

La maladie résiduelle dans les leucémies aiguës myéloïdes : aspects cliniques

Thomas Cluzeau, Université Côte d'Azur, service d'hématologie clinique, CHU de Nice, Nice, France

Tirés à part : T. Cluzeau
cluzeau.t@chu-nice.fr

Liens d'intérêt : Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Minimal residual disease in acute myeloid leukemia: clinical aspects

Maladie résiduelle, leucémie aiguë myéloïde
Minimal residual disease, acute myeloid leukemia

Résumé

L'évaluation de la maladie résiduelle (MRD) est une composante de la médecine de précision que nous proposons aux patients traités pour une leucémie aiguë myéloïde (LAM). Néanmoins, il existe de nombreuses techniques d'évaluation de la MRD, appliquées à des temps différents et au cours de schémas de traitement différents, et conduisant à un impact pronostique voire thérapeutique. Cet article a pour but d'illustrer les différentes techniques d'évaluation de la MRD dans quelques sous-entités de LAM telles que la LAM avec mutation de *NPM1*, la LAM à *core binding factor* et la LAM sans marqueur moléculaire.

Abstract

Precision medicine include quantification of minimal residual disease (MRD) and is today proposed at most of the acute myeloid leukemia (AML) patients. Nevertheless, several tools are available, used at different timing depending of therapeutic schedules. MRD could have prognostic and/or theranostic impact. This review listed all different technics to quantify MRD in subgroups of AML like AML *NPM1* mutated, CBF AML and AML without molecular abnormality.

La première application de la maladie résiduelle (MRD) dans les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) est de confirmer l'obtention d'une rémission complète (RC) de façon plus précise que la morphologie. L'European Leukemia Net (ELN) a publié récemment (2017) des recommandations incluant la RC avec MRD négative comme nouveau critère de réponse [1].

La seconde application est pronostique, la MRD étant indicatrice de la probabilité de rechute. Actuellement pour les marqueurs moléculaires, cette partie est restreinte à certaines sous-entités de LAM telles que les leucémies aiguës promyélocyaires (LAP), aux leucémies à *core binding facteur* (CBF) et les leucémies à *NPM1* muté. Pour les autres patients, l'ELN 2017 recommande l'utilisation de la cytométrie en flux (CMF) [1]. Ce choix peut éventuellement être discutable s'il existe d'autres marqueurs moléculaires et que ceux-ci augmentent au cours du temps alors que le patient demeure en rémission cytologique. Quel que soit le test utilisé ou le moment où celui est réalisé, une MRD positive est toujours significativement associée à un risque plus élevé de rechute, dans les études publiées. Toutefois, elle reste rarement utilisée à l'échelle individuelle car :

- d'une part, un résultat positif ne prédit pas systématiquement une rechute, ni un résultat négatif un risque nul de rechute,



- d'autre part, les seuils décisionnels, les techniques et les moments clés du traitement où la MRD doit être mesurée sont très variables d'une étude à l'autre
- une homogénéisation des pratiques devant encore être réalisée, au niveau européen voire international.

Cas n° 1

Un patient de 32 ans avec une leucémie aiguë promyélocytaire en première rémission complète avec une maladie résiduelle postinduction négative

Quel est le point de maladie résiduelle le plus important dans le suivi ?

Le point de MRD le plus important dans les LAP est celui effectué en fin de consolidation. Une PCR négative en fin de consolidation est associée à un risque très faible de rechute et ceci indépendamment du traitement utilisé : chimiothérapie + acide tout-transrétinoïque (ATRA) ou ATRA + trioxyde d'arsenic (ATO). Si la MRD n'a pas de valeur pronostique durant les phases de traitement, il en est autrement après l'arrêt du traitement. En effet, la « repositivité » d'une MRD confirmée à un mois d'intervalle prédit une rechute dans des délais plus ou moins courts. Pour les patients traités par ATRA + ATO, il est recommandé de réaliser un suivi à partir d'un prélèvement médullaire jusqu'à obtention d'une MRD négative et jusqu'à la fin du traitement pour les LAP de risque faible et intermédiaire. Pour les patients de haut risque, il est recommandé de suivre les patients pendant deux ans à partir de prélèvements sanguins et médullaires indépendamment du taux de MRD.

