

01 Hématopoïèse et oncogenèse

01-01 La mutation faux-sens *Gata2* R396Q altère le compartiment des cellules souches hématopoïétiques chez la souris

L. Largeaud¹, L. Jamrog², C. Hamelle², V. Fregona², N. Prade¹, S. Dufrechou¹, S. Hébrard², E. Delabesse¹, B. Gerby², M. Pasquet³, C. Broccardo^{4,2}

¹ Hématologie, Institut Universitaire du Cancer Toulouse Oncopole, Toulouse ; ² Équipe : altération des facteurs de transcription dans les leucémies aiguës, Centre de recherches en cancérologie de Toulouse - CRCT, Toulouse ; ³ Service d'hématologie et immunologie pédiatrique, Hôpital pour enfants, Toulouse

Introduction. Le gène *GATA2* code un facteur de transcription essentiel pour la prolifération et la maintenance des cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques (HSPC). Depuis 2011, des mutations germinales de *GATA2* ont été identifiées chez des patients présentant des pathologies hématologiques, immunitaires et vasculaires. Plus de 80 % des patients évoluent vers une hémopathie maligne avant 40 ans. Les patients exprimant des mutations faux-sens de *GATA2* progressent préférentiellement vers des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) en comparaison aux patients avec des mutations non-sens ou par décalage du cadre de lecture. Des mutations germinales faux-sens de *GATA2* ont été identifiées dans des familles non apparentées, comme la mutation R396Q.

Matériels et méthodes. Pour mieux comprendre la physiopathologie des patients avec un déficit en *GATA2*, en particulier l'impact d'une mutation faux-sens sur l'hématopoïèse, nous avons développé et caractérisé un modèle murin knock-in exprimant la mutation *Gata2* R396Q.

Résultats. La caractérisation immunophénotypique de notre modèle murin n'a pas révélé de différence du nombre absolu de cellules hématopoïétiques matures ni dans la moelle osseuse ni dans le sang. Le nombre de cellules immatures (Lineage-negative, Lin⁻; Lin-Kit+, LK⁻; Lin-Sca+ Kit+, LSK) n'est pas affecté contrairement au modèle murin *Gata2*+/- qui présente un déficit quantitatif des LSK. Cependant, nous avons mis en évidence une répartition anormale des sous-populations au sein du compartiment LSK se caractérisant par une augmentation du nombre absolu de LT-HSC (CSH « à long terme »), de MPP2 et MPP3 (progéniteurs multipotents), concomitante à une diminution des ST-HSC (CSH « à court terme »). Ces anomalies sont généralement retrouvées dans des états d'inflammation chronique chez la souris. Des tests de clonogénicité des LSK mutées en méthylcellulose révèlent un biais granulocytaire avec inversion de la pyramide de différenciation présentant un excès de précurseurs. De plus, les LSK mutées maintiennent une capacité clonogénique à long terme lors d'expériences d'ensemencement sériels. Nos analyses de RNA-Seq des LSK mettent en exergue un profil d'expression de différenciation granuleuse avec une diminution de *Gata1* et une augmentation de *Pu.1*. Elles révèlent également une signature d'activation modérée de la voie interféron associée à une augmentation du niveau d'expression de *Sca-1* et *Evi-1* décrit dans des stress inflammatoires chroniques. Pour caractériser fonctionnellement *in vivo* les LSK *Gata2* R396Q, nous avons effectué des transplantations syngéniques. Ces expériences ont montré une capacité de prise de greffe réduite à court terme avec un chimérisme en constante diminution à long terme. Une analyse par cytométrie en flux des LSK deux mois après transplantation a mis en évidence un défaut d'expansion des LT-HSC dont le nombre était initialement cinq fois plus important. Ceci suggère un déficit qualitatif des LT-HSC. Des expériences de cycle cellulaire et de stimulation biologique (LPS) et chimique (5-FU) *in vivo* sont en cours.

Conclusion. Nous présentons la caractérisation du premier modèle murin exprimant une mutation faux-sens de *Gata2*. Nous démontrons que la mutation R396Q n'altère pas le nombre absolu des LSK mais induit une répartition aberrante de leurs sous-populations compatible avec un phénotype inflammatoire chronique. Ce phénotype diffère de celui décrit chez les souris *Gata2*+/- montrant que la mutation R396Q n'est pas synonyme d'une haplo-insuffisance.

01-02 Hétérogénéité du compartiment souche des syndromes myélodysplasiques : invitation à une odyssée à l'échelle de la cellule unique

C. Dussiau^{*1}, A. Boussarrou¹, C. Bravetti¹, L. Zaroui¹, C. Knosp¹, N. Chapuis¹, C. Friedrich¹, P. Asquier², M.L. Arcangeli³, E. Lauret¹, O. Gandrillon⁴, P. Sujbert⁵, F. Pflumio³, M. Fontenay¹, O. Kosmider¹¹ Hématologie, Institut Cochin, Paris ; ² Chirurgie

orthopédique, Pole Santé Leonard De Vinci (Clinique), Chambray-lès-Tours ; ³ LSHL, CEA Fontenay-aux-Roses, Fontenay-aux-Roses ; ⁴ Laboratoire de biologie et modélisation de la cellule. Lbmc, ENS de Lyon, Lyon ; ⁵ Hématologie, CH Lyon Sud, Pierre-Bénite

Introduction. Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des hémopathies hétérogènes comme en témoignent la classification de l'OMS et la grande diversité des anomalies moléculaires qui leur sont associées. Le compartiment des cellules CD34+ des SMD n'échappe pas à cette hétérogénéité et nous avons pu le mettre en évidence par des études de cytométrie en flux adaptées de la « nouvelle » hématopoïèse établie par l'équipe de John Dick. Le scRNA-Seq est récemment apparu comme un outil puissant pour analyser l'hétérogénéité d'une population, découvrir de nouveaux types cellulaires, et étudier les trajectoires de différenciation, questions jusqu'alors inexplorées dans les SMD. A partir d'échantillons de moelles de SMD de faible risque présentant une forte similitude immunophénotypique du compartiment des cellules CD34+, nous avons voulu savoir si une hétérogénéité transcriptionnelle était malgré tout présente à l'échelle unicellulaire.

