myéloïde (myélodysplasies, syndromes myéloprolifératifs et leucémies aiguës myéloïdes) ou lymphoïde (lymphomes T, lymphomes B à grandes cellules) une mutation du gène TET2, un autre gène suppresseur de tumeur, est fréquemment observée. Cette mutation provoque la perte de fonction de TET2 et prédispose au développement des hémopathies.

Question posée, objectifs :

L'objectif était de déterminer si d'autres gènes mutés pourraient prédisposer au développement des hémopathies. Ils ont été recherchés chez des patients ayant développé simultanément ou successivement des hémopathies myéloïdes et lymphoïdes. Les prélèvements ont été analysés par séquençage à haut débit pour rechercher des mutations présentes dans les deux pathologies.

Résultats obtenus :

Un ensemble de mutations a été détecté et deux d'entre elles ont présenté les critères attendus : des mutations ont été retrouvées dans le gène TET2 et dans un gène codant pour un facteur de transcription. La mutation dans le gène TET2 entraîne une perte de fonction de la protéine TET2.

La mutation du gène codant pour le facteur de transcription a déjà été décrite dans certaines leucémies aiguës myéloblastiques. Les études fonctionnelles pour comprendre les conséquences de cette mutation sont en cours.

Avancées :

Un cancer résulte de l'accumulation de mutations. Certaines surviennent longtemps avant le développement du cancer et ciblent des gènes suppresseurs de tumeur. Leur identification apparaît comme un bon critère pour évaluer la prédisposition à développer un cancer.

Exploration des patients présentant des signes cliniques et biologiques communs au syndrome GATA2 : « GATA2-like »

Date de la subvention : 2016 - Marlène PASQUET, Centre de recherches en cancérologie - Toulouse et Jean Donadieu, Hôpital Trousseau - Paris

Contexte scientifique :

Les syndromes myélodysplasiques (MDS) et les leucémies aigües myéloïdes (LAM) sont des cancers hématologiques de mauvais pronostic. Il existe des formes familiales de LAM/MDS caractérisées par un âge précoce de révélation (enfant ou adulte jeune). En 2012, le gène GATA2 lorsqu'il porte une mutation, a été identifié comme responsable d'une forme familiale de leucémie. Actuellement près de 120 patients ont été dépistés en France via le registre des neutropénies. Le gène GATA2 est un facteur de transcription complexe qui participe à la régulation du développement et du maintien des cellules « souches » hématopoïétiques.

Un groupe d'experts français associant cliniciens, biologistes, généticiens et chercheurs, le « Club GATA2 », a été créé pour étudier cette forme familiale de leucémie et élaborer des protocoles cliniques de prise en charge des patients.

Question posée, objectifs :

Certains patients présentent des signes cliniques et biologiques évocateurs de la mutation de GATA2 alors que les techniques de routine ne détectent pas de mutation. Une meilleure caractérisation du tableau biologique de ces patients a été entreprise en développant différentes approches de génétique, d'immunophénotypage (technique de cytométrie qui, grâce à des anticorps spécifiques, permet de détecter des sous-types cellulaires au sein d'une population hétérogène de cellules), de dosages biochimiques de molécules sécrétées et de tests fonctionnels.

Résultats obtenus :

10 patients et certains de leurs apparentés ont pu bénéficier de cette étude.

Chez un patient, ces analyses ont identifié une mutation de GATA2 qui n'avait pas été diagnostiquée préalablement dans le laboratoire en charge de cette analyse. Cette mise en évidence va permettre au clinicien de proposer une explication aux symptômes présentés et un conseil génétique si la famille le souhaite.

Dans une autre famille, une nouvelle mutation de GATA2 a été mise en évidence qui entraîne des conséquences cliniques similaires.

Chez tous ces patients, les caractéristiques immunologiques ont été finement étudiées. En particulier, les patients présentant des verrues ont pu bénéficier d'une analyse extensive des types de souches du papilloma (HPV).

Avancées :

Ce travail a permis de corriger un diagnostic, d'identifier une nouvelle altération du gène GATA2 et de mieux comprendre les anomalies immunohématologiques de ces patients.

Amélioration de la qualité de vie des garçons traités pour une leucémie aigüe : étude dans un modèle murin de la restauration de la fertilité à partir de tissu testiculaire cryoconservé et de la qualité des spermatozoïdes générés *in vitro*.

Date de la subvention : 2016 - Christine Rondanino, Institut de recherche et d'Innovation Biomédicale - Rouen et Nathalie Rives, Hôpital Charles Nicolle - Rouen

Contexte scientifique :

Les traitements par chimiothérapie et/ou radiothérapie ont une toxicité reconnue sur tous les tissus sains y compris les gonades. Les problèmes posés par la baisse ou perte de la fertilité prennent une place croissante dans la qualité de vie dans l'après-cancer.

Question posée, objectifs :

Le projet de recherche s'intéresse à la préservation de la fertilité du garçon pré-pubère traité pour une leucémie aigüe. Il vise à évaluer la qualité des spermatozoïdes après maturation *in vitro* des cellules souches présentes dans le tissu testiculaire congelé. Leurs capacités à féconder un ovocyte et à assurer un développement embryonnaire ont été testées chez la souris.

Résultats obtenus :

Les premières études montrent que la majorité des spermatozoïdes générés *in vitro*, à partir de tissus testiculaires congelés, ne présentent pas d'anomalies : le nombre de chromosomes, la longueur des télomères, la méthylation de l'ADN sont pratiquement identiques à ceux de spermatozoïdes non congelés. Leur taux de fécondation est également comparable à celui de spermatozoïdes non congelés après micro-injection dans des ovocytes. La santé, la survie, le comportement et la fertilité de la descendance restent à évaluer.

Avancées :

Ces résultats permettent d'envisager l'étude de la fertilité des spermatozoïdes dans ce protocole de maturation *in vitro* à partir du tissu testiculaire de garçons atteints de leucémie aigüe.

De la leucémie myéloïde chronique aux leucémies aigües myéloïdes : ciblage des facteurs de transcriptions STAT5A et STAT5B pour éradiquer les cellules souches leucémiques.

Date de la subvention : 2016 - Valérie Bardet, CHU Ambroise Paré - Boulogne et Philippe Rousselot, Centre Hospitalier de Versailles, Hôpital André Mignot - Le Chesnay.

Contexte scientifique :

La leucémie aigüe myéloïde (LAM) est un cancer du sang caractérisé par une quantité excessive de cellules immatures appelées blastes dans la moelle osseuse et le sang, ce qui entraîne la disparition des cellules normales dans le sang. Le traitement des LAM vise à obtenir la disparition des blastes, permettant ainsi à la moelle osseuse de reconstituer les cellules normales du sang. Une des anomalies moléculaires fréquemment observée dans les cellules leucémiques des LAM est une activité permanente non régulée d'une protéine appelée STAT5 qui est un facteur de transcription. Cette activité constitutive de STAT5 est corrélée à une diminution de la réponse à la chimiothérapie et à une expression plus faible de certains marqueurs des cellules souches leucémiques (CSL).

Question posée, objectifs :

Le but du projet était de déterminer si la modulation de l'activité de STAT5 présente un intérêt thérapeutique pour les patients atteints de LAM et si les CSL dans les LAM sont sensibles à la diminution de l'activité de STAT5.

Pour diminuer l'activité de STAT5, un antidiabétique oral, la pioglitazone, a été utilisé pour traiter les blastes de LAM.

Résultats obtenus :

Le traitement par la pioglitazone provoque une diminution de la prolifération cellulaire et une diminution des capacités tumorales des blastes leucémiques mis en culture in vitro.

Cependant, dans des modèles murins in vivo, la greffe de blastes primaires de LAM traités avec la pioglitazone à des souris génèrent des tumeurs dont la croissance n'est pas modifiée.

Devant cette absence d'efficacité de la pioglitazone in vivo qui contraste avec les effets observés in vitro, des études ont été initiées pour identifier les mécanismes de résistance in vivo à ce traitement. Des données préliminaires ouvrent des perspectives intéressantes sur l'utilisation possible de médicaments pour lever cette résistance.

Avancées :

Ce travail montre l'intérêt du ciblage de STAT5 dans les LAM et son efficacité in vitro. L'absence d'efficacité in vivo, bien que décevante, donne des pistes pour utiliser d'autres médicaments pour éliminer les cellules souches leucémiques.

Induction de la différenciation des cellules leucémiques dans les leucémies aigües myéloïdes par ciblage du facteur de transcription HOXA9.

Date de la subvention : 2016 - Marie-Hélène David Cordonnier - UMR-S 1172 - Centre de Recherches Jean-Pierre Aubert - Lille. Bruno Quesnel - Service des Maladies du Sang, Hôpital Huriez - Lille.

Contexte scientifique :

La leucémie aigüe myéloïde (LAM) représente 80% de l'ensemble des leucémies. Si la LAM peut toucher les jeunes enfants, elle atteint principalement les personnes âgées. La chimiothérapie conventionnelle reste le traitement le plus utilisé malgré ses problèmes de tolérance et de récurrence. La recherche de nouveaux médicaments et de nouvelles cibles thérapeutiques apparaît comme une priorité.

Question posée, objectifs :

La LAM résulte d'un arrêt de la formation de certaines cellules matures du sang (monocytes, macrophages). Ce blocage entraîne une accumulation de cellules immatures dans le sang et la moelle osseuse. Deux traitements récents ont été développés qui ré-induisent la différenciation des cellules immatures en cellules matures. Cependant ces nouveaux traitements ne sont pas efficaces dans tous les types de LAM : seuls 20% des LAM dont les cellules présentent des mutations dans les gènes IDH1/2 sont sensibles.

L'objectif de ce projet était de rechercher des nouvelles cibles thérapeutiques dans les LAM.

Résultats obtenus :

Cette étude montre que la protéine HOXA9 bloque la différenciation des cellules leucémiques immatures en cellules matures. HOXA9 est un facteur de transcription dont l'expression est associée à un mauvais pronostic dans les LAM. Or, les LAM associées à HOXA9 représentent 65-70% des LAM. Les chercheurs ont montré que des molécules inhibant HOXA9 sont capables de ré-induire la différenciation des cellules leucémiques immatures en cellules matures. Ces molécules sont efficaces sur des cellules de LAM en culture et sur des cellules leucémiques issues directement de moelle osseuse ou de sang de patient. Des tests sur souris ayant reçu les cellules leucémiques a aussi montré leur efficacité.

Avancées :

Les molécules inhibant HOXA9 apparaissent comme de bons candidats médicaments pour compléter l'arsenal thérapeutique dans le traitement des LAM.

Anti-apoptosis clone 11 (AAC-11) protein-derived peptide RT39 interacts with PAK1 to exert significant activity against Acute Leukemias (AL)
Ciblage peptidique de la protéine apoptotique AAC-11/Ap15 dans les leucémies aigües

Date de la subvention : 2016 - Thorsten Braun- Hervé Dombret - Hôpital Saint-Louis, Paris

Contexte scientifique :

Le traitement des leucémies aigües (LA) repose encore essentiellement sur la chimiothérapie et la greffe de cellules souches hématopoïétiques. De rares cellules cancéreuses échappent à ces traitements, elles sont à l'origine de la rechute.

Question posée, objectifs :

Comment éliminer ces cellules résiduelles ? Il a été montré que les cellules cancéreuses expriment fortement une protéine appelée AAC-11, qui joue un rôle dans la prolifération et la survie cellulaire. L'inhibition de cette protéine pourrait être une nouvelle approche de traitement contre les LA. Un peptide (une partie de protéine), RT39, introduit artificiellement dans les cellules se lie spécifiquement à la molécule AAC-11 et inhibe sa fonction. Cette inhibition provoque la mort de la cellule.

Résultats obtenus :

L'équipe a tenté de comprendre les mécanismes d'action du peptide RT39 dans les cellules de leucémies aigües myéloblastiques et lymphoblastiques. Ce peptide a été introduit dans des cellules qui prolifèrent in vitro en lignées cellulaires, dans des cellules de patients atteints de leucémie aigüe et in vivo dans trois modèles de souris. Les résultats montrent que l'introduction de ce peptide dans les cellules induit une destruction rapide des membranes des cellules cancéreuses sans affecter les cellules normales. Le peptide RT39 se lie à une protéine très exprimée dans les cellules leucémiques. In vivo, chez la souris, l'injection de ce peptide entraîne l'inhibition de la progression tumorale et augmente la survie des souris traitées.

Avancées :

Ces résultats sont encourageants pour envisager le développement de futurs essais cliniques utilisant le peptide RT39.

