

09 Syndromes myélodysplasiques (biologie et clinique)

09-01 Étude randomisée de phase II évaluant l'azacitidine en monothérapie ou en association avec le lénalidomide, l'acide valproïque ou l'idarubicine dans le syndrome myélodysplasique de haut risque

L. Adès^{*1}, A. Guerci², N. Duployez³, K. Laribi⁴, P. Peterlin⁵, N. Vey⁶, S. Thepot⁷, S. Wickenhauser⁸, H. Zerazhi⁹, A. Stamatoullas¹⁰, E. Wattel¹¹, C. Récher¹², A. Toma¹³, K. Bouabdallah¹⁴, T. Braun¹⁵, O. Beyne-Rauzy¹⁶, B. Gruson¹⁷, C. Preudhomme¹⁸, S. Chevret¹⁹, P. Fenaux²⁰, groupe Francophone des myélodysplasies

¹ Service d'hématologie clinique, Hôpital Avicenne, Bobigny ; ² Hématologie clinique, CHU Brabois, Vandœuvre-lès-Nancy ; ³ Laboratoire d'Hématologie, CHU Lille, Lille ; ⁴ Hématologie clinique, CH Le Mans, Le Mans ; ⁵ Service d'hématologie clinique, CHU Hôtel-Dieu, Nantes ; ⁶ Epigenetic factors in normal and malignant hematopoiesis, CRCM-Inserm, U1068 ; Institut Paoli-Calmettes ; Aix-Marseille Université, UM 105 ; CNRS, UMR7258, Marseille ; ⁷ Maladies du sang, CHU - CHU Angers, Angers ; ⁸ Hématologie, Centre Hospitalier, Paris ; ⁹ Hématologie, CH, Avignon ; ¹⁰ Hématologie clinique, Centre Henri Becquerel, Rouen ; ¹¹ Hématologie, CHU, Lyon ; ¹² Hématologie adulte, Institut Universitaire du Cancer de Toulouse-Oncopole, Toulouse ; ¹³ Hématologie clinique et thérapie cellulaire, Hôpital Henri Mondor, Créteil ; ¹⁴ Hématologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; ¹⁵ Hématologie, Hôpital Avicenne, Bobigny ; ¹⁶ Immunopathologie-médecine interne, IUCT Oncopole, Toulouse ; ¹⁷ Hématologie, CHU Amiens, Amiens ; ¹⁸ Centre de biologie pathologie - laboratoire hématologie, CH Régional Universitaire de Lille, Lille ; ¹⁹ Service de biostatistique et information médicale, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ²⁰ Hématologie seniors, Hôpital Saint-Louis, Paris

Introduction. L'AZA améliore la survie des SMD de haut risque, mais seuls 50-60 % des patients répondent, et la survie médiane n'est que de 20-24 mois. Nous avons testé, sur la base d'une approche de type « choisir le gagnant », des combinaisons d'AZA avec un inhibiteur d'HDAC (acide valproïque), avec le LEN ou avec l'IDA pour identifier, en fonction de la réponse, la combinaison la plus prometteuse avec l'AZA, qui pourrait ensuite être comparée avec l'AZA seul dans une étude plus large de phase III.

Patients et méthodes. AZA-PLUS était un essai adaptatif de phase II qui attribuait au hasard à des SMD de haut risque (IPSS INT-2 et High), des LAM à faible blastose médullaire (20-30 %) et des LMMC : AZA seul (75 mg/m²/j J1-7) ; AZA plus LEN (10 mg/j J1-14) ; AZA plus VPA (35-50 mg/kg/j J1-7) ou AZA plus IDA (10 mg/m² J1 pendant les 9 premiers cycles). Le paramètre primaire d'évaluation était le taux de réponse (CR, PR, PR, mCR) des groupes combinés par rapport à AZA seul.

Résultats. Au total, 322 pts ont été inclus : 81, 80, 80, 81 dans les bras AZA, AZA+VPA, AZA+LEN et AZA+IDA. Les caractéristiques de base étaient bien équilibrées d'un bras à l'autre. L'âge médian était de 74,6 ans, 213 étaient des hommes et le score IPSS était élevé dans 46 % des cas. Le caryotype selon l'IPSS était favorable, intermédiaire ou défavorable dans 40 %, 26 % et 34 % des cas. Les pts ont reçu une médiane de 7 cycles et le suivi médian était de 15 mois. La prévalence de sortie d'essai en raison d'effets indésirables était de 32 %, 29 %, 28 % et 31 % dans les groupes AZA, AZA+VPA, AZA+LEN et AZA+IDA ($p = 0,95$). Les taux d'hospitalisation au cours des 6 premiers cycles étaient de 38 %, 44,7 %, 55,1 %, 59,7 % dans les groupes AZA, AZA+VPA, AZA+LEN et AZA+IDA ($p = 0,028$), ce qui suggère une majoration de la myélodyspression dans les groupes expérimentaux. La réponse médullaire était estimée à 34,8 % (18,6 % CR, 3,1 % PR et 13 % mCR) et le taux de réponse global après 6 cycles était de 40,4 %. Le taux de réponse médullaire après 6 cycles (35,8 % pour AZA, 36,2 % pour AZA+VPA, 31,2 % pour AZA+LEN et 35,8 % pour AZA+IDA) et la réponse globale après 6 cycles (41,9 % pour AZA, 41,2 % pour AZA+VPA, 40 % pour AZA+LEN et 38,3 % pour AZA+IDA) étaient similaires dans les quatre groupes. Par conséquent, aucune combinaison n'a démontré un avantage par rapport à l'AZA seul. L'EFS médiane était de 16,6 mois pour AZA, 14,5 mois pour AZA+VPA, 15,1 mois pour AZA+LEN et 13,2 mois pour AZA+IDA ($p = 0,74$). La survie médiane était de 24,5 mois pour AZA, 18,9 mois pour AZA+VPA, 17,5 mois pour AZA+LEN et 20,1 mois pour AZA+IDA

($p = 0,50$). Les facteurs associés à la survie étaient la présence de blastes circulants ($p = 0,003$) et un IPSS élevé ($p < 0,0001$). Sur le plan moléculaire, une analyse en NGS a été effectuée chez 73 % des patients et le nombre médian de mutations retrouvées était de 2 par patient (1-13). En première analyse, seule la présence d'IDH2m était associée à une probabilité de réponse plus faible ($p = 0,02$) et la présence d'une mutation de TP53 ($< 0,0001$) à une survie plus courte.

Conclusion. Bien que des différences dans la survie à long terme puissent se produire, la combinaison de VPA, LEN ou IDA à l'AZA n'a pas amélioré la réponse ou la survie par rapport à l'AZA seule et a aggravé la myélodyspression. Avec des médicaments plus récents et potentiellement plus puissants qui peuvent être associés à l'AZA, l'approche « choisir un gagnant » pourrait néanmoins encore être utile pour sélectionner des combinaisons prometteuses en fonction de la réponse dans des essais de phase II.

09-02 MEDALIST : un essai de phase III randomisé en double aveugle de luspatercept contre placebo dans l'anémie des syndromes myélodysplasiques avec sidéroblastes en couronne transfusion-dépendants

P. Fenaux^{*1}, L. Ades¹, S. Park², B. Quesnel³, O. Beyne-Rauzy⁴, T. Cluzeau⁵, E. Gyan⁶, E. Wattel⁷, M. Hunault-Berger⁸, S. Dimicoli-Salazar⁹, S. Natarajan-Amé¹⁰, A. Laadem¹¹, AF. List¹², U. Platzbecker¹³

¹ Service d'hématologie seniors, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ² Service d'hématologie clinique, CHU Grenoble Alpes, La Tronche ; ³ Service des maladies du sang, CH Régional Universitaire de Lille, Lille ; ⁴ Médecine interne, IUCT Oncopole, Toulouse ; ⁵ Département d'hématologie clinique, CHU De Nice, Nice ; ⁶ Service d'hématologie, CHRU Hôpitaux de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours ; ⁷ Service d'hématologie clinique, CH Lyon-Sud, Pierre-Bénite ; ⁸ Service des maladies du sang, CHU - CHU Angers, Angers ; ⁹ Service des maladies du sang, Hôpital Haut-Lévêque, Pessac ; ¹⁰ Hôpital civil, CHRU - Strasbourg, Strasbourg ; ¹¹ Clinical r&d, Celgene Corporation, Summit, New Jersey, États-Unis ; ¹² Department of malignant hematology, Moffitt Cancer Center, Tampa, Florida, États-Unis ; ¹³ Clinique médicale et policlinique 1, hématologie et thérapie cellulaire, Hôpital Universitaire de Leipzig, Leipzig, Allemagne

Introduction. Le traitement de l'anémie des SMD de faible risque réfractaires ou inéligibles aux agents stimulants l'érythropoïèse (ASE) demeure difficile. Le luspatercept est le premier représentant d'une classe d'agents qui inhibent sélectivement certains ligands de la superfamille TGF β pour stimuler les étapes finales de l'érythropoïèse. Cette étude de phase III évaluait l'efficacité et la sécurité du luspatercept dans l'anémie des SMD de faible risque avec sidéroblastes en couronne (SMD avec SC) (ClinicalTrials.gov : NCT02631070).