Patients et méthodes. Après tri immunomagnétique des cellules CD34+ de quatre échantillons médullaires (deux témoins sains appariés en âge sans hématopoïèse clonale et deux SMD avec mutation *SF3B1* associée ou non à une mutation du gène *TET2*), nous avons réalisé une expérience de scRNA-Seq (technologie Chromium, 10X Genomics). Nous avons pu analyser 13 355 cellules, exprimant en moyenne 2 000 gènes chacune et réparties de manière équivalente entre les quatre échantillons. A l'aide des langages R et Python, nous avons pu réaliser le contrôle qualité, la réduction dimensionnelle des données, et l'analyse des gènes différentiellement exprimés (Seurat), ainsi que l'affiliation de chaque cellule à une population hématopoïétique de référence (SingleR). Les processus cellulaires dérégulés (voies et réseaux de régulation) ont été mis en évidence avec GSVA et SCENIC. Enfin les trajectoires de différenciation ont été analysées avec différents outils (STREAM, Slingshot).

Résultats. En comparant nos données avec la hiérarchie hématopoïétique normale décrite en scRNA-Seq par le consortium du Human Cell Atlas, nous avons montré que celle de nos quatre échantillons est conservée. De façon inattendue, la répartition des sous populations de cellules CD34+ n'est pas significativement différente entre SMD et témoins appariés en âge.

Nous montrons que les différences de programme transcriptionnel identifiées chez nos patients SMD par rapport aux témoins (composants du cytosquelette, phosphorylation oxydative, épissage, etc.) n'affectent pas les gènes permettant l'identification des sous populations cellulaires. Nous montrons également que les deux patients SMD ne sont pas aussi similaires que suspecté. De manière intéressante une down-regulation des gènes impliqués dans les processus de traduction et de biogenèse des ribosomes est spécifiquement détectée chez le patient muté *TET2* comme décrit récemment chez la souris. Par la même approche, nous avons étendu l'étude du compartiment des cellules CD34+ à deux patients traités par 12 cures d'agents hypométhylants afin d'étudier les modulations observées en réponse au traitement. Une synthèse de l'ensemble des autres données obtenues sera présentée.

Conclusion. Nous avons généré un jeu original de données unicellulaires permettant la cartographie transcriptionnelle précise du compartiment des cellules CD34+ de patients porteurs d'un SMD en comparaison à des patients appariés en âge et avons initié l'étude à l'échelle unicellulaire de l'effet d'un traitement par des agents hypométhylants.

01-03 Homogénéité intraclonale des progéniteurs hématopoïétiques humains dans leurs propriétés de division cellulaire et différenciation

A. Donada^{*1}, I. Milo¹, G. Prevedello¹, D. Michonneau², L. Perie¹¹ UMR168, Institut Curie, Paris ; ² Service d'hématologie greffe, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris

Introduction. Notre compréhension de l'hématopoïèse est basée sur la définition de multipotence des cellules souches et des progéniteurs hématopoïétiques. C'est grâce à cette propriété que les cellules souches sont capables de reconstituer entièrement le système hématopoïétique après une procédure telle que la greffe de moelle osseuse. Les avancées récentes ont challengé cette vision, et suggèrent que dans la souris (et en

mesure moins claire dans l'homme) seulement un nombre réduit des cellules souches ont cette capacité de reconstitution, car la majorité d'entre eux montre un potentiel de différenciation limité, et surtout très hétérogène (1).

Matériels et méthodes. Nous avons développé un système expérimental de suivi simultané de la division et de la différenciation en cellule unique des progéniteurs CD34+. Ce système innovant, testé et validé dans la moelle osseuse murine, a été utilisé pour analyser différents types des progéniteurs hématopoïétiques issus du sang cordon (HSC, MPP et MLP). Couplé avec l'utilisation d'un modèle mathématique et des tests de permutation, ainsi que des données de microscopie, ce système permet de décrire de façon très précise la dynamique cellulaire en cellule unique.

Résultats. Nous avons analysé individuellement 1 320 progéniteurs hématopoïétiques issus de sang de cordon pour leurs propriétés de division et de différenciation. Les cellules descendantes d'un progéniteur unique donné sont définies ici comme une famille cellulaire. Nous avons observé une très forte concordance dans les nombres des divisions effectuées au sein de la même famille, avec un pourcentage moyen de 72,4 % des familles où toutes les cellules membres ont effectué le même nombre de divisions, après 72 h de culture *in vitro*. Nous avons aussi observé que la totalité des cellules se sont divisées au moins une fois après 96 h. Une très forte homogénéité dans le potentiel de différenciation au sein des familles a aussi été observée, avec 70 % des familles qu'ils se différencient en un seul type cellulaire.

Conclusion. Nos données sont générées grâce à une technique relativement simple et appliquée à un grand nombre des progéniteurs différents simultanément. Cette flexibilité a le potentiel d'être utilisé pour tester les dynamiques cellulaires des progéniteurs hématopoïétiques de patients atteints d'hémopathies, mais aussi pour cribler les effets de drogues sur les dynamiques cellulaires de division et de différenciation. Nos données préliminaires montrent que chaque progéniteur unique montre une capacité réduite de générer plusieurs types cellulaires différents pendant les premières divisions. De plus, les descendants d'un même progéniteur se divisent de manière synchrone lors des premières divisions *in vitro*, sous-entendant qu'il existe un facteur intrinsèque à chaque progéniteur qui détermine le nombre de divisions. En conclusion, ces données supportent un modèle d'hématopoïèse qui privilégie un continuum hétérogène des progéniteurs au potentiel réduit, à la place d'une succession hiérarchique des progéniteurs progressivement moins multipotents.

01-04 L'hypoxie régule le développement lymphoïde des progéniteurs hématopoïétiques humains

S. Chabi¹, B. Uzan¹, I. Naguibneva¹, J. Rucci¹, L. Fahy¹, J. Calvo¹, ML. Arcangeli¹, F. Mazurier², F. Pflumio¹, R. Haddad¹
¹ Umr1274, CEA, Fontenay aux Roses ; ² CNRS ERL7001 LNOX, Université F Rabelais, Tours

Introduction. La niche médullaire hypoxique est le siège physiologique du développement lymphoïde humain. Dans cette étude, nous avons cherché à mesurer les effets de faibles niveaux d'O₂ sur les caractéristiques biologiques des progéniteurs lymphoïdes précoces.