Etude des Lymphocytes innés médullaires dans les Syndromes Myélodysplasiques

Date de la subvention : 2016 - Nicolas DULPHY, Hôpital Saint-Louis - Paris et Lionel ADES, Hôpital Saint-Louis - Paris

Contexte scientifique :

Les Syndromes MyéloDysplasiques (SMD) sont des maladies qui prennent naissance dans la moelle osseuse et affectent les cellules du sang. Ils touchent essentiellement les sujets âgés, peuvent se transformer en leucémie et induire des maladies autoimmunes. La moelle osseuse est le site privilégié de la production des cellules du système immunitaire, notamment des cellules NK (Natural Killer pour cellules tueuses) et des cellules lymphoïdes innées ILC (Innate Lymphoid Cells). Les cellules NK sont des acteurs essentiels du système immunitaire pour éliminer les cellules cancéreuses tandis que les cellules ILC contrôlent le développement des maladies autoimmunes.

Question posée, objectifs :

L'objectif de ce projet est de déterminer si la cellule leucémique, en interférant avec les mécanismes de production des cellules NK et ILC dans la moelle osseuse, provoque une aggravation de la maladie.

Résultats obtenus :

Les auteurs ont montré chez des patients atteints de SMD de faible risque que les cellules ILCs ont disparu du sang et de la moelle. D'autre part, la production de cellules NK dans la moelle osseuse est très fortement perturbée. De plus, les cellules NK ont perdu des protéines nécessaires à leur fonction d'élimination des cellules tumorales et acquis des molécules inhibitrices de cette élimination. Le traitement des cellules NK de patients par des agents hypométhylants qui sont des médicaments utilisés dans le traitement des SMD, permet de normaliser partiellement la quantité de ces molécules.

Avancées :

Ces résultats ont révélé la nature de certains éléments cellulaires ou moléculaires à cibler pour corriger les anomalies de production de cellules NK et ILC dans les SMD.

Identification de cibles thérapeutiques dans les syndromes myélodysplasiques (SMD) résistants aux chimiothérapies conventionnelles

Date de la subvention : 2016 - Patrick Auberger, Centre méditerranéen de Médecine Moléculaire - Nice et Thomas Cluzeau, CHU de Nice

Contexte scientifique :

Les travaux effectués dans le cadre de ce projet portent sur la résistance à l'Azacytidine (Vidaza®) dans les Leucémies Myéloïdes chez les patients traités de façon chronique par cette chimiothérapie.

Question posée, objectifs :

Quels sont les mécanismes moléculaires impliqués dans cette résistance ?

Résultats obtenus :

L'équipe a montré qu'un traitement chronique de certains patients atteints de Leucémie Aigüe Myéloïde par l'Azacytidine induit une perte d'expression de la protéine LAMP2 dans les cellules de la moelle osseuse. La conséquence de la perte de LAMP2 est l'accumulation d'un certain nombre de protéines dont les fonctions favorisent notamment la prolifération et la survie cellulaire. Les cellules maintenues en présence de Vidaza® acquièrent de ce fait de nouvelles propriétés qui les rendent fortement prolifératives et totalement insensibles à cette molécule. L'origine de ces nouvelles propriétés a été caractérisée : il s'agit de l'activation anormale de deux voies de dégradation protéique. L'utilisation d'inhibiteurs de ces deux voies induit l'élimination sélective et rapide des cellules leucémiques résistantes à Vidaza®.

Avancées :

La mise en évidence de la perte de la protéine LAMP2 chez les patients traités par Vidaza® procurera aux cliniciens un nouveau marqueur diagnostic de la perte de sensibilité au Vidaza® chez les patients souffrant de Leucémies Myéloïdes. Elle permettra à moyen terme de proposer l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques pour ces mêmes patients actuellement en impasse thérapeutique.

Évaluation de la maladie résiduelle au sein du cortex ovarien des enfants, adolescentes et jeunes femmes atteintes de leucémie aigüe lymphoblastique : amélioration de l'information aux patientes et de leurs prises en charge dans le cadre de la préservation et de la restauration de la fertilité.

Date de la subvention : 2016 - Catherine Poirot- Florian Chevillon - Emmanuelle Clappier- Nathalie Dhédin - Hôpital Saint-Louis, Paris

Contexte scientifique :

La préservation de la fertilité est une préoccupation importante au cours du parcours de soins des leucémies chez la femme. La cryoconservation (conservation par la congélation) de fragments ovariens a prouvé son efficacité depuis 2004 : 35 % des femmes qui ont bénéficié d'une congélation d'ovaire suivie d'une autogreffe ont accouché d'au moins un enfant.

Question posée, objectifs :

Chez les patientes atteintes de leucémie, la présence de cellules résiduelles leucémiques dans le greffon peut être un inconvénient majeur dans l'autogreffe d'ovaire. Il faut donc

- savoir à quel moment prélever les ovaires
- évaluer la maladie résiduelle (présence de cellules leucémiques) dans les tissus ovariens cryoconservés.

Résultats obtenus :

Les résultats montrent que le prélèvement d'ovaire doit se faire au moment de la rémission complète de la maladie avant l'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques. De plus, les résultats ont montré que dans 70 % des cas, il n'y a pas de cellules leucémiques dans le tissu ovarien prélevé.

Avancées :

Ces résultats permettent de mieux informer les femmes sur les risques au moment du prélèvement du fragment ovarien et d'augmenter le nombre de patientes qui pourront accéder à la maternité avec leurs propres ovocytes.

Etude préclinique d'un inhibiteur de la kinase LCK (Saracatinib) pour le traitement des leucémies aigües lymphoblastiques T (LAL-T)

Date de la subvention : 2017 - Ronan Quéré - Inserm UMR866 - Université Bourgogne-Franche-Comté - Dijon

Contexte scientifique :

Les leucémies aigües lymphoblastiques T (LAL-T) sont des maladies hématologiques caractérisées par un excès de cellules T immatures dans la moelle osseuse. Cet excès de cellules T immatures est dû à une survie et/ou une multiplication anormale de ces cellules. La rémission pour une telle maladie nécessite deux ans de chimiothérapie induisant des effets secondaires quelquefois indésirables. La recherche de nouvelles cibles thérapeutiques est donc nécessaire.

Question posée, objectifs :

Recherche de nouvelles cibles pour le traitement des leucémies aigües lymphoblastiques T.

Résultats obtenus :

Ce projet identifie deux nouvelles cibles thérapeutiques dans les LAL-T.

1- Le Saracatinib affecte les cellules de patients atteints de LAL-T en ciblant les cellules riches en radeaux lipidiques. Les radeaux lipidiques constituent des domaines de la membrane cellulaire qui sont riches en cholestérol et qui se comportent comme des plateformes d'échanges de molécules entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule. L'équipe a montré que les cellules T malignes les plus agressives avaient un grand nombre de radeaux lipidiques très actifs qui seraient impliqués dans la prolifération des cellules cancéreuses. Dans ces radeaux lipidiques se trouvent des enzymes comme la kinase LCK qui peut ajouter un radical phosphate sur les protéines membranaires, ce qui change leurs propriétés. Ainsi, le saracatinib en inhibant LCK, détruit les radeaux lipidiques dans les cellules T malignes. Il peut donc améliorer l'efficacité de molécules de chimiothérapie utilisées dans le traitement des LAL-T.

2- L'Interleukine-7 (IL-7) est une protéine (appelée cytokine) qui régule la survie et la prolifération des cellules T normales et malignes. Les cellules T normales ne produisent pas d'IL-7 alors que les cellules T malignes en produisent. Chez les patients atteints de LAL-T, un excès d'IL-7 est donc observé. Cet excès favorise la multiplication des cellules leucémiques. L'étude des mécanismes qui régulent la sécrétion d'IL-7 montre qu'en absence d'IL-7, le développement oncogénique des cellules T est diminué suggérant que l'inhibition de la sécrétion d'IL-7 pourrait être un traitement des cellules T leucémiques.

Avancées :

Ces recherches ont identifié les radeaux lipidiques et l'Interleukine-7 comme de nouvelles cibles thérapeutiques pour le traitement des leucémies aigües lymphoblastiques T.

La SUMOylation : une nouvelle cible thérapeutique dans les Leucémies Aigües Myéloïdes.

Date de la subvention : 2017 - Guillaume BOSSIS, Institut de génétique moléculaire - Montpellier et Guillaume CARTRON, CHU de Montpellier.

Contexte scientifique :

Les Leucémies Aigües Myéloïdes (LAM) sont l'un des cancers du sang les plus fréquents chez l'adulte. Le taux de rechute demeure considérable. Aussi un objectif majeur est-il de trouver de nouvelles thérapies pour le traitement des LAM. La SUMOylation est une modification des protéines caractérisée par la liaison d'une protéine appelée SUMO. La SUMOylation change la fonction et le devenir des protéines. Les auteurs ont récemment observé que certains agents chimiothérapeutiques utilisés en clinique entraînent une déSUMOylation rapide des protéines cellulaires dans les LAM chimiosensibles, ce qui contribue à tuer les cellules leucémiques.

Question posée, objectifs :

A partir de ces données, le projet des auteurs a été d'identifier de nouvelles molécules capables de provoquer la déSUMOylation des protéines et de tester ces molécules pour leurs propriétés anti-leucémiques dans des modèles précliniques.

Résultats obtenus :

Les travaux des auteurs montrent que SUMO joue un rôle important dans la réponse des cellules de leucémies aigües promyélocyaires (un sous-groupe de LAM) aux chimiothérapies utilisant l'acide rétinoïque (ATRA). L'inhibition de l'activité des enzymes qui permettent la liaison de SUMO aux protéines cibles par des nouvelles molécules qui ciblent la sumoylation, facilitent la mort des cellules leucémiques traitées par l'ATRA.

Afin de suivre l'efficacité de ces nouvelles molécules, un test diagnostique a été développé et breveté qui permet d'identifier un marqueur prédictif chez les patients susceptibles de recevoir cette thérapie ciblée. Il est nécessaire pour le développement clinique de ces nouvelles molécules.

Avancées :

La connaissance de ces nouvelles molécules sera essentielle pour initier de nouvelles stratégies thérapeutiques des LAM chimiorésistantes et développer des tests pronostiques pouvant aider à la décision thérapeutique.

Cartographie du système immunitaire des donneurs et des receveurs après une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Date de la subvention : 2017 - David Michonneau - Hôpital Saint-Louis, Paris

Contexte scientifique :

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (greffe de cellules immuno-compatibles entre le donneur et le receveur) ou greffe de moelle osseuse est un traitement curatif majeur des hémopathies malignes (leucémie aigüe, lymphome, myélome, etc.) et des anomalies de l'hématopoïèse (aplasie médullaire, drépanocytose, etc.). Des complications peuvent apparaître après l'allogreffe : rechute de la maladie tumorale ou réaction du greffon contre l'hôte (les cellules du système immunitaire du donneur reconnaissent et détruisent les tissus sains du receveur), c'est ce qu'on appelle la GVHD (graft-versus-host disease).

Question posée, objectifs :

Quels sont les mécanismes immunologiques impliqués dans la réaction des cellules du greffon contre les cellules du receveur ?

Les chercheurs ont réalisé une cartographie globale du système immunitaire de deux groupes indépendants de patients traités par allogreffe : le premier groupe est constitué de patients « tolérants » qui ne font pas de réaction du greffon contre l'hôte et le second groupe de patients qui développent une GVHD. Les chercheurs ont caractérisé les cellules qui circulent dans le sang ainsi que les molécules secrétées par les cellules du système immunitaire.

Résultats obtenus :

Cette étude a permis de modéliser les réactions du système immunitaire après la greffe, et de comparer ces réactions entre les patients qui évoluent très favorablement après la transplantation et les patients qui réagissent par une réaction du greffon contre l'hôte.

Avancées :

De nouvelles cibles thérapeutiques potentielles ont été identifiées, elles pourraient permettre une meilleure prévention et un meilleur traitement de la GVHD aigüe ou chronique, et, à terme, conduire au développement de plusieurs essais cliniques.

Caractérisation des sous-populations monocytaires dans la physiopathologie de la leucémie myélomonocytaire chronique et les formes frontières.

Date de la subvention : 2017 - Nathalie Droin - Institut Gustave Roussy - Villejuif.

Contexte scientifique :

La leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) est une leucémie chronique, d'évolution lente caractérisée par l'accumulation dans la moelle des os, le sang et souvent la rate d'une forme particulière de globules blancs appelés monocytes. Elle se situe à l'intersection de 2 familles de maladies, les syndromes myéloprolifératifs (SMP) et les syndromes myélodysplasiques (SMD). C'est une maladie du sujet âgé puisque l'âge moyen au moment du diagnostic est d'environ 72 ans. L'âge avancé des patients atteints de LMMC ne permet pas, le plus souvent, d'utiliser des traitements lourds comme la greffe de moelle et il n'existe actuellement aucun traitement curateur.