Patients et méthodes. Les patients éligibles étaient âgés d'au moins 18 ans, avec un SMD d'IPSS-R très faible, faible ou intermédiaire, blastes médullaires $< 5\%$, sidéroblastes en couronne $> 15\%$ ou $> 5\%$ avec mutation *SF3B1* (critères OMS 2016), dépendants des transfusions de GR (au moins 2 unités/8 semaines sur les 16 dernières semaines) réfractaires, intolérants ou considérés inéligibles (EPO sérique > 200 U/L) aux ASE et n'ayant pas reçu d'hypométhylants ou de lénalidomide. Les patients ont été randomisés (2/1) entre luspatercept (1,0 mg/kg avec augmentation progressive jusqu'à 1,75 mg/kg si nécessaire) et placebo en SC toutes les 3 semaines pendant ≥ 24 semaines.

Résultats. 229 patients ont été randomisés et traités. Les patients avaient reçu une médiane de 5 unités de GR (intervalle 1-20) par 8 semaines pendant les 16 semaines précédant le traitement. 95,2 % patients avaient reçu un ASE.

58 des 153 (37,9 %) patients sous luspatercept ont obtenu une indépendance transfusionnelle pendant ≥ 8 semaines entre la première et la 24e semaine (critère d'évaluation principal) contre 10 des 76 (13,2 %) patients sous placebo (risque relatif approché [RRA] 5,1 ; $p < 0,0001$). 43 des 153 (28,1 %) patients sous luspatercept ont obtenu une indépendance transfusionnelle pendant ≥ 12 semaines entre la première et la 24e semaine (principal critère d'évaluation secondaire) contre 6 des 76 (7,9 %) patients sous placebo (RRA 5,1 ; $p = 0,0002$).

La réponse érythroïde (H+E, critères IWG 2006) entre les semaines 1 à 24 a été de 52,9 % sous luspatercept, et 11,8 % sous placebo ; $p < 0,0001$). La durée médiane d'indépendance transfusionnelle sous luspatercept a été de 30,6 semaines.

Le profil de sécurité du luspatercept a été identique à celui de l'étude de phase II de luspatercept dans les SMD de faible risque (étude PACE-MDS, Platzbecker U, et al. *Lancet Oncol.* 2017 ; 18 : 1338-47).

Discussion. Le luspatercept a permis de réduire significativement la dépendance transfusionnelle dans des SMD avec SC réfractaires ou non candidats aux ASE et a généralement été bien toléré chez ces patients.

Conclusion. Le luspatercept est un nouveau traitement des SMD de faible risque avec SC dont l'anémie est transfusion dépendante.

*A la date du 8 mai 2018.

09-03 Caractérisation épidémiologique, moléculaire et clinique d'une cohorte de 40 patients atteints d'une hémopathie myéloïde avec mutation de *DDX41*

M. Sébert¹, M. Passet², A. Raimbault³, S. Quentin⁴, N. Vasquez⁴, M. Da Costa⁴, R. Rahme⁵, E. Raffoux⁶, F. Sicre De Fontbrune⁷, N. Boissel⁸, R. Peffault De Latour⁹, R. Itzykson¹⁰, P. Fenaux¹¹, J. Soulier¹², L. Ades¹¹, E. Clappier⁴

¹ Hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ² Laboratoire d'hématologie, Institut Universitaire d'Hématologie (Hôpital St Louis), Paris ; ³ Laboratoire d'hématologie, AP-HP, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁴ Laboratoire d'hématologie, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris ; ⁵ Hématologie seniors, Hôpital Saint-Louis, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris ; ⁶ Hématologie adulte, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris ; ⁷ Service d'hématologie greffe, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris ; ⁸ Département d'hématologie, Hôpital Saint-Louis, AP-HP, Paris ; ⁹ Hématologie-greffe, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris ; ¹⁰ Hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ¹¹ Hématologie seniors, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ¹² Inserm U944, institut universitaire d'hématologie UP7, Hôpital Saint-Louis, Paris

Introduction. Les prédispositions constitutionnelles aux syndromes myélodysplasiques (SMD) et leucémies aiguës myéloïdes (LAM) sont probablement sous-diagnostiquées. Cependant, leur identification est essentielle dans la prise en charge du patient (pt), surtout dans le contexte d'allogreffe. L'objectif de l'étude était d'évaluer la fréquence et de caractériser les pts avec des mutations germinales de *DDX41*, gène récemment impliqué dans des formes familiales d'hémopathies.

Patients et méthodes. Entre mars 2017 et octobre 2018, le séquençage de 80 gènes (bibliothèque SureSelect Agilent, séquençage Illumina) a été réalisé chez 1140 pts avec un diagnostic de SMD ou LAM, pris en charge à l'hôpital Saint-Louis. Une origine germinale des variants de *DDX41* a été suspectée pour des fréquences alléliques (VAF) supérieures à 40 % et vérifiée par séquençage Sanger de l'ADN extrait de culture de fibroblastes cutanés.

Résultats. Un variant de *DDX41* potentiellement germinale a été identifié chez 40/1140 (3,5 %) pts (39 non apparentés). L'origine germinale a été confirmée chez tous les pts ayant pu avoir une biopsie cutanée ($N = 15/40$). Parmi les 26 variants identifiés dans notre étude, 24 n'avaient jamais été rapportés. L'âge médian au diagnostic d'hémopathie était de 68,7 ans. Seuls 8 pts avaient une histoire familiale d'hémopathie, et 17 (42,5 %) avaient des antécédents de cytopénies (médiane de 4,6 années (1,5-15) entre les premières cytopénies et le diagnostic). Au diagnostic initial, 5 pts avaient un SMD-MLD, 11 un SMD-EB, 6 un SMD/SMP, 12 une LAM, 3 une aplasie médullaire, 2 une neutropénie isolée et 1 patient avait un syndrome 5q-. Le caryotype était normal chez 27 (67,5 %) pts, 9 avaient une anomalie, 1 était complexe (3 échecs). Une mutation additionnelle de *DDX41*, d'origine somatique, était retrouvée chez 23/40 pts (57,5 %) alors que les mutations somatiques de *DDX41* étaient exceptionnelles chez les 1100 pts sans mutation germinale de *DDX41* (4/1100, 0,4 %), suggérant une voie d'oncogénèse particulière liée au variant *DDX41* constitutionnel. La majorité des pts (30/40, 75 %) présentaient également des mutations dans d'autres gènes, néanmoins elles étaient significativement moins nombreuses et avec des VAF plus faibles chez les pts ayant une mutation somatique additionnelle de *DDX41* comparé à ceux n'en ayant pas (1 vs 3 mutations, VAF médianes 6 % vs 27 %, $p < 0,001$). De façon intéressante, le même variant germinale de *DDX41*, p. G173R, a été identifié chez 6 pts non apparentés présentant des caractéristiques similaires : cytopénies plusieurs années avant l'évolution en SMD/LAM, caryotype normal et acquisition d'une seconde mutation somatique de *DDX41*. Dix pts ont reçu une chimiothérapie intensive (100 % RC), 10 ont été traités par agents hypométhylants (réponse 80 %), 8 pts ont reçu de l'EPO (réponse 75 %) et 9 pts ont été simplement surveillés. Neuf pts ont été allogreffés, tous sont vivants (2 rechutes précoces). La survie médiane est de 7,1 ans et la survie à 2 ans de 80 % (58-91 %). Aucune différence de survie n'a été observée entre les pts avec et sans mutation somatique de *DDX41*.