Matériels et méthodes. Nous avons étudié les conséquences fonctionnelles et moléculaires de l'exposition directe à l'hypoxie dans des progéniteurs hématopoïétiques isolés du sang de cordon ombilical, polarisés à différents degrés vers la lignée lymphoïde. Les cellules souches/progéniteurs hématopoïétiques (HSPC), progéniteurs multipotents (MPP) et progéniteurs multipotents lymphoïdes (LMPP) ainsi que les cellules Pro-T/NK et Pro-B ont été isolés et l'influence de faibles (3,5 % : hypoxie) et fortes (21 % : hyperoxie) concentrations en O₂ a été testée sur ces cellules, dans un système mimant la niche médullaire (coculture avec la lignée stromale MS-5).

Résultats. Nous avons montré que l'hypoxie préserve le phénotype immature des progéniteurs hémato-lymphoïdes, inhibe leur progression dans le cycle cellulaire en favorisant leur maintien en phase G0 et réduit leur activité mitochondriale ainsi que leur activité autophagique indiquant des modifications importantes du métabolisme de ces cellules. Sur un plan fonctionnel, nous avons observé un effet différentiel de l'hypoxie sur les potentiels de différenciation lymphoïde NK, B et T des différentes sous-populations de progéniteurs hémato-lymphoïdes. L'étude du profil moléculaire a montré que l'identité lymphoïde des LMPP et Pro-T/NK est préservée en condition hypoxique en comparaison à la normoxie, avec un maintien de l'expression de gènes lymphoïdes précoces en présence de faibles concentrations en O₂. L'étude *in vivo* reposant sur l'injection intrafémorale de LMPP à des souris NSG-W41 a montré que l'hypoxie maintient le potentiel de développement des LMPP en lymphocytes (Ly) B à un niveau équivalent à celui de LMPP natifs.

Enfin nous avons étudié les réponses moléculaires et fonctionnelles des progéniteurs multilymphoïdes humains dont l'expression des *hypoxia inducible factors* (HIF) est diminuée (KD HIF). Nous avons observé que le KD de *HIF-1A* dans les LMPP induit une baisse de l'expression des gènes impliqués dans la lymphopoïèse précoce. À l'inverse, l'extinction de *HIF-2A* dans les cellules Pro-T/NK, influence l'expression de gènes lymphoïdes spécifiques. Les analyses fonctionnelles ont révélé que seul le KD de *HIF-2A* empêche la production de cellules NK et B ou la différenciation des LMPP et

des Pro-T/NK attestant du rôle crucial de HIF-2 α dans le maintien de ces cellules tandis que le KD de HIF-1 α induit un retard de la différenciation des Ly B *in vivo* dans la moelle osseuse de souris NSG-W41.

Conclusion. L'ensemble de ces résultats montrent, pour la première fois chez l'homme, le rôle de l'hypoxie dans les étapes précoces de la lymphopoïèse humaine normale.

01-05 Caractérisation d'un progéniteur bipotent hématoendothélial dérivé des cellules souches pluripotentes humaines

A. Vargas Valderrama¹, D. Clay², G. Uzan¹, H. Guenou³, MT. Mitjavila Garcia¹
¹ Inserm U1197, Hôpital Paul-Brousse (AP-HP), Université Paris Sud, Villejuif ; ² Institut André Lwoff, UMS-33, Villejuif ; ³ Inserm U1197, Université d'Évry, Évry

Introduction. Depuis l'isolement des cellules souches embryonnaires humaines (CSE) à partir de la masse interne du blastocyste en 1998 et l'obtention des cellules souches pluripotentes induites (CSPi) générées à partir de cellules somatiques adultes humaines en 2007, les cellules souches pluripotentes humaines (CSP), CSE et CSPi, sont devenues une source illimitée de cellules pour l'ingénierie tissulaire grâce à leur potentiel de renouvellement et leur capacité de différenciation vers les trois feuillettes embryonnaires. Diverses études ont montré la capacité des CSP à se différencier en cellules hématopoïétiques (3) et endothéliales (4). Cependant, et malgré l'origine ontogénique commune de ces deux lignages, l'isolement et la caractérisation d'un progéniteur bipotent hématoendothélial à partir des CSP reste un domaine peu exploré. Dans ce contexte, un protocole de différenciation hémangioblastique des CSP a été mis en place dans le but de l'isoler et de caractériser *in vitro* son potentiel de différenciation vers ces deux lignages.

Matériels et méthodes. Des corps embryonnaires (CE) sont générés à partir des deux lignées de CSE et une lignée de CSPi en présence des facteurs de croissance endothéliaux et hématopoïétiques. Après 3,5 jours de différenciation, les CE sont dissociés et les cellules CD144+ sont triées et isolées.

Résultats. Cette population CD144+, correspondant au progéniteur bipotent, est caractérisée par l'expression du CD34, CD143, CD309 et CD31 et des facteurs de transcription ETV2 et RUNX1. Dans des conditions de culture hématopoïétique les cellules CD144+ génèrent des colonies blastiques et expriment les marqueurs hématopoïétiques CD43, CD34, CD41 et CD45. Au bout de 14 jours d'induction hématopoïétique, on obtient des colonies myéloïdes et érythroïdes (CFU-GEMM, CFU-GM et BFU-E) *in vitro*. D'autre part, dans des conditions de culture endothéliale, les cellules CD144+ prolifèrent et acquièrent de manière homogène le phénotype et la fonctionnalité endothéliale. Ces cellules expriment des marqueurs endothéliaux tels que le CD31, le facteur de von Willebrand (vWF) et l'enzyme eNOS. Elles ont aussi la capacité à endocyter le LDL acétylé, à surexprimer ICAM après leur activation par le TNF- α et à former un réseau de type vasculaire (sur du Matrigel). Afin de confirmer le potentiel bipotent du progéniteur CD144+, des expériences *in vivo* sont en cours d'étude.

Conclusion. L'ingénierie tissulaire évolue vers la création d'entités multicellulaires qui récapitulent *in vitro* les fonctionnalités des tissus et des organes. Les cellules endothéliales et hématopoïétiques jouent un rôle important dans la vascularisation, l'élimination de débris cellulaires (e.g. macrophages résidents) et l'organogénèse. L'obtention d'un progéniteur bipotent hématoendothélial à partir des CSP offre l'opportunité d'obtenir deux types de lignages distincts et cela à partir d'une population homogène et bien caractérisée en seulement 3,5 jours de culture. Ces cellules CD144+ sont générées en milieu de culture sans sérum et leur cryoconservation n'a pas d'impact sur leurs capacités de différenciation.

