

DANS CE
NUMEROMessage de la
Présidente ----- P 1

Comprendre la MW--- P1

Revue des traitements
actuels ----- P 4Neuropathies
Périphériques et MW---P 5Les greffes
dans la MW ----- P 8Choisir un essai
clinique ----- P 10Thérapie cellulaire
et greffe ----- P 11

Génomique 101-----P 13

Génomique et médecine
personnalisée ----- P 15Etudes familiales
dans la MW ----- P 18Facteurs de régulation
des lymphocytes B --- P 20Panel de lignées
cellulaires ----- P 21Génétique
des lymphomes ----- P 23Les lymphomes
lymphoplasmocytaires P 25Bases génétiques
de la MW -----P 26

MESSAGE DE LA PRESIDENTE

Par Judith May



Judith May, Présidente

J'ai le grand plaisir de vous présenter *l'Ed Forum Review* de cette année, qui résume la plupart des exposés effectués lors de notre 17ème Forum Educatif tenu en juin dernier à Philadelphie, Pennsylvanie, où les participants ont eu l'opportunité d'écouter des chercheurs et cliniciens experts dans l'étude et le traitement de la macroglobulinémie de Waldenström. Je pense que vous allez y trouver des informations très importantes pour votre compréhension de notre maladie.

Nous en sommes très redevables à notre équipe éditoriale et à nos photographes, dont les noms figurent dans l'encadré de la page 2, qui ont généreusement offert leur temps et leurs efforts.

Vous pouvez commander un lot de DVD de ces exposés en utilisant le bulletin de commande de la dernière page. Ou, si

vous préférez, vous pouvez les acquérir en ligne sur notre site :

www.iwmf.com/iwmf-library/dvds.aspx. Leur prix est de \$14, frais d'envoi inclus.

COMPRENDRE LA MW ET VOS TESTS SANGUINS

Par Robert Kyle, M.D.

Mayo Clinic, Rochester, Minnesota



Robert Kayle, M.D.

Lors du diagnostic, puis durant la surveillance de l'évolution de votre maladie, votre médecin prescrira différents tests, principalement à partir d'échantillons sanguins. Le Dr Kyle a effectué une présentation générale des tests les plus fréquemment utilisés et précisé la signification de leurs résultats au regard de la MW.

L'un des tests les plus courants concerne l'hémogramme (ou numération et formule sanguine : NFS), qui mesure l'hémoglobine, l'hématocrite, le nombre de globules rouges, de globules blancs (leucocytes) et de plaquettes.

(Les valeurs indiquées par le Dr Kyle ont été conservées dans le texte ainsi que les unités en usage aux USA. Dans les parenthèses sont indiqués les équivalents français. Aux EU comme en France, les fourchettes de référence sont susceptibles de différer légèrement d'un laboratoire à un autre. ndt)

DIRIGEANTS ET ADMINISTRATEURS

FONDATEUR

Arnold Smokler

PRÉSIDENTE

Judith May

SECÉTAIRE-TRESORIER

Cynthia Ruhl

VICE-PRÉSIDENTS

Tom Myers, Jr
Marty Glassman
Carl Harrington

CONSEIL D'ADMINISTRATION

L. Don Brown
Peter DeNardis
Sue Herms
Dr. Robert A. Kyle
Elena Malunis
Dr. Guy Sherwood,
Ronald Yee

SERVICE ADMINISTRATIF

Sara McKinnie, Directrice administrative

COMITÉ SCIENTIFIQUE CONSULTATIF de l'IWMF

Dr. Robert A. Kyle, Directeur
Mayo Clinic
Dr Stephen Ansell,
Mayo Clinic
Dr Bart Barlogie,
Université d'Arkansas
Dr James R. Berenson
Institut de recherche sur le myélome
et le cancer osseux
Dr Morton Coleman,
Collège Médical Weill Cornell
Dr Meletios A. Dimopoulos,
École de Médecine,
Université d'Athènes, Grèce
Dr Christos Emmanouilides,
Centre Médical européen interbalkanique,
Grèce
Dr Stanley Frankel,
Université de Colombie
Dr Morie Gertz,
Mayo Clinic
Dr Irene Ghobrial,
Institut du Cancer Dana Farber
Dr Eva Kimby,
Institut Karolinska, Suède
Dr Véronique Leblond,
Hôpital Pitié Salpêtrière, France
Dr James Mason,
Clinique Scripps
Dr Gwen Nichols,
Hoffmann-La Roche, Ltd.
Dr Alan Saven,
Clinique Scripps
Dr Steven Treon,
Institut du Cancer Dana Farber
Dr Marie Varterasian,
Dr. Donna Weber,
Centre du cancer M.D. Anderson

Les taux d'hémoglobine, d'hématocrite et le nombre des globules rouges déterminent la capacité de votre sang à transporter l'oxygène, et la diminution de ces valeurs est une indication d'anémie. Les taux normaux d'hémoglobine sont de 13,5 à 17,5 g/dL chez les hommes (14,0 à 17,0 g/100ml) et de 12 à 15,5 g/dL chez les femmes (12,5 à 15,5g/100ml). Ceux de l'hématocrite sont de 38,8% à 50% chez les hommes (40% à 52%) et de 34,9% à 44,5% (37% à 46%) chez les femmes. Ces valeurs ont tendance à baisser chez les patients MW. Alors qu'il peut exister différents facteurs susceptibles de provoquer une anémie chez les patients MW, notamment une saturation de la moelle osseuse par les cellules MW anormales, le Dr Kyle expliqua que l'IgM pouvait aussi constituer un des facteurs en cause. La protéine IgM quand son taux s'élève tend à attirer les fluides dans le flot sanguin, diluant le volume total des globules rouges (et abaissant le taux d'hémoglobine. C'est une fausse anémie dite « de dilution ». ndt). L'anémie peut se manifester par : fatigue, essoufflement et palpitations (sensation du « cœur qui tape »). Le nombre normal de leucocytes (globules blancs) est compris entre 3,5 et 10,5 x 10⁹/L (4000 à 10 000 par mm³). Ils peuvent être classés en différents types. Les plus nombreux sont les neutrophiles et les lymphocytes, tous deux importants dans la lutte contre les infections. Chez les patients MW, la numération des leucocytes est généralement normale bien qu'elle puisse être abaissée au cours de certains traitements ou, rarement, augmentée s'il y a un grand nombre de lymphocytes MW anormaux dans la circulation sanguine. Le nombre normal de neutrophiles est compris entre 1,7 et 7 x 10⁹ par litre (2.000 à 8.000 par mm³) et celui des lymphocytes se situe entre 0,9 et 2,9 x 10⁹/L (1500 à 4 000 par mm³). Le Dr Kyle souligna qu'une numération leucocytaire légèrement abaissée ne signifie pas nécessairement que le patient est plus vulnérable aux infections, car la capacité du système immunitaire dépend d'autres facteurs que du nombre de globules blancs.

Les plaquettes sont importantes pour le mécanisme de coagulation sanguine. La numération plaquettaire normale est comprise entre 150 et 450 x 10⁹ par litre, (150.000 et 450.000 par mm³), bien qu'un saignement anormal n'apparaisse généralement pas avant qu'elle soit considérablement diminuée, vers 10x10⁹ par litre. Des saignements peuvent également être causés par des anomalies dans la qualité des plaquettes. Plusieurs traitements utilisés pour la MW peuvent affecter la numération plaquettaire, c'est pourquoi il est important de contrôler cette numération au cours d'un traitement. En plus de la NFS, il existe plusieurs tests appropriés dans le contexte du diagnostic et de la surveillance de l'évolution de la MW, qui peuvent être effectués à partir d'un échantillon sanguin. Ils incluent l'électrophorèse des protéines sériques, l'immunofixation,



The IWMF Ed Forum Review: 2012 is a publication of:
International Waldenström's Macroglobulinemia Foundation
6144 Clark Center Avenue • Sarasota, FL 34238
Telephone 941-927-4963 • Fax 941-927-4467
E-mail: info@iwmf.com • Website: www.iwmf.com

This publication is designed to provide information about the disease Waldenström's macroglobulinemia. It is distributed as a member service by the International Waldenström's Macroglobulinemia Foundation, Inc., to those who seek information on Waldenström's macroglobulinemia with the understanding that the Foundation is not engaged in rendering medical advice or other professional medical services.

EDITOR

Sue Herms

COPY EDITOR

Alice Riginos

REPORTERS

Michael Berndt

Michael Greene

Sue Herms

Neal Makens

PHOTOGRAPHY

Peter DeNardis

Roy Parker

Jack Whelan

LAYOUT & PRODUCTION

Sara McKinnie

IWMF is a 501(c)(3) tax exempt non-profit organization Fed ID #54-1784426. Waldenström's macroglobulinemia is coded 273.3 in the International Classification of Diseases (ICD) of the World Health Organization.

la mesure de l'immunoglobuline, la viscosité sérique, les cryoglobulines, la β 2-microglobuline et l'albumine sérique. L'électrophorèse des protéines sériques (EPS) et l'immunofixation sont généralement pratiquées ensemble. L'EPS mesure la quantité de la protéine immunoglobuline anormale présente dans la circulation sanguine, et l'immunofixation en détermine le type. Dans le cas de la MW, la chaîne lourde de protéines est du type de l'IgM, et le niveau d'IgM évolue en proportion directe du nombre de lymphocytes et plasmocytes anormaux dans la moelle osseuse, ce qui rend leur mesure importante pour déterminer le stade de votre maladie. Le Dr Kyle a mis l'assistance en garde sur les variations de niveaux d'IgM qui peuvent varier normalement environ d'un gramme par litre d'une mesure à l'autre ; en d'autres termes ne soyez ni excités ni bouleversés par un résultat. L'immunofixation détermine également le type de chaîne légère de la protéine anormale, qui peut être kappa ou lambda. Kappa est beaucoup plus commun que lambda, 80% contre 20%, bien que ceci n'ait aucune signification pronostique ou de traitement d'avoir l'une ou l'autre des chaînes.

La mesure de l'immunoglobuline est une mesure des IgG, IgM et IgA. Leurs valeurs normales se situent dans les fourchettes 767-1590 mg/dL (7 à 15g/L) pour l'IgG, 50 à 300 mg/dL (0,5 à 2,3 g/L) pour l'IgM et 61 à 35,6 mg/dl (0,8 à 3,60 g/L) pour l'IgA. Alors que l'IgM est élevée dans la MW, les IgG et IgA sont fréquemment inférieures à la normale. Cette méthode de mesure diffère de l'EPS décrite plus haut, et on ne peut comparer directement leurs résultats. Le panel de consensus de la MW recommande de mesurer la protéine IgM monoclonale par EPS, mais de ne pas utiliser son niveau comme seule indication de traitement. Le Dr Kyle préfère habituellement mesurer l'IgM par les deux méthodes.