Conclusion. Les pts avec mutation germinale de *DDX41* représentent une part significative des SMD/LAM, souvent sans histoire familiale évocatrice. Contrairement à ce qui a été rapporté, les pts semblent souvent présenter une longue phase de cytopénie avant l'évolution blastique, la réponse thérapeutique ainsi que la survie étant plutôt favorables dans notre expérience.

09-04 Aspects clinicobiologiques, thérapeutiques et évolutifs des syndromes myélodysplasiques à propos de 85 cas

F. Talbi*, L. Bouteldja, M. Djilali, R. Abbadi, A. Ghassoul, M. Rahali, S. Belakehal, F.Z. Ardjoun, K. Djouadi

hématologie, hôpital Central De l'Armée DR Mohammed Seghir Nekkache, Alger, Algérie

Introduction. Les syndromes myélodysplasiques désignent un groupe hétérogène de maladies clonales touchant la cellule souche hématopoïétique aboutissant à des anomalies qualitatives et quantitatives des 3 lignées myéloïdes. L'incidence globale est de 03-05/105 hbts/an, elle augmente avec l'âge (03-15/105 hbts/an : 50-70 ans et 15-50/105 hbts/an > 70 ans) [1].

Patients et méthodes. Étude rétrospective descriptive monocentrique, incluant tous les MDS diagnostiqués au service d'hématologie de l'HCA (1994-2014). Le diagnostic est retenu sur la cytologie sanguine et médullaire et la coloration de Perls (après exclusion : d'une carence vitaminique (ferritine, folates, vitamine B12 : dosage ou test thérapeutique) ou d'une pathologie associée (thyroïdienne, hépatique, inflammatoire ou hémolytique). Nous avons classé nos patients selon la classification OMS (2008) ; le caryotype a été réalisé dans quelques cas seulement.

Résultats. $n = 85$ pts évaluable : les caractéristiques des patients sont résumées dans le tableau qui suit : les comorbidités observées : cardiovasculaires (40 %), diabète (30 %) et respiratoire (29 %) : elles sont plus fréquentes (HR = 1,65, 95% CI = 0,65-3,66) chez les H/F et plus sévères (≥ 3 points : 12 patients) : HR = 4,5 : CI 95 % : 1,88-5) $P = 0,012$. Les patients de 65 ans et plus ont une forte prévalence des comorbidités : HCT-CI score : HR = 0,19 (IC95% : 0,023-0,89) : $P = 0,01$, avec un impact très négatif sur la survie ($p = 0,001$). La SG = 20%.

Conclusion. La présentation des SMD dans notre série rejoint celle des séries nationales et internationales avec un pronostic particulièrement sombre ; cette pathologie touche préférentiellement le sujet âgé avec des tares associées rendant la prise en charge très difficile.

09-05 Aspects épidémiologiques, clinicobiologiques, cytologiques et cytogénétiques des syndromes myélodysplasiques dans le Sud tunisien

I. Dammak*, M. Charfi², M. Châari¹, H. Mellassi¹, F. Abida¹, M. Elloumi², H. Elleuch¹

¹ Laboratoire d'hématologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie ;

² Hématologie clinique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Introduction. Les syndromes myélodysplasiques (SMD), longtemps considérés comme état pré leucémique, représentent actuellement une entité majeure des hémopathies malignes. L'objectif de notre étude est d'étudier les aspects épidémiologiques, cliniques, biologiques, cytologiques et cytogénétiques des SMD dans le Sud Tunisien.

Matériels et méthodes. C'est une étude rétrospective portant sur les cas de SMD diagnostiqués au service d'hématologie clinique du CHU Hédi Chaker de Sfax durant une période de 22 mois (mars 2017-décembre 2018). Le diagnostic de SMD a été retenu après étude du myélogramme au laboratoire d'hématologie du même CHU, selon les critères de l'OMS 2016.

Résultats. Quinze patients ont été inclus dans notre étude. L'âge moyen a été de 63,8 ans avec des extrêmes de 24 et 88 ans. Une prédominance masculine a été notée (sex-ratio : 1,7). Sur le plan clinique, un syndrome anémique a été présent chez tous les patients, alors qu'un syndrome infectieux et un syndrome tumoral ont été présents respectivement chez 20 % et 6,6 % des cas. Tous les hémogrammes ont comporté au moins une cytopénie. L'anémie a été retrouvée dans tous les cas étudiés. La thrombopénie et la neutropénie ont été présentes respectivement chez 53 % et 26,66 % des cas. Au niveau du myélogramme, l'étude morphologique des différentes lignées myéloïdes a montré une dysérythropoïèse dans 60 % des cas, suivie par la dysmégacaryopoïèse dans 55,3 % des cas. La dysgranulopoïèse a été le type de myélodysplasie le moins fréquemment retrouvé (seulement 33,3 % des cas). Le caryotype, réalisé uniquement pour 7 patients, a été normal dans 42,85 % des cas (3 patients sur 7), et a montré la présence d'une trisomie du chromosome 8 pour 2 patients et une del(5q) pour les deux autres patients. La répartition des cas, selon la classification de l'OMS 2016, a montré que les SMD avec excès de blastes 2 ont été les plus fréquents (7 cas), et que les cas restants ont été répartis comme suit : SMD avec sidéroblastose en couronne avec

dysplasie unilignée (3 cas), sidérobastes en couronne avec dysplasie multilignée (2 cas), SMD avec excès de blastes-1 (2 cas) et SMD avec del (5q-) isolée (1 cas).

Conclusion. Notre série a montré une prépondérance des SMD avec excès blastique (60 %) par rapport aux autres types de SMD. Cette prévalence élevée de ces SMD à haut risque (environ 40 % dans la littérature) serait expliquée par le retard diagnostique des entités de SMD sans excès blastique, qui ne seraient ainsi diagnostiquées qu'à un stade évolutif avancé.

09-06 Un variant d'épissage de l'érythroferrone impliqué dans la surcharge systémique en fer des myélodysplasies avec mutation *SF3B1*

S. Bondu¹, A.S. Alary², C. Lefebvre³, A. Houy⁴, T. Lefebvre⁵, F. Guillonnet⁶, S. Alsafadi⁷, N. Droin⁸, I. Boussaid¹, S. Winter⁹, V. Santini¹⁰, A. Toma¹¹, M. Hunault-Berger¹², A. Stamatoulas¹³, E. Gyan¹⁴, T. Cluzeau¹⁵, U. Platzbecker¹⁶, L. Ades¹⁷, Z. Karim¹⁸, H. Puy¹⁹, P. Mayeux²⁰, E. Nemeth²¹, S. Park²², T. Ganz²¹, L. Kautz²³, O. Kosmider²⁴, M. Fontenay^{*24}, Groupe Francophone des Myélodysplasies ; Laboratoire d'Excellence du Globule Rouge