01-06 FoxP1 régule le stress oxydant des progéniteurs hématopoïétiques CD34+ et des cellules de leucémies aiguës myéloïdes

S. Oussous¹, A. Houvert¹, Z. Tuerdi¹, E. Lauret², I. Dusanter-Fourt¹
¹ Inserm U1016, Institut Cochin, Paris ; ² UMR S1016, Université Paris Descartes, Paris

Introduction. La famille de facteurs de transcription Fox comprend de nombreux membres impliqués dans des fonctions biologiques diverses allant de l'organogénèse au développement du langage chez l'être humain. Cette famille partage un domaine de liaison à l'ADN, le domaine Forkhead. La sous-famille FoxO est bien connue pour sa contribution au processus de quiescence et de longévité cellulaire associée à une inhibition du stress oxydant et au maintien d'une intégrité génomique. La sous-famille FoxP se distingue par un domaine zinc finger C2H2 et un domaine leucine zipper. Selon le contexte tumoral, FoxP1 a un rôle de suppresseur de tumeur ou oncogène. Dans un contexte hématopoïétique lymphoïde, le rôle de FoxP1 est essentiel au développement des cellules B. Dans un contexte myéloïde, il a une fonction inhibitrice sur la différenciation des monocytes en macrophages. Nous avons récemment montré qu'il est nécessaire à la croissance et au maintien des progéniteurs hématopoïétiques humains

normaux (CSPH) et des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) via l'inhibition de sa cible p27Kip1. Différentes données bibliographiques ont montré que les facteurs FoxO et FoxP peuvent avoir des fonctions antagonistes. Aussi, nos travaux actuels s'intéressent au rôle de FoxP1 dans la régulation du stress oxydant dans les CSPH et les LAM chez l'humain.

Résultats. Après inhibition de l'expression de FoxP1 par shARN le niveau de stress oxydant mesuré à l'aide d'une sonde fluorescente dihydroéthidium (DHE) par cytométrie en flux, est augmenté. Par contre, l'inhibition d'expression des facteurs FoxO1 et/ou FoxO3a par shARN ou par inhibiteur pharmacologique AS1842856, ne montre aucune variation de stress oxydant par rapport aux contrôles. L'expression des cibles antioxydantes classiques des FoxO, SOD et catalase, ne varie pas. En revanche, l'inhibition de l'expression de FoxP1 provoque la perte de la protéine Sirt1, une lysine désacétylase connue pour réguler l'activité des mitochondries et le stress oxydant. À l'inverse, la surexpression de FoxP1 augmente l'expression de Sirt1. La perte de FoxO1 et FoxO3a n'influe pas l'expression de Sirt1. Nous avons aussi voulu établir si l'activité antioxydante de FoxP1 influence la sensibilité aux traitements génotoxiques des cellules LAM. Les cellules dépourvues de FOXP1 manifestent une sensibilité accrue à la Daunorubicine.

Conclusion. En conclusion, FoxP1 régule le stress oxydant, dans les progéniteurs myéloïdes humains sains et leucémiques, contrairement aux activités de FoxO1 et FoxO3a décrites dans les CSPH murins, il pourrait constituer une nouvelle cible thérapeutique prometteuse.

01-07 L'inhibition de BMPR1B de JAK2/STAT3 cible les cellules souches leucémiques associées à la niche, persistant durant la rémission des patients atteints de leucémie myéloïde chronique

K. Arizkane^{*1}, S. Jeanpierre¹, S. Thongjuea², E. Grackowiak¹, K. Geistlich¹, L. Barral¹, T. Voeltzel¹, A. Guillemin³, S. Gonin-Giraud³, O. Gandrillon³, FE. Nicolini¹, A. Mead⁴, V. Maguer-Satta¹, S. Lefort¹

¹ Inserm U1052, centre de recherches en cancérologie de Lyon, Lyon ; ² MRC Wimm Centre for Computational Biology, Weatherall Institute of molecular Medicine, NIHR Oxford Biomedical Research Centre, John Radcliffe Hospital, Oxford, Royaume Uni ; ³ Laboratoire de biologie et modélisation de la cellule, LBMC, ENS de Lyon, Lyon ; ⁴ Haemopoietic Stem Cell Biology Laboratory, Weatherall Institute of Molecular Medicine, University of Oxford, Oxford, Royaume Uni

Introduction. Malgré les progrès de la prise en charge des patients atteints de leucémie myéloïde chronique (LMC) grâce à l'utilisation des inhibiteurs de Tyrosine kinase (ITK), qui ciblent directement la kinase BCR-Abl, ceux-ci ne sont pas curatifs car des progéniteurs et des cellules souches leucémiques (CSL) persistent dans la moelle osseuse de nombreux patients LMC. La voie des *bone morphogenetic proteins* (BMP), qui régule notamment le devenir et la prolifération des cellules souches hématopoïétiques (CSH) et les interactions avec leur niche, est dérégulée dans les étapes précoces du développement de la LMC. Ces altérations permettent de maintenir un pool permanent de CSL et progéniteurs exprimant des niveaux élevés de récepteur BMPR1b, et évoluent sous l'effet des traitements ITK jusqu'à l'établissement d'une boucle autocrine de BMP4 dans les CSL, amenant à une résistance aux ITK et progression de la maladie. Une étude récente souligne qu'une fraction des CSL persistent chez les patients LMC répondeurs aux ITK et que les cellules résistantes émergent plus tard de cette fraction. Nous avons par conséquent étudié le rôle de la voie BMP dans ces CSL persistantes.

Matériels et méthodes. Une analyse RNA-Seq a tout d'abord été réalisée sur des cellules persistantes BCR-Abl+ de patients atteints de LMC. Nous avons également développé un nouveau modèle de CSL CD34+CD38- présentant des caractéristiques similaires aux cellules CSL primaires persistantes. Nous avons comparé l'efficacité des inhibiteurs de Jak2 (AG490) et BMPR1b (E6201) sur la prolifération et la différenciation des CSL, ainsi que sur la sécrétion des cellules stromales mésenchymateuses (CSM) de LMC.