La viscosité sérique est une mesure de l'épaississement du sang, qui a tendance à augmenter dans la MW. La viscosité normale est inférieure à 1,8 centipoise, et les symptômes du syndrome d'hyperviscosité commencent généralement à apparaître lorsqu'elle est supérieure à 4 centipoises. *(A de très rares exceptions près, cet examen n'est habituellement pas demandé en France et n'est pas réalisé dans les laboratoires d'analyses biologiques. ndt)*

Ces symptômes peuvent inclure des saignements de gencives et des hémorragies du tractus gastro-intestinal, une vision floue, des varices et des hémorragies des vaisseaux sanguins de la rétine. Environ 20 à 25% des IgM anormales ont des propriétés cryoglobulinémiques, qui provoquent la gélification ou la précipitation du sang aux températures froides. Alors que dans la plupart des cas ceci ne cause aucun problème, la précipitation à une température proche de la température de la pièce peut perturber la circulation sanguine et provoquer des symptômes cutanés tels que desquamation ou purpura (taches bleues ou rouges sur la peau).

La β 2-microglobuline peut avoir une signification pronostique pour les patients MW, et elle représente un indicateur de la charge tumorale. Elle se situe normalement entre 0,7 et 18 mg/L (0,8 à 2,4 mg/L). L'albumine sérique

est une protéine sanguine importante. Son niveau normal est compris entre 35 et 50g/L (36 à 50g/L) ; elle peut être abaissée chez les patients MW.

Le Dr Kyle évoqua également quelques tests qui ne concernent pas les échantillons sanguins.

La ponction médullaire et la biopsie sont utilisées pour établir un diagnostic définitif de la MW. La ponction peut fréquemment être hypo-cellulaire (pauvre en cellules) parce que la moelle elle-même peut être hyper-cellulaire, remplie de cellules cancéreuses qui adhèrent entre elles et sont difficiles à aspirer dans l'aiguille. L'hématopathologiste recherchera une augmentation anormale des lymphocytes et plasmocytes anormaux typiques de la MW, et il pourra aussi observer un accroissement du nombre des mastocytes.

L'électrophorèse et l'immunofixation peuvent aussi être réalisées sur un échantillon d'urine de 24 heures, que le Dr Kyle recommande d'effectuer lors du diagnostic pour déterminer si des protéines de Bence-Jones sont présentes (ce qui est le cas d'environ 80% des patients). Les protéines de Bence-Jones sont les portions de chaînes légères d'immunoglobulines qui sont excrétées dans l'urine – leur présence est un outil diagnostique et un possible indicateur du stade de la maladie. Cependant, dans la plupart des cas, ces protéines ne provoquent pas de problèmes rénaux.

Le Dr Kyle a répondu à plusieurs questions de l'assistance. Un participant demanda combien de fois il convenait de faire des prises de sang pour effectuer des NFS, EPS et mesure de d'IgM, en particulier au cours d'un traitement. Le Dr Kyle répondit que cela dépendait beaucoup du type de traitement. Les thérapies qui ont un effet rapide sur l'IgM ou qui affectent rapidement les paramètres sanguins peuvent exiger que votre médecin prescrive plus fréquemment des tests durant votre cycle de traitement. La NFS est mesurée avant le début de chaque cycle de traitement et généralement de nouveau à mi-cycle, alors que l'on mesurerait plutôt le niveau de la protéine IgM tous les 1-2 mois durant toute la durée du traitement.

Un autre participant demanda ensuite quel était le délai nécessaire pour espérer voir une diminution de l'IgM après un traitement. De nouveau le Dr Kyle répondit que cela dépendait du traitement. Le Rituxan est plus lent et peut demander 6-8 mois à quelqu'un pour voir le bénéfice maximum du traitement, alors que Velcade, qui provoque une réduction rapide de l'IgM, peut montrer des effets significatifs en quelques semaines. Une question fut aussi posée concernant le type de traitement de récupération qui paraît approprié lorsqu'une personne rechute après un premier traitement. Le Dr Kyle dit qu'il était raisonnable de supposer qu'un patient qui répond bien à un traitement et qui rechute un an ou deux après peut essayer de nouveau le même traitement, plutôt que de se tourner vers un traitement différent. Bien que la reprise d'un traitement analogue puisse ne pas procurer le même niveau de réponse ou la même durée qu'avant rechute, il recommande de conserver les autres traitements pour le moment où le patient ne répondra plus à ce traitement.

REVUE DES TRAITEMENTS ACTUELS

Par Morie Gertz, M.D.
Mayo Clinic, Rochester, MN

Le Dr Gertz débuta son exposé par un rapide survol de la MW. Il expliqua que les protéines anticorps étaient présentes chez chacun d'entre nous et qu'elles deviennent occasionnellement anormales. Les anticorps qui présentent les anomalies les plus fréquentes sont les IgG, mais les anomalies d'IgM sont assez courantes. On estime que dans la population âgée de plus de 50 ans, une personne sur 600 présentera une anomalie de l'IgM.



Morie Gertz, M.D.

Environ un lymphome sur cinquante est une MW, avec une incidence annuelle corrélée à l'âge de 3,8% par 1.000.000 de personnes. L'âge médian du diagnostic est de 73 ans, l'incidence est plus élevée chez les hommes que chez les femmes, et chez les blancs que chez les noirs.

Le nombre de patients MW augmente, sans atteindre cependant le taux presque épidémique constaté pour l'ensemble des lymphomes non-Hodgkiniens. Le Dr Gertz a décrit le spectre des désordres relatifs à l'IgM, de la manière suivante :

Le nombre de patients MW augmente, sans atteindre cependant le taux presque épidémique constaté pour l'ensemble des lymphomes non-Hodgkiniens.

Le Dr Gertz a décrit le spectre des désordres relatifs à l'IgM, de la manière suivante :

Spectre des maladies liées à l'IgM	Composant IgM monoclonal	Symptômes d'infiltration de la masse tumorale	Infiltration médullaire > 10%	Symptômes liés à l'IgM
MGUS	+	-	-	-
MW indolente	+	-	+	-
Troubles liés à l'IgM : Cryoglobulinémie de Type II, Amylose, Maladie des agglutinines froides, Neuropathie	+	-	+/-	+
MW	+	+	+	+/-

Le Dr Gertz a également évoqué l'Index Pronostic International pour la MW (*International Staging System for WM*, ISSWM. ndt). Il a été développé pour être utilisé par les médecins en tant que guide pronostique général des patients MW, basé sur 5 facteurs lors du diagnostic : âge

supérieur à 65 ans, hémoglobine inférieure à 11,5g/L, plaquettes inférieures à 100.000 par mm³, β2-microglobuline supérieure à 3g/L, et IgM monoclonale supérieure à 70g/L. En se basant sur ces facteurs, trois niveaux de risques de la MW ont été déterminés. Avec 0 ou 1 facteur (âge exclu) un patient se situe au stade de risque faible; avec un âge supérieur à 65 ans ou 2 facteurs, il se situe au stade de risque intermédiaire ; avec plus de 2 facteurs, le risque est élevé. Le Dr Gertz précisa que ce système de classification est utile pour les médecins, en référence à des populations de patients MW, mais il met en garde contre son utilisation par les patients, qui ne doivent pas l'utiliser pour étudier leur situation individuelle.

L'échange plasmatique (*ou plasmaphérèse*. ndt) fut le premier traitement de la MW, utilisé pour la première fois en 1960. Il n'a pas d'impact sur les cellules cancéreuses de la moelle osseuse mais il peut enlever l'IgM qui provoque l'épaississement, ou viscosité, du sang. L'échange plasmatique doit être considéré comme une stratégie temporaire de réduction des symptômes d'hyperviscosité dans la préparation du traitement destiné à réduire le nombre de cellules tumorales dans la moelle osseuse. Il nécessite une centrifugation du sang qui sépare la protéine anormale du reste des composants sanguins.

Le traitement par anticorps monoclonaux est basé sur des anticorps de synthèse qui adhèrent à des protéines se trouvant à la surface des cellules cancéreuses. Le rituximab (Rituxan) est le traitement par anticorps le plus fréquemment utilisé pour la MW, il cible la protéine CD20 à la surface des lymphocytes B, dont les cellules MW sont dérivées. Un nouvel anticorps anti-CD20, approuvé pour la leucémie lymphoïde chronique, est appelé ofatumumab (Arzerra). La dose initiale d'ofatumumab est inférieure à celle du rituximab de façon à réduire les réactions lors de la perfusion, et les doses suivantes sont augmentées. Alemtuzumab (Campath) cible une protéine de surface différente appelée CD52, que l'on trouve sur de nombreuses cellules du système immunitaire. Ces anticorps sont donnés en perfusions et la plupart des effets secondaires sont associés à la première dose en raison de la réaction de l'organisme à la protéine anticorps étrangère injectée. Pour cette raison, des antihistaminiques et/ou des corticostéroïdes, sont administrés afin de prévenir ou minimiser les réactions lors de la perfusion. Bien que alemtuzumab soit très efficace dans la MW, il augmente le risque de développer des infections virales ou fongiques, et en conséquence n'est pas considéré comme un traitement de première intention.

Les agents alkylants ont été dérivés du gaz moutarde, un gaz toxique utilisé durant la Première Guerre Mondiale. Cyclophosphamide (Cytoxan, Endoxan) en est l'agent le plus courant, il est très efficace dans la MW, et peut être administré en perfusions ou oralement. Il peut diminuer le nombre de tous les éléments de la formule sanguine, provoquer la perte des cheveux, irriter la vessie, et endommager les cellules saines de la moelle osseuse – ce dernier effet pouvant encore se produire plusieurs années plus tard. Chlorambucil (Leukeran) est un agent oral qui

était utilisé plus fréquemment dans le passé ; bien qu'il puisse avoir des effets tardifs sur la moelle osseuse, il est utile pour les patients infirmes ou d'un âge qui en fait des patients non éligibles pour une greffe autologue. Un troisième agent alkylant utilisé est le melphalan (Alkeran). Les anthracyclines, également appelées antibiotiques tumoraux, sont rarement utilisées seules. Elles comprennent doxorubicin (Adriamycine) et Doxil, qui sont plus généralement incluses dans les thérapies CHOP ou R-CHOP.