¹ Institut Cochin, INSERM U1016, Université Paris Descartes, Paris ; ² Hôpital Cochin, service d'hématologie biologique, Institut Cochin, INSERM U1016, Université Paris Descartes, Paris ; ³ Institut Cochin, INSERM U1016, Université Paris Descartes, LabEx GR-ex, Paris ; ⁴ Département de génétique humaine et oncogénèse, Institut Curie, Paris ; ⁵ Laboratoire spectrométrie de masse, hôpital Louis Mourier, INSERM U1149, Université Paris Diderot, Paris ; ⁶ Plateforme de protéomique 3p5, Institut Cochin, INSERM U1016, Université Paris Descartes, Paris ; ⁷ Département de recherche translationnelle, Institut Curie, Université PSL, Paris ; ⁸ Institut Gustave Roussy, INSERM U1170, Université Paris-Sud, Villejuif ; ⁹ Medizinische klinik und poliklinik, University Hospital Carl Gustav Carus, Dresden, Allemagne ; ¹⁰ Hématologie clinique, AOU Careggi, Florence, Italie ; ¹¹ Hématologie clinique et thérapie cellulaire, Hôpital Henri Mondor, Créteil ; ¹² Service des maladies du sang, CHU - CHU Angers, Angers ; ¹³ Hématologie clinique, CENTRE HENRI BECQUEREL, Rouen ; ¹⁴ Service d'hématologie, CHU de Tours, TOURS ; ¹⁵ INSERM U1065, Centre Méditerranéen de Médecine Moléculaire, Nice ; ¹⁶ Hematology and cellular therapy, Universitätsklinikum, Leipzig, Allemagne ; ¹⁷ Hématologie seniors, Hôpital Saint-Louis, Université Paris Diderot, Paris ; ¹⁸ Centre de recherche sur l'inflammation, INSERM U1149, Université Paris Diderot, Paris ; ¹⁹ Centre de recherche sur l'inflammation, INSERM U1149, Université Paris Diderot, LabEx GR-ex, Paris ; ²⁰ Plateforme de protéomique 3p5, Institut Cochin, INSERM U1016, Université Paris Descartes, LabEx GR-ex, Paris ; ²¹ Department of medicine, David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles, États-Unis ; ²² Hématologie, Hôpital Universitaire Grenoble-Alpes, La Tronche ; ²³ Institut de recherche en santé digestive, INSERM U1220, Université de Toulouse Paul Sabatier, Toulouse ; ²⁴ Hôpital Cochin, service d'hématologie biologique, Institut Cochin, INSERM U1016, Université Paris Descartes, LabEx GR-ex, Paris

Introduction. Les myélodysplasies avec sidérobastes en couronne (MDS-RS) sont des pathologies clonales de la CSH caractérisées par une érythropoïèse inefficace avec hyper- ou dysplasie érythroïde, accumulation mitochondriale du fer et apoptose. Une mutation somatique du gène d'épissage *SF3B1* est détectée dans 90 % des cas et génère des épissages aberrants en partie liés à l'usage d'un site cryptique en 3' de l'intron. Indépendamment des transfusions, les patients ont une surcharge martiale systémique avec une augmentation de la ferritine et du fer. En conditions physiologiques, l'hepcidine dont la transcription est inhibée par l'érythroferrone (ERFE), empêche l'absorption intestinale et le recyclage par les macrophages du fer. Les MDS-RS ont pour une raison inexpliquée des taux plus bas d'hepcidine que les autres MDS. Un variant d'ERFE spécifique des MDS *SF3B1*^{MUT} a été identifié.

Patients et méthodes. Après consentement, une cohorte de 156 patients MDS de faible risque incluant 60 MDS *SF3B1*^{MUT} et une cohorte prospective de validation de 55 patients ont été étudiées. Un RNA-seq a été réalisé à partir des cellules mononucléées de la moelle de 21 MDS *SF3B1*^{MUT}, 6 MDS *SF3B1*^{WT} et 5 donneurs sains. L'analyse différentielle de l'expression génique et des jonctions alternatives a été faite dans Deseq2. L'expression du transcrit alternatif a été étudiée par RT-PCR fluorescente. Les dosages d'ERFE, hepcidine, ferritine, sTfR et la détection du peptide variant ont été réalisés en ELISA ou spectrométrie de masse.

Résultats. Le transcrit alternatif ERFE+12 résulte de l'usage d'une jonction aberrante et de l'ajout de 12 nt. Son expression est restreinte aux érythroblastes de MDS *SF3B1*^{MUT} et n'est retrouvée ni dans les anémies sidéroblastiques constitutionnelles avec mutation *ALAS2* ou *GLRX5*, ni dans les lymphocytes B de LLC *SF3B1*^{MUT}. Le transcrit variant est traduit en une protéine variante détectable dans les érythroblastes primaires mutés. La protéine variante recombinante, comme la protéine sauvage, réprime la transcription de l'hepcidine dans la lignée Hep3B. Les taux plasmatiques

d'ERFE sont significativement augmentés et corrélés avec des taux bas d'hepcidine, un degré d'érythropoïèse inefficace (sTfR) et une ferritinémie élevée dans les MDS *SF3B1*^{MUT} des deux cohortes. En analyse multivariée, chez les patients faiblement transfusés (< 4 culots/8 semaines), ERFE, hepcidine et mutation *SF3B1* sont des facteurs prédictifs indépendants de l'hyperferritinémie. L'expression d'ERFE+12 diminue chez les patients en réponse érythroïde au lénalidomide. ERFE+12 est un marqueur de l'érythropoïèse clonale.

Conclusion. La production d'ERFE est intrinsèquement dérégulée dans les érythroblastes *SF3B1*^{MUT}. Son taux, inversement corrélé à l'hepcidine contrairement à GDF15, est le déterminant de l'hyperferritinémie. La découverte d'un variant d'ERFE ouvre la perspective d'un ciblage thérapeutique avec l'objectif de contrôler la charge martiale systémique des patients avec MDS *SF3B1*^{MUT}.

09-07 Les cellules stromales mésenchymateuses myélodysplasiques induisent une instabilité génomique des cellules souches hématopoïétiques par la sécrétion de vésicules extracellulaires et possèdent un profil de microARN dérégulé dû à la sous-expression de DICER1

M. Meunier^{*1}, A. Guttin², S. Ancelet³, J. Zanoni³, F. Chuffart³, S. Rousseaux³, Q. Testard⁴, J. Thevenon⁴, S. Tondeur⁵, D. Laurin⁶, V. Persoons⁷, M. Pezet⁸, K. Pernet-Gallay⁹, C. Lefebvre⁵, C. Jouzier¹, J.F. Deleuze¹⁰, K. Laulagnier², R. Sadoul², P. Hainaut³, B. Polack¹, J.Y. Cahn¹, J.P. Issartel², S. Park¹

¹ Hématologie clinique, CHU Grenoble Alpes, La Tronche ; ² Inserm U836, Grenoble Institut des Neurosciences (GIN), La Tronche ; ³ CNRS UMR 5309, Inserm U1209, Institut pour l'avancée des Biosciences, La Tronche ; ⁴ Département de génétique et procréation, CHU Grenoble Alpes, La Tronche ; ⁵ Laboratoire de génétique des hémopathies, CHU Grenoble Alpes, La Tronche ; ⁶ Équipe thérax, laboratoire TIMC-IMAG, Grenoble ; ⁷ Thérapie cellulaire, CHU Grenoble Alpes, Saint-Ismier, France, Saint-Ismier ; ⁸ Plateforme de microscopie photonique - cytométrie en flux, Institut pour l'avancée des Biosciences, La Tronche ; ⁹ Plateforme de microscopie électronique, Grenoble Institut des Neurosciences (GIN), La Tronche ; ¹⁰ Nea/cng, CEA/Centre National de Génotypage, Évry

Introduction. Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont dus à une atteinte oligoclonale de la cellule souche hématopoïétique induisant des cytopénies sanguines et une évolution vers la leucémie aiguë. Néanmoins, la physiopathologie des SMD reste mal comprise et plusieurs études mettent en avant le rôle du microenvironnement médullaire notamment des cellules stromales mésenchymateuses (CSM). La sous-expression de DICER1 (RNase de type III impliquée dans le processing des microARN) dans les ostéoprogéniteurs murins peut induire un SMD. Le but de notre étude était de démontrer que les CSM de patients SMD peuvent agir sur le phénotype et le génotype des cellules souches hématopoïétiques (CSH) et déterminer par quels mécanismes se font ces interactions.