Cas n° 2

Un patient de 53 ans avec une leucémie aiguë myéloïde à *core binding factor* α avec t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1 et mutations de FLT3-ITD et NRAS en biologie moléculaire, en première rémission complète avec une diminution de moins de 3 log10 en post-consolidation n° 1

Quel critère retenir : log réduction ou négativité de la maladie résiduelle RUNX1-RUNX1T1 ?

Le taux de transcrite initial n'a pas d'impact pronostique. Durant la phase de traitement, il n'existe pas de consensus sur le type de prélèvement à utiliser (sanguin *versus* médullaire), ni sur le moment auquel la MRD doit être effectuée (fin de l'induction ou après une ou deux cures de consolidation). Une négativité précoce de la MRD n'a pas de valeur pronostique. Dans le protocole CBF-2006, la réduction de plus de 3 log par rapport au diagnostic en fin d'induction ou après une cure de consolidation à partir d'un prélèvement médullaire était associée à un risque de rechute significativement moins important [2]. Dans ce sous-groupe de LAM, le consensus est que la persistance d'une MRD positive à partir d'un prélèvement sanguin et non médullaire en fin de traitement est associée à un risque de rechute très élevé (51 %) à quatre ans, de même que la repositivité – d'une MRD négative en MRD positive – à partir d'un prélèvement sanguin et confirmée à un mois d'intervalle après la fin du traitement est associée à un taux de rechute de 87 % à quatre ans. À ce jour, il n'y a aucune recommandation pour la prise en charge de ces rechutes moléculaires : traitement préemptif ou traitement à la rechute hématologique.

Y a-t-il un intérêt à suivre le patient sur les mutations de FLT3 et/ou NRAS ?

Le groupe expert de l'ELN ne recommande pas l'utilisation de FLT3-ITD ou FLT3-TKD comme marqueur de suivi en biologie moléculaire. En effet, la technique

d'évaluation est compliquée et peu reproductible [3]. Les mutations telles que celles de NRAS, de KRAS, d'IDH1, d'IDH2 ou de MLL-PTD, et l'expression d'EV11, ne doivent pas également être utilisées comme marqueur de MRD. La MRD RUNX1-RUNX1T1 par PCR quantitative avec transcriptase inverse (RT-qPCR) a la même sensibilité que la MRD par séquençage de nouvelle génération (NGS) avec un seuil de sensibilité entre 10^{-3} et 10^{-5} . La MRD RUNX1-RUNX1T1 par RT-qPCR est bien standardisée et reproductible dans tous les laboratoires certifiés. Elle est à recommander, si elle est réalisable, de préférence aux autres techniques de MRD. Le temps d'évaluation le plus performant est après consolidation n°1 [4].

Cas n° 3

Un patient de 24 ans avec une leucémie aiguë myéloïde à *core binding factor* β avec inv(16)/CBFB-MYH11 en première rémission complète avec une diminution de maladie résiduelle de plus de 3 log10 en postconsolidation n° 1

La maladie résiduelle à *core binding factor* β a-t-elle la même valeur que la maladie résiduelle à *core binding factor* α ?

Comme pour les LAM à CBF α avec t(8;21), le taux de transcrite initial ou une MRD négative précoce n'ont pas de valeur pronostique. Dans le protocole CBF-2006, une réduction de moins de 3 log10 en fin d'induction ou après une cure de consolidation était associée à un taux de rechute significativement plus élevé. Concernant les données en fin de traitement ou après arrêt de traitement, il n'existe aucune donnée dans la littérature à notre connaissance [4].

Cas n° 4

Une patiente de 42 ans avec une leucémie aiguë myéloïde *NPM1* mutée et surexpression de *WT1* en première rémission complète avec une maladie résiduelle *NPM1* négative et *WT1* positive en postinduction est présentée à la réunion de concertation pluridisciplinaire d'allogreffe

La maladie résiduelle *NPM1* a-t-elle une valeur théranostique ?