Question posée, objectifs :

Le premier objectif est de caractériser la LMMC et de la différencier des autres syndromes tels que le SMD ou le SMP, afin de déterminer un traitement plus adapté.

Résultats obtenus :

Une accumulation d'un sous-groupe de monocytes dans les échantillons de sang de patients atteints de LMMC a été clairement caractérisée. L'identification de ces monocytes est maintenant utilisée en routine pour distinguer la LMMC d'une réaction inflammatoire sans leucémie.

Les causes de l'accumulation de ces monocytes particuliers chez les patients atteints de LMMC a été recherchée. La diminution de l'expression d'un petit ARN, appelé miR-150, est responsable de l'accumulation des monocytes. Il existe, dans les cellules, des petits ARN qui ciblent des ARN messagers et induisent leur dégradation. Il s'en suit une diminution spécifique de la protéine codée par cet ARN messager. miR-150 a pour cible le gène codant TET3 dans les monocytes. La diminution de l'expression du petit ARN miR-150 entraîne donc une diminution de la dégradation du gène TET3 entraînant une expression élevée de la protéine TET3. Cette augmentation du niveau d'expression de la protéine TET3 pourrait être la cause de l'accumulation des monocytes dans le sang, la moelle et la rate des patients LMMC.

Avancées :

L'axe miR-150/TET3 est donc impliqué dans la régulation de la génération des monocytes particuliers de la LMMC. Il serait donc possible de modifier la régulation de cet axe afin d'induire une génération normale de monocytes.

Biomarqueurs cellulaires de réponse aux traitements conventionnels des leucémies aigües myéloïdes du sujet âgé.

Date de la subvention : 2017 - Raphael Itzykson, Hôpital Saint Louis, Paris

Contexte scientifique :

La leucémie aigüe myéloïde est une maladie grave qui touche des personnes âgées de 65 ans en moyenne. Chaque patient atteint d'une leucémie aigüe myéloïde développe une maladie dont les caractéristiques sont uniques. Ces maladies sont souvent regroupées selon la présence d'anomalies moléculaires retrouvées dans l'ADN des cellules leucémiques. Ces anomalies moléculaires peuvent guider dans le choix du traitement des patients.

Question posée, objectifs :

Le projet avait pour but de mettre au point des tests cellulaires complémentaires, autres que les examens moléculaires, pour guider les décisions thérapeutiques.

Résultats obtenus :

La mise au point d'un premier test a permis d'identifier les patients les plus susceptibles de bénéficier d'un traitement par chimiothérapie intensive. Ce test utilise la technique de « cytométrie en flux » : cette technique permet de mesurer les caractéristiques individuelles de chaque cellule : taille, forme ou présence de molécules exprimées à la surface de la cellule qui réagissent avec un composé fluorescent.

Dans un deuxième temps, l'équipe a développé une plate-forme pour tester la capacité de plusieurs dizaines de médicaments à éradiquer les cellules souches leucémiques qui sont les cellules leucémiques résiduelles après un traitement par chimiothérapie.

Avancées :

La plate-forme de médecine de précision est désormais prête à être validée par des essais cliniques prospectifs chez des patients de plus haut risque, comme les sujets âgés, ou les patients en rechute après un traitement par chimiothérapie intensive.

Etude de la pertinence thérapeutique de l'activation de PPAR γ dans la prise en charge de la myélofibrose.

Date de la subvention : 2017 - Stéphane Prost - CEA/Université Paris-Sud, Fontenay-aux-Roses - Jean-Luc Villeval - Institut Gustave Roussy, Villejuif - Philippe Rousselot - CH, Versailles - Jean-Jacques Kiladjian - IUH Hôpital Saint-Louis, Paris

Contexte scientifique :

La myélofibrose est une maladie du sang caractérisée par la production de certaines cellules sanguines anormales qui sécrètent des molécules anti-inflammatoires dans la moelle osseuse. Au cours de la progression de la maladie, cette inflammation contribue à la création d'un réseau de fibres qui désorganise la structure de la moelle osseuse et empêche la production normale des cellules du sang. Les patients développent une anémie et présentent une augmentation de la taille de la rate et une sensibilité accrue aux infections. Même si un nouveau médicament le ruxolitinib, agit efficacement sur les symptômes de la maladie, il n'existe pas, à ce jour, de médicament qui cible les causes de la maladie et contrôle son évolution.

Question posée, objectifs :

Les chercheurs ont observé qu'un médicament ciblant le récepteur PPAR γ était efficace pour éliminer les cellules pathologiques chez les patients atteints de leucémie myéloïde chronique, une maladie appartenant à la même famille que la myélofibrose. Ils ont alors posé la question du potentiel thérapeutique de ce médicament dans le traitement de la myélofibrose.

Résultats obtenus :

Les effets de ce médicament ont été testés sur les cellules de patients atteints de myélofibrose, sur des lignées cellulaires hématopoïétiques in vitro et sur des modèles murins reproduisant la myélofibrose humaine.

Les chercheurs ont montré que ce médicament qui bloque l'activité du récepteur PPAR γ réduit la prolifération des cellules anormales des patients atteints de myélofibrose, limite les modifications de la moelle osseuse dans les modèles murins et diminue le développement du réseau de fibres dans la moelle.

Ainsi, en agissant sur les différentes composantes pathologiques de la myélofibrose, le médicament ciblant le PPAR γ apparaît comme un candidat intéressant susceptible d'agir efficacement sur les symptômes mais aussi sur l'évolution de la myélofibrose.

Avancées :

Le médicament ciblant le PPAR γ apparaît comme un outil thérapeutique pertinent susceptible d'améliorer la prise en charge clinique de la myélofibrose chez l'homme. Ces travaux s'orientent vers une évaluation pré-clinique de ce traitement.

Vers une optimisation de la prédiction et de la prise en charge thérapeutique des rechutes dans les leucémies aigües lymphoblastiques T (LAL-T).

Date de la subvention : 2017 - Vahid Asnafi Inserm U1151- Hôpital Necker-Enfants malades-Paris- Arnaud Petit-UMR-S 938-Hôpital Saint-Antoine Paris

Contexte scientifique :

Les leucémies aigües lymphoblastiques T (LAL-T) sont des formes rares de cancer qui surviennent majoritairement entre 10 et 30 ans. Malgré les progrès récents de leur prise en charge, leur évolution reste défavorable surtout en cas de rechute de la maladie après chimiothérapie.

La compréhension des mécanismes moléculaires de cancérisation de ces LAL-T permettra de meilleurs choix thérapeutiques susceptibles d'améliorer la survie de ces patients.

Question posée, objectifs :

L'amélioration du traitement de ces leucémies aigües implique une meilleure prévention des rechutes et la caractérisation de nouvelles thérapies pour les formes les plus graves après rechute.

Résultats obtenus :

Par des techniques de séquençage à haut débit, des mutations dans le génome des cellules leucémiques des patients ont été recherchées. Cette technique a permis de caractériser des anomalies moléculaires/génétiques, détectées au diagnostic, chez les patients résistants à la chimiothérapie ou à fort risque de rechute.

Une association de mutations qui prédit une évolution défavorable de la maladie chez les LAL-T de l'enfant a pu être définie. La recherche d'autres mutations par séquençage à haut débit est en cours pour améliorer encore cette prédiction de risque de rechute.

Avancées :

Ces mutations représentent de nouvelles cibles pour des traitements thérapeutiques en amont de la rechute. Un modèle préclinique est en cours de développement pour tester l'efficacité de tels traitements.

Etude du micro-environnement médullaire dans les leucémies myélo-monocytaires juvéniles.

Date de la subvention : 2017 - Héliane Cave- Hôpital Robert Debré, Paris

Contexte scientifique :

La leucémie myélo-monocytaire juvénile (LMMJ) est un cancer de la moelle osseuse qui survient dans la petite enfance. C'est une maladie rare et agressive et le seul traitement efficace est la greffe de moelle osseuse. Elle est liée à l'apparition dans le génome des cellules sanguines d'une mutation qui va activer la voie de signalisation RAS. Par ailleurs, certaines maladies génétiques appelées RASopathies sont liées à des mutations activatrices de la voie de signalisation RAS. Ces mutations sont dites constitutionnelles car elles touchent toutes les cellules de l'organisme. Certaines RASopathies prédisposent à la survenue de LMMJ.

Question posée, objectifs :

Il est établi que la cellule souche du sang entretient des liens étroits avec son environnement dans la moelle osseuse, et tout particulièrement avec les cellules souches progénitrices mésenchymateuses (CSPM) présentes dans le stroma. Une étude récente chez la souris a montré qu'une mutation activatrice de RAS présente exclusivement dans les CSPM pouvait induire une prolifération des cellules sanguines ressemblant à la LMMJ. Comment les dysfonctionnements des CSPM associés à des mutations de la voie RAS peuvent-ils conduire à une myéloprolifération et à la leucémogénèse chez ces enfants ?

Résultats obtenus :

L'équipe a recherché et caractériser les modifications induites par les mutations de la voie RAS dans les CSPM d'enfants patients. Des échantillons de moelle osseuse de patients présentant des mutations de différents gènes dans la voie Ras ont été rassemblés. Les profils d'expression génique et les capacités fonctionnelles de ces CSPM sont comparés à ceux de CSPM prélevées chez des enfants de même âge en bonne santé. Cette étude est en cours. Les résultats permettront de mieux comprendre le mécanisme d'apparition de cette pathologie grave.

Avancées :

Les résultats attendus devraient conduire à des perspectives thérapeutiques originales et plus efficaces.

Ciblage des interactions entre cellules leucémiques et microenvironnement comme nouvelle approche thérapeutique dans la leucémie lymphoïde chronique.

Date de la subvention : 2017 - Vassili Soumelis- Inserm U932 - Institut Curie - Paris.

Contexte scientifique :

La leucémie lymphoïde chronique est la plus fréquente des leucémies. Elle atteint majoritairement les personnes âgées. Elle se caractérise par une accumulation de lymphocytes B leucémiques dans la moelle osseuse, le sang, les ganglions lymphatiques et la rate. Deux récepteurs, appelés BCR et CD40A, sont présents à la surface des cellules leucémiques. Ces récepteurs, lorsqu'ils sont activés, transmettent des signaux provoquant la survie des cellules et dans le cas présent la survie des cellules leucémiques. L'activation de ces récepteurs dépend de l'environnement des cellules leucémiques et en particulier des cellules adjacentes : le BCR est activé par les « nurse-like cells » et le CD40 est activé par son ligand CD40L exprimé sur les cellules T auxiliaires.

Question posée, objectifs :

L'objectif du projet était d'étudier les mécanismes d'interaction et d'interférence entre cellules de LLC et leurs voisins pour comprendre comment les cellules T et les « nurse-like cells » favorisent la leucémie.

Résultats obtenus :

Les 3 types de cellules ont été cultivées ensemble. Lors de la co-culture avec les cellules leucémiques, les cellules T augmentent l'expression de CD40L et sécrètent des interleukines qui agissent comme des facteurs de croissance sur les cellules B leucémiques. Ce processus favorise le développement de la leucémie. Une analyse détaillée des réseaux intracellulaires qui sont dérégulés dans les cellules leucémiques par ces interférences cellulaires est en cours.

Avancées :

La compréhension des mécanismes d'interaction entre les cellules et l'activation des différentes voies biologiques qui entraînent la survie et la croissance des cellules leucémiques est essentielle pour identifier des cibles qui permettront de supprimer ce signal de survie.

Utilisation de cellules MAIT universelles portant un récepteur chimérique (CAR-MAIT) pour le ciblage des leucémies en contexte allogénique (projet adulte et pédiatrique).

Date de la subvention : 2017 - Sophie Caillat-Zucman- IUH Hôpital Saint-Louis, Paris

Contexte scientifique :

Les cellules CAR-T sont utilisées en immunothérapie. Les cellules CAR-T sont des lymphocytes T d'un patient atteint d'une leucémie qui sont modifiés génétiquement pour leur permettre d'exprimer un récepteur antigénique chimérique : ce récepteur permettrait à ces cellules de reconnaître et d'éliminer les cellules cancéreuses. Les cellules CAR-T dirigées contre l'antigène CD19 (un marqueur des lymphocytes B) ont démontré un potentiel spectaculaire dans le traitement des leucémies aiguës lymphoblastiques B (LAL-B) et des lymphomes non hodgkiniens (LNH) réfractaires aux traitements conventionnels ou en rechute. Cependant, une limite importante des cellules CAR-T est qu'elles doivent être fabriquées individuellement pour chaque patient, ce qui pose des difficultés logistiques et a un coût prohibitif pour une utilisation à plus grande échelle, risquant de créer une inégalité d'accès aux soins.