Les purines analogues de nucléoside sont des agents très puissants et efficaces. Le premier essai à grande échelle de fludarabine (Fludara) remonte à 1990. Un autre agent de la même classe est cladribine (2CdA ou Leustatin). Ces agents ont des effets secondaires, car ils peuvent abaisser la numération globulaire, et ils ne sont pas recommandés si une greffe autologue de cellules souches est envisageable parce qu'ils peuvent les endommager et les rendre difficiles à collecter. Les purines analogues de nucléosides peuvent aussi avoir des effets tardifs sur la moelle osseuse – plus de huit années plus tard – et provoquer une aplasie médullaire ou transformer la MW en une maladie plus agressive, telle que le lymphome à grandes cellules-B, chez un petit pourcentage de patients.

Les agents immunomodulateurs incluent deux produits commercialement disponibles, thalidomide et lenalidomide (Revlimid), et un en cours de développement appelé pomalidomide. Ce sont des drogues orales, et leurs effets secondaires peuvent provoquer constipation, caillots sanguins, démangeaisons cutanées et neuropathies. Une réduction des doses et un contrôle très attentif peuvent en minimiser l'intensité.

Les inhibiteurs de protéasome incluent bortezomib (Velcade) et carfilzomib. Bortezomib est maintenant disponible et peut être donné en perfusion ou en injection sous-cutanée. Les traitements par bortezomib sont efficaces mais peuvent affecter la numération plaquettaire et provoquer des diarrhées et des neuropathies. Il n'y a pas encore eu de rapport concernant l'emploi de carfilzomib pour la MW, mais il est raisonnable de supposer qu'il sera également efficace.

Les inhibiteurs de la cible de la rapamycine chez les mammifères (m-TOR) tels que RAD-001 ou Everolimus (Afinitor) et temsirolimus (Torisel) ne sont pas encore des agents de première intention, mais le Dr Gertz estime que leur utilisation va probablement croître avec le temps. RAD-001 est administré oralement et temsirolimus en perfusion. Il n'existe actuellement pas de preuve d'effets secondaires à long terme de ces agents sur la moelle osseuse.

Bendamustine (Treanda) a été développé en Allemagne de l'Est il y a de nombreuses années. C'est un agent très efficace et bien toléré dont l'effet secondaire le plus fréquent est une baisse de la numération sanguine. Une étude allemande a rapporté que le traitement Bendamustine/Rituxan était aussi efficace que R-CHOP dans l'induction des réponses, et avec une plus longue durée de progression. L'emploi de Bendamustine pour la

MW progresse, et s'approche d'une option thérapeutique de première intention.

La greffe autologue de cellules souches (*autologous stem cell transplantation*, ASCT) est une technique sous-utilisée dans le traitement de la MW. Cela n'apporte pas la guérison, mais c'est une autre option efficace à considérer. Le Dr Gertz estime que l'on devrait mieux prendre l'ASCT en considération pour certains patients.

Bien que le Dr Gertz ait évoqué ces agents en tant que thérapie unique, il insista sur le fait qu'ils sont en vérité plus efficaces lorsqu'ils sont utilisés en combinaisons. En 2009, le 4eme Atelier International sur la MW déboucha sur une liste de recommandations pour les patients MW symptomatiques récemment diagnostiqués. Il insista sur le fait qu'à l'époque de la publication de ce guide, plusieurs traitements plus récents, comme RAD-001, n'avaient pas été largement rapportés.

Selon ces recommandations, les patients MW qui sont candidats pour une greffe autologue de cellules souches se divisent en deux groupes, ceux avec cytopénie (baisse de la numération sanguine) et ceux avec un taux élevé d'IgM. Les traitements recommandés pour ceux ayant une cytopénie comprennent notamment DRC (dexaméthazone/rituximab/cyclophosphamide) ou rituximab plus thalidomide. Les thérapies pour ceux présentant des IgM élevés incluent R-CHOP ou DRC. Les patients qui ne sont pas candidats à une greffe autologue de cellules souches se divisent en trois groupes : ceux avec cytopénies, ceux à IgM élevés, et ceux avec co-morbidités. Les patients avec cytopénies devraient recevoir DRC ou rituximab plus thalidomide alors que ceux avec IgM élevés devraient recevoir rituximab plus analogue de nucléoside, ou rituximab/analogue de nucléoside/cyclophosphamide (aussi appelé RFC). Les patients avec co-morbidités qui sont âgés et ont une maladie progressant lentement devraient recevoir chlorambucil.

Le Dr Gertz a aussi dirigé les patients intéressés par le guide de la Mayo Clinic sur les traitements de la MW vers le site www.msma.org. Le guide Mayo pour les patients symptomatiques nouvellement diagnostiqués inclut soit le rituximab seul, pour ceux ayant des symptômes modérés, soit DRC pour ceux qui ont des ganglions ou une rate volumineuse, une cytopénie marquée, un syndrome d'hyperviscosité, ou des symptômes constitutionnels. Le Dr Gertz exposa que la thérapie de sauvetage (lorsqu'un patient a rechuté) est plus compliquée. Les patients devraient envisager un essai clinique. Sinon, un patient qui a présenté une bonne réponse lors de précédents traitements et dont la durée de réponse était de deux ans ou plus, peut raisonnablement répéter le même traitement. Si la durée de réponse était inférieure à deux ans, un des traitements alternatifs de première ligne peut convenir. Une greffe autologue de cellules souches peut également constituer une option en cas de rechute.

Le Dr Gertz évoqua brièvement les nouveaux essais cliniques en cours à la Mayo Clinic pour des patients MW. Pour les diagnostiqués récents, lenalidomide est ajouté au

traitement DRC dans l'espoir d'atteindre jusqu'à 90% de réponses. Trois essais pour des patients en rechute incluent bortezomib/rituximab/dexaméthasone/temsirolimus ; R-CyBor-D, qui est composé de rituximab/cyclophosphamide/bortezomib/dexaméthasone ; et RAD-001 plus lenalidomide, qui est un traitement exclusivement oral.

Le Dr Gertz répondit à plusieurs questions de l'auditoire. L'un des participants demanda s'il était raisonnable de répéter un traitement fludarabine et rituximab après rechute, étant donné les effets secondaires possibles des analogues de nucléoside sur la moelle osseuse. Le Dr Gertz répondit qu'un patient n'ayant pas rencontré de problème la première fois avec ce traitement et qui avait bénéficié d'une réponse prolongée, devrait certainement envisager de le réutiliser. Un autre participant demanda si des effets secondaires tardifs de la bendamustine étaient connus. Le Dr Gertz répondit que jusqu'à présent aucun n'avait été rapporté, mais il n'a été utilisé ici (*aux USA*, ndt) que depuis 4-5 ans ; la même chose peut être dite pour RAD-001 et bortezomib.

LA NEUROPATHIE PERIPHERIQUE DANS LA MW

Michelle Mauermann, M.D.
Mayo Clinic, Rochester, MN



Michelle Mauermann, M.D.

La neuropathie périphérique est un dysfonctionnement ou une maladie des nerfs périphériques. Un nerf périphérique est une structure fermée analogue à un câble, qui contient des faisceaux de fibres nerveuses appelées axones. Les axones s'étendent depuis les cellules nerveuses (neurones) de la moelle épinière, vers les éléments périphériques du corps, via les racines nerveuses adjacentes à la colonne vertébrale. Les axones sont pour la plupart recouverts d'une couche de myéline produite par les cellules de Schwann. La couche isolante de myéline accélère beaucoup la vitesse de transmission des impulsions électriques entre les cellules nerveuses spinales et l'extrémité des axones. Un délicat tissu conjonctif appelé endoneurium entoure la myéline. Chaque faisceau de plusieurs axones est entouré d'une gaine appelée perineurium, et la totalité du nerf périphérique est composée de nombre de ces faisceaux séparés par de délicates membranes de tissu conjonctif vasculaire qui sont

en continuité avec la couche extérieure de tissu conjonctif, l'épineurium, qui entoure le nerf.

Les axones sont de dimensions variées, les plus gros contrôlant la force musculaire et l'équilibre, les plus petits contrôlant les sensations comme les changements de température. Les axones sans myéline sont surtout impliqués dans les fonctions autonomes, comme la respiration ou la sensation de douleur.

L'incidence de la neuropathie périphérique dans la population générale est de 2 à 3%, mais sa prévalence peut atteindre 8% après l'âge de 55 ans. On estime qu'environ 20 à 25% des patients MW ont une neuropathie périphérique. Ceci ne provient pas seulement de la maladie, mais peut être une conséquence du traitement.

Les symptômes de neuropathie périphérique sont souvent liés aux sensations, incluant picotements et piqûres, engourdissements, froid, raideurs, brûlures, douleurs brèves ou lancinantes, ainsi que la sensibilité au toucher. La faiblesse peut se manifester par un claquement du pied durant la marche, la difficulté de se relever depuis la position assise, et une poigne affaiblie. Les dysfonctionnements autonomes incluent les étourdissements en station debout, la sécheresse des yeux et de la bouche, la satiété précoce (sensation de réplétion après avoir mangé), la constipation (ou un dysfonctionnement du transit intestinal)

Diagnostic de la neuropathie périphérique

Pour réaliser un diagnostic de neuropathie périphérique, l'examen neurologique classique comprend un test des réflexes, de la force musculaire, des sensations variées (telles que le toucher, les vibrations, la chaleur, la douleur) dans les doigts, les bras, les orteils et les jambes. Le neurologue vérifiera si la neuropathie est symétrique, distale ou non (*distal : segment d'un membre le plus éloigné de la racine de ce membre*. ndt) déterminera le début et le rythme des symptômes, et examinera les antécédents médicaux, l'histoire familiale et les traitements du patient. Des neuropathies de causes différentes peuvent se présenter avec des signes et symptômes similaires. Le schéma le plus courant est sensoriel et dépendant de la distance au système nerveux central (*moelle épinière*. ndt) Habituellement les deux pieds sont affectés en premier ; lorsque la neuropathie évolue, elle progresse jusqu'à mi-cuisse puis apparaît dans les doigts des deux mains. Ce type de schéma peut résulter de plusieurs processus autres que la MW, comme le diabète, une déficience en vitamines B12, une gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS), de troubles héréditaires, de maladie rénale chronique, d'une consommation importante d'alcool et d'hypothyroïdisme.