De nombreux articles ont démontré la valeur prédictive d'une MRD négative sur l'incidence de rechute ou la survie globale. Néanmoins, faute d'homogénéisation dans l'expression des résultats ou le moment où est réalisée la MRD, il était difficile, jusqu'à une date récente, de préconiser une pratique commune. Deux publications récentes [5, 6] ont permis de faire évoluer la place de la MRD dans la prise en charge des patients. Dans ces études, bien que la sensibilité soit meilleure à partir d'un prélèvement médullaire que sanguin avec 0,5 à 1 log de différence, la MRD effectuée à partir d'un prélèvement sanguin est plus prédictive que la MRD à partir d'un prélèvement médullaire. Le point commun de ces deux études est qu'une MRD négative [5] ou une diminution de plus de 4 log [6] après deux cures de chimiothérapie est associée à un très faible risque de rechute indépendamment du statut de FLT3. Par ailleurs, Balsat *et al.* ont montré l'absence de bénéfice de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques CSH chez les patients *NPM1*⁺/*FLT3ITD*⁺ ayant obtenu une réduction de 4 log10 sur le sang [6]. À notre connaissance, il s'agit de la première application en pratique clinique puisque c'est cette stratégie qui est désormais appliquée dans le cadre du protocole national français BIG1.

Quel choix entre la maladie résiduelle *NPM1*, *WT1* et la cytométrie en flux ?

L'ELN a émis, en 2017, des recommandations pour l'évaluation de la MRD dans les LAM [1]. Il est recommandé de privilégier un marqueur moléculaire, si disponible, à un suivi en CMF. La MRD en CMF peut se faire en utilisant différents panels. Le



panel LAIP (pour *leukemia-associated immunophenotypes*) permet d'identifier des cellules avec un phénotype leucémique qui diffère des cellules hématopoïétiques normales [7, 8]. Les marqueurs potentiels utilisés sont CD2, CD4, CD7, CD13, CD15, CD19, CD33, CD34, CD45, CD56, CD123, CD117 et HLA-DR. L'ELN a proposé d'utiliser un panel MRD contenant CD7, CD11b, CD13, CD15, CD19, CD33, CD45, CD56, CD117, HLA-DR et, si nécessaire, CD64/CD11b/CD14/CD4/CD34/HLA-DR/CD33/CD45. Le seuil de sensibilité de la technique varie de 10^{-3} à 10^{-5} , mais un seuil à 1 % est retenu pour définir la positivité ou la négativité du test. Il est possible d'utiliser d'autres panels, tels que le panel LSC (pour *leukemic stem cells*) permettant d'identifier et de quantifier une population de cellules souches leucémiques qui est associée à un taux de rechute plus élevé [9]. Sur le plan moléculaire, il est recommandé de ne pas utiliser la surexpression de WT1 comme marqueur de MRD si d'autres marqueurs sont disponibles chez le patient. En effet, plusieurs publications ont mis en évidence que la MRD WT1 était pronostique mais n'avait pas d'impact thérapeutique, les patients avec une MRD WT1 négative gardant un taux de rechute > 30 %. Cilloni *et al.* ont montré que les patients présentant une diminution de MRD WT1 $\geq 2 \log_{10}$ avaient un taux de rechute significativement plus faible que ceux avec un taux de MRD < $2 \log_{10}$ (40 versus 70 %, $p = 0,004$) [10]. Chez notre patiente, l'évaluation de la MRD devra donc se faire sur NPM1. Un nouveau critère de réponse a été introduit récemment : la RC avec MRD négative. Cette évaluation doit se faire en postinduction et le plus près du traitement de consolidation. L'évaluation de la MRD devra ensuite être effectuée tous les trois mois pendant 24 mois après la fin du traitement sur le sang et sur la moelle selon l'ELN mais une évaluation seule sur le sang peut être effectuée toutes les quatre à six semaines.

Cas n° 5

Un patient de 58 ans avec une leucémie aiguë myéloïde, caryotype normal et présence de mutation de *NRAS*, de *TET2* et de *SRSF2* en biologie moléculaire

Comment suivre les patients en maladie résiduelle sans marqueur moléculaire ?

D'une manière générale, l'ELN 2017 recommande une approche par CMF [1]. Globalement, la communauté hématologique française a pris du retard dans le développement du suivi des LAM par CMF. Ce retard est actuellement en passe d'être comblé avec la mise en place de plusieurs groupes de travail qui ont conduit à des recommandations. Comme pour l'évaluation de la MRD en biologie moléculaire, une MRD négative à partir d'un prélèvement médullaire et après deux cures de chimiothérapie est associée à un meilleur pronostic.

Dans ce sous-groupe de patients, parmi les patients ayant un marqueur moléculaire, il est recommandé un procéder à un suivi moléculaire à partir de prélèvements médullaires et sanguins après deux cures de chimiothérapie et en fin de traitement. La standardisation est compliquée, aujourd'hui, par l'absence de kits recommandés.