Résultats. En utilisant un modèle de coculture de type LTC-IC avec des cellules CD34+ provenant de donneurs sains (HD) et un stroma de CSM provenant soit de patient SMD ou de donneurs sains, nous avons confirmé que les CSM SMD ont des capacités de support moindre et génèrent une hématopoïèse altérée. Nous nous sommes concentrés sur la communication intercellulaire au sein de la niche hématopoïétique via les vésicules extracellulaires (EV) et plus spécifiquement les vésicules de petites tailles (SEV) contenant la fraction exosomale connue pour véhiculer des miARN capables de moduler l'expression des ARNm dans les cellules cibles. Nous avons constaté que les SEV issues des CSM SMD agissent négativement sur les CSH en induisant une apoptose et des dommages à l'ADN dus au stress oxydatif. Un séquençage du génome entier, avec une couverture de 30x, sans étape de pré-amplification par PCR, de cellules CD34+, issues de donneurs sains, incubées pendant 7 jours avec des SEV provenant de stromas SMD ou sains a permis la détection de 800 variants en moyenne dans les CD34+ incubées avec les SEV provenant de stromas SMD vs SEV issues de stromas sains, avec une fréquence d'allèles variants supérieure à 10 %. La majorité de ces variants altère des régions non codantes. Aucune mutation n'a été détectée au sein de gènes drivers classiques connus dans les hémopathies myéloïdes. Une analyse des réarrangements structuraux par Chromium est en cours. Par cytométrie en flux sur moelle osseuse totale de patients SMD au diagnostic ou de donneurs sains, nous avons constaté que DICER1 est sous-exprimée au sein des CSM issues de patients SMD. Cette sous-expression de DICER1 s'accompagne d'un profil dérégulé de miARN dans les CSM SMD, avec 16 miARN surexprimés et 7 sous-exprimés. Nous avons confirmé par RTqPCR que le miR-486-5p était constamment surexprimé dans les CSM SMD. De plus, nous avons montré que les SEV provenant de CSM SMD induisent une surexpression du miR-486-5p au sein des CD34+saines avec lesquelles elles ont été incubées. Par séquençage d'ARN de cellules CD34+ issues de donneurs sains et surexprimant artificiellement le miR-486-5p, nous avons montré que la surexpression de ce miARN entraîne l'activation de la voie du TNFα, des voies signalisation liées à l'inflammation et l'immunité innée.

Conclusion. Dans cette étude, nous avons démontré que le micro-environnement médullaire joue un rôle important dans la pathogenèse des SMD, notamment par une dérégulation du profil des miARN au sein des CSM et des CSH due à la communication intercellulaire au sein de la niche via les vésicules extracellulaires. Ces EV favorisent un micro-environnement pro-inflammatoire favorable aux lésions génotoxiques dans les CSH.

09-08 *Insulin growth factor binding protein2*, une cytokine produite en excès par les cellules stromales mésenchymateuses de la leucémie myélomonocytaire chronique

C. Jégou^{*1}, O. Kosmider², C. Willekens³, JB. Micol³, P. Fenaux⁴, L. Ades⁴, R. Itzykson⁵, N. Droin⁶, E. Solary⁷

¹ Université Paris-Sud, laboratoire "hématopoïèse normale et pathologique", Inserm U1170, Inserm, Institut Gustave Roussy, Villejuif ;

² Hématologie biologique, AP-HP, Hôpital Cochin, Paris ; ³ Service d'hématologie clinique, Gustave Roussy, Villejuif ; ⁴ Hématologie seniors, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁵ Hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris ;

⁶ U1170, Institut Gustave Roussy, Villejuif ; ⁷ Inserm U1170, université Paris-Sud, Institut Gustave Roussy, Villejuif

Introduction. Les altérations génétiques somatiques qui caractérisent la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) sont bien identifiées. L'analyse du génome détecte chez tous les patients 2 signatures moléculaires associées au vieillissement. Le séquençage d'exome montre en moyenne 14 aberrations, 3 d'entre elles affectant des gènes mutés de façon récurrente et codant des protéines de l'épigénétique, l'épissage et la signalisation. Ces aberrations génétiques n'expliquent que 25 % du phénotype clinique et biologique de la maladie. La capacité des agents déméthylants à restaurer une hématopoïèse équilibrée sans réduire la charge mutationnelle dans les cellules du clone démontre l'importance de la composante épigénétique dans l'expression de la maladie. Ces agents déméthylants agissent non seulement sur le clone malade mais aussi sur les cellules de son microenvironnement. L'importance des altérations de cet environnement dans l'émergence, la progression et la réponse au traitement de la LMMC est encore mal connue. Au sein de cet environnement, nous explorons les cellules souches mésenchymateuses (CSM).

Résultats. Nous avons collecté les CSM de sujets atteints de LMMC au diagnostic et de sujets contrôles du même âge subissant une chirurgie orthopédique. Ces cellules ont été amplifiées en culture et étudiées au second passage. Le principal événement détecté par l'analyse du surnageant de ces cultures cellulaires par cytokine array est la production excessive de la cytokine IGFBP2 (*insulin growth factor binding protein2*), ce qui a été confirmé par ELISA. Le séquençage de l'ARN (RNA-Seq) des CSM a montré une augmentation de l'expression du gène *IGFBP2* dans les CSM de patients, validée par RTqPCR. Le séquençage de l'ARN de ces cellules a été répété l'échelle unicellulaire chez 4 patients et 4 contrôles. Cette analyse montre qu'une fraction des CSM, évaluée à 30 %, exprime des quantités anormalement élevées du transcrit *IGFBP2*. La protéine recombinante IGFBP2 n'a pas d'impact sur la prolifération des cellules souches et progénitrices CD34+ normales. En revanche, les résultats encore préliminaires suggèrent que l'addition d'IGFBP2 stimule leur autorenouvellement.

Discussion. IGFBP2 est une cytokine dont les effets biologiques s'exercent de multiples façons. Outre son rôle de récepteur leurre dans l'activité des *insulin growth factors* (IGF) auxquels elle se lie avec une grande affinité, elle régule de multiples fonctions cellulaires en interagissant avec l'intégrine $\alpha 5 \beta 1$ par son motif RGD. Nos travaux en cours explorent la capacité des cellules leucémiques de patients à induire une surproduction d'IGFBP2 par les CSM de sujets sains et la capacité d'IGFBP2 à stimuler plus efficacement l'autorenouvellement des cellules souches et progénitrices leucémiques comparées à celles de sujets sains.

Conclusion. IGFBP2 est une cytokine produite en quantité anormale par une fraction des CSM du microenvironnement médullaire des patients atteints de LMMC.

09-09 L'augmentation du nombre de monocytes classiques circulants évalué par cytométrie en flux est associée à un mauvais pronostic dans la leucémie myélomonocytaire chronique

M. Jestin^{*1}, S. Tarfi¹, B. Badaoui¹, N. Freynet¹, I. Sloma¹, A. Toma², D. Selimoglu-Buet³, O. Wagner-Ballon¹

¹ Département d'hématologie et immunologie biologiques, Hôpital Henri-Mondor AP-HP, Créteil ; ² Service d'hématologie clinique, Hôpital Henri-Mondor AP-HP, Créteil ; ³ Inserm U1170, université Paris-Sud, Institut Gustave Roussy, Villejuif

Introduction. Une accumulation relative de monocytes classiques (MO1, CD14++CD16-) ≥ 94 % des monocytes totaux circulants, déter-

minée par cytométrie en flux, permet de distinguer la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) des autres étiologies de monocytose périphérique avec une spécificité de 94,1 % (1) et une sensibilité de 92,8 % (2). Cette signature phénotypique est indépendante du sous-type de la LMMC selon la WHO, de la classification FAB (forme myélodysplasique MD vs myéloproliférative MP), des anomalies cytogénétiques et/ou moléculaires et de la valeur de la monocytose circulante. Jusqu'à présent, aucune relation entre cette accumulation de MO1 et le pronostic de la maladie n'a été établie chez les patients atteints de LMMC.

Patients et méthodes. Parmi les patients atteints de LMMC inclus dans nos études précédemment publiées (1,2), nous avons sélectionné les patients diagnostiqués dans un même centre (entre janvier 2014 et mars 2017) afin d'en faciliter l'analyse de suivi. Une réanalyse des données brutes de cytométrie en flux a été effectuée en aveugle pour l'ensemble des patients. Le pourcentage et le nombre de MO1 au sein des monocytes totaux ont été établis après application d'une stratégie d'exclusion. L'ensemble des paramètres hématologiques, cytogénétiques $\pm$ moléculaires ont été collectés pour permettre la classification des patients et le calcul du score CPSS. Le suivi des patients a été réalisé jusqu'en décembre 2018.