Pour approfondir les causes de la neuropathie périphérique d'un patient, plusieurs tests diagnostiques peuvent être réalisés. Ceux qui contribuent à l'évaluation des nerfs à longues fibres comprennent l'étude de la conduction nerveuse et l'électromyographie. Ceux concernant l'étude du fonctionnement des nerfs à fibres courtes incluent des tests sensoriels quantitatifs, un examen des réflexes

autonomes, un test thermo-régulé de sudation, et une biopsie de la peau. Dans certains cas, une biopsie nerveuse peut également être utile pour les nerfs à fibres longues et courtes.

L'étude de la conduction nerveuse évalue la fonction motrice. Elle implique de placer des électrodes sur les mains et d'envoyer des impulsions électriques dans les nerfs depuis l'épaule vers les muscles des mains, pour voir comment ces nerfs les transmettent. L'électromyographie évalue les fonctions motrices et sensorielles, et implique l'insertion d'aiguilles dans les muscles pour déterminer l'étendue et la sévérité de la neuropathie. L'étude sensorielle quantitative classique teste les orteils à la douleur, à la chaleur, au froid, aux vibrations et au toucher, et quantifie les résultats en regard de contrôles normaux. Un examen des réflexes autonomes teste le rythme cardiaque et la pression sanguine après respiration profonde et installation sur une table basculante, ou également en quantifiant la sueur provoquée par une stimulation des glandes sudoripares à l'acétylcholine. Un test de sudation thermo-régulé place le patient dans une chambre de sudation après l'avoir recouvert d'une poudre jaune dont le changement de couleur dépend de la sueur produite. La répartition des zones de changement de couleurs peut aider à diagnostiquer l'étendue de la neuropathie. Les biopsies cutanées sont utilisées pour déterminer la densité des fibres nerveuses dans la peau, mais leur utilité est quelque peu limitée parce qu'elles ne procurent pas d'information sur la pathologie de la neuropathie. Néanmoins, les biopsies nerveuses peuvent aider à déterminer si les fibres longues ou courtes sont impliquées et s'il y a des problèmes interstitiels tels qu'inflammation ou amylose autour des nerfs.

La neuropathie périphérique dans la MW

La neuropathie périphérique peut être liée à la MW de plusieurs façons possibles. Elle peut être due aux propriétés de l'anticorps IgM ou à ses dépôts, à une cryoglobulinémie, ou à des dépôts amyloïdes. Elle peut être causée par les traitements de la maladie, particulièrement avec bortezomib (Velcade), thalidomide et vincristine. Une étude de la Mayo Clinic a examiné la neuropathie périphérique liée à MGUS et à la MW. C'était un symptôme présent dans 25% des cas et plus fréquent chez les hommes. L'âge médian du développement était de 65,5 ans. Le symptôme de loin le plus fréquent était l'engourdissement des orteils et du pied, les tremblements venant ensuite. Dans la MW, la pathologie du nerf était prioritairement axonale plutôt que démyélinisante, alors que dans le MGUS la situation était inverse. Le Dr Mauermann précisa qu'on ne sait pas encore si la démyélinisation est due à un dépôt direct d'IgM ou à son activité anticorps.

La cryoglobulinémie dans la MW est une précipitation de l'IgM à basse température. Cela peut provoquer une pénible neuropathie dissymétrique ou en plages, parfois associée à des lésions de la peau ou d'autres organes.

La neuropathie associée à l'amylose est un dépôt d'une protéine anormale autour des vaisseaux sanguins des nerfs périphériques. Elle est généralement distale et douloureuse, les nerfs sensoriels étant fréquemment affectés. Une implication des nerfs autonome, particulière au cas de l'amylose, peut conduire à des étourdissements en station debout, à la constipation ou à la diarrhée, à l'impuissance.

La neuropathie provoquée par bortezomib apparaît chez 23 à 44% des patients, et c'est le principal motif de limitation des doses employées et de son emploi et des interruptions de traitement. Des études récentes ont montré que la neuropathie peut être réduite si bortezomib est donné sur une base hebdomadaire, ou deux fois par semaine en injection sous-cutanée. Chez les patients vulnérables à une neuropathie, elle se développe habituellement après trois mois ou cinq cycles de traitement. Bien qu'il n'y ait pas de corrélation en incidence et sévérité de la neuropathie avec une exposition antérieure à d'autres thérapies neurotoxiques, sa sévérité est généralement augmentée chez les patients ayant une neuropathie préexistante due au diabète, ou héréditaire. La neuropathie sensorielle induite par bortezomib affecte douloureusement les mains et les pieds, avec des symptômes moteurs apparaissant chez une minorité de patients. Dans la plupart des cas elle diminue ou disparaît dans les semaines qui suivent la fin du traitement. Il existe des éléments suggérant que les thérapies combinées réduiraient la sévérité de la neuropathie, mais plus d'études sont nécessaires.

La thalidomide provoque généralement des symptômes sensoriels douloureux dans les pieds et des crampes dans les jambes. Cela s'étend aux genoux puis aux mains et peut provoquer des faiblesses modérées. L'arrêt de son emploi conduit à une guérison rapide.

La neuropathie liée à l'emploi de vincristine se développe généralement dans les deux mois suivant la prise du traitement. Les picotements paraissent en premier et débutent habituellement aux doigts avant les pieds. La faiblesse et la mise en cause du système nerveux autonome peuvent devenir prédominantes et handicapantes. La plupart des cas guérissent et les forces reviennent, mais une légère perte de sensibilité peut subsister. La drogue peut être réutilisée, mais à doses plus faibles.

Traitement de la neuropathie périphérique associée à la MW

Le Dr Mauermann exposa plusieurs traitements de la neuropathie périphérique utilisés pour les patients MW. On a accordé beaucoup d'intérêt à l'emploi du rituximab pour traiter la neuropathie. Il montre une certaine efficacité, mais les essais cliniques ont été réduits et plus de données sont nécessaires. S'il existe des cryoglobulines, une plasmaphérese est utile, alors que l'amylose peut être traitée avec des agents alkylants et une greffe de cellules souches. La neuropathie liée à la chimiothérapie peut être traitée par une réduction ou des discontinuités du traitement, ou en utilisant des thérapies réduisant les symptômes.

Afin de déterminer la meilleure thérapie symptomatique, il faut examiner la douleur et établir le diagnostic. La douleur peut être continue (brûlures, froid, raideur), paroxysmique (piqûre, coup), ou allodynique, c'est-à-dire une douleur aberrante en réponse à un stimulus normalement non douloureux. Il est aussi nécessaire de déterminer s'il existe une quelconque co-morbidité sous-jacente telle qu'une maladie cardiaque, rénale, hépatique ou une dépression, et d'établir un traitement avec des attentes réalistes. La plupart des drogues ne suppriment pas complètement la douleur, l'objectif est habituellement de la réduire de moitié. Le traitement devrait résulter d'une approche multidisciplinaire et inclure la réhabilitation ainsi qu'une aide psychologique autant que de besoin.

Généralement le premier traitement comprend des bains de pied d'eau froide et l'utilisation d'agents topiques comme les patches à la lidocaïne, ou des crèmes et des gels, ou leur combinaison comme amitriptyline/ketamine ou baclofène, clonidine et lysocaïne. Les agents oraux de premier traitement comprennent les antidépresseurs tricycliques, Cymbalta, Effexor, Neurontin, et Lyrica.

Les médicaments qui ne sont pas à utiliser en première ligne comprennent les anti-épileptiques comme carbamazépine, oxcarbazépine, lamotrigine, topiramate et l'acide valproïque ; les inhibiteurs de recapture de la sérotonine ; les stabilisants de canaux ioniques ; et les opioïdes.

En réponse à plusieurs questions des participants, le Dr Mauermann répondit qu'il était malheureusement très difficile de restaurer les fonctions nerveuses une fois qu'elles ont été endommagées, particulièrement si le nerf est distal. L'objectif de la plupart des traitements est d'essayer de stabiliser la neuropathie et d'éviter qu'elle ne s'aggrave. Elle indiqua également que les résultats de l'étude du rituximab utilisé comme traitement de la neuropathie périphérique seraient connus dans un an.

Y A-T'IL UNE PLACE POUR LES GREFFES DANS LA MW ?

Rafat Abonour, M.D.

Indiana University School of Medicine, Indianapolis, IN

Le Dr Abonour a débuté son exposé sur les greffes de moelle osseuse dans la MW en rappelant la définition de la maladie ainsi que la variabilité de ses symptômes et de leur sévérité. La MW implique l'invasion de la moelle osseuse par des cellules lymphoplasmocytaires malignes et la surproduction associée d'une molécule de paraprotéine IgM. Il existe en gros trois classes de progressions de la maladie : GMSI (*Gammopathie Monoclonale de Signification Indéterminée, MGUS en anglais*, ndt) qui se manifeste par une augmentation de l'IgM sans cellules lymphoplasmocytaires ; macroglobulinémie asymptomatique (*Smoldering WM en anglais*, ndt) qui est



Rafat Abonour, M.D.

indolente et non symptomatique mais implique une infiltration de cellules lymphoplasmocytaires et une production d'IgM monoclonale ; et la MW symptomatique.

Généralement, seuls les patients dont les symptômes affectent la qualité de vie sont traités.

La sévérité des symptômes varie selon un large éventail qui va, du non-spécifique (fatigue, perte

de poids, sueurs nocturnes) au spécifique (hyperviscosité sérique, infiltration des tissus par les cellules du lymphome, dépôt d'IgM dans les tissus, ou formation d'anticorps qui attaquent des tissus spécifiques). A un certain moment le Dr Abonour regarda l'audience, et déclara que sur les quelque 250 patients de la salle, il y avait probablement 250 manifestations de la maladie. Aussi le choix du traitement est-il hautement individualisé, et le but de sa présentation était d'informer le groupe sur les types variés de greffes de cellules souches hématopoïétiques et sur la façon dont elles s'insèrent dans le contexte des thérapies de la MW.

Si la moelle osseuse est comparée à un jardin de fleurs, les cellules souches hématopoïétiques sont les graines, et les cellules sanguines sont les fleurs. Pour les patients MW, les cellules cancéreuses sont les mauvaises herbes. Les traitements tels que la chimiothérapie peuvent être comparés à un arrachage manuel des mauvaises herbes, alors que la greffe de cellules souches équivaut à répandre un dés herbant total sur le jardin pour se débarrasser de toutes les mauvaises herbes et redémarrer avec de nouvelles graines.

Mais où se procure t-on des cellules souches saines ? Dans le passé, les cellules souches étaient directement prélevées dans la moelle en prélevant plusieurs échantillons par ponctions osseuses. Heureusement ceci est du passé. Aujourd'hui, les cellules souches sont mobilisées, par un procédé qui stimule leur sortie de la moelle osseuse vers le flot sanguin. Ceci permet de collecter (ou moissonner) suffisamment de cellules dans la circulation sanguine pour réaliser une greffe. Les cellules souches ont des propriétés spéciales, qui leur permettent d'être rapidement et efficacement séparées des autres cellules et conservées pour le moment où on en a besoin.