Une autre possibilité est d'effectuer un suivi des mutations par NGS [11]. Plusieurs articles ont démontré la faisabilité avec néanmoins quelques restrictions : le problème des hématopoïèses clonales à potentiel indéterminé ou CHIP (DNMT3A, TET2 et ASXL1) [12], le problème du bruit fond limitant la sensibilité à 0,1 % - 1 %, le coût très élevé en particulier dans le cadre d'une analyse prospective en vie réelle. Sur les hot-spots tels que IDH1/2, FLT3TKD, NRAS ou KRAS, la PCR en gouttelettes (ddPCR) a des avantages indiscutables, mais elle est difficilement envisageable sur les autres cibles de manière prospective à ce jour.

Le dernier marqueur utilisable est la quantification de l'expression de WT1 [13]. Ce marqueur est remis en question pour trois raisons majeures : il manque de

sensibilité, n'est applicable qu'à environ 50 à 60 % des patients, et n'est pas spécifique des LAM. Néanmoins, il garde un intérêt à partir de prélèvements sanguins, avec un coût faible par rapport à la NGS et une prédiction de rechute identique à celle de la CMF ou de la NGS.

Au total, dans ce sous-groupe, les patients sont de pronostic soit intermédiaire, soit défavorable, et ont donc des indications d'allogreffe. Ainsi, la MRD pourrait avoir un impact sur le choix du donneur et du conditionnement. Sur le plan théorique, on pourrait également envisager une absence d'allogreffe chez les patients en RC avec une MRD négative selon l'ELN 2017 – mais ceci demande que les techniques soient d'une grande sensibilité, ce qui n'est pas le cas pour le moment de la CMF, du NGS ni du suivi de WT1.

La maladie résiduelle a-t-elle un impact en prétransplantation ?

La MRD prétransplantation définie en CMF, par NGS ou en utilisant WT1 est un facteur pronostique indépendant de rechute et de survie post-transplantation [14-16]. Malheureusement, une étude récente a démontré que la conversion d'une MRD positive prétransplant en MRD négative post-transplant n'avait pas d'impact sur le taux de rechute ou la survie après une greffe myéloablative [17]. En conclusion, si une MRD est positive en prétransplantation, le pronostic est défavorable.

La maladie résiduelle a-t-elle un impact en post-transplantation ?

Actuellement, très peu de données sont disponibles en CMF ou en NGS. La majorité des publications utilisent le chimérisme pour prédire la rechute et la survie [18]. Le chimérisme ne mesure pas la MRD : il ne représente que le ratio entre cellules du donneur et du receveur – même si on peut supposer qu'une augmentation du taux de cellules du receveur au cours du temps correspond probablement à une réapparition des cellules tumorales.

Dulery *et al.* ont également publié l'impact de la MRD suivi sur WT1 [19]. À J100 postallogreffe, les patients présentant un taux de WT1 > 0,5 % à partir d'un prélèvement sanguin ont un taux de rechute à deux ans postallogreffe de 85 % contre 15 % si le taux de WT1 est < 0,5 % – pour comparaison, ce taux est de 45 % en cas de chimérisme mixte et de 30 % s'il est 100 % donneur.

La maladie résiduelle est-elle un critère d'efficacité/supériorité de traitement ?

Deux études françaises ont utilisé la MRD dans ce but. La première étude concernait les LAM CBF, et a démontré que le bras contenant de fortes doses de cytarabine donnait de meilleurs résultats en termes de MRD [2]. Cela ne s'est pourtant traduit par aucun bénéfice en termes de rechute ou de survie. Dans l'étude ALFA-0701 [20], qui a démontré le bénéfice de l'ajout du gemtuzumab ozogamicine en dose fractionnée à la chimiothérapie, une différence en termes de MRD était observable dans la population à *NPM1* muté, mais pas en termes de WT1 [13]. Il est donc aujourd'hui difficile de dire si la MRD précoce est un *surrogate marker* adapté à l'évaluation de tous les nouveaux médicaments.

Conclusion

Dans les LAM, la MRD est un marqueur pronostique fort et ce quels que soient la technique employée, le matériel biologique utilisé ou le moment où elle est réalisée. Néanmoins, de gros efforts d'harmonisation entre les différentes équipes sont encore nécessaires afin de pouvoir l'utiliser comme un *surrogate marker* avec un impact théranostique.