Résultats. Soixante-douze patients atteints de LMMC âgés de 74 ± 10 ans (sex-ratio : 2,4) ont été classés en 25 LMMC-0 (35 %), 37 LMMC-1 (51 %) et 10 LMMC-2 (14 %), avec 56 formes dysplasiques (78 %). Le calcul du score CPSS, possible dans 64 cas, a permis de différencier les patients en catégorie pronostique *low* ($n = 29$), *intermediate-1* ($n = 20$) et *intermediate-2* ou *high* ($n = 15$ dont 2 *high*). Lors du diagnostic, il n'a pas été observé d'augmentation significative de la valeur absolue de la monocytose sanguine entre les sous-types de LMMC (LMMC-0 : $2,0 \pm 1,6$ G/L ; LMMC-1 : $2,7 \pm 3,7$ G/L ; LMMC-2 : $2,2 \pm 1,5$ G/L). L'analyse des sous-populations monocytaires n'a pas montré non plus de différence significative du pourcentage de MO1 (LMMC-0 : $95,2 \pm 4,1$; LMMC-1 : $96,0 \pm 3,3$; LMMC-2 : $96,6 \pm 2,3$), ni du nombre de MO1 circulants (LMMC-0 : $1,9 \pm 1,5$ G/L ; LMMC-1 : $2,6 \pm 3,4$ G/L ; LMMC-2 : $2,1 \pm 1,4$ G/L). Une monocytose plus importante a été retrouvée chez les formes MP ($5,1 \pm 5,2$ G/L vs $1,6 \pm 0,6$ G/L pour les formes MD ; $p < 0,001$), ainsi qu'un nombre de MO1 circulants plus élevé ($4,9 \pm 4,8$ G/L vs $1,5 \pm 0,6$ G/L ; $p < 0,001$) sans différence de pourcentage de MO1 ($96,0 \pm 3,2$ % vs $95,1 \pm 4,3$ %). Une augmentation du nombre de MO1 circulants était associée à un score de mauvais pronostic au diagnostic (*intermediate-2* ou *high* : $3,8 \pm 5,0$ G/L vs *low* : $1,5 \pm 0,6$ G/L ; $p < 0,01$). Parmi les 53 patients pour lesquels au minimum un point de suivi était disponible, une augmentation du nombre de MO1 circulants au diagnostic était également associée à une mortalité plus élevée à 12 mois ($p = 0,04$). La durée médiane de suivi était de 26,8 mois (IQR, 16,6-38,7).

Conclusion. Ce travail préliminaire démontre qu'une augmentation du nombre de MO1 circulants au diagnostic est associée à un mauvais pronostic dans la LMMC, indépendamment du pourcentage relatif des MO1. Ces résultats nécessiteront d'être validés sur l'ensemble des patients inclus dans nos précédentes études.

09-10 La diminution du pourcentage relatif des MO3 slan+ évalué par cytométrie en flux permet le diagnostic des leucémies myélomonocytaires chroniques associées à un état inflammatoire

S. Tarfi¹, B. Badaoui¹, N. Freynet¹, M. Morabito², J. Lafosse², A. Toma³, G. Etienne⁴, JB. Micol⁵, P. Fenaux⁶, E. Solary², D. Selimoglu-Buet², O. Wagner-Ballon^{*1}, GFM

¹ Département hématologie et immunologie biologique, Hôpital Henri-Mondor (AP-HP), Créteil Cedex ; ² Université Paris-Sud, laboratoire "hématopoïèse normale et pathologique", Inserm U1170, Inserm, Institut Gustave Roussy, Villejuif ; ³ Hématologie clinique et thérapie cellulaire, Hôpital Henri Mondor, Créteil ; ⁴ Service d'hématologie, Institut Bergonié, Bordeaux ; ⁵ Service d'hématologie clinique, Gustave Roussy, Villejuif ; ⁶ Hématologie seniors, Hôpital Saint-Louis, Paris

Introduction. La leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) se caractérise par une accumulation relative de monocytes classiques (MO1, CD14++CD16-) ≥ 94 % des monocytes totaux circulants aux dépens des monocytes non classiques (MO3, CD14^{faible}CD16+) (1). Toutefois, un état inflammatoire associé (observé jusqu'à 20 % des patients atteints de LMMC) peut augmenter le pourcentage (%) de monocytes intermédiaires (MO2, CD14++CD16+, aspect caractéristique « en bulbe ») entraînant une diminution du % relatif de MO1 sous le seuil diagnostique de 94 % (2). Dans ce cas, la diminution du % relatif de MO3 persiste, et pourrait donc être utilisée comme critère diagnostique. Cependant, le manque de reproductibilité du fenêtrage de cette population limite l'utilisation de ce paramètre en routine. Nous nous sommes donc intéressés à un marqueur spécifique des MO3, la P-sélectine slan, et avons évalué son intérêt clinique

dans l'exploration des monocytoses périphériques et pour le diagnostic des LMMC, notamment en phase inflammatoire.

Patients et méthodes. De novembre 2017 à juillet 2018, 37 sujets sains contrôles, 35 sujets âgés contrôles, 26 patients présentant une monocytose réactionnelle et 56 patients atteints de LMMC ont été étudiés selon le protocole précédemment décrit (1) après marquage du sang total ou des cellules mononucléées avec les anticorps anti-CD45, CD2, CD56, CD24, CD14, CD16 et anti-slan. Les échantillons ont été analysés avec les cytomètres Navios (Beckman-Coulter) ou Fortessa (Becton-Dickinson).

Résultats. Dans un premier temps, nous avons étudié chez les sujets contrôles l'expression du marqueur slan par les trois principales populations leucocytaires circulantes. Slan est exprimé uniquement par les monocytes totaux ($6,5 \pm 3,2\%$), sans expression par les polynucléaires neutrophiles ($0,05 \pm 0,2\%$), ni par les lymphocytes ($0,3 \pm 0,2\%$), notamment les cellules NK ($0,1 \pm 0,2\%$). Parmi les sous-populations monocytaires, slan est exprimé principalement par les MO3 ($95,7 \pm 3,4\%$). En revanche, seule une fraction des MO3 ($51,7 \pm 12,0\%$) est slan+, correspondant aux monocytes ayant la plus faible expression de CD14.

Dans un second temps, nous avons étudié le % des MO3 slan+ en parallèle du % des MO1. Quarante-huit des 56 patients atteints de LMMC présentaient bien une accumulation de MO1 $\geq 94\%$. Chez les huit patients atteints de LMMC avec un % de MO1 $< 94\%$, un contexte inflammatoire était associé (CRP : $68,3 \pm 80,5$ mg/L) ainsi qu'un aspect « en bulbe ». Pour l'ensemble des patients LMMC, une diminution significative du % des MO3 slan+ ($0,4 \pm 0,5\%$) a été retrouvée par rapport aux contrôles ($5,7 \pm 3,3\%$) et aux patients ayant une monocytose réactionnelle ($4,3 \pm 3,0\%$). Et particulièrement, les patients atteints de LMMC avec un % de MO1 $< 94\%$ et un état inflammatoire associé conservaient un % de MO3 slan+ très faible ($0,5 \pm 0,4\%$). Enfin, nous avons établi une valeur seuil du % de MO3 slan+ à $1,7\%$ à l'aide d'un test AUROC, permettant d'améliorer la sensibilité du test diagnostique par cytométrie en flux à 100% vs 86% , tout en conservant une spécificité de 94% .

Conclusion. Nous décrivons ici un nouveau paramètre permettant le diagnostic de la LMMC par cytométrie en flux à partir du sang circulant. Ainsi, la diminution du % relatif des MO3 slan+ $< 1,7\%$, associé à la quantification relative des MO1, s'avère particulièrement utile chez les patients atteints de LMMC en phase inflammatoire.