Question posée, objectifs :

L'objectif de ce projet était de produire des outils universels, des cellules CAR-T qui seraient prêtes à l'emploi quel que soit le receveur.

Résultats obtenus :

Pour cela, une nouvelle source de lymphocytes T non conventionnels a été exploitée : les cellules T invariantes associées aux muqueuses (MAIT), elles sont dépourvues de capacité allergique, elles ne risquent pas de provoquer une réaction du greffon contre l'hôte (GVH) et pourraient être employées dans le traitement de l'ensemble des patients.

Cette recherche a permis

- de générer des cellules CAR-MAIT humaines dirigées contre la molécule CD19 comme preuve de concept permettant une comparaison avec les cellules CAR-T classiques
- de démontrer la capacité des CD19-CAR MAIT à éliminer in vitro différentes cellules cibles tumorales CD19+
- d'obtenir des résultats préliminaires in vivo chez des souris immunodéficientes porteuses de tumeurs humaines CD19+.

Avancées :

Ces résultats sont très prometteurs. Ils suggèrent que les CAR-MAIT pourraient être utilisées comme immunothérapie anti-tumorale dans un contexte allogénique sans induire de GVH. Elles sont d'accès rapide pour le patient et leur préparation est plus économique que les préparations cellulaires individuelles utilisées actuellement.

Etude du mécanisme de la mort induite par ferroptose par le composé APR-246 dans les leucémies aigües myéloïdes.

Date de la subvention : 2018 - Didier Bouscary - INSERM U1016 - Hôpital Cochin - Paris

Contexte scientifique :

Les traitements actuels des leucémies aigües myéloïdes (LAM) sont basés sur des composants chimiques capables d'inactiver spécifiquement les protéines qui sont altérées dans les cellules leucémiques. Le gène TP53 est fréquemment muté dans les cancers humains dont les LAM. Il est une cible potentielle pour les traitements anti-leucémiques.

Question posée, objectifs :

L'APR-246 est un agent anti cancéreux capable d'activer la mort cellulaire dans différents types de cancers en inhibant les protéines p53 mutées et en restaurant l'activité de la protéine p53 normale.

L'objectif de cette étude était de déterminer si l'APR-246 était capable d'affecter la croissance des cellules LAM.

Résultats obtenus :

Des cellules leucémiques primaires issues de patients atteints de LAM ont été traitées par l'APR-246. Le gène p53 de ces patients avait été préalablement caractérisé afin de déterminer si ces patients étaient porteurs de mutations p53. Le traitement provoque la mort des cellules que les patients aient ou non des mutations p53.

La mort cellulaire induite par l'APR-246 dans les cellules leucémiques se produit selon un mécanisme de ferroptose (accumulation de fer).

Avancées :

Cet inducteur de la mort cellulaire par ferroptose ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques pour les patients atteints de LAM. Combiné à d'autres inducteurs de mort par ferroptose, l'APR-246 représente un traitement innovant des LAM.

Activité anti-tumorale de la voie IRE1/XBP1 dans les leucémies aigües myéloïdes : dissection des mécanismes mis en jeu.

Date de la subvention : 2018 - Christian Touriol - INSERM U1037 - CNRS USR 3505- Centre de recherche en cancérologie de Toulouse.

Contexte scientifique :

La division rapide des cellules et l'environnement cellulaire génèrent de nombreux stress cellulaires. L'un d'entre eux : le stress du reticulum endoplasmique, à trop forte intensité, conduit à la mort des cellules. Dans les tumeurs solides, ce processus est dérégulé et le stress du reticulum endoplasmique déclenche une réponse physiologique appelée UPR (Unfolded Protein response) qui entraîne la croissance des cellules.

Question posée, objectifs :

Dans les leucémies aigües myéloïdes (LAM), le rôle de stress du reticulum endoplasmique est peu décrit. L'objectif de cette étude était de déterminer si l'activation d'un stress du reticulum endoplasmique pouvait entraîner une évolution favorable des LAM.

Résultats obtenus :

Cette étude a montré que dans des cellules leucémiques issues de patients atteints de LAM, le stress du reticulum endoplasmique est plus ou moins activé. Pour comprendre le mécanisme de cette activation, les auteurs ont étudié le facteur de transcription XBP1 connu comme acteur dans différents processus inflammatoires. XBP1 est exprimé au cours du stress du reticulum endoplasmique et module la réponse UPR. En augmentant le niveau de XBP1 dans les cellules de LAM, il a été observé que XBP1 est capable de restaurer un processus de mort cellulaire et d'augmenter la sensibilité aux traitements chimiothérapeutiques des LAM. Les relais cellulaires contrôlés par XBP1 sont en cours d'étude.

Avancées :

Ces travaux montrent que l'activation du stress du reticulum endoplasmique et de la voie XBP1 a une activité anti-tumorale dans les cellules de LAM. Ils permettent d'envisager l'activation du stress du reticulum endoplasmique et de la voie XBP1 comme une nouvelle stratégie thérapeutique pour le traitement des LAM.

Implication de la voie Hedgehog dans les mastocytoses systémiques avancées et identification de nouvelles molécules thérapeutiques.

Date de la subvention : 2018 - Leila Maouche-Chréten - CRCH-INSERM U1163 - Institut Imagine - Paris.

Contexte scientifique :

Les mastocytoses sont caractérisées par une accumulation de mastocytes anormaux dans différents organes. Elles se présentent sous une forme cutanée ou sous une forme systémique. Les formes les plus agressives sont les leucémies et sarcomes mastocytaires. Chez 85% des patients, les mastocytes portent une mutation sur le gène Kit qui code pour un récepteur à activité Tyrosine Kinase. La mutation D816V de Kit est la plus fréquente. Elle entraîne l'activation permanente de KIT qui provoque la prolifération incontrôlée des mastocytes. Des inhibiteurs de Tyrosine Kinase sont utilisés pour le traitement de cette pathologie mais ils restent partiellement efficaces suggérant que d'autres facteurs que le gène Kit muté sont impliqués dans la transformation du mastocyte en cellule tumorale.

Question posée, objectifs :

Cette étude porte sur un enfant atteint d'un syndrome rare de céphalolysyndactylie de Greig (GCPS) associée à une mastocytose congénitale. Le GCPS est un trouble autosomique dominant causé par la mutation du gène hedgehog GLI3. Le rôle de la voie Hedgehog n'est pas connu dans la mastocytose et la question a été de déterminer si elle avait implication dans les mécanismes moléculaires conduisant à la mastocytose chez cet enfant.

Résultats obtenus :

Cette étude a montré que la voie Hedgehog est fortement activée dans les mastocytes anormaux. Deux mécanismes impliqués dans cette activation ont été identifiés : - d'une part, elle est due à la forte expression du ligand de la protéine GLI par les cellules cancéreuses, ce qui active directement la voie Hedgehog. - d'autre part, la voie Hedgehog est activée indirectement par le récepteur Kit muté. Un effet synergique de ces 2 mécanismes participe à la croissance tumorale.

La voie Hedgehog apparaissant comme une potentielle cible thérapeutique, un inhibiteur de la voie Hedgehog : le sonidégitib a été testé sur des modèles murins de mastocytose agressive et s'est avéré efficace pour réduire la pathologie.

Avancées :

Ces travaux ont identifié l'activation d'un nouveau gène qui coopère avec la mutation du gène Kit dans le développement de la mastocytose.

La combinaison des inhibiteurs de Tyrosine Kinase et d'un inhibiteur de la voie Hedgehog apparaît comme une stratégie nouvelle pour améliorer le traitement des patients atteints de mastocytose présentant une activation de la voie Hedgehog.

Ces travaux ont été publiés en 2021 dans Blood (2021) 138 (23) :2396-2407.

Étude des effets de faibles doses d'oxygène sur le développement lymphoïde normal et sur la chimiorésistance des LAL-T. Étude de l'impact de l'hypoxie sur les progéniteurs hémato-lymphoïdes normaux.

Date de la subvention : 2018 - Benjamin Uzan- CEA, Fontenay-aux-Roses- Rima Haddad- CEA, Fontenay-aux-Roses

Contexte scientifique :

La leucémie lymphoïde chronique est la plus fréquente des leucémies. Elle atteint majoritairement les personnes âgées. Elle se caractérise par une accumulation de lymphocytes B leucémiques dans la moelle osseuse, le sang, les ganglions lymphatiques et la rate. Deux récepteurs, appelés BCR et CD40A, sont présents à la surface des cellules leucémiques. Ces récepteurs, lorsqu'ils sont activés, transmettent des signaux provoquant la survie des cellules et dans le cas présent la survie des cellules leucémiques. L'activation de ces récepteurs dépend de l'environnement des cellules leucémiques et en particulier des cellules adjacentes : le BCR est activé par les « nurse-like cells » et le CD40 est activé par son ligand CD40L exprimé sur les cellules T auxiliaires.

Question posée, objectifs :

L'hypoxie est un déficit d'apport d'oxygène dans le sang et les tissus. Elle affecte les progéniteurs hématopoïétiques et le développement lymphoïde qui se déroulent dans les organes hématopoïétiques (moelle osseuse, thymus). Toutefois, les études fonctionnelles de l'impact de l'hypoxie sur les étapes initiales de la lymphopoïèse ont été principalement étudiées chez la souris et ne sont pas connues chez l'homme.

Résultats obtenus :

Notre but a été d'étudier les effets de l'hypoxie sur le développement des cellules lymphoïdes normales chez l'homme.

Avancées :

Ces résultats mettent en évidence un rôle insoupçonné de l'hypoxie sur l'accroissement de la lymphopoïèse précoce chez l'homme.

Evaluation de la cytotoxicité du venetoclax seul ou en association avec d'autres chimiothérapies sur les leucémies à cellules dendritiques plasmacytoïdes.

Date de la subvention : 2018 - Fanny Delettre - UMR 1098- CHU de Besançon.

Contexte scientifique :

La leucémie à cellules dendritiques plasmacytoïdes (LpDC) est une leucémie rare qui atteint principalement les personnes âgées. L'agressivité de cette leucémie et l'absence de traitement consensuel font que le pronostic des patients est sombre.

Question posée, objectifs :

L'objectif de ce projet était d'évaluer si un traitement par le venetoclax seul ou associé à d'autres molécules était une approche thérapeutique possible pour les patients atteints de LpDC.

Résultats obtenus :

Cette étude rapporte que les cellules de LpDC présentent une sensibilité au venetoclax seul. Cette sensibilité est accrue quand le venetoclax est associé à la 5-azacytidine ou au carfilzomib. Ces premiers résultats obtenus sur des cellules de LpDC cultivées in vitro ont été confirmés sur un modèle de souris atteintes de LpDC.

Pour approcher le mécanisme d'action du venetoclax, sa capacité à induire une mort cellulaire immunogène a été évaluée. Ce processus de mort cellulaire observé au cours des chimiothérapies déclenche la réponse immunitaire du patient contre sa propre tumeur. Ainsi, l'effet thérapeutique est attribuable à un effet cytotoxique direct de la chimiothérapie mais aussi à l'intervention du système immunitaire du patient. Les premières données de cette étude montrent que des marqueurs moléculaires de la mort cellulaire immunogène sont en effet détectés dans les cellules de LpDC traitées in vitro par le venetoclax.

Avancées :

La capacité du venetoclax à induire la mort cellulaire immunogène des cellules de LpDC ouvre de nouvelles perspectives pour le traitement des LpDC. Des traitements associant le venetoclax à certaines chimiothérapies pourraient être envisagés.

Etude pangénomique et immunologique de la cohorte nationale de leucémies dérivées de cellules dendritiques plasmacytoïdes (LpDC) et hémopathies apparentées.

Date de la subvention : 2018 - Francine Garnache Ottou - UMR 1098- CHU de Besançon.

Contexte scientifique :

Les leucémies dérivées de cellules dendritiques plasmacytoïdes (LpDC) sont des leucémies rares et agressives. Les LpDC constituent un sous-groupe au sein des leucémies aigües myéloïdes (LAM). Elles sont caractérisées par la prolifération de myéloblastes immatures associés à un excès de cellules dendritiques plasmacytoïdes immatures pDC.

Question posée, objectifs :

Le laboratoire UMR 1098 de Besançon est le centre national de référence pour les LpDC. L'objectif de ce projet était d'affiner la caractérisation des cellules LpDC en réalisant une étude pangénomique à partir des cellules primaires de patients. A ce jour, il n'y a pas de consensus pour la prise en charge des patients. L'identification d'anomalies génétiques particulières aux LpDC pourrait être indicative d'une potentielle approche thérapeutique.