Résultats. L'analyse RNA-Seq de cellules individuelles BCR-Abl+ montre un coenrichissement des signatures de quiescence, de CSH et la voie des BMP, sans modulation majeure des principaux gènes canoniques. Nous avons identifié une corrélation directe entre BMPR1b et Stat3 uniquement dans les cellules quiescentes de LMC. Nous démontrons également que notre modèle CD34+CD38- présente une augmentation de la fraction double positive P-Smad1/5/8 et P-Stat3, et qu'une combinaison des inhibiteurs AG490 et E6201 prévient la prolifération et augmente la différenciation des cellules persistantes de LMC. De plus, de façon inattendue, l'ajout de l'AG490 facilite la sécrétion de BMP4 par les CSM, favorisant un effet protecteur des CSL par la niche. L'addition de l'inhibiteur E6201 est suffisante pour abroger l'effet protecteur sur les CSL induit par BMP4 vis-à-vis des ITK. Finalement, nous démontrons que le ciblage concomitant de BMPR1b et de Jak2/Stat3 impacte efficacement la persistance et la dormance des CSL dans leur microenvironnement médullaire.

Conclusion. Nos données suggèrent que la combinaison AG490-E6201 est optimale dans la LMC pour prévenir le maintien des CSL persistantes et la protection induite par BMP4 par les CSM.

01-08 Altération de la réponse inflammatoire et modification de l'évolution des cellules souches hématopoïétiques dans un modèle murin de la maladie de Fanconi

C. Fédonie¹, M. Loock², L. Hernandez³, S. Quentin⁴, J. Soulier⁵, O. Bluteau⁶, D. Bluteau^{*7}

¹ Inserm U944, Inserm, Paris ; ² CNRS UMR8200, École Pratique des Hautes Études - Université PSL, Paris ; ³ Laboratoire d'hématologie, U944 - IUH (Hôpital St Louis), Paris ; ⁴ Laboratoire d'hématologie, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris ; ⁵ Inserm u944, institut universitaire d'hématologie UP7, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁶ Ican - UMR1166, AP-HP, Sorbonne Université, Paris ; ⁷ CNRS UMR8200/Inserm U944, École Pratique des Hautes Études - Université PSL, Paris

Introduction. La maladie de Fanconi (FA) est une maladie génétique qui bien que rare, récapitule les étapes du développement tumoral : apparition d'une aplasie médullaire précoce, fréquemment suivie du développement d'une leucémie aiguë myéloïde et/ou de tumeurs solides vers l'âge de 20 ans. La greffe de moelle osseuse reste le seul traitement connu contre les hémopathies malignes associées à la FA. À ce jour, 22 gènes Fanconi ont été identifiés. Leurs produits coopèrent dans la voie biologique « FANC » dont la fonction canonique est de réguler la réparation des pontages interbrins de l'ADN. Par des approches cellulaires et fonctionnelles, plusieurs équipes ont montré que la voie p53 était activée constitutivement dans les cellules FA déficientes. Il a été suggéré que cette activation résulterait de l'exacerbation de la réponse normale de la cellule à l'accumulation de stress et de lésions de l'ADN. Elle constituerait donc une défense de la cellule contre l'instabilité génétique et le développement de cancers.

Résultats. Pour déterminer les mécanismes de mise en place d'un état « préleucémique » puis de l'évolution vers l'état tumoral, nous avons utilisé un modèle murin invalidé pour le gène *Fancg*. Par des approches moléculaires et cellulaires conjointes, nous avons évalué les conséquences de l'altération de la voie « FANC » dans les cellules souches hématopoïétiques.

Dans une approche globale par RNA-seq des cellules souches (LSK) KO, nous avons mis en évidence un enrichissement de gènes surexprimés appartenant à la voie p53, confirmant l'hypothèse d'une activation constitutive de cette voie dans les LSK. De plus, nous avons identifié plusieurs nouvelles cibles transcriptionnelles spécifiquement dérégulées dans les cellules souches KO.

Dans une seconde approche, nous avons réalisé une étude cellulaire exhaustive des sous-populations au sein des LSK et des progéniteurs (caractérisation, quantification de l'apoptose et du cycle cellulaire) avec ou sans stress exogène (Poly-IC (5 mg/kg)). L'analyse à 48 h, montre une réponse cellulaire inflammatoire caractéristique dans les cellules LSK des souris WT (diminution de la population ST-HSC, augmentation des populations à engagement myéloïde MMP2 et MPP3). En revanche, pour les souris KO qui présentaient déjà à l'état basal un profil inflammatoire modéré, cette réponse est fortement atténuée, associée à une forte diminution de la population MPP4 à l'origine des cellules lymphoïdes. De plus, nous observons une forte augmentation de l'apoptose des LSK, restreinte aux populations MMP4, ST-HSC, et plus modérément à la population MPP3. Dans ces conditions de stress, nous avons également observé, un arrêt de prolifération de la population MPP2 sans augmentation de leur apoptose dans les LSK KO comparativement au LSK WT. Les résultats observés au niveau cellulaire confirment l'analyse transcriptionnelle par RNA-seq.

Conclusion. Ce travail a permis d'identifier plusieurs gènes dont l'expression est altérée dans les cellules hématopoïétiques du modèle murin *Fancg* KO. L'ensemble de ces résultats met en évidence de nouveaux partenaires des voies altérées dans la FA et ouvre de nouvelles perspectives quant à leur rôle dans la prédisposition et l'évolution de la maladie. Leur caractérisation permettra de déterminer l'impact de leur dérégulation dans la pathogenèse FA, de mieux comprendre les étapes de la transformation leucémique et, à terme, d'utiliser ces gènes comme marqueur mais également comme cible thérapeutique éventuelle.

01-09 Développement d'osselets humains dans des souris immunodéficientes : une alternative intéressante aux modèles de xénogreffes classiques pour étudier l'hématopoïèse normale et pathologique ?