09-11 Identification et analyse fonctionnelle de *CADM1*, unique gène exprimé de la région minimale du chromosome 11 des syndromes myélodysplasiques avec délétion 11q

M. Lafage-Pochitaloff¹, N. Prade², P.Y. Juvin², L. Largeaud², S. Lagarde², V. BACCINI³, V. De Mas⁴, C. Rideau², J. Boudjarane⁵, V. Eclache⁶, S. Struski⁷, I. Radford-Weiss⁸, F. Mugneret⁹, G. Amey¹, H. Antoine-Poirer¹⁰, C. Gervais¹¹, A. Ittel¹², C. Bastard¹³, B. Gerby¹⁴, C. Broccardo¹⁴, D. Penher¹⁵, E. Delabesse^{*2}, Groupe francophone de cytogénétique hématologique GFCH

¹ Laboratoire de cytogénétique oncogénétique, Hôpital de la Timone, Marseille ; ² Hématologie, Institut Universitaire du Cancer Toulouse Oncopole, Toulouse ; ³ Laboratoire d'Hématologie Immunologie, Nouveau CHU de Pointe-à-Pitre/Les Abymes, Les Abymes, Guadeloupe ; ⁴ IUCT, Inserm, Toulouse ; ⁵ Oncopole, CHU Toulouse - Casselardit Ancely, Toulouse ; ⁶ Laboratoire d'hématologie, Hôpital Avicenne, Bobigny ; ⁷ Laboratoire d'hématologie, IUCT Oncopole, Toulouse ; ⁸ Laboratoire hématologie biologique, Hôpital Necker, Paris ; ⁹ Service de génétique, CHU le Bocage, Dijon ; ¹⁰ Génétique, Centre de génétique UCL, Bruxelles, Belgique ; ¹¹ Laboratoire d'hématologie, CHRU Hôpitaux Universitaires Strasbourg, Strasbourg ; ¹² Laboratoire d'hématologie, CHU de Haute-pierre, Strasbourg ; ¹³ Laboratoire de génétique oncologique, Centre Henri Becquerel, Rouen ; ¹⁴ Équipe : altération des facteurs de transcription dans les leucémies aiguës, Centre de Recherches en Cancérologie de Toulouse - CRCT, Toulouse ; ¹⁵ Inserm U918, CENTRE HENRI BECQUEREL, Rouen

Introduction. Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont associés à des anomalies chromosomiques récurrentes principalement des délétions hétérozygotes comme les délétions complètes ou partielles des chromosomes 5, 7 ou 11. Les del(11q) sont des anomalies rares ($0,6$ à 2%) de pronostic favorable si celles-ci sont isolées. Une étude détaillée du Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH) a identifié 115 cas de SMD avec del(11q). Dans la majorité des cas ($96/115$), la del(11q) est retrouvée au sein de caryotypes non-complexes soit de manière isolée ($57/115$), soit associée à une autre anomalie ($39/115$) principalement une del(5q) (22 cas), trisomie 8 (9 cas) et perte de l'Y ($8/51$ patients masculins).

Résultats. Les del(11q) sont de taille variable. L'exploration par FISH a permis de montrer que celles-ci sont interstitielles et s'étendent de 11q13,3 à 11q24,3 comportant les gènes *ATM* et *KMT2A* (*MLL*). Afin de préciser la

zone minimale de délétion, le contenu génique du chromosome 11 a été analysé par FISH et CGH array dans les échantillons de patients *ATM*-/*KMT2A*- ou *ATM*+/*KMT2A*-. Ceci a permis de préciser la région minimale commune à tous les patients comportant uniquement 2 gènes, *CADM1* et *NPPE2*. Seul *CADM1* est exprimé durant l'hématopoïèse. *CADM1*, appelé aussi *TSLC1* (*tumor suppressor in lung cancer 1*) fut identifié initialement dans des délétions récurrentes du chromosome 11 dans des cancers du poumon.

Nous avons étudié l'impact de la del(*Cadm1*) sur la différenciation hématopoïétique à l'aide des cellules ES murines *Cadm1*+/- ou par technique CRISPR/cas9 ciblant *Cadm1* dans les cellules souches et progénitrices médullaires de souris (KSL). Nos études fonctionnelles chez la souris indiquent que la del(*Cadm1*) n'altère pas leur potentiel de reconstitution hématopoïétique multiligneage après transplantation mais est associée à une diminution significative du compartiment des cellules myéloïdes. Ces résultats indiquent que l'inactivation de *Cadm1* au sein des cellules souches/progéniteurs hématopoïétiques induit un phénotype myélodysplasique *in vivo* chez la souris.

Conclusion. Nos données suggèrent que la perte du gène *Cadm1* dans les syndromes myélodysplasiques avec délétions du bras long du chromosome 11 est un événement essentiel de la pathologie.

09-12 Évaluation de la dysérythropoïèse par cytométrie en flux dans les syndromes myélodysplasiques : comparaison de deux protocoles avec ou sans lyse des hématies utilisant un marqueur nucléaire

B. Badaoui^{*1}, H. Germain¹, N. Freynet¹, A. Toma², S. Tarfi¹, O. Wagner-Ballon¹

¹ Département hématologie et immunologie biologiques, Hôpital Henri-Mondor (AP-HP), Créteil Cedex ; ² Hématologie clinique et thérapie cellulaire, Hôpital Henri Mondor, Créteil

Introduction. Le groupe de travail ELN/IMDSF_{low} a récemment publié l'utilité de l'analyse immunophénotypique de la dysérythropoïèse dans le cadre des syndromes myélodysplasiques (SMD), à partir d'échantillons médullaires après lyse des hématies (1). Cette étude multicentrique a rapporté que le CV du CD36, le CV du CD71, l'intensité moyenne de fluorescence (MFI) du CD71 et le pourcentage d'érythroblastes CD117+ parmi les érythroblastes totaux (%CD117+) permettaient la meilleure discrimination entre les patients atteints de SMD de ceux présentant des cytopénies non clonales. Ainsi, en cas de SMD, les CV du CD36 et du CD71 sont inférieurs à la valeur seuil, à l'inverse de la MFI du CD71. Seule la valeur du %CD117+ peut être inférieure ou supérieure à la valeur seuil. L'analyse des CV du CD36 et du CD71 en ayant recours à un marqueur nucléaire (Cytrak) s'affranchissant de l'étape de lyse des hématies a aussi été proposée (2).

Matériels et méthodes. L'objectif principal de ce travail a été d'évaluer le score cytométrique de dysérythropoïèse publié par le groupe ELN/IMDSF_{low} pour le diagnostic des SMD, en comparant un protocole avec lyse sans lavage et un protocole sans lyse en ayant recours à un marqueur nucléaire. Cent six patients ont été inclus dans cette étude prospective : 19 patients sans cytopénie (contrôles normaux, N), 56 patients sans SMD avec au moins une cytopénie (contrôles pathologiques, CP) et 31 patients atteints de SMD ou de LMMC (SMD). Les prélèvements médullaires nécessaires à l'étude cytométrique ont été collectés sur tube EDTA ; environ 500 µL ont été prélevés immédiatement après les gouttes destinées à l'analyse cytologique. Les anticorps anti-CD45, CD33, CD36, CD64, CD71, CD117 et le Cytrak ont été utilisés pour marquer les cellules suivant deux protocoles (avec et sans lyse des hématies). L'acquisition des données a été effectuée sur le cytomètre Navios et l'analyse des données sur le logiciel Kaluza.

Résultats. La comparaison des valeurs obtenues pour les quatre paramètres a été possible grâce à l'utilisation de mêmes volumes de prélèvements et d'anticorps (autre le Cytrak) ainsi que des réglages identiques des PMT. Le protocole avec lyse sans lavage a permis d'obtenir des proportions d'érythroblastes, monocytes, lymphocytes et myéloblastes significativement plus importantes qu'avec le protocole sans lyse. Pour tous les paramètres du score et pour l'ensemble des patients inclus, des différences significatives ont été obtenues entre les deux protocoles. Le CV du CD36 et du CD71 et le %CD117+ étaient significativement plus élevés avec le protocole sans lyse ; à l'inverse de la MFI du CD71 qui était significativement plus basse avec le même protocole. Enfin, les sensibilité et spécificité étaient meilleures avec le protocole avec lyse sans lavage, avec une définition des seuils réalisée indifféremment à partir des patients N ou CP et une méthode de calcul pondérée (score positif ≥ 5).