En fonction du donneur des cellules souches, il existe plusieurs types de greffes. Dans la greffe autologue (*auto-HSCT en anglais*, ndt), le patient fournit et stocke ses propres cellules souches hématopoïétiques pour les utiliser plus tard. Dans la greffe allogénique (*allo-HSCT en anglais*, nt), un donneur qui peut, ou non, être parent du patient, fournit les cellules. Un troisième type de greffe implique l'utilisation de sang du cordon ombilical, mais n'est pas

employé pour la MW. La greffe autologue est généralement la méthode la plus sûre parce qu'elle a des taux de morbidité et de mortalité liés au traitement beaucoup plus bas que la greffe allogénique. Cependant, pour ceux qui survivent aux rigueurs d'une greffe allogénique, leurs chances d'obtenir une réponse complète et une rémission de longue durée sont accrues en comparaison de ceux recevant une greffe autologue.

Il y a généralement sept étapes dans une greffe autologue: (1) mise en condition du patient, (2) mobilisation des cellules souches, (3) collecte des cellules souches, (4) conditionnement de la moelle osseuse, (5) greffe des cellules souches, (6) prise de la greffe, (7) suivi à long terme. La mise en condition doit être complète, car le patient doit être assez solide et ses organes essentiels en suffisamment bonne santé pour supporter le processus de greffe. La mobilisation des cellules souches et leur collecte peuvent être effectuées longtemps avant la greffe car elles peuvent être conservées indéfiniment dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) (*agent de cryoconservation*, ndt) à une température très basse. Une fois que les cellules souches ont été collectées, une chimiothérapie intensive et/ou une irradiation sont utilisées pour détruire les cellules de la moelle osseuse du patient. Le jour « J zéro » débute alors avec la greffe ou perfusion des cellules souches dans l'organisme du patient. Le patient est pré-médicalisé avec lorazepam et dexaméthasone, reçoit la perfusion des nouvelles cellules souches, puis il est suivi de très près pour ce qui concerne les réactions associées au liquide DMSO dans lequel les cellules souches ont été conservées. Le patient reçoit aussi des médicaments antifongiques, antibactériennes et antivirales, et il est généralement placé durant 24 heures sous soins intensifs. Le patient aura peu de globules blancs, sinon aucun, durant environ une semaine. Plus de 80% des patients développeront généralement une fièvre neutropénique et recevront des antibiotiques à large spectre. La greffe des nouvelles cellules souches se produit généralement entre le dixième et le quatorzième jour, après quoi le patient aura suffisamment de globules blancs pour se protéger des affections courantes.

La greffe allogénique est réalisée pratiquement de la même façon, sauf qu'il en existe deux sous-catégories : myéloablative et non-myéloablative. Dans la première, toute la population des cellules sanguine de la moelle osseuse est détruite avant de perfuser les cellules souches du donneur. Dans la seconde, souvent appelée « mini-allo », une chimiothérapie moins sévère est pratiquée avant la perfusion pour « faire de la place » aux nouvelles cellules souches dans la moelle osseuse.

Deux considérations importantes pour les patients recevant une greffe allogénique sont les « réaction du greffon contre la maladie » et la « réaction du greffon contre l'hôte » (*en anglais GVHD pour Graft Versus Host Disease*, ndt). Dans la première, les lymphocytes T et NK (Natural Killer) attaquent et affaiblissent ou détruisent les cellules cancéreuses, procurant une immunité ou une meilleure protection contre une rechute. Cet effet produit un meilleur taux de réponse que la greffe autologue. Cependant, les cellules qui produisent la réaction du greffon contre la maladie peuvent aussi attaquer les cellules saines du patient et provoquer une réaction du greffon contre l'hôte, conduisant potentiellement à des maladies chroniques graves et au décès. La « maladie du greffon contre l'hôte » explique en grande partie la morbidité et la mortalité plus élevées de la greffe allogénique.

Les taux de réussite et de survie des greffes autologues dans la MW sont remarquables. L'étude la plus importante, s'appuyant sur les statistiques de l' *European Bone Marrow Transplant Registry* (Registre Européen des Greffes de moelle osseuse), a examiné 201 greffes autologues et 86 greffes allogéniques.

Dans le groupe des greffes autologues, la durée médiane depuis le diagnostic était seulement de 18 mois et les patients avaient déjà reçu deux cycles de traitement. Même pour ceux ayant cette forme de la maladie, agressive et menaçant leur vie, la survie globale, la probabilité de rechute, et la durée de survie sans rechute furent respectivement de 61%, 55%, et 33%. Les résultats furent encore meilleurs pour ceux qui étaient chimio sensibles, comparés à ceux qui débutèrent la greffe de la maladie avec des formes réfractaires ou non répondantes.

Il y avait 37 greffes myéloablatives et 49 greffes non-myéloablatives allogéniques de patients MW dans cette étude. Pour ces deux groupes, il y eut respectivement 33% et 27% de mortalité sans rechute à 50 mois. A 5 ans, les taux de survie sans rechute étaient respectivement de 62% et 64%. La survie globale était de 56% pour les greffes myéloablatives et de 49% pour les non-myéloablatives. Comme pour les greffes autologues, le taux de succès était plus grand pour les patients ayant une forme de maladie chimio sensible avant la greffe.

Le Dr Abonour conclut que la greffe autologue était une option raisonnable pour les patients MW en rechute ou réfractaires et devrait être attentivement envisagée après une première rechute de traitement. La greffe allogénique, avec son taux de mortalité élevé, ne devrait pas être envisagée pour les patients MW hors d'essais cliniques et ne devrait jamais l'être pour des patients ayant au début, des formes indolentes de la maladie.

CHOISIR UN ESSAI CLINIQUE

Peter Martin, M.D.

Weill Cornell Medical College, New York, NY



Peter Martin, M.D.

Pourquoi a-t-on besoin d'essais cliniques ? En bref, le Dr Martin expliqua que la seule voie permettant d'accéder à la guérison du cancer passait par des essais cliniques. Ils aident les médecins à faire de meilleurs diagnostics et à identifier les indicateurs pronostiques, ils conduisent au développement et à la mise en œuvre de meilleurs tests, ils révèlent les façons de mieux utiliser les thérapies existantes et

conduisent au développement de nouveaux traitements.

Il existe deux types différents d'essais cliniques : les études observationnelles et les essais cliniques interventionnels.

Les études d'observation n'impliquent pas de traitement mais sont des études qui recueillent des données sur les patients, collectées pour en apprendre plus sur le cancer. Par exemple les études du Dr Mary McMaster au *National Cancer Institute* cherchent à découvrir les facteurs de risques impliqués dans le développement de la MW. La découverte par le Dr Steven Treon de la mutation génétique MYD88 chez les patients MW en est un autre exemple. Un autre étude est en cours à *Weill Cornell*, où le *Waterfall Waldenstrom's Macroglobulinemia Consortium*, composé de chercheurs de *Weill Cornell*, *Mayo Clinic* et *Roswell Park*, collecte des données sur tous les nouveaux patients pour les insérer dans une base de données cliniques sur le lymphome à *Weill Cornell*. Le même consortium collecte des échantillons de sang et de tumeurs sur tous les patients et les conserve dans une banque de tissus de la *Mayo Clinic* à Jacksonville, FL.

Les essais interventionnels, généralement les seuls considérés comme des essais cliniques, sont ceux qui testent les nouveaux traitements ou réexaminent les protocoles de traitements existants. Dans le passé, de nouveaux traitements ont été développés lorsque les chercheurs voyageaient dans une forêt humide, découvraient une toxine, l'essayaient sur un panel de cellules cancéreuses, découvraient que cette toxine particulière avait un effet sur un cancer particulier, raffinaient le composant et l'évaluaient dans un essai clinique. La nouvelle approche utilisée pour développer des traitements du cancer est de partir du cancer plutôt que d'une drogue ; ou, exprimé autrement, de découvrir ce qui

est anormal dans les cellules cancéreuses et de concevoir une drogue qui résoudra le problème. Idéalement, étant donné que les cellules cancéreuses ont de nombreuses voies de communication dont le fonctionnement peut se dérégler, les chercheurs vont développer un traitement avec plusieurs drogues qui ciblent ces multiples voies.

Pour obtenir l'autorisation de mettre en œuvre un essai clinique concernant un nouveau médicament potentiel, on doit tout d'abord prouver à la *Food & Drug Administration* que le produit peut être fabriqué et utilisé en toute sécurité, et qu'il est efficace sur les animaux. Ce qui est fait au moyen d'un formulaire d'enquête concernant ce nouveau produit. Lorsque cette demande est approuvée, le nouvel agent entre en essai de Phase I.

Les essais de Phase I déterminent comment administrer le médicament en toute sécurité, quels sont ses effets sur l'organisme, et les effets de l'organisme sur le médicament (par exemple, comment l'organisme métabolise le médicament). Les patients participants ont habituellement été traités antérieurement, et ces études concernent généralement une petite population, environ 10 à 30 patients. Tous les participants reçoivent le même médicament à l'essai, mais habituellement avec des dosages différents.

L'étape suivante dans le processus des essais cliniques est l'essai de Phase II. Ce type d'essai détermine quelle est l'efficacité du médicament. Les patients peuvent ou non avoir été traités antérieurement, et ils sont généralement entre 20 et 80 participants. Ils reçoivent tous le même médicament et généralement avec le même dosage.

Les essais de Phase III déterminent si le nouveau médicament est meilleur que celui du « traitement standard » alors en vigueur. Les patients peuvent ou non avoir été précédemment traités, et ces études sont généralement étendues. Peu d'essais de Phase III sont conduits uniquement pour des patients MW. La raison est en partie due à notre petite population de patients et en partie au fait que peu de patients requièrent un traitement à un moment déterminé. Dans les études de Phase III, les patients sont choisis au hasard pour recevoir soit le nouveau médicament, soit le traitement « standard » (les patients recevant le traitement « standard » composent généralement le bras de contrôle de l'étude). La randomisation (*sélection au hasard*, ndt) est importante dans un essai de Phase III pour éviter d'avoir un biais (*une erreur*, ndt) dans les résultats de l'étude ; aussi, la sélection des patients qui recevront l'un ou l'autre des médicaments est effectuée par ordinateur, et les patients n'ont pas le choix de leur traitement.