L. Renou¹, C. Dussiau², C. Jégo³, G. Piton¹, A. Magnani⁴, A. Reinisch⁵, M. Fontenay², E. Solarzy³, N. Droin³, O. Kosmider², F. Pflumio^{*1}

¹ Laboratoire des cellules souches hématopoïétiques et leucémiques, UMR008 Inserm CEA, Fontenay-aux-Roses ; ² Hématologie biologique, AP-HP, Hôpital Cochin, Paris ; ³ Inserm UMR1009, université Paris-Sud, Institut Gustave Roussy, Villejuif ; ⁴ Département de biothérapie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; ⁵ Department of Hematology, Medical University of Graz, Autriche

Introduction. L'hématopoïèse humaine se développe dans la moelle osseuse (MO) chez l'adulte. Les interactions entre les cellules souches/progénitrices (CSPH) et les cellules non hématopoïétiques sont cruciales pour établir un système sanguin compétent. De la même façon, de

nombreuses pathologies hématopoïétiques se développent à partir de la MO et leur expansion/origine dépend d'interactions avec des composants non hématopoïétiques de la MO. Les modèles de souris transgéniques/knock-in/knock-out ont été d'une aide majeure pour comprendre ces interactions. A côté de la recherche sur l'hématopoïèse humaine a beaucoup bénéficié du développement de modèles de xéno greffes, basés sur la transplantation de hCSPH dans des souris immunodéficientes (ID). Toutefois ces modèles de souris ID ne récapitulent pas totalement l'hématopoïèse physiologique, notamment par la faible représentation de cellules érythroïdes et mégacaryocytaires humaines. Ces modèles limitent aussi la greffe/développement de certaines pathologies hématopoïétiques incluant des hémopathies chroniques (comme les syndromes myélodysplasiques) et aigus (comme certaines LAM et LAL-T). Nous avons posé l'hypothèse selon laquelle ces limites étaient liées à des interactions imparfaites entre les cellules humaines et des facteurs/cellules de souris.

Matériels et méthodes. Nous avons développé des osselets humanisés en utilisant la technique des « ossicules » humains obtenus après injection de cellules souches/stromales mésenchymateuses humaines (hCSM) isolées à partir de MO et injectées sous la peau de souris ID pour générer une MO humaine comme dans (Reinisch *et al.*, Nat Protoc, 2017).

Résultats. Cette mise au point a nécessité de travailler sur les conditions de culture des hCSM, en particulier de tester plusieurs milieux de culture et du lysat plaquettaire au moment de l'isolement et de l'expansion des hCSM et des facteurs de croissance utilisés lors de l'implantation des hCSM dans les souris. Nous avons aussi comparé la souris de hCSM, en utilisant des donneurs adultes et fœtaux de MO. Ces efforts techniques nous ont permis de générer un protocole fiable pour qu'apparaissent en deux mois post-injection de hCSM des structures comparables à de l'os, avec des cavités vascularisées, contenant les différentes cellules constitutives de la MO issues de la différenciation de hCSM. La comparaison entre des hCSM fœtales et adultes a indiqué des différences importantes de taille des osselets. Les hCSM fœtales génèrent des structures environ 4-fois plus grandes que les hCSM adultes. Ces structures osseuses peuvent accueillir de l'hématopoïèse puisque des cellules hématopoïétiques de souris y sont détectées et une hématopoïèse humaine multilignée peut s'y développer lorsque des cellules CD34+ de sang de cordon y sont implantées. En effet, des cellules myéloïdes, érythroïdes, T et B ainsi que des hCSPH CD34+ humaines y sont alors détectées. Des expériences sont en cours pour tester la propagation de cellules leucémiques primaires d'AML et de LAL-T pédiatriques, notamment celles qui s'étaient révélées préalablement réfractaires à la greffe dans la MO de souris NSG.

Conclusion. Des expériences futures nous diront si les osselets humanisés sont propices à l'hématopoïèse normale et pathologique à long terme, s'ils permettent l'autorenouvellement des CSH humaines et s'ils constituent un modèle intéressant pour l'étude des pathologies hématologiques, en particulier pour explorer les interactions entre le microenvironnement médullaire et les cellules hématopoïétiques.

01-10 Rôle de la désensibilisation de CXCR4 dans la spécification lymphomyéloïde des progéniteurs hématopoïétiques multipotents

V. Rondeau^{*1}, A. Bonaud¹, J. Nguyen², AN. Zeina¹, D. Hafersas¹, C. Kappel¹, L. Vogt¹, D. McDermott³, P. Murphy³, M. Aurrand-Lions⁴, S. Mancini⁴, M. Espéni¹, K. Balabanian¹

¹ Université de Paris, institut de recherche Saint-Louis, Emily, Inserm U1160, 75010, Paris France, Inserm, Paris ; ² Inflammation, chimiokines et immunopathologie, université Paris-Saclay, 92140, Clamart, France, Inserm, Clamart ; ³ Laboratoire d'immunologie moléculaire institut national des maladies allergiques et infectieuses, NIH, Bethesda, États-Unis ; ⁴ CRCM Inserm U1068 CNRS UMR7258 Aix Marseille Univ U105 institut Paoli-Calmettes, Marseille, France, CRCM-Inserm U1068 ; Institut Paoli-Calmettes ; Aix-Marseille Université UM 105 ; CNRS UMR7258, Marseille

Introduction. Les cellules souches et progéniteurs hématopoïétiques (CSPH) résident dans la moelle osseuse (MO) entourés par les niches endostéales et (péri)vasculaires et sont à l'origine des cellules immunes circulantes. Les niches médullaires jouent un rôle dans la spécification et l'engagement myéloïde versus lymphoïde des CSPH. Dans la MO, le couple formé par la chimiokine CXCL12 et l'un de ses récepteurs, CXCR4, exerce un rôle clé dans la régulation de la rétention et la quiescence des CSPH. Ces processus sont dérégulés dans le Syndrome WHIM (SW), une maladie immuno-hématologique rare liée à des mutations autosomiques dominantes du gène codant CXCR4, qui altèrent la désensibilisation du récepteur et conduit à un gain de fonction en réponse à CXCL12. Cliniquement, le SW se caractérise notamment par une profonde leucopénie circulante qui affecte les lignages lymphoïde et myéloïde dont les mécanismes restent à déterminer.

Patients et méthodes. Grâce à un modèle murin du SW élaboré selon une stratégie de knock-in et à l'accès à des prélèvements biologiques de patients atteints du SW, nous avons testé l'hypothèse que la lymphopénie circulante associée au SW résulte de défauts hématopoïétiques dans la MO.