Conclusion. Le score de dysérythropoïèse proposé par le groupe ELN/IMDSF_{low} permet d'obtenir de meilleures sensibilité et spécificité en utilisant un protocole avec lyse des hématies sans lavage par rapport à un protocole sans lyse utilisant un marqueur nucléaire. Par ailleurs, la définition des seuils à partir de contrôles normaux (N) ou pathologiques (CP) conduit à des résultats comparables.

09-13 Analyse des mutations du gène SETBP1 au sein du panorama génomique des hémopathies myéloïdes : preuve d'une association fréquente avec les mutations d'ASXL1

C. Desterke^{*1}, X. Fund², J. Favier³, E. Balducci¹, C. Borie⁴, A. Marfaing Koka⁵, A. Turhan⁶, A. Bennaceur-Griscelli⁷

¹ Service d'hématologie Paul Brousse Kremlin Bicêtre, plateforme Oncomolpath, Université Paris Sud XI- Faculté de Médecine, Villejuif ; ² Service d'hématologie Paul Brousse Kremlin Bicêtre, plateforme Oncomolpath, AP-HP, Villejuif ; ³ Service d'hématologie Paul Brousse Kremlin Bicêtre, plateforme Oncomolpath, Université Paris Sud XI- Faculté de Médecine ; AP-HP, Villejuif ; ⁴ Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Paul-Brousse (AP-HP), Villejuif ; ⁵ Hématologie biologique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart ; ⁶ Inserm U935 - service d'hématologie, Hôpital Bicêtre AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre ; ⁷ Inserm U935 - service d'hématologie, Hôpital Bicêtre & Paul Brousse AP-HP - Université Paris Saclay, Le Kremlin-Bicêtre et Villejuif

Introduction. SETBP1 (SET-Binding-Protein 1) est un partenaire de liaison de SET régulant l'autorenouvellement des cellules souches leucémiques (LSC) en agissant de concert avec les protéines HOX. Les mutations somatiques de SETBP1 ont été rapportées dans multiples hémopathies myéloïdes comprenant les néoplasies myéloprolifératives (NMP), les syndromes myélodysplasiques (SMD) incluant notamment les leucémies myélonocytaires chroniques (LMMC) adultes et juvéniles ainsi que leucémies aiguës myéloblastiques (LAM). Ce travail rapporte les mutations de SETBP1 et ses associations à d'autres mutations génomiques à partir d'un panel de 30 gènes connus comme impliqués dans les pathologies myéloïdes d'une cohorte de 57 patients suivis pour des NPM, SMD et LMMC au sein d'un groupe hospitalo-universitaire.

Patients et méthodes. Les ADN sanguins et médullaires des 57 patients ont été traités par le kit de capture (Myeloïd Solution Sophia genomics) puis soumis au séquençage NGS (*next generation sequencing*) sur le Miseq (Illumina). Les fichiers fastq générés ont été analysés avec une suite de logiciels libres de droit : bowtie2, samtools, picardtools, bedtools et GATK 3.1 en suivant les bonnes pratiques du Broad Institute.

Résultats. L'ensemble des patients analysés avait un âge moyen de 65 ans (34-97 ans) avec un ratio H/F de 0,89 et une répartition des hémopathies myéloïdes de 37 % NPM, 14 % LMMC et 9 % de SMD. Des variations pathologiques somatiques de SETBP1 ont été retrouvées associées à celles d'ASXL1 dans 100 % des patients de cette cohorte. D'autres altérations y étaient associées. Une patiente mutée SETBP1 (p. D868N, VAF = 15%) présentant une LMC en rémission a développé par la suite un syndrome myélodysplasique à type d'anémie sidéroblastique avec des altérations associées touchant SF3B1 (p. K700E), ASXL1 (p. G642fs), RUNX1 (p. L29S). Chez un patient avec un SMP sans mutation *JAK2*^{V617F}, la mutation SETBP1 (p. D868N, VAF = 35%) était associée à des altérations touchant EZH2 (p. D146H), SRSF2 (p. F57Y), CALR (p. D392 insertion), ASXL1 (G642fs). Un autre patient présentant une forme frontière SMD/SMP avec des anomalies associées touchant JAK2 (p. V617F, faible VAF = 2%), NRAS (p. G13D), EZH2 (p. Y94C), ASXL1 (p. E484X), U2AF1 (p. Q157R) ont été mises en évidence. L'altération pathologique de SETBP1 touchant la position protéique p. D868N était la plus fréquente chez ces patients. Chez le patient de 83 ans présentant une forme frontière SMD/SMP associant une neutropénie, une anémie et une hyperthrombocytose, il a été retrouvé deux mutations pathologiques polyclonales en tandem dans l'exon 4 de SETBP1 : p. G870S et p. I871T

appartenant à différents clones avec des fréquences alléliques respectives de 9 et 28 %.

Conclusion. Le séquençage ciblé de cette cohorte de patients avec diverses pathologies myéloïdes confirme la forte association entre les altérations de SETBP1 et d'ASXL1. Nous décrivons l'association de cette anomalie à d'autres altérations, et en particulier pour la première fois avec la présence d'un mosaïcisme biclonal incluant deux mutations pathologiques en tandem sur l'exon 4 de SETBP1 dans une forme frontière SMD/SMP.

09-14 Syndromes myélodysplasiques et dépendance transfusionnelle, expérience du service d'hématologie clinique de Monastir

OK. Ghourabi*, W. Guetari, S. Boukhris, S. Dimassi, N. Slama, MA. Laatiri
Hématologie clinique, EPS Fattouma Bourguiba Monastir, Monastir, Tunisie

Introduction. Les syndromes myélodysplasiques (SMD) représentent un groupe hétérogène d'affections clonales des cellules souches hématopoïétiques. Elles sont caractérisées par une hématopoïèse inefficace. Jusqu'à 90 % des patients atteints de SMD doivent recevoir une transfusion de concentrés de globules rouges (CGR) parmi lesquels, 30 à 45 % deviennent dépendants des transfusions (DT). Le but de cette étude est de partager l'expérience de notre service d'hématologie avec les patients atteints de SMD DT.

Patients et méthodes. Ceci est une analyse rétrospective des patients diagnostiqués dans le service d'hématologie clinique de Monastir avec un SMD et qui sont DT. Les données cliniques recueillies sont : la circonstance de découverte, le dosage de la ferritinémie, le dosage des vitamines B9 et B12, la fonction rénale et thyroïdienne, le résultat du myélogramme et du caryotype médullaire, la classification selon les critères de l'OMS 2016, l'évaluation du pronostic selon le *revised international prognostic score system* (R-IPSS), le traitement et l'évolution. La dépendance transfusionnelle a été définie comme étant > 1 unité de transfusion de concentrés érythrocytaires toutes les 8 semaines sur une période de 4 mois.

Résultats. Quinze patients ont été inclus dans cette étude. Le sex-ratio = 1. L'âge variait entre 55 et 88 avec un âge médian de 74 ans. La circonstance de découverte a été un syndrome anémique fonctionnel pour tous les patients. À l'hémogramme, l'anémie a été arégénérative chez tous les patients. Elle a été normocytaire chez 11 patients et macrocytaire chez 4 patients. Le frottis sanguin a mis en évidence des signes de dysérythropoïèse pour 11 patients. Le pourcentage de blastes circulants a été inférieur à 5 % pour tous les patients. La ferritinémie a été normale ou augmentée et 5 patients ont présenté un niveau dépassant 1 000 µg/L. Le caryotype médullaire a été réalisé chez 12 patients. Il a révélé une trisomie 8 chez un patient et a été normal pour le reste des patients. Le traitement a été basé sur des transfusions de CGR. La dépendance transfusionnelle a été observée en moyenne après 7,4 mois du diagnostic. Les complications liées aux transfusions ont été l'apparition d'alloanticorps pour 2 patients. Un seul patient a évolué vers une leucémie myéloïde aiguë. Aucun patient n'a reçu un traitement par l'érythropoïétine.

Conclusion. La dépendance transfusionnelle a un impact négatif sur la qualité de vie des patients. Bien que les SMD soient de mieux en mieux compris au cours des dernières années, aucun traitement curatif n'est mis en place.

Tant que le contrôle du clone pathologique n'est toujours pas possible, les SMD resteront une pathologie lourde aussi bien pour le patient que le clinicien.