Le Dr Martin a exposé les risques liés aux essais cliniques. Les nouveaux traitements peuvent ne pas être meilleurs que le traitement « standard », ils peuvent avoir plus d'effets secondaires ou des effets secondaires différents, certaines dépenses peuvent ne pas être couvertes, un plus grand nombre de visites en clinique peut s'avérer nécessaire, et vos antécédents médicaux peuvent être portés à la connaissance des animateurs de l'étude non directement impliqués dans vos soins cliniques.

En raison d'abus historiques dans les essais cliniques, il existe maintenant beaucoup plus de protections au bénéfice des sujets humains qui y sont impliqués. Différents organismes doivent obligatoirement avoir approuvé les protocoles d'essais, qui vont des comités d'évaluation par les pairs aux comités institutionnels d'éthique, jusqu'au processus d'approbation par la FDA. Tous les essais cliniques doivent être publiés sur le site www.clinicaltrials.gov de façon à ce qu'ils puissent y être recherchés. Il existe une procédure de consentement éclairé des patients qui leur permet de changer d'avis à tout moment dans l'essai et de se rétracter. Le contrôle des données et de la sécurité est effectué tout au long de l'essai, et des rapports sont présentés périodiquement lors de grandes réunions, comme celles de l'*American Society of Hematology (ASH)* ou de l'*American Society of Clinical Oncology (ASCO)*.

Le Dr Martin a également passé en revue les avantages d'une participation aux essais cliniques. Les patients sont en situation de bénéficier de traitements d'avant-garde, avec le développement de nouveaux traitements et la standardisation des stades cliniques et du suivi ; il y a une approche en équipe de soin avec un médecin spécialiste, une infirmière affectée, et un gestionnaire des données ; une grande attention est portée au recueil des informations et au contrôle des soins ; et il y a un sentiment d'altruisme de la part des participants, enrôlés dans des essais qui bénéficieront aux futurs patients.

Le Dr Martin a conseillé à ceux qui sont intéressés par des essais cliniques d'écrire et de poser des questions, d'en parler à leur médecin s'ils sont préoccupés, de venir avec quelqu'un à leurs rendez-vous pour les aider à prendre note des questions et des réponses, de faire leurs propres recherches et de réfléchir aux effets secondaires du traitement qu'ils sont prêts à accepter. En plus du site www.clinicaltrials.gov mentionné ci-dessus, il énuméra plusieurs sources additionnelles d'information sur les essais cliniques, incluant l'IWMF (adresse www.iwmf.com), la *Leukemia & Lymphoma Society*, la *Lymphoma Research Foundation*, et le *National Cancer Institute*. Weill Cornell maintient également un site et un blog sur les essais cliniques en cours dans son institution (<http://cornell-lymphoma.com>). (Voir Nota in fine. ndt)

Dans la session « questions et réponses » qui suivit, le Dr Martin déclara qu'il n'existe aucune autorité centrale surveillant les produits qui sont soumis à la FDA aux fins d'essais cliniques. Généralement, les compagnies pharmaceutiques, les chercheurs dans les institutions académiques, ou les consortiums d'instituts de recherches, initient cette recherche au bénéfice d'un traitement qu'ils estiment prometteur. Un autre participant voulait savoir s'il existe un créneau de temps durant lequel les patients peuvent rejoindre un essai clinique. Le Dr Martin répondit que la plupart des essais cliniques ont un projet statistique élaboré qui détermine combien de patients sont nécessaires pour obtenir des données valides, et lorsque le nombre de patients est atteint, l'enrôlement pour l'essai est clôturé. Ce créneau dépend aussi de plusieurs facteurs : le type

d'étude, la rapidité avec laquelle les patients s'enrôlent, et le nombre de centres qui pilotent l'étude.

Nota :

(En France on peut trouver l'information concernant tous les essais, à cette adresse :

<http://ansm.sante.fr/Activites/Essais-cliniques/Les-essais-cliniques/%28offset%29/0>

et pour les essais concernant le cancer :

<http://www.e-cancer.fr/recherche/recherche-clinique/registre-des-essais-cliniques>

THÉRAPIE CELLULAIRE ET GREFFE DE CELLULES SOUCHES POUR LA MW

Edouard A. Stadtmauer, M.D.

Université de Pennsylvanie, Philadelphie, PA



Edward A. Stadtmauer, M.D.

Les maladies pour lesquelles nous utilisons le plus souvent la greffe de cellules souches (SCT, de l'anglais *Stem Cell Transplantation*, ndt)) sont le myélome multiple et le lymphome non-hodgkinien. Le Docteur Stadtmauer a posé la question - pourquoi soumettriez-vous un patient avec une MW à une greffe de cellules souches ? Il a répondu à la question en désignant les aspects positifs suivants :

1. Il n'y a qu'un petit sous-ensemble de patients avec la MW qui est guéri avec la thérapie conventionnelle sans avoir recours à la greffe.
2. Une survie à long terme et une survie sans événement ont été observées après la greffe (SCT) autologue (autogreffe) pour un lymphome diffus à grandes cellules B en rechute, un lymphome folliculaire et la MW.
3. Des survies de long terme ont été observées après une greffe allogénique chez des patients avec un lymphome non-hodgkinien en rechute ou réfractaire et avec la MW.

Le Docteur Stadtmauer a aussi énuméré les aspects négatifs de la greffe de cellules souches :

1. Toxicité aiguë de la SCT allogénique conventionnelle.
2. Morbidité à long terme et mortalité dues à la maladie du greffon contre l'hôte.

3. Possibilité de rechute malgré une SCT.

4. Possibilité de cancer secondaire bien que le lymphome soit guéri.

5. Des thérapies alternatives actuelles existent qui ne permettent pas de guérir mais qui peuvent donner une survie à long terme avec une faible toxicité.

Donc, pouvons-nous faire mieux que la SCT autologue ou allogénique ? Pouvons-nous manipuler le propre système immunitaire d'un patient pour qu'il soit plus "anti-lymphome?" Il y a potentiellement plusieurs façons de réaliser cela et c'est actuellement un secteur de recherche très actif dans beaucoup d'endroits. Les chercheurs font l'hypothèse que le système immunitaire peut être stimulé pour produire des anticorps anti-lymphome, que les lymphocytes T peuvent être stimulés pour être plus anti-lymphome et que les lymphocytes T peuvent être génétiquement modifiés pour tuer directement les cellules de lymphome.

Une des technologies-clé dans ce type de recherche est appelée immunothérapie adoptive de lymphocytes T. Les chercheurs ont la capacité d'enlever les propres lymphocytes T (ou des lymphocytes T de donneurs) par un procédé semblable à la plasmaphérèse et les stimuler avec un antigène artificiel pour qu'ils se comportent comme s'ils étaient exposés à une infection. C'est ce qu'on appelle l'activation des lymphocytes T. Les lymphocytes T activés peuvent être réintroduits chez le patient ou congelés pendant une période qui peut atteindre 20 ans.

Le Dr Stadtmauer a exposé une des premières expériences utilisées avec des lymphocytes T activés. La grippe, qui, au cours du temps, a été associée à de nombreuses épidémies, est combattue principalement par la vaccination annuelle de la population avec des souches saisonnières appropriées. Cependant, les patients immunodéficients ont un risque très élevé de complications grippales infectieuses parce qu'habituellement ils répondent faiblement à la vaccination et leurs lymphocytes B et T n'opposent à l'infection qu'une réaction immunitaire affaiblie. Pour cette expérience, des patients avec un myélome multiple ont été séparés en deux groupes - le premier groupe a reçu la vaccination de la grippe et deux semaines après des lymphocytes T ont été prélevés ; tandis que le deuxième groupe n'a pas reçu de vaccin avant le prélèvement des lymphocytes T. Les patients des deux groupes ont subi une autogreffe de cellules souches après quoi chacun a reçu ses propres lymphocytes T. Après la greffe chacun d'entre eux a reçu la vaccination antigrippe. Ceux des patients dont les lymphocytes T avaient été amorcés avec le vaccin avant la greffe étaient capables d'atteindre une bien meilleure réponse immunitaire. Le même type d'expérience a été répété avec le vaccin de la pneumonie et il a montré des résultats semblables. L'étape suivante était de voir si les lymphocytes T pourraient être amorcés contre les cellules cancéreuses du myélome multiple. Un vaccin peptidique, développé à l'origine pour le cancer du sein, mais qui réagit aussi aux plasmocytes anormaux du myélome multiple, a été injecté. Les lymphocytes T ont été prélevés deux

semaines plus tard, incubés et réinjectés après que les patients aient subi la greffe de cellules souches. Dans l'examen de laboratoire qui a suivi, 40 % de ces patients ont démontré une activité anti-myélome dans leurs lymphocytes T.

Comment un vaccin pourrait-il être développé pour la MW qui préparerait les lymphocytes T à attaquer les cellules tumorales ? Une voie serait de cibler les marqueurs superficiels habituellement ou presque toujours trouvés sur les cellules MW. Ceux-ci incluent CD19, CD20, CD22, CD79, CD25, CD27, FMC7, BCL2 et CD52. CD19 est potentiellement une cible parfaite parce que son expression est limitée aux lymphocytes B, il n'est pas exprimé sur les cellules souches de moelle osseuse, il est exprimé dans la plupart des affections malignes touchant les lymphocytes B et les anticorps dirigés contre CD19 interdisent la croissance des cellules de lymphome en laboratoire. Les chercheurs de laboratoire ont développé par ingénierie génétique un virus qui peut infecter des lymphocytes T et introduire un « détonateur » anti-CD19 dans les lymphocytes T. Ces lymphocytes T spécialement activés, appelés cellules CART-19 T, attaqueront alors n'importe quel lymphocyte B qui exprime CD19.

Le Dr Stadtmauer est actuellement impliqué dans les expérimentations cliniques qui évaluent cette approche. Dans une petite étude de patients de leucémie lymphoïde chronique lourdement prétraités, des lymphocytes T ont été prélevés chez chaque patient, infectés avec le virus modifié, incubés pendant plusieurs jours et réinjectés ensuite à chaque patient. On a constaté que cette procédure était plus efficace si on administrait aux patients une chimiothérapie (cyclophosphamide ou bendamustine) avant la réinjection de leurs lymphocytes T activés. Les résultats ont été encourageants et les lymphocytes T modifiés semblent rester actifs pendant au moins 12 mois après qu'ils ont été réinjectés. Le Dr Stadtmauer a noté un patient dont la moelle osseuse est apparue normale 31 jours après la thérapie et dont les ganglions lymphatiques hypertrophiés avaient régressé 105 jours après la thérapie. Cependant, ce type de thérapie n'est pas sans toxicités potentielles.