Résultats obtenus :

Le séquençage à haut-débit du génome de cellules primaires LAM-pDC issues de différents patients est en cours. Les premiers résultats ont permis de confirmer qu'il y avait un continuum de maturation entre les blastes et les pDC. Cependant, cette stratégie a mis en évidence une hétérogénéité entre les différents patients et n'a pas encore révélé d'altération génétique commune.

Avancées :

La poursuite de ces travaux devrait aboutir à identifier des marqueurs pronostiques et des cibles thérapeutiques pour les LAM-pDC.

Interactions entre lymphocytes T et lymphocytes B tumoraux dans la leucémie lymphoïde chronique : implications dans la progression tumorale et les dysimmunités associées.

Date de la subvention : 2018

Dorothee Duluc - UMR 5164 Université de Bordeaux,
Marie-Sarah Dilhuydy - Hôpital Haut-Lévêque- CHU Bordeaux,
Edouard Forcade - Hôpital Haut-Lévêque- CHU Bordeaux.

Contexte scientifique :

La leucémie lymphoïde chronique représente 30% des formes de leucémies. Elle touche principalement les personnes de plus de 60 ans. C'est une pathologie à évolution lente et qui peut rester asymptomatique durant plusieurs années. Cependant certaines formes sont plus agressives et s'accompagnent de complications comme une susceptibilité accrue aux infections. Dans la LLC les lymphocytes B qui participent au fonctionnement normal du système immunitaire, sont devenus des blastes leucémiques. Ils prolifèrent et envahissent le sang, la moelle et les ganglions lymphatiques.

Question posée, objectifs :

Pour approcher les mécanismes de la transformation des lymphocytes B dans la LLC, l'équipe a étudié une autre population de lymphocytes : les lymphocytes T folliculaires. Ils interagissent avec les lymphocytes B et jouent un rôle majeur dans le contrôle de la maturation et de la différenciation des lymphocytes B.

Résultats obtenus :

Cette étude met en évidence que une augmentation du nombre des lymphocytes T folliculaires dans les patients atteints de LLC comparativement à des donneurs sains, en particulier au stade avancé de la maladie. De plus, il a été observé que les lymphocytes T folliculaires des patients LLC sont plus activés que ceux de donneurs sains. Ils sécrètent des facteurs qui favorisent la prolifération et la survie des cellules B leucémiques.

Avancées :

L'évaluation du taux de lymphocytes T folliculaires circulant chez les patients atteints de LLC pourrait être utilisée comme biomarqueur pour l'établissement du diagnostic, pour améliorer le pronostic et la qualité de vie des patients atteints de LLC.

Impact des inhibiteurs de la protéine de choc thermique HSP27 dans les syndromes myéloprolifératifs.

Date de la subvention : 2018 - Carmen Garrido - INSERM UMR 1231- Université de Bourgogne - Dijon.

Contexte scientifique :

Les néoplasies myéloprolifératives (NPM) sont des maladies hématologiques chroniques qui comprennent la polyglobulie de Vaquez (PV), la thrombocythémie essentielle (TE) et la Myélofibrose Primitive qui est la forme la plus sévère des NPM. Ces pathologies peuvent évoluer spontanément vers des formes agressives de très mauvais pronostic.

L'équipe a précédemment décrit que certaines protéines de choc thermique (Heat Shock Proteins-HSP), notamment HSP90, jouent un rôle dans la régulation de la prolifération cellulaire dans les NPM. Toutefois, leur inhibition entraîne une synthèse accrue d'autres HSP, de petite taille, en particulier HSP27.

Question posée, objectifs :

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer le rôle potentiel d'HSP27 dans ces néoplasies myéloprolifératives.

Résultats obtenus :

Cette étude montre qu'HSP27 joue un rôle pivot dans la régulation de la prolifération cellulaire dans la myélofibrose, mais aussi dans la PV et la TE. Des niveaux élevés d'HSP27 sont trouvés chez les patients atteints de PV ou de TE, indépendamment de la mutation originelle responsable de la maladie.

Pour valider la fonction d'HSP27 dans ces pathologies, HSP27 a été inhibée dans un modèle de souris qui développent des PV caractérisées, entre autres, par une splénomégalie et une augmentation du nombre de plaquettes.

Les conséquences de l'inhibition d'HSP27 dans ce modèle murin sont une diminution de la taille de la rate et une réduction de la prolifération des précurseurs des plaquettes.

Avancées :

Cette étude indique qu'HSP27 pourrait être une cible thérapeutique dans les NMP et encourage à poursuivre les recherches dans ce domaine.

Intérêt pronostique de la recherche de mutations additionnelles en NGS (séquençage à haut débit) dans la myélofibrose.

Date de la subvention : 2018 - Valérie Ugo - UFR Santé - Université d'Angers.

Contexte scientifique :

Les syndromes myéloprolifératifs (SMP) sont des leucémies chroniques, dues à des anomalies des cellules souches de la moelle osseuse qui entraînent la surproduction des cellules sanguines. Ainsi il y a augmentation des globules rouges dans la polyglobulie de Vaquez, augmentation des plaquettes dans la thrombocythémie essentielle. Dans la myélofibrose, il y a une densification de l'os (fibrose) associée à une splénomégalie et une diminution de la production des globules rouges.

Le développement de 90% des myélofibroses est associé à l'acquisition de mutations génétiques dans les cellules souches hématopoïétiques : ces mutations touchent les gènes JAK2, CALR, ou MPL et sont directement responsables de la prolifération excessive des cellules. Des mutations dites additionnelles ont été récemment identifiées grâce au séquençage à haut débit. Elles pourraient permettre une classification pronostique des SMP.

Question posée, objectifs :

Cette étude avait pour objectif de définir le paysage mutationnel des myélofibroses. Des échantillons d'ADN provenant d'une cohorte de 500 patients atteints de myélofibrose ont été analysés par séquençage haut débit pour recenser les mutations additionnelles à l'échelon individuel.

Résultats obtenus :

La présence des mutations de TP53 et de 8 autres gènes connus pour être de mauvais pronostic a été confirmée. Des mutations dans le gène ASXL1 précédemment décrit comme de mauvais pronostic, ont aussi été retrouvées. Cependant cette étude montre que la seule mutation du gène ASXL1, en absence de mutations additionnelles, n'est pas de mauvais pronostic et a un impact modéré sur la transformation leucémique. Ces résultats amènent à une révision de la classification pronostique des mutations dans la myélofibrose.

Avancées :

L'appréciation précise du pronostic de la maladie à l'échelon individuel est un enjeu important pour les patients. Ces résultats faciliteront les choix thérapeutiques pour les patients atteints de myélofibrose.

Ces travaux ont été publiés en 2021 dans Blood advances (2021) 5 (5) :1442-1451.

Implication du complexe OGT/HCF-1 dans les syndromes myélodysplasiques.

Date de la subvention : 2018 - Michaela Fontenay - INSERM U1016 UMR 8104 - Institut Cochin - Paris, Tarik Issad - Institut Cochin - Paris.

Contexte scientifique :

Les syndromes myélodysplasiques sont des maladies hétérogènes de la moelle osseuse qui touchent le sujet âgé. Elles prédisposent aux leucémies aiguës dans 30 à 40% des cas. Ces maladies sont dues à l'accumulation de mutations dans les cellules souches hématopoïétiques qui génèrent toutes les cellules du sang.

L'équipe a identifié chez un patient atteint d'un syndrome myélodysplasique une mutation dans le gène codant pour une enzyme (OGT). OGT a deux fonctions : une fonction de glycosylation des protéines qui est connue pour intervenir dans les processus de cancérisation et une fonction de coupure de la protéine HCF-1 dont le rôle dans les leucémies a déjà été rapporté. La mutation de l'OGT caractérisée dans cette étude supprime la fonction de coupure (activité protéase) sans affecter la fonction de glycosylation.

Question posée, objectifs :

Le projet avait pour objectif de comprendre en quoi l'absence de coupure d'HCF-1 pouvait contribuer à la leucémogénèse.

Résultats obtenus :

Deux types de cellules portant ou non la mutation du gène OGT et proliférant in vitro ont été créés pour avoir un modèle cellulaire proche de la maladie. D'une part, en exploitant la technique des «ciseaux moléculaires» (CRISPR/Cas9) qui permet de modifier précisément un gène dans une cellule, des lignées de cellules cancéreuses modèles (U2OS) exprimant l'OGT mutée ou normale ont été générées. D'autre part, de telles lignées cellulaires ont été créées à partir de cellules sanguines portant ou non la mutation dans OGT. Les effets de la mutation sur la prolifération de ces cellules, ainsi que sur les fonctions d'HCF-1 ont été analysés.

L'étude montre que la mutation affecte fortement la prolifération des cellules U2OS. Au niveau moléculaire, la mutation modifie l'interaction de l'OGT avec des partenaires impliqués dans les régulations épigénétiques (Tet2, BAP1) et affecte l'activité du facteur de transcription E2F, impliqué dans la régulation du cycle cellulaire.

Enfin, une analyse du transcriptome (ensemble des ARN issus de la transcription du génome) dans les cellules porteuses de la mutation a révélé une augmentation de l'expression de certains gènes impliqués dans la prolifération cellulaire.

Avancées :

Ces travaux montrent que des mutations de l'OGT pourraient être impliquées dans les processus de cancérisation et suggèrent que certaines voies régulées par l'activité protéase de l'OGT sur HCF-1 pourraient jouer un rôle important dans les leucémies.

Etude whole exome des peptidomes Donneur/Receveur potentiellement impliqués dans la survenue de GVH au décours de la greffe de cellules souches hématopoïétiques chez l'homme.

Date de la subvention : 2018

Alice Aarnick - CHRU Nancy Brabois - Vandoeuvre les Nancy ,
Marie-Thérèse Rubio UMR7365 Université de Lorraine - Vandoeuvre les Nancy ,
Laurent Mesnard UMR1155 - Hôpital Tenon- Paris.

Contexte scientifique :

L'allogreffe (le greffon provient d'un autre individu que le sujet greffé) de cellules souches hématopoïétiques (CSH) reste la seule option thérapeutique pour traiter certaines hémopathies malignes. Le principe consiste à remplacer le tissu hématopoïétique défectueux du patient receveur par le tissu hématopoïétique sain d'un donneur. L'introduction d'un nouveau système immunitaire au sein d'un organisme est à l'origine d'une alloréactivité sur laquelle repose l'effet anti-tumoral recherché. Cependant, cette alloréactivité complique 30 à 50% des allogreffes de CSH d'un effet GVH (maladie greffon contre hôte), pouvant menacer le pronostic vital du receveur. La survenue d'une GVH aiguë et/ou chronique lors de l'allogreffe de CSH réalisée entre un donneur et un receveur exprimant des molécules HLA strictement identiques, suggère que la compatibilité HLA n'est pas la seule condition pour la réussite d'une greffe. Différentes études pointent l'intérêt d'étendre la notion de compatibilité à l'ensemble des protéines exprimées au sein du couple donneur/receveur.

Question posée, objectifs :

La stratégie développée par l'équipe a été de reprendre un score, l'AMS (Allogeneic Mismatch Score), déjà décrit dans la transplantation rénale. Ce score est corrélé à l'alloréactivité et « quantifie » les différences entre les protéines du donneur et du receveur. L'hypothèse est que plus l'AMS est élevé, plus le receveur risque de développer une GVH. L'objectif était d'affiner le score afin d'identifier des « antigènes mineurs d'histocompatibilité » responsables de l'alloréactivité extra-HLA.

Résultats obtenus :

La cohorte géno-identique CRYOSTEM qui regroupe des échantillons biologiques de milliers de couples donneur-receveur a été exploitée. Le score défini pour la transplantation rénale, a été adapté à la greffe des CSH. Deux modules ont été introduits : un premier afin de ne prendre en compte que les différences de peptides capables d'interagir avec les molécules HLA et un second permettant d'identifier des régions génomiques concourant particulièrement à l'AMS. Des premiers résultats ont été obtenus. Cependant il reste à tester la validité du score AMS sur d'autres cohortes, notamment une cohorte haplo-identique (patients greffés avec des cellules compatibles seulement à 50% environ puis traités par un immunosuppresseur).

Avancées :

Si nos hypothèses se vérifient, l'AMS pourrait à terme devenir un indice prédictif de la survenue de la GVH. Son utilisation pourrait permettre de choisir le meilleur donneur pour un receveur donné et/ou d'adapter le traitement préventif de la GVH en fonction de son risque de survenue.

Rôle d'IGFBP2 produit par certaines cellules du stroma médullaire dans la leucémie myélomonocytaire.

Date de la subvention : 2019 - Eric Solary- INSERM U1287- Institut Gustave Roussy- Villejuif .