Résultats. Nous avons révélé un rôle clé de la désensibilisation de CXCR4 dans la différenciation lymphoïde des CSPH et identifié les progéniteurs multipotents (MPP) comme étant le stade défectueux. La divergence entre les lignages lymphoïde et myéloïde se produit précisément au stade MPP au sein duquel existe une hétérogénéité : les MPP2/3 sont biaisés myéloïde et les MPP4 sont orientés lymphoïde. Ceci nous a incités à analyser l'impact de la désensibilisation de CXCR4 sur la diversité moléculaire et fonctionnelle du compartiment de MPP. Dans la MO des souris mutantes, nous avons observé une diminution du nombre de MPP4, tandis que ceux des MPP2/3 sont augmentés. L'analyse de prélèvements médullaires de patients atteints du SW rapporte une diminution de la fréquence des progéniteurs lymphoïdes et une augmentation de celle des progéniteurs myéloïdes. Dans le modèle murin du SW, le biais myéloïde du compartiment MPP implique des défauts intrinsèques et extrinsèques, comme l'attestent nos expériences de reconstitution croisée de l'hématopoïèse, et s'avère associé à une expansion anormale et une reprogrammation métabolique et myéloïde des MPP4 porteurs de la mutation de CXCR4, comme le rapportent nos analyses par RNAseq combinées à des études fonctionnelles appropriées.

Conclusion. Nos résultats supportent un rôle majeur de la désensibilisation de CXCR4 dans le processus de lymphohématopoïèse, notamment par la capacité de ce processus à réguler le potentiel lymphoïde qui caractérise les MPP4.

01-11 À la recherche d'une hématopoïèse clonale dans les vascularites : une expérience monocentrique qui ne revient pas bredouille

FX. Danlos¹, C. Friedreich^{*2}, M. Papo¹, N. Droin³, AS. Alary², X. Puéchal¹, D. Rombaut⁴, B. Terrier¹, O. Kosmider²

¹ Service médecine interne, Hôpital Cochin, Paris ;

² Hématologie biologique, Hôpital Cochin, Paris ;

³ U1170, Institut Gustave Roussy, Villejuif ; ⁴ U1016, Institut Cochin, Paris

Introduction. La granulomatose avec polyangéite (GPA, anciennement appelée maladie de Wegener) et l'artérite à cellules géantes (ACG, ancienne maladie de Horton) sont deux vascularites systémiques dont les étiologies ne sont à ce jour pas élucidées. La GPA affecte les petits vaisseaux et se manifeste par des atteintes inflammatoires ORL, pulmonaires et rénales. L'ACG survient chez des sujets âgés et entraîne artérites temporales, pathologies ophtalmiques et aortites. Une hématopoïèse clonale (HC) a été décrite chez des individus indemnes de maladie hématologique avec une fréquence < 5 % à 50 ans et d'environ 10 % à 80 ans. L'âge de survenue de ces vascularites (50 à 80 ans) nous a fait suspecter que leurs survenues pouvaient être associées à une HC.

Patients et méthodes. Ce projet a été réalisé à partir du matériel génétique (ADN issu de cellules sanguines périphériques) issu de patients atteints de GPA et d'ACG. Une analyse par séquençage de nouvelle génération (NGS) a été appliquée à ces échantillons sur un séquenceur de type MiSeq (Illumina) par utilisation d'un panel « maison » couvrant 45 gènes, retrouvés fréquemment mutés dans les hémopathies myéloïdes et compatible avec la recherche d'une HC. L'alignement des BAM a été réalisé grâce à la plateforme Galaxy de l'APHP et l'appel des variants a été effectué à l'aide du logiciel Nextgene. La profondeur de séquençage moyenne minimale pour permettre l'analyse a été fixée à 500x. La fréquence d'allèles mutés (FAV) minimale retenue pour définir une HC était de 2 %.

Résultats. 41 patients à ce jour ont bénéficié d'une analyse génétique à la recherche d'une HC. Parmi eux, 11 ont été exclus de par l'existence d'une maladie hématologique ou cancéreuse coexistante (n = 5), d'une profondeur de séquençage insuffisante (n = 6). Chez les 30 patients restants, une HC a été identifiée chez 5/20 patients avec GPA (25 %) et 3/10 patients avec ACG (30 %). L'âge médian des patients avec une HC était de 55 ans (37-57) et 73 ans (72-75) respectivement pour les patients avec GPA et ACG. L'HC était définie par la présence d'une mutation unique, excepté un patient avec deux mutations. La FAV médiane était de 13,5 % (7-23,3 %). Les mutations observées et retenues étaient associées à des gènes classiquement identifiés dans les recherches d'HC soit : ASXL1 c.2535delC, DNMT3A p.R882H, RAD21 p.L451R, TET2 p.N1266S, PPM1D p.C478X et p.N443K dans le groupe GPA et CBL c.872_873insA, DNMT3A p.L754R et c.1510delC dans le groupe ACG. Sur cette première cohorte, nous n'avons pas identifié de différence clinique entre les patients avec et sans HC. Une cohorte additionnelle de 13 patients a été identifiée et est en cours d'analyse.

Conclusion. Nous avons observé une HC chez des patients atteints de vascularites systémiques avec une prévalence qui semble être supérieure à celles décrites chez des individus indemnes de maladies hématologiques. Nous souhaitons compléter notre travail avec des prélèvements supplémentaires pour préciser si la présence d'une HC est associée à des caractéristiques cliniques particulières et la comparer à une cohorte témoin à définir. Le risque évolutif des HC identifiées chez ces patients devra être évalué et l'étude de leur microenvironnement médullaire serait enrichissante pour identifier des éléments pouvant participer à l'expansion clonale et/ou aux mécanismes étiologiques de ces maladies.

01-12 Modélisation mathématique de l'hématopoïèse assurant la production de globules rouges en conditions de repos et de stress

C. Bonnet¹, P. Gou², S. Girel¹, V. Bansaye¹, C. Lacout², K. Bailly³, MH. Schlageter⁴, E. Lauret⁵, S. Meleard¹, S. Giraudier*⁶

¹ Département de mathématiques appliquées, École Polytechnique, Palaiseau ; ² Inserm U1131, Institut universitaire d'hématologie, Paris ;

³ U1016, hôpital Cochin, Inserm, Paris ; ⁴ Biologie cellulaire, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris ; ⁵ UMR S1016, Université Paris Descartes, Paris ;

⁶ Service de biologie cellulaire, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris

Introduction. Le maintien de l'hématopoïèse (HP) à l'état d'équilibre et en réponse au stress nécessite l'intégrité du contingent des cellules souches hématopoïétiques. Les modélisations de l'érythropoïèse (EP) proposées antérieurement ne considéraient que les stades tardifs de différenciation. Ici, nous rapportons un modèle d'EP tenant compte des compartiments les plus immatures, basé sur une approche de l'HP de repos, complexifié secondairement par l'intégration de processus de régulation en cas de stress.