Le Dr Stadtmauer a indiqué que quand il y a destruction en grande quantité de cellules tumorales, cytokines et "déchets" cellulaires sont déposés dans le système du patient, avec le risque potentiel du syndrome de lyse tumorale. Il se caractérise par : fièvre, nausées, diarrhées, perte d'appétit et déséquilibres électrolytiques, augmentation du niveau de créatinine, acide urique et LDH. Avec des soins actifs, ceci peut être géré avec succès.

Le Dr Stadtmauer a aussi brièvement discuté des vaccins anti-idiotype pour le lymphome, qui sont légèrement différents. Les vaccins idiotypiques utilisent un fragment de la protéine monoclonale spécifique de chaque patient pour induire une réponse cellulaire. Dans une expérimentation clinique de phase III du lymphome folliculaire, des patients ont reçu une chimiothérapie semblable à CHOP. Par la suite, la moitié des patients a

reçu le vaccin idiotype spécifique et l'autre moitié ne l'a pas eu. Les patients qui ont reçu le vaccin sont restés en rémission plusieurs mois de plus.

L'auditoire a posé plusieurs questions au Dr Stadtmauer se rapportant à la possibilité d'immunosuppression à long terme par ce type de traitement parce que les lymphocytes B sont continuellement agressés. Le Dr Stadtmauer a dit que puisque ce traitement n'affecte pas les cellules souches, les lymphocytes B devraient être remplacés en permanence. Il a aussi désigné comme "un des mystères de la vie" – le fait que l'utilisation de rituximab, qui cible aussi les lymphocytes B, n'entraîne pas une immunosuppression sévère. Jusqu'ici il n'apparaît pas que l'utilisation des lymphocytes CART-19 cause non plus une immunosuppression sévère, mais qu'un contrôle à long terme de cette thérapie est nécessaire avant de pouvoir en tirer des conclusions fermes.

Un autre membre de l'auditoire a demandé si on avait envisagé l'utilisation de lymphocytes T activés sans l'utilisation d'événements concomitants tels qu'une chimiothérapie ou une auto-greffe de cellules souches. Bien que les études actuelles incluent chimiothérapie et greffe pour réduire la charge tumorale et essayer de réduire au minimum le syndrome de lyse tumorale, le Dr Stadtmauer a dit qu'un des buts de la prochaine génération d'immunothérapie des lymphocytes T est de l'utiliser sans aucun des deux autres traitements..

Une personne a demandé si rituximab pourrait être utilisé en combinaison avec l'immunothérapie par les lymphocytes T CART-19. Le Dr Stadtmauer a indiqué qu'on en discutait, mais que cela impliquera la coopération entre des sociétés pharmaceutiques différentes et probablement rivales, ce qui n'est pas toujours facile à réaliser.

GENOMIQUE 101

Brian Van Ness, Ph.D.

Université du Minnesota, Minneapolis, MN



Brian Van Ness, Ph.D.

Puisque chaque personne est génétiquement unique, il y a des différences significatives entre nous dans la sensibilité à la maladie, notre parcours clinique et notre réponse au traitement. Cet exposé a examiné de quelle façon le génome (la totalité de l'ADN d'un individu) a un impact sur la maladie et son traitement et comment le séquençage du génome

va probablement avoir des conséquences sur les soins médicaux.

Flux cellulaire d'information

Chaque cellule est déterminée par son ADN. L'ADN de chaque gène contient le code pour un messenger spécifique, la molécule d'ARN (ARNm), créée par le processus de transcription. Ces molécules d'ARNm transportent le message génétique dans la cellule et, par le processus de traduction, codent pour la production des protéines qui spécifient la fonction cellulaire. Parce que nos génomes sont tous différents, "les usines" biochimiques qui fabriquent ces protéines peuvent varier légèrement d'individu à individu, en sorte que "l'usine" d'une personne peut être plus ou moins efficace que celle d'une autre personne. De plus, les cellules ne fonctionnent pas de manière isolée. Elles sont entourées de signaux environnementaux externes portés par des molécules comme les facteurs de croissance, les hormones, etc. qui interagissent avec les cellules et influent sur leurs fonctions, y compris la prolifération et la survie. Si nous voulons comprendre le processus d'une maladie, ou comment les cellules répondent au traitement, nous devons appréhender tous les composants de la fonction cellulaire basés sur le code génomique qui détermine cette cellule particulière.

Code génétique et variation génétique

Le code génétique est universel dans les formes de vie animale et végétale. Tout l'ADN est édifié à partir de quatre bases chimiques : **A** (l'adénine), **C** (la cytosine), **G** (la guanine) et **T** (la thymine).

Dans l'ADN, où chaque base est liée à une molécule de sucre desoxyribose et à un groupe phosphate, les bases sont appelées nucléotides. (Dans l'ARN, la base uracil (**U**) remplace la thymine et le sucre ribose remplace le desoxyribose). Les bases s'associent 2 à 2 pour former des paires spécifiques : **A** dans un brin d'ADN s'associe toujours avec **T** dans l'autre brin d'ADN (ou **A** avec **U** dans l'ARN.) et **G** est toujours associé à **C**; de telles paires liées sont dites complémentaires.

L'hybridation est le processus d'appariement d'une séquences de base complémentaire entre deux molécules simple-brin d'acide nucléique (ADN ou ARN) pour former une molécule double-brin. L'ordre des quatre bases fournit un code qui détermine la fonction de chaque cellule.

Pour avoir une compréhension plus approfondie de la fonction génétique chez l'homme, le séquençage de chacune des trois milliards de paires de base d'ADN (réparties dans les 23 paires de chromosome) a été mis en oeuvre avec le projet *Human Genome Project*, qui a pris 13 ans et a coûté au total environ 3 milliards de dollars. Il y a environ 25 000 gènes dans le génome humain et la similarité des séquences des paires de bases chez les humains est d'environ de 99.9 % (l'identité des séquences entre l'homme et le singe est d'environ 92 %). La non-identité de 0.1 % d'une personne à une autre représente plus d'1 million de paires de base de nucléotides et les

différences correspondantes des gènes représentent beaucoup de variations physiques dans les caractéristiques des individus, comme la couleur des yeux, des cheveux, la morphologie, etc. Un type de variation de gène, appelée polymorphisme nucléotidique simple (SNP pour *simple nucleotide polymorphism*, nt), survient quand un nucléotide simple (A, G, C ou T) est remplacé par un nucléotide différent. Les SNP ("prononcez snip") surviennent avec une fréquence d'environ 1 par 1000 paires de bases. Ces SNP peuvent influencer le risque de maladie, la progression et la réponse thérapeutique.

En plus de l'héritage de variations génétiques de nos parents, d'autres variations génétiques peuvent survenir suite aux mutations causées par des expositions environnementales (telles que : la lumière du soleil, l'exposition au tabac) ou des erreurs occasionnelles aléatoires de reproduction d'un gène pendant la division cellulaire, tout au long de la vie d'un individu.

Comment la variation génétique est-elle étudiée ? Les techniques utilisées peuvent être : l'analyse de l'arbre généalogique, l'identification d'anomalies chromosomiques par examen du caryotype, le profil d'expression de gène et la comparaison entre analyse complète de séquences entières de génome normal avec leurs homologues malades.

Analyse d'arbre généalogique (histoire familiale)

Une histoire familiale de maladie de coeur, de diabète, ou de cancer du sein est un indicateur de risque important pour développer la maladie en question. La moitié de ses caractéristiques génétiques est héritée d'un parent et la moitié de l'autre. Une analyse d'arbre généalogique peut être un outil utile pour étudier une histoire familiale. Un arbre généalogique est un diagramme des relations familiales qui utilise des symboles pour représenter les relations à l'intérieur des familles. Ces diagrammes rendent la visualisation des relations intra-familiales plus faciles, particulièrement dans les familles étendues. Les arbres généalogiques sont souvent utilisés pour déterminer le mode de transmission (dominant, récessif, etc) de maladies génétiques.

Quelques maladies (une minorité) sont causées par des variations dans un seul gène. Des maladies dominantes en raison de la variation d'un seul gène surviennent quand une personne hérite une copie du gène modifié de l'un ou l'autre parent - la maladie de Huntington en est un exemple. Des maladies génétiques récessives surviennent quand une personne hérite deux copies du gène modifié, une de chaque parent – exemple : l'anémie falciforme.

Il y a aussi les variations d'un seul gène qui ne causent pas la maladie en cause, mais augmentent le risque de l'acquérir. Par exemple, dans la maladie xeroderma pigmentosa, un gène de réparation de l'ADN est défectueux. En sorte qu'un individu concerné par ce gène est incapable de réparer les dégâts de la peau causés par la lumière du soleil (UV) et sera extrêmement prédisposé à développer des formations cancéreuses de la peau après l'exposition à la lumière du soleil. D'autres variations d'un

seul gène qui augmentent le risque sont le gène APC du cancer du côlon, les gènes BRCA1 et BRCA2 qui prédisposent au cancer du sein et de l'ovaire et des gènes suppresseurs de tumeur comme TP53 qui, quand ils sont altérés, prédisposent à de multiples formations cancéreuses.

Beaucoup de maladies surviennent sous l'influence de variations génétiques multiples. C'est le cas de maladies cardiovasculaires, de la plupart des formations cancéreuses et du diabète.

Identification d'anomalies chromosomiques par caryotypage

Un caryotype montre la composition des chromosomes d'un individu, traditionnellement présentée comme une photographie au microscope composée des 23 paires de chromosomes humains colorés et disposés dans un ordre standard. Plus récemment, l'affichage en haute résolution de vidéos d'ordinateur a permis la manipulation du logiciel et l'impression des images. Les techniques de caryotypage permettent l'identification de régions anormales dans un chromosome aussi bien que le gain ou la perte d'un chromosome entier. Un exemple de maladie détectée avec cette technique est la trisomie 21 (*Down's syndrom* pour les anglo-saxons, ndt), dans lequel il y a trois chromosomes 21 au lieu des deux habituels. Le caryotype spectral emploie le traitement d'images informatisées et des teintures fluorescentes pour marquer chaque chromosome avec une couleur différente. Cette technique augmente la détection de nouveaux points de cassures chromosomiques et de translocations (une anomalie causée par le réarrangement de parties entre des chromosomes différents), en plus de l'identification de gains et pertes chromosomiques. Le myélome multiple est une maladie qui présente, de façon caractéristique, de nombreuses anomalies chromosomiques incluant des chromosomes supplémentaires, des translocations, des fusions de gène et des duplications de gène. Au contraire, la MW a beaucoup moins de chance de montrer des anomalies chromosomiques. Le caryotypage ne permet pas de diagnostiquer la MW, mais peut être utilisé pour aider à la distinguer du myélome multiple.