Contexte scientifique :

Depuis les années 1960, les recherches sur les leucémies se sont focalisées sur l'identification d'altérations génétiques (mutations, altérations chromosomiques) dans une cellule souche du tissu hématopoïétique qui seraient responsables des leucémies. Cependant la progression de recherches et des stratégies expérimentales ont révélé que ces anomalies génétiques peuvent apparaître très longtemps avant que la maladie se manifeste. D'autres événements semblent nécessaires pour qu'il y ait émergence de la maladie.

Les cellules du sang sont fabriquées dans une niche médullaire au sein de la moelle osseuse . Une des hypothèses est qu'une altération de la niche médullaire contribue au développement de la maladie. Comme un certain nombre de leucémies ne se développe que chez des sujets âgés de plus de 50 ans, le vieillissement pourrait expliquer cette altération.

Question posée, objectifs :

Cette étude porte sur le rôle du vieillissement de la niche médullaire dans l'émergence de la leucémie myélomonocytaire chronique.

Résultats obtenus :

Il a été observé chez les patients atteints de leucémie myélomonocytaire chronique, un dérèglement des cellules stromales de la niche médullaire. Ce dérèglement entraîne la surproduction anormale de la protéine IGFBP2 (Insulin Growth factor Binding Protein 2) qui intervient dans la voie métabolique de l'Insuline.

L'étude du mécanisme qui provoque la surproduction de IGFBP2 est en cours. Un mécanisme épigénétique qui contrôle l'expression du gène sans que la séquence de l'ADN soit modifiée, semble être impliqué. Quant aux effets de IGFBP2 sur le développement de la leucémie, les premières données indiquent que IGFBP2 a la capacité de stimuler la prolifération des cellules leucémiques.

Avancées :

Le traitement des patients avec des médicaments bloquant les effets de IGFBP2 pourrait être pertinent pour soigner les patients atteints de leucémie myélomonocytaire chronique ou de leucémies apparentées.

Caractérisation du phénomène de NETose dans la thrombose des néoplasies myéloprolifératives.

Date de la subvention : 2019 - Chloé James - INSERM U1034 - CHU de Bordeaux.

Contexte scientifique :

Les néoplasies myéloprolifératives sont des maladies acquises au cours de la vie caractérisées par une production anormalement élevée de cellules sanguines. Une mutation dans le gène JAK2 est souvent retrouvée dans l'ADN des patients atteints de ces maladies. Une autre caractéristique de ces patients est qu'ils ont un risque augmenté de faire des thromboses (présence de caillot qui obstrue les vaisseaux) dû à l'augmentation du nombre de globules blancs.

Question posée, objectifs :

Les globules blancs en excès chez les patients atteints de ces néoplasies myéloprolifératives pourraient sécréter, lorsqu'ils sont activés, des filaments composés d'ADN et de protéines (appelés NETs pour Neutrophil Extracellular Trap). La présence de ces filaments participe à la thrombose en activant la cascade de coagulation. Le projet a pour objectif d'étudier les voies activées dans les globules blancs des patients et de déterminer si cette activation entraîne la formation de NETs.

Résultats obtenus :

Le sang de patients atteints de néoplasie myéloproliférative avec (10 patients) et sans (10 patients) thrombose a été prélevé. Les ARNs (les transporteurs du message génétique) des globules blancs sont en cours d'étude.

Avancées :

Cette étude permettra de mieux comprendre les causes de la formation de la thrombose observée chez les patients atteints de néoplasie myéloproliférative et ainsi de mieux la prévenir.

Etude de la dérégulation du locus histone HIST 1 dans les leucémies aiguës myéloïdes

Date de la subvention : 2019 - Estelle Duprez - CRCM - Marseille.

Contexte scientifique :

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) restent des cancers pour lesquels les paramètres biologiques et moléculaires actuels sont insuffisants pour évaluer le risque de progression de la maladie. Le laboratoire a découvert il y a quelques années un enrichissement anormal d'une marque «répressive», appelée H3K27me3 HIST1high, dans les cellules de LAM à caryotype normal (CN). Cette anomalie est « épigénétique » : elle ne change pas la séquence de l'ADN comme le fait une mutation, mais a pour conséquence une modification de l'utilisation des gènes par les cellules, ici une diminution de l'expression des gènes couverts par cette marque.

Question posée, objectifs :

Ce projet avait pour but de comprendre les conséquences de la marque H3K27me3 HIST1high en reliant les caractéristiques cliniques des patients H3K27me3 HIST1high à la biologie des cellules qui portent cette anomalie et de confirmer l'intérêt pronostique de ce biomarqueur pour les leucémies aiguës myéloïdes.

Résultats obtenus :

Des modèles d'études ont été développés qui reproduisent la signature H3K27me3 HIST1high trouvée chez les patients dans des cellules en culture. Des premiers résultats montrent que les cellules qui portent la marque H3K27me3 HIST1high ont un caractère moins agressif et sont plus sensibles à un traitement différenciant. Les effets de cette modification épigénétique sur les propriétés biologiques des cellules leucémiques et sur leur réponse aux chimiothérapies sont en cours d'analyse.

Avancées :

Ce nouveau biomarqueur a un réel intérêt clinique car les patients qui ont la marque H3K27me3 HIST1high ont un meilleur pronostic que les patients ne possédant pas cette signature épigénétique. La perspective de cette étude est d'utiliser ce nouveau biomarqueur épigénétique pour aider à la classification et prédire la réponse des LAM à caryotype normal afin d'améliorer la prise en charge des patients.

Réorganisation globale de l'hétérochromatine dans les cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques de patients atteints de leucémie myélonocyttaire chronique.

Date de la subvention : 2019 - Françoise Porteu - UMR1287 - Institut Gustave Roussy- Villejuif.

Contexte scientifique :

La leucémie myélonocyttaire chronique (LMMC) est une des hémopathies (maladie du sang) typiquement associée au vieillissement (âge moyen au diagnostic 72 ans). La LMMC est une maladie des cellules souches hématopoïétiques (CSH). Les CSH sont localisées dans la moelle osseuse, sont capables d'auto-renouvellement et produiront toutes les cellules matures du sang tout au long de la vie. La CSH de LMMC peut produire un taux de monocytes supérieur à 1000/mm³ (le taux normal est de 200 à 700 monocytes /mm³).

La LMMC reste incurable en dehors de la greffe de CSH, rarement réalisée compte-tenu de l'âge. Cette maladie est très agressive, notamment lorsqu'elle se transforme en leucémie aigüe, mais aussi du fait des conséquences des cytopénies (déficit d'un type de cellules sanguines).

Question posée, objectifs :

L'étude a pour but de mettre en évidence de nouveaux mécanismes de dérégulation dans les cellules des patients atteints de cette pathologie afin de développer des traitements qui seraient plus spécifiques et efficaces.

Résultats obtenus :

L'équipe a montré le rôle de rétro-éléments (RE) dans la régulation de l'expression de certains gènes. Les RE sont des séquences d'ADN intégrées dans notre génome à la suite d'anciennes infections virales. L'expression des RE dans les CSH normales est associée à un vieillissement prématuré des cellules. Dans les CSH de patients LMMC, l'expression massive des RE associée à des combinaisons de drogues affectant les modifications épigénétiques, induit un état mimant une infection virale qui provoque la mort des cellules malignes.

Avancées :

Ces résultats ouvrent la perspective d'un nouveau traitement de la LMMC qui pourrait éradiquer les cellules souches leucémiques et éviter les rechutes.

Restauration de la fertilité à partir de biopsies testiculaires de patients prépubères : Caractérisation des cellules souches germinales et mise au point des modalités d'utilisation.

Date de la subvention : 2019 - Virginie Barraud-Lange - CHU Cochin - Paris.

Contexte scientifique :

Chez les patients atteints de cancer, un des effets secondaires majeurs des traitements est l'hypofertilité. Un homme sur trois, guéri d'un cancer de l'enfance, présentera des troubles irréversibles de la fertilité. Chez le patient prépubère qui ne produit pas encore de spermatozoïdes, la seule technique envisageable de préservation de la fertilité est le prélèvement et la congélation de Tissu Testiculaire Immature (TTI) qui contient des cellules souches germinales (CSG).

Question posée, objectifs :

L'objectif de ce projet de recherche était la mise au point d'une stratégie d'utilisation du TTI humain qui permette de restaurer la fertilité masculine.

Résultats obtenus :

Ce projet a été développé à partir de tissus testiculaires de patients prépubères conservés dans le cadre du protocole GermCell (Agrément CPP Sudest2- Protocole GERMCELL 2016-A01824-47). Un modèle de xénogreffe de TTI humain dans des testicules de souris immunodéficientes a été créé. Il permet l'étude de la capacité des CSG prépubères à effectuer à la puberté, leur transition en CSG adultes, à se multiplier et finalement se différencier en spermatozoïdes.

Il a été observé que le TTI humain greffé maintient une architecture satisfaisante et que les CSG contenues dans les greffons sont en mesure de survivre, de proliférer et de montrer des signes précurseurs de maturation. Les autres cellules (Leydig et Sertoli) indispensables au bon fonctionnement du tissu testiculaire sont également intègres.

Ainsi, le TTI peut survivre après greffe et les CSG gardent leur potentiel. L'étape suivante consistera à auto-greffer du TTI à des patients dans l'espoir d'obtenir une différenciation des CSG humaines. En parallèle, les effets des chimiothérapies chez des patients atteints de leucémie ont été évalués sur la qualité du TTI prélevé et sur la quantité de CSG. L'exposition préalable à des chimiothérapies n'altère pas les chances de retrouver des CSG dans le tissu excepté lorsque la chimiothérapie comporte des agents alkylants.

Avancées :

Ces résultats permettent de mieux conseiller les patients et les praticiens quant au moment le mieux adapté pour la réalisation d'une cryoconservation de tissu testiculaire lors du traitement des patients prépubères atteints de leucémie.

Exploration du statut d'activation des cellules de Leucémie Lymphoïde Chronique par imagerie cellulaire quantitative dans le contexte de traitements personnalisés.

Date de la subvention : 2019 - Loïc Dupré - Infinity U1291 - CHU Purpan - Toulouse.

Contexte scientifique :

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est le cancer des cellules sanguines le plus courant chez les personnes âgées. Il se traduit par la prolifération incontrôlée de lymphocytes B qui envahissent progressivement le sang, la moelle osseuse et les ganglions lymphatiques. Le traitement de la LLC repose sur la chimiothérapie. L'ibrutinib est un médicament qui s'est dernièrement imposé comme traitement de référence de la LLC.

Question posée, objectifs :

Des différences de réponse au traitement par l'ibrutinib sont observées. Certains patients rechutent ou développent des effets secondaires graves. Une question majeure est de trouver des approches prédictives de l'efficacité du traitement à l'ibrutinib de manière à proposer des thérapies ciblées pour chaque patient.

Résultats obtenus :

La cible moléculaire de l'ibrutinib dans les cellules leucémiques est la tyrosine kinase BTK. Son activité est constitutivement stimulée dans les lymphocytes B de la LLC. De manière à quantifier les effets de l'ibrutinib sur les cellules leucémiques des patients, une approche innovante de microscopie automatisée a été développée au cours de ce projet. Cette approche permet d'analyser, de manière très précise, la morphologie des cellules leucémiques, l'organisation de leur cytosquelette ainsi que le niveau d'activation de BTK. Elle a montré que le traitement à l'ibrutinib influençait chacun de ces critères dans les cellules leucémiques et ceci de manière distincte d'un patient à l'autre. Des approches expérimentales complémentaires ont identifié le rôle des récepteurs S1P1 et CCR7 dans la redistribution des cellules leucémiques des ganglions vers le sang lors du traitement avec l'ibrutinib. Cette redistribution est un marqueur favorable du succès thérapeutique.

Avancées :

L'analyse par microscopie quantitative d'échantillons sanguins de patients atteints de LLC permet de prendre en compte plusieurs paramètres morphologiques et moléculaires pour suivre l'état des cellules leucémiques au cours du traitement par l'ibrutinib. Elle est particulièrement adaptée au suivi de la qualité de la réponse au traitement chez les patients. A terme, une telle approche pourrait être utilisée en pratique clinique pour l'adaptation du schéma de traitement, dans l'esprit d'une médecine personnalisée.

Ces travaux ont été publiés en 2021 dans Cell Reports (2021) 36:109318.

Analyse des lymphocytes T innés comme biomarqueurs prédictifs d'un succès d'arrêt de traitement dans la leucémie myéloïde chronique : étude prospective.

Date de la subvention : 2019 - Jean-Marc Gombert - INSERM U1082 - coresponsable du groupe d'immunologie IRATI - CHU de Poitiers.