Références

- [1] Dohner H, Estey E, Grimwade D, *et al.* Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017 ; 129 (4) : 424-47.
- [2] Willekens C, Blanchet O, Renneville A, *et al.* Prospective long-term minimal residual disease monitoring using RQ-PCR in RUNX1-RUNX1T1-positive acute myeloid leukemia: results of the French CBF-2006 trial. *Haematologica* 2016 ; 101 (3) : 328-35.
- [3] Abdelhamid E, Preudhomme C, Helevaut N, *et al.* Minimal residual disease monitoring based on FLT3 internal tandem duplication in adult acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2012 ; 36 (3) : 316-23.
- [4] Jourdan E, Boissel N, Chevret S, *et al.* Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood* 2013 ; 121 (12) : 2213-23.
- [5] Ivey A, Hills RK, Simpson MA, *et al.* Assessment of minimal residual disease in standard-risk AML. *N Engl J Med* 2016 ; 374 (5) : 422-33.
- [6] Balsat M, Renneville A, Thomas X, *et al.* Postinduction minimal residual disease predicts outcome and benefit from allogeneic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia with NPM1 mutation: a study by the acute leukemia French association group. *J Clin Oncol* 2017 ; 35 (2) : 185-93.
- [7] van Stijn A, Kok A, van Stalborch MA, *et al.* Minimal residual disease cells in AML patients have an apoptosis-sensitive protein profile. *Leukemia* 2004 ; 18 (4) : 875-7.
- [8] Terwijn M, van Putten WL, Kelder A, *et al.* High prognostic impact of flow cytometric minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia: data from the HOVON/SAKK AML 42A study. *J Clin Oncol* 2013 ; 31 (31) : 3889-97.
- [9] Terwijn M, Zeijlemaker W, Kelder A, *et al.* Leukemic stem cell frequency: a strong biomarker for clinical outcome in acute myeloid leukemia. *PLoS One* 2014 ; 9 (9) : e107587.
- [10] Cilloni D, Renneville A, Hermitte F, *et al.* Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of minimal residual disease by standardized WT1 assay to enhance risk stratification in acute myeloid leukemia: a European LeukemiaNet study. *J Clin Oncol* 2009 ; 27 (31) : 5195-201.
- [11] Jongen-Lavrencic M, Grob T, Hane-kamp D, *et al.* Molecular minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2018 ; 378 (13) : 1189-99.
- [12] Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, *et al.* Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med* 2014 ; 371 (26) : 2488-98.
- [13] Lambert J, Nibourel O, Pautas C, *et al.* MRD assessed by WT1 and NPM1 transcript levels identifies distinct outcomes in AML patients and is influenced by gemtuzumab ozogamicin. *Oncotarget* 2014 ; 5 (15) : 6280-8.
- [14] Thol F, Kolking B, Damm F, *et al.* Next-generation sequencing for minimal residual disease monitoring in acute myeloid leukemia patients with FLT3-ITD or NPM1 mutations. *Genes Chromosomes Cancer* 2012 ; 51 (7) : 689-95.
- [15] Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S, *et al.* Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood* 2018 ; 131 (12) : 1275-91.
- [16] Candoni A, De Marchi F, Zannier ME, *et al.* High prognostic value of pre-allogeneic stem cell transplantation minimal residual disease detection by WT1 gene expression in AML transplanted in cytologic complete remission. *Leuk Res* 2017 ; 63 : 22-7.
- [17] Dillon R, Hills RK, Freeman SD, *et al.* Molecular MRD status and outcome after transplantation in NPM1 mutated AML: results from the UK NCRI AML17 study. *Blood* 2020. pii: blood.2019002959. doi: 10.1182/blood.2019002959 [Epub ahead of print].
- [18] Tsigotis P, Byrne M, Schmid C, *et al.* Relapse of AML after hematopoietic stem cell transplantation: methods of monitoring and preventive strategies. A review from the ALWP of the EBMT. *Bone Marrow Transplant* 2016 ; 51 (11) : 1431-8.
- [19] Dulery R, Nibourel O, Gauthier J, *et al.* Impact of Wilms' tumor 1 expression on outcome of patients undergoing allogeneic stem cell transplantation for AML. *Bone Marrow Transplant* 2017 ; 52 (4) : 539-43.
- [20] Castaigne S, Pautas C, Terre C, *et al.* Effect of gemtuzumab ozogamicin on survival of adult patients with de-novo acute myeloid leukaemia (ALFA-0701): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet* 2012 ; 379 (9825) : 1508-16.