Résultats. Dans un premier temps, nous définissons un modèle stochastique (sans régulation) d'EP basé sur un minimum de six compartiments (LT-HSC, ST-HSC, MPP, CMP, MEP et globules rouges (GR)) assurant une production stable de GR en fonction du nombre et du taux de division des LT-HSC, de la probabilité de différenciation/autorenouvellement de chaque compartiment, du taux de division des MEP et du nombre de mitoses terminales permettant la production de GR depuis les MEP. Ce modèle permet de récapituler ce qui est observé *in vivo* dans l'HP de repos.

Nous avons ensuite évalué cette modélisation lors d'un stress ciblant les GR matures tels que le traitement à la phénylhydrazine (PHZ). La PHZ a été administrée par voie intraveineuse à une dose de 60 mg/kg. Les nombres absolus des différents progéniteurs de la moelle osseuse (MO), de la rate et du sang ainsi que le cycle cellulaire (incorporation de BrdU) et l'apoptose (marquage à l'annexine V) ont été analysés par cytométrie en flux aux jours 0, 1, 3, 5, 7, 10, 16 et 28 chez la souris.

Le traitement à la PHZ induit une anémie sévère à J3 suivie d'une récupération rapide des GR à J10. Nos résultats montrent que, malgré une stabilité du nombre total de cellules médullaires, le traitement par la PHZ réduit la taille de chaque compartiment aux jours 3-5 sans modifier l'apoptose, la prolifération ou la mobilisation des progéniteurs hors de la MO. Dans une deuxième phase, une reconstitution de tous les compartiments, effective à J28, s'accompagne d'un recrutement des LT-HSC et ST-HSC dans le cycle cellulaire : 25 % des LT-HSC et ST-HSC étant en cycle à J10, contre 2 % à J0.

Discussion. Le modèle mathématique stochastique sans régulation, appliqué au traitement par la PHZ, ne reproduit pas les résultats obtenus *in vivo*. Nous avons donc introduit une régulation spécifique pour chaque compartiment selon les variations de leur taille suite au stress. Ce nouveau modèle mathématique récapitule l'évolution des différents compartiments observée après traitement à la PHZ. Notre modélisation démontre que l'HP de repos ne nécessite pas de régulations externes (cytokines, coopérations, interactions, etc.) pour maintenir la production de GR pendant la vie. Par contre, une régulation du système est nécessaire en cas de stress hématopoïétique afin de normaliser au plus vite les paramètres sanguins et médullaires.

Conclusion. À notre connaissance, il s'agit de la première modélisation en plusieurs étapes de l'HP capable de récapituler aussi bien l'état d'équilibre que celui de stress.

01-13 Gain et perte de fonctions régulatrices de la niche de cellules souches dans l'hématon, un centre de signalisation riche en morphogène

I. Blazsek*¹, A. Ponsen², E. Oberlin³, P. Leclerc⁴, J. Zákány⁵, C. Desterke⁶, MC. Le Bousse-Kerdilès⁷, B. Péault⁸, G. Uzan²

¹ Unité de Recherche 1197, Inserm SSA/1197, Villejuif ; ² Inserm U1197,

Hôpital Paul-Brousse (AP-HP), Villejuif ; ³ Inserm U1197, Hôpital Paul

Brousse-Bâtiment Lavoisier, Villejuif Cedex ; ⁴ Inserm U1197 UMS33,

Hôpital Paul-Brousse (AP-HP), Villejuif ; ⁵ Department of Genetics and

Evolution Sciences III, Université de Genève, Genève, Suisse ;

⁶ UMS-33, Institut André Lwoff - Université Paris Saclay, Villejuif ;

⁷ UMR-S972, Inserm, Villejuif ; ⁸ Centre for Regenerative Medicine,

The University of Edinburgh, Edimbourg, Royaume Uni

Introduction. La constitution des organes solides par un ensemble de sous-unités tissu-spécifiques a été reconnue à l'aube de la biologie cellulaire (Robert Hooke, en 1665, et Antoni van Leeuwenhoek, en 1674) dans le rein (néphron, M. Malpighi, 1628-94), dans l'os (ostéon, C. Havers, en 1690), dans le petit intestin (crypte/villus, JN Lieberkühn, en 1745), ou encore dans le pancréas (îlot, P. Langerhans, 1869). Cette organisation a été largement confirmée dans la quasi-totalité des organes (bulbe pileux, papille gustative, etc.). Étonnamment, l'organisation similaire restait longtemps méconnue dans le tissu ostéomédullaire (TOM).

En 1988, nous avons identifié et purifié à partir du TOM humain et de la souris des unités hématopoïétiques, nommées hématons. Les propriétés uniques et la stabilité de ces hématons, ont permis de réaliser des études expérimentales inédites et d'améliorer l'application de la Greffe de MO se traduisant par une baisse de la mortalité aiguë et une prolongation de la survie des patients à long terme.

Patients et méthodes. Nous avons développé et mis à disposition un protocole détaillé en 2013 qui permet d'identifier et d'analyser de nombreux aspects de l'hématon à travers la phylogénèse et la morphogénèse du système hématopoïétique.

Résultats. Nous avons démontré, que : 1] l'application successive de la micro-angiographie (CASMA), la fixation en Zn7, la décalcification et de la transparisation permet l'identification de l'allocation des hématons directement dans l'os long et spongieux ; 2] la présence des hématons marque une corrélation hautement positive avec l'activité hématopoïétique dans l'ensemble des unités anatomiques du squelette génétiquement prédéterminé ; 3] l'acquisition de compétences régulant les niches à CSH apparaissent dans l'hématon durant la phase ultime de l'organogénèse, après sevrage. 4] L'hématon inclue un compartiment adipeux central, où nous avons (a) mesuré une forte concentration de rétinoïdes et 1 α ,25(OH)2-vitamineD3, (b) localisé des morphogènes protéiques (Shh, HGF, VEGF, SDF1/CXCL12, NG2) et (c) identifié des neurones (NF200, NG2, Golgi-Cox+, nestine) et neurotransmetteurs (AcCholase, sérotonine, noradrénaline, TH) périphériques.

Conclusion. Nos résultats mettent en évidence le rôle central de l'hématon dans l'émergence et le maintien de l'hématopoïèse en homéostasie. L'absence des hématons au cours de l'initiation de leucémogénèse suggère que leur désintégration/disparition fait partie des facteurs favorisant la transformation leucémique.