Contexte scientifique :

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un cancer du sang qui touche une catégorie de globules blancs. La LMC est traitée par un nouveau médicament qui supprime l'activité d'une molécule, une kinase (enzyme qui induit le transfert d'un groupe phosphate sur une autre molécule provoquant la stimulation de cette dernière), dont l'activité est dérégulée dans la LMC. Lorsque le patient est en rémission, le traitement est arrêté mais 50% des patients rechutent.

Question posée, objectifs :

L'équipe de recherche se demande pourquoi la moitié des patients rechutent et pour quelle raison l'autre moitié ne rechute pas.

Résultats obtenus :

Les chercheurs ont caractérisé une population cellulaire composée de cellules LTI CD8 présente chez les patients qui ne rechutent pas. Les cellules LTI CD8 seraient capables de tuer les cellules tumorales. L'étude des propriétés de ces cellules est actuellement en cours.

Avancées :

La détection de cette population cellulaire LTI CD8 chez les patients traités pourrait être un marqueur prédictif de réussite d'arrêt de traitement. Une prochaine étude prospective nationale multicentrique d'arrêt de traitement mise en place par l'équipe confirmera cette hypothèse.

Date de la subvention : 2019

Jean-Baptiste Micol, INSERM U1287- Institut Gustave Roussy-Villejuif et Université Paris-Saclay - Orsay .

Christophe Marzac - Institut Gustave Roussy- Villejuif et Université Paris-Saclay - Orsay.

Filippo Rosselli - CNRS UMR9019, Institut Gustave Roussy, Villejuif et Université Paris-Saclay- Orsay.

Contexte scientifique :

Des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) apparaissent quelquefois à la suite d'un traitement anticancéreux. On appelle ces leucémies des « LAM induites ». Des anomalies cytogénétiques et moléculaires sont observées dans les cellules de patients atteints de LAM induite.

Question posée, objectifs :

Serait-il possible de détecter ces anomalies moléculaires avant l'apparition des anomalies des paramètres sanguins chez les patients traités ?

Résultats obtenus :

L'équipe a comparé les caractéristiques (cytogénétiques et moléculaires) des cellules de patients au stade pré-leucémique (au moment du premier cancer) et des cellules au stade leucémique (au moment du diagnostic de LAM induite). Dans 8 cas sur 10, une anomalie est détectée au stade leucémique, entre 2 et 8 ans avant le diagnostic de LAM. Cette équipe a donc observé que des anomalies moléculaires pouvaient définir un état pré-leucémique.

Avancées :

Ces travaux ont permis une meilleure connaissance des facteurs prédisposant aux LAM induites et pourrait conduire, à terme, à proposer une intervention thérapeutique à un stade pré-leucémique en vue de prévenir l'apparition d'une LAM.

Date de la subvention : 2019 - Danièle Bensoussan Lejzerowicz - Unité de Thérapie cellulaire et banque de Tissus (UTCT) - CHRU - Nancy.

Contexte scientifique :

Ce projet s'inscrit dans le développement d'une stratégie d'immunothérapie complexe qui consiste à « rééduquer » le système immunitaire du patient. Cette stratégie est basée sur la reprogrammation génétique des lymphocytes T (appelés aussi cellules tueuses) du patient. Après reprogrammation, les cellules, appelées CAR T-cell, auront deux propriétés : premièrement, étant des cellules tueuses, elles pourront détruire les cellules tumorales et, deuxièmement, par reprogrammation, elles exprimeront artificiellement un récepteur antigénique chimérique (CAR pour Chimeric Antigen Receptor), qui permet à ces cellules de reconnaître spécifiquement les cellules tumorales. Les cellules reprogrammées vont donc se fixer sur les cellules tumorales et les détruire.

Question posée, objectifs :

Peut-on utiliser les cellules du patient pour construire ces CAR-T cell ?

Résultats obtenus :

Ce projet de recherche est extrêmement vaste et l'équipe a rencontré de grandes difficultés au cours de sa réalisation. Elle a cependant avancé dans la première étape de ce projet qui consiste à obtenir les lymphocytes modifiés : construction des vecteurs viraux, mise au point des conditions de transfert dans les lymphocytes, test de cytotoxicité pour évaluer in vitro l'efficacité des lymphocytes modifiés.

Avancées :

Les résultats, bien que préliminaires, sont prometteurs. Le sérieux de l'équipe ainsi que le nombre de ses collaborations laissent penser que le travail aboutira prochainement.

Identification de nouvelles combinaisons thérapeutiques à l'aide d'une plateforme de criblage multiparamétrique en conditions pseudo-niche dans les leucémies aigües myéloïdes.

Date de la subvention : 2020 - Raphaël Itzykson- Université de Paris - Service Hématologie Adultes - Hôpital Saint-Louis - Paris.

Contexte scientifique :

La recherche de drogues efficaces contre les cellules de Leucémie Aigüe Myéloïde (LAM) est en cours depuis plusieurs décennies. Les tests sont le plus souvent réalisés dans des systèmes artificiels de cultures cellulaires ne représentant que faiblement l'environnement de la tumeur. De plus, les drogues sont testées en monothérapie alors que des combinaisons de médicaments sont le plus souvent nécessaires pour traiter la LAM.

Question posée, objectifs :

L'objectif de ce projet était de mettre au point une plateforme de criblage de combinaison de médicaments sur des cellules primaires de patients.

Résultats obtenus :

L'équipe a mis au point une méthode de culture des cellules primaires de patients dans des conditions mimant le mieux possible l'environnement des cellules leucémiques, environnement appelé « niche leucémique ». Dans ces conditions, des combinaisons de médicaments ont été testées sur quarante patients en rechute ou réfractaire.

Une analyse multiparamétrique a permis de caractériser les sous-populations de cellules leucémiques détruites par les différentes drogues testées au cours des essais en culture.

Avancées :

La recherche de nouvelles drogues et l'étude de leurs effets sur les différentes populations tumorales permet d'améliorer le traitement des LAM.

Cibler la leucémie aigüe myéloïde et les syndromes myélodysplasiques par des modulateurs rédox.

Date de la subvention : 2020 - Meng-Er Huang - ICSN-CNRS- Gif sur Yvette- Pierre FENAUX - Service d'hématologie séniors - Hôpital Saint-Louis - Université Paris 7- Paris.

Contexte scientifique :

Cette étude se place dans le contexte de recherche de nouveaux traitements pour la leucémie aigüe myéloïde (LAM) et les syndromes myélodysplasiques (SMD) qui sont des états pré-leucémiques. Dans les cellules, l'équilibre entre molécules oxydantes et anti-oxydantes est finement régulé, c'est ce qui est appelé la réaction d'oxydoréduction ou réaction redox. Un stress oxydatif qui dépasse le seuil de tolérance peut conduire à la mort de la cellule.

Question posée, objectifs :

L'équipe de recherche tente d'exploiter ce déséquilibre pour tuer les cellules tumorales. Deux modulateurs de cette réaction redox : l'auranofin (AUF) et la vitamine C (VC), ont été utilisés. Les activités anti-leucémiques de l'AUF, de la VC et de la combinaison AUF/VC ont été testées sur des cellules leucémiques prélevées chez 10 patients, en ciblant 3 types de cellules leucémiques : les cellules myéloïdes leucémiques immatures, la sous-population enrichie en cellules souches leucémiques et la sous-population de progéniteurs leucémiques

Résultats obtenus :

L'association de deux modulateurs rédox, l'auranofin (AUF) et la vitamine C (VC) présente une efficacité anticancéreuse accrue contre les 3 populations de cellules leucémiques immatures. De plus, les cellules souches et progéniteurs normaux sont plus résistants aux traitements par des combinaisons AUF/VC que les cellules primaires leucémiques, indiquant que l'association AUF/VC cible sélectivement les cellules leucémiques. Des analyses mécanistiques sont en cours pour comprendre l'activité anti-leucémique de la combinaison AUF/VC.

Avancées :

L'ensemble de ces résultats constitue une base solide pour des études précliniques et cliniques qui pourraient aboutir à nouveau traitement pour les LAM et les SMD.

Date de la subvention : 2020

Emmanuelle Clappier – UMR 7212 - INSERM U944 - Institut de Recherche Saint-Louis – Université de Paris.

Claire Domon-Dell - CRCN INSERM- UMR-S1113 INSERM - Université de Strasbourg.

Contexte scientifique :

La leucémie aigüe lymphoblastique de la lignée B (LAL-B) de l'adulte est de mauvais pronostic. Les anomalies cytogénétiques ou moléculaires, qui permettent de classer les patients en sous-groupes et de prédire les réponses thérapeutiques, ne sont pas toujours identifiées. Dans certains cas, aucune altération connue du génome n'a été retrouvée.

Question posée, objectifs :

Peut-on identifier chez les patients LAL-B sans anomalie génomique connue, de nouvelles altérations génomiques non-connues ou des gènes anormalement transcrits dans les cellules leucémiques ?

Résultats obtenus :

En étudiant les prélèvements de plus de 300 patients adultes présentant une LAL-B, un nouveau type de LAL-B a pu être caractérisé. Les cellules qui possèdent deux anomalies génétiques, l'une entraînant l'expression aberrante d'un gène appelé CDX2 et l'autre entraînant l'expression d'une protéine chimérique UBTF-ATXN7L3. Les patients qui développent ce type de leucémie sont le plus souvent des jeunes femmes. Cette leucémie répond très mal au traitement classique et les rechutes sont très fréquentes. La suite de ce travail vise à comprendre les mécanismes par lesquels ces anomalies induisent la leucémie et à identifier des traitements efficaces sur cette forme de leucémie.

Avancées :

La caractérisation des altérations présentes dans les cellules de patients atteint de cette leucémie (induction de l'expression ectopique massive de CDX2 et de la synthèse d'une protéine chimérique UBTF-ATXN7L3) va permettre de mettre au point de nouveaux traitements adaptés à cette pathologie.

Ces travaux ont été publiés en 2022 dans *Blood* (2022) 139 (24) :3505-3518.

Date de la subvention : 2020 - Cyril Broccardo – INSERM, Equipe 16, Centre de recherche en cancérologie de Toulouse (CRCT).

Christine Didier - CNRS, Equipe 8- CRCT- Toulouse.

Contexte scientifique :

Deux événements moléculaires majeurs sont à l'origine des leucémies aigües myéloïdes (LAM) : une mutation primaire appelée « initiatrice » qui va induire un état pré-leucémique et des altérations génomiques additionnelles qui vont faire progresser la maladie vers une leucémie. Une mutation dans le gène qui code pour un facteur de transcription, GATA-2 (les facteurs de transcription sont des régulateurs de l'expression des gènes et en conséquence de la quantité de protéines synthétisées) a été mise en évidence. GATA-2 est membre de la famille des facteurs GATA dont plusieurs sont impliqués dans le développement de leucémies. La mutation de GATA-2 serait la mutation « initiatrice ».

Question posée, objectifs :

L'équipe a recherché les mutations additionnelles responsables du développement de la leucémie.

Résultats obtenus :

L'équipe a trouvé une mutation qui apparaissait fréquemment : une mutation dans le gène qui code pour la protéine Asxl1 impliquée dans l'organisation du génome. Des modèles animaux exprimant les mutations GATA-2 et Asxl1 ont été construits et sont en cours d'analyse.

Avancées :

Si les souris possédant ces mutations développent des leucémies, le rôle des protéines GATA-2 et Asxl1 serait démontré. GATA-2 et Asxl1 pourraient être de nouvelles cibles thérapeutiques.

Recherche de vulnérabilités thérapeutiques dans la leucémie myélomonocytaire chronique.

Date de la subvention : 2020 - Aline Renneville - UMR1287 - Institut Gustave Roussy- Villejuif

Contexte scientifique :

La leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) est une maladie hématologique maligne caractérisée par une prolifération anormale de cellules du sang, les monocytes. Il n'existe pas de modèles cellulaires représentant la LMMC qui permettraient de tester en laboratoire de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Question posée, objectifs :

L'objectif de ce projet est de construire de tels modèles cellulaires qui permettront de caractériser les anomalies caractéristiques de la LMMC.

Résultats obtenus :

Des cellules souches de souris porteuses de mutations fréquentes de la LMMC ont été immortalisées grâce au transfert, dans ces cellules, d'un gène immortalisant (le gène codant la protéine Hoxb8). 13 lignées cellulaires ont été ainsi générées et analysées. Une analyse globale des profils d'expression des gènes a été réalisée avec ces différents modèles. Les « points de vulnérabilité » présents dans les cellules leucémiques portant les anomalies de la LMMC et absents dans les cellules normales sont en cours de caractérisation.

Avancées :

Ces « points de vulnérabilité » spécifiques de la LMMC pourraient représenter de nouvelles cibles thérapeutiques pour les patients atteints de LMMC.

Reprogrammation métabolique dans la leucémie lymphoïde chronique : vers le design d'une nouvelle approche thérapeutique

Date de la subvention : 2020 - Santos A. Susin - INSERM U1149 - Université Paris Diderot- Paris.

Contexte scientifique :

La leucémie lymphoïde chronique (LLC) se caractérise par une accumulation de lymphocytes B (cellules du système immunitaire qui participent aux réactions de défense de l'organisme contre les substances étrangères) dans le sang périphérique, la moelle osseuse et les organes lymphoïdes secondaires (rate, ganglions).

Question posée, objectifs :

Les cellules B qui envahissent les organes hématopoïétiques des patients atteints de LLC sont résistantes aux médicaments. L'équipe a développé une nouvelle approche pour analyser, de manière approfondie, les spécificités métaboliques des cellules B de la LLC. Si les cellules B leucémiques ont des particularités par rapport aux cellules B saines, ces particularités pourraient être de nouvelles cibles thérapeutiques.

Résultats obtenus :

Les cellules B de LLC favorisent l'oxydation des acides gras (réaction qui fournit l'énergie aux cellules) contrairement aux cellules B saines qui utilisent la glycolyse (dans ce cas, c'est la dégradation du glucose qui fournit l'énergie aux cellules). L'oxydation des acides gras se passe principalement dans les mitochondries et les peroxysomes, petits organites cellulaires peu étudiés. Des inhibiteurs de cette réaction dans les mitochondries et les peroxysomes induisent la mort de cellules B leucémiques et non celle des cellules B saines. Ces inhibiteurs en combinaison avec le traitement conventionnel des LLC augmentent significativement l'effet individuel de chaque traitement.

Avancées :

Ces résultats suggèrent la possibilité d'une approche thérapeutique incluant la modulation du métabolisme de la LLC.

Etude de faisabilité du programme ETOILE, un programme d'éducation thérapeutique en hématologie pédiatrique à destination des enfants atteints de leucémie aigüe lymphoblastique ou ayant reçu une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

Date de la subvention : 2020 - Julie Roupret Serzec - Département d'hématologie et immunologie pédiatrique - Hôpital Robert Debré - Paris.

Contexte scientifique :

L'éducation thérapeutique (ETP) offre la possibilité aux patients et à leurs proches d'acquérir des connaissances leur permettant de mieux vivre avec la maladie. Le programme ETOILE (Education thérapeutique en hémato-immunologie pour les enfants) est un programme à destination des enfants atteints de leucémie aigüe lymphoblastique (LAL) ainsi qu'aux aidants de ces enfants. Il est développé par une équipe pluridisciplinaire du service d'hématologie de l'hôpital Robert Debré avec l'aide d'anciens patients du service et d'associations de patients.

Question posée, objectifs :

L'objectif du projet de recherche est d'évaluer la faisabilité du programme d'ETP. Le taux de participation des familles, le bénéfice ressenti par les familles et les équipes de soins, l'impact d'un tel programme sur l'organisation des soins et l'intégration d'ETOILE dans le parcours de soins des enfants ont été évalués.

Résultats obtenus :

Les résultats de cette étude montrent qu'un faible nombre de professionnels de santé ont adressé des patients. 37,5% des patients recrutés ont refusé de participer au programme. Les patients et les aidants qui ont participé, ont été satisfaits de l'accompagnement et le recommanderaient aux autres patients.

Avancées :

Le programme d'éducation thérapeutique est faisable. Apprécié par les participants, il faut l'améliorer et le poursuivre avec de nouveaux patients.

LAL de l'enfant en Afrique sub-saharienne - Recommandations LAL - GFAOP 2019 Demande de soutien à la mise en route et à l'évaluation.

Date de la subvention : 2020

Mame Ndella Diouf - Unité d'oncologie pédiatrique - Hôpital Trousseau - Paris.

Awa Toure - Laboratoire d'hématologie - Biologie - Hôpital Aristide Le Dantec - Dakar.

Contexte scientifique :

Les leucémies aigües lymphoblastiques (LAL) restent le premier cancer de l'enfant dans le monde (30% des cas) qui se développe avec une fréquence plus élevée entre 2 à 5 ans. C'est un cancer du sang caractérisé par une multiplication anormale de cellules de défense de l'organisme appelées les lymphoblastes, des futurs globules blancs. Les cellules sont bloquées à un stade très précoce de leur maturation, se multiplient sans contrôle, envahissent la moelle osseuse et passent dans le sang pour envahir plusieurs organes dont les ganglions, la rate, le foie, le système nerveux, les testicules chez les garçons.

En Afrique sub-saharienne, l'absence de données statistiques rend difficile l'évaluation de la prévalence de ce cancer chez les enfants. Cependant tout porte à penser qu'il s'agit d'une pathologie très fréquente, certainement sous diagnostiquée et insuffisamment caractérisée.

Question posée, objectifs :

L'objectif du projet était de mettre en place un protocole visant à améliorer le diagnostic et la prise en charge thérapeutique du cancer par l'introduction de l'immunophénotypage pour identifier les lymphoblastes leucémiques (technique permettant de caractériser, à l'aide d'anticorps, les différents type de cellules leucémiques).

Résultats obtenus :

L'achat d'anticorps, le recrutement d'un assistant de recherche clinique pour l'enregistrement des patients et l'assurance du respect strict des nouvelles recommandations du protocole ont été mis en place. Une réunion mensuelle de concertation pluridisciplinaire est organisée entre les experts avec les équipes d'Afrique subsaharienne. Au Sénégal, 36 nouveaux cas de LAL ont été recensés et les patients sont en cours de traitement.

Avancées :

Ce projet permettra d'évaluer la prévalence de cette maladie en Afrique sub-saharienne et de mettre en place un protocole de traitement adapté.

GLOSSAIRE

ADN

Abréviation de Acide DésoxyriboNucléique. Cette molécule est le support de l'information génétique qui contient l'ensemble des informations nécessaires au développement et au fonctionnement d'un organisme. L'ADN est donc le support de l'hérédité transmise au cours de la reproduction. Il est constitué de quatre nucléotides différents et leur enchaînement définit la séquence nucléotidique.

ARN Messenger

C'est une molécule d' Acide RiboNucléique qui est produite transitoirement dans la cellule par transcription (copie) de l'ADN. C'est l'ARN messenger qui sera ensuite traduit en protéines.

Autogreffe ou greffe autologue

Elle consiste à prélever des cellules chez le patient et à les réinjecter chez ce même patient après un traitement qui élimine les cellules cancéreuses.

Allogreffe

Elle consiste à greffer à un patient des cellules prélevées sur une autre personne.

Amplification clonale

C'est le processus de multiplication des cellules à partir d'une seule cellule. Un clone cellulaire est constitué par un ensemble de cellules qui sont issues d'une seule cellule et ont donc les mêmes propriétés. Une amplification clonale au cours d'une leucémie signifie que l'ensemble des cellules leucémiques du patient provient de la multiplication d'une seule cellule transformée.

Antigène

Molécule présente à la surface des cellules qui est reconnue par une seule autre molécule appelée anticorps.

Anticorps

Protéine produite par le système immunitaire qui détecte et neutralise un antigène spécifique. Les anticorps sont sécrétés par des cellules dérivées des lymphocytes B : les plasmocytes.

Blastes leucémiques

Ce sont les cellules leucémiques caractérisées par leur état indifférencié.

Cellule

La cellule est l'unité structurale et fonctionnelle qui constitue les organismes vivants. Elle est constituée d'un cytoplasme et d'un noyau et est délimitée par la membrane plasmique.

Cellules fonctionnelles

Chaque cellule a une fonction. Par exemple, parmi les cellules hématopoïétiques, la fonction des globules rouges est de transporter l'oxygène dans les tissus et la fonction des plaquettes est de permettre la coagulation du sang lors d'un saignement.

Chimiothérapie - Drogues anticancéreuses

La chimiothérapie est le traitement des maladies avec des drogues ou des produits chimiques. Ces produits chimiques tuent les cellules en bloquant la synthèse de molécules essentielles à la vie et la fonction cellulaire. Le terme « chimiothérapie » est généralement utilisé pour le traitement contre le cancer. Les drogues anticancéreuses peuvent être administrées seules ou en association avec d'autres drogues.

Chromosome

Il est constitué par les molécules d'ADN sous une forme compacte et contiennent donc tous les gènes. Ils sont regroupés dans le noyau de la cellule. Lors de la division cellulaire, ils se partagent en deux chromosomes identiques qui sont répartis dans les deux cellules filles.

Critères biochimiques

Ils sont définis par les molécules présentes dans la cellule.

Critères cytogénétiques

Ils décrivent les chromosomes et leurs anomalies.

Critères génétiques

Ils décrivent les gènes et sont établis après séquençage nucléotidique de l'ADN.

Critères immunologiques

Ils décrivent les molécules qui sont à la surface de la cellule (les antigènes) et sont reconnues par des anticorps.

Critères morphologiques

Ils décrivent les paramètres observés au microscope : taille, aspect, forme, taille du noyau par rapport au cytoplasme. . .

Cytoplasme

Il désigne le contenu de la cellule vivante. Il est constitué d'un milieu hétérogène, le cytosol, dans lequel baignent les organites cellulaires (noyau, mitochondries, appareil de Golgi, réticulum endoplasmique..)

EXON

Le génome (l'ADN) d'une cellule est constitué d'une succession de domaines : les exons et les introns. Les exons sont les régions de l'ADN qui sont transcrites en ARN messager . Les introns ne sont pas transcrits en ARN messager.

Facteur de transcription

Protéine qui se fixe à l'ADN et qui joue un rôle dans la régulation de l'expression génique.

Gène

Un gène est un fragment d'ADN qui est responsable de la formation d'une protéine. Un gène s'exprime (expression génique) quand il code pour une protéine. Un gène est dit « éteint » quand il ne produit pas de protéine. Tous les gènes sont présents dans toutes les cellules mais selon le type de la cellule, il s'exprime ou est éteint. Par exemple, le gène de l'hémoglobine s'exprime dans les cellules qui produiront les globules rouges, il est éteint dans les cellules qui donnent les globules blancs.

Génome

L'ensemble des gènes constitue le génome.

Lignage hématopoïétique

Un lignage hématopoïétique est l'ensemble des cellules qui dérivent d'une cellule souche et génèrent les cellules sanguines fonctionnelles. Le tissu hématopoïétique est constitué de différents lignages : le lignage érythroïde (aboutissant aux globules rouges), le lignage granulo-macrophagique (aboutissant aux polynucléaires et aux macrophages), le lignage mégacaryocytaire (aboutissant aux plaquettes) et les lignages lymphoïdes (aboutissant aux lymphocytes).

Maladie résiduelle

La maladie résiduelle est représentée par les cellules cancéreuses (blastes) qui subsistent dans la moelle à l'issue des traitements et ne sont pas détectées par les techniques en usage.

Marqueur CD34

Antigène présent à la surface des cellules souches et des progéniteurs hématopoïétiques. L'antigène CD34 permet de dénombrer et de sélectionner les cellules souches qui l'expriment.

Mutation

Modification de la séquence nucléotidique d'un gène et de la séquence de la protéine correspondante.

Noyau

Le noyau est l'organite cellulaire qui contient le matériel génétique. Il est délimité par la membrane nucléaire.

Récepteurs

Protéines qui sont intégrées dans la membrane cellulaire et peuvent fixer un facteur de croissance.

Protéine

Molécule qui est exprimée à partir d'un gène. Elle composée d'une ou plusieurs chaînes constituées de 21 acides aminés différents. L'enchaînement des acides aminés définit la séquence protéique. Par exemple, les enzymes, les facteurs de croissance sont des protéines.

Thérapie cellulaire

La thérapie cellulaire utilise des cellules comme médicament pour réparer les organes endommagés ou remplacer les cellules dont la fonction est devenue anormale.

Thérapie ciblée

Quand l'altération d'une protéine particulière lui confère une fonction anormale qui entraîne une maladie, une thérapie ciblée a pour but de supprimer la fonction anormale de cette protéine.

Thérapie différenciatrice

La thérapie différenciatrice a pour but d'imposer à une cellule bloquée dans sa différenciation de se différencier.

Voie de signalisation

C'est la cascade de réactions biochimiques qui est déclenchée lors de la fixation du facteur de croissance sur son récepteur. Plusieurs voies de signalisation peuvent être activées. Elles provoquent la prolifération, la différenciation ou la mort de la cellule.



Pour nous contacter:

Par courrier:

Association Laurette Fugain
1 Route Départementale 58
78320 Lévis Saint Nom

(Adresse d'expédition uniquement, pas de permanence)

Par email:

contact@laurettefugain.org



www.laurettefugain.org