Profil d'expression de gène

L'ARN messenger est transcrit dans le noyau de l'ADN chromosomique originel de chaque gène. L'activité du gène (la quantité de protéine produite) est déduite de la quantité de mRNA présent. Des modifications du code génétique, comme l'effacement (délétion) d'un segment d'ADN ou une augmentation du nombre de copies d'un gène, aboutissent à des changements du mRNA en sorte que les protéines résultantes peuvent être en quantité supérieure, inférieure, ou avoir une activité différente de la protéine originale. Un gène peut se trouver exprimé dans des cellules qui n'exprimeraient pas, normalement, ce gène. Ces changements dans l'activité des gènes peuvent être identifiés et organisés dans des profils d'expression de gène générés à partir de tableaux de puces à ADN. Ces *microarrays* sont des micromatrices de petites taches (*spot*)

semblables à des points (*dot*), immobilisées sur un support solide (le *chip*) chaque spot contenant une infime quantité d'une séquence spécifique d'ADN, représentant un gène unique. (Le terme microarray est utilisé parce que l'analyse de milliers de points infimes sur le chip exige un microscope.) Les segments d'ADN attachés au chip par le fabricant sont appelés « sondes » (*probes en anglais*, nt). L'*Affymetrix GeneChip Probe Array* peut loger jusqu'à 30 000 gènes sur une surface carrée de 1,27 cm de côté. L'ARN ou des fragments d'ADN connus comme des « cibles » sont préparés à partir de l'ARNm d'échantillons de patients et d'échantillons normaux de référence, dans le laboratoire où le test est réalisé, une étiquette, fluorescente ou autre, est attachée à chaque cible et les échantillons cibles sont alors déposés sur les points rangés sur le chip, où ils peuvent alors hybrider les sondes d'ADN. L'abondance d'ARN messenger est évaluée en mesurant l'intensité de la fluorescence à chaque point. Les résultats d'un test de microarray sont présentés dans un tableau rectangulaire des « points chauds », avec les codes couleur, créé par ordinateur, dans lequel les gènes sont rangés individuellement en ligne et les échantillons de référence, de patients individuels ou de témoins normaux de référence sont rangés en colonnes. Une expression importante d'ARNm apparaît en rouge; on dit des gènes fortement exprimés qu'ils sont régulés à la hausse. Une faible expression d'ARNm apparaît en vert; on dit des gènes faiblement exprimés qu'ils sont régulés à la baisse (*ou soumis à une régulation restrictive*, nt). Le profil d'expression de gène révèle un modèle très différent pour le myélome multiple de celui observé dans la MW.

Comparaison de séquences entières de génome

Le génome entier avec ses 3 milliards de paires de bases est maintenant séquencé grâce à des techniques modernes et à des équipements beaucoup plus modernes et rapides que ceux utilisés pour le *Human Genome Project*. Les génomes complets de cellules de tumeur sont comparés avec ceux de cellules normales pour voir où se situent les différences. Ces différences peuvent être ou non significatives pour le développement ou la progression d'une maladie particulière et une nouvelle recherche est fréquemment nécessaire juste pour déterminer quel pourrait être leur impact.

Impact de la génomique sur les soins médicaux et défis futurs

Les méthodes de génotypage ont révolutionné la façon d'étudier et de traiter beaucoup de maladies, y compris le cancer. Elles ont conduit à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques pour le développement de médicaments, l'identification de modèles d'expression de gène qui définissent précisément une affection maligne, la prédiction d'une réaction positive à un traitement, la prédiction d'un risque de développer une maladie et le risque qu'elle progresse, et le développement de la thérapie spécifique au patient.

Dans la médecine personnalisée, les buts sont d'apprendre les caractéristiques génétiques de chaque tumeur et d'utiliser cette information pour choisir la bonne drogue pour le bon patient juste à la dose qui lui convient. Le coût du séquençage d'un génome individuel est tombé de façon spectaculaire depuis le montant de 3 milliards de \$ mentionné ci-dessus. Le Docteur Van Ness croit que dans environ cinq ans le coût pourrait descendre aussi bas que 200 \$ pour séquencer un patient. Le génome du patient pourrait alors devenir un élément de son dossier médical et être disponible non seulement comme référence dans le choix du traitement quand la maladie survient, mais aussi pour fournir une ressource de valeur pour la recherche sur la maladie de ce patient.

La gestion de cette explosion de données exigera l'appui d'un vaste système de bio-informatique, y compris le développement d'algorithmes, de bases de données, l'ingénierie de logiciel, la modélisation et la simulation, le traitement d'image, la statistique, etc. Des interactions génétiques complexes doivent être déchiffrées. Les maladies et les populations qu'elles affectent sont variables, ce qui complique l'interprétation de l'information génétique. Les influences environnementales sur le génome doivent être mieux comprises. Les questions de vie privée doivent être résolues. La technologie a évolué si vite que beaucoup de médecins, particulièrement ceux qui ont suivi la faculté de médecine avant le *Projet de Génome Humain*, devront devenir plus conscients de l'utilité de cette information.

GENOMIQUE ET MÉDECINE PERSONNALISÉE POUR LE CANCER

Brian Van Ness, Ph.D.

Université du Minnesota, Minneapolis, MN



Brian Van Ness, Ph.D.

Dans son second exposé, le Dr Van Ness a développé sa présentation précédente de la génomique et de la médecine personnalisée avec plusieurs exemples montrant comment ces concepts ont été appliqués à des types spécifiques de cancer.

Gènes importants dans la recherche en oncologie

Les gènes ont été groupés en diverses classes selon leur fonction. Les chercheurs veulent comprendre comment les gènes, dans ces classes, affectent la biochimie du cancer, son

diagnostic, son pronostic et son traitement. Le Dr Van Ness a discuté de plusieurs de ces classes de gènes et leur importance pour notre compréhension du développement du cancer et de sa prolifération :

1. Les oncogènes favorisent la division cellulaire. Quand ils ne sont pas exprimés correctement ou qu'ils ont subi une mutation qui fait qu'ils développent une activité indésirable, ils peuvent provoquer une division cellulaire qui n'est plus contrôlée : c'est la signature du cancer.
2. Les gènes suppresseurs de tumeur disent aux cellules d'arrêter de se diviser. Si ces gènes ont subi une mutation ou ne sont pas convenablement exprimés, ils échoueront à arrêter correctement la division cellulaire.
3. Les gènes de réparation de l'ADN codent pour des protéines qui reconstituent la structure de l'ADN après des dommages : chimiques, dus à des radiations, ou spontanés. Si ces gènes subissent une mutation ou fonctionnent mal, la réparation de l'ADN est altérée. Cela augmente alors la probabilité que des mutations non réparées modifient la fonction d'autres gènes, comme des gènes suppresseurs de tumeur ou des oncogènes.
4. Les gènes impliqués dans l'apoptose commandent aux cellules de mourir, particulièrement à certaines cellules du sang. Par exemple, les cellules du système immunitaire qui ont organisé la réponse à un antigène étranger devraient par la suite subir la mort cellulaire programmée. Si l'apoptose ne se produit pas quand elle le devrait, les cellules peuvent s'accumuler peu à peu jusqu'à atteindre un niveau destructeur.
5. Les gènes impliqués dans la migration cellulaire contrôlent le mouvement et l'impact des métastases tumorales.

Pharmacogénomique

Les variations dans les gènes de chaque individu peuvent affecter la fonction cellulaire et la réponse des cellules au traitement du cancer. Le Dr Van Ness a expliqué qu'un médicament peut être affecté par la manière dont l'organisme le traite. Après que le produit a pénétré dans l'organisme, quatre opérations se succèdent : absorption, distribution, métabolisme et excrétion. Beaucoup de drogues sont métabolisées par le foie. Les patients varient dans leur capacité à métaboliser les drogues et à évacuer leurs métabolites. Les patients qui métabolisent rapidement le produit sont moins susceptibles d'en subir la toxicité, mais ils ne peuvent pas obtenir le plein effet du produit à la dose usuelle. Ceux qui ont un métabolisme ralenti sont plus vulnérables, par contre, à la toxicité de la drogue.

Plus de 2.5 milliards de prescriptions en consultation externe sont écrites annuellement (2, toutes les 3 visites) et 2 millions de réponses gravement défavorables aux médicaments (ADR pour *adverse drug responses*, ndt) résultent de ces prescriptions. Ils sont la quatrième cause

principale de décès aux Etats-Unis, devant les pathologies pulmonaires, le diabète, le SIDA et la pneumonie. Environ 100 000 morts surviennent annuellement et le coût pour les Etats-Unis en est approximativement de \$136 milliards/an.

L'analyse de génotype (identification des gènes spécifiques impliqués dans les ADRs) peut aider à aborder ce problème de santé publique majeur en orientant le traitement vers la bonne drogue, juste à la bonne dose, pour le bon patient. Elle peut distinguer les non-répondeurs des répondeurs et identifier ceux qui auront probablement une ADR.

Cela a mené au développement de la pharmacogénomique, qui est l'étude de l'effet des variations génomiques sur la réponse thérapeutique. Dans le contexte de la pharmacogénomique, le but de la médecine personnalisée est de maximiser l'avantage du traitement pour le patient individuel en réduisant au minimum la toxicité du médicament. Le Dr Van Ness a cité plusieurs exemples de l'impact de la pharmacogénomique sur différents types de cancer.

Variations génétiques dans des tumeurs et réponse thérapeutique

Environ 75 % des patients qui ont un cancer colorectal métastatique (CRC) ont des cellules tumorales avec des récepteurs superficiels appelés EGFR qui se lient au facteur de croissance épidermique dans la circulation sanguine. Une fois cette liaison réalisée, une cascade de réactions biochimiques se produit dans la cellule qui conduit à la division cellulaire. Le cetuximab (Erbix) est un anticorps monoclonal chimérique (souris/homme) qui inhibe l'EGFR et bloque la cascade biochimique chez environ 60 % des patients. On le donne par voie intraveineuse pour le traitement du cancer colorectal métastatique. Cependant, 40 % environ de patients CRC ne répondent pas au médicament. Ces non-répondeurs ont aussi un gène mutant KRAS (un membre de la famille de gènes RAS qu'on examinera plus loin) qui indique aux cellules de se diviser sans tenir compte du fait qu'elles possèdent ou non EGFR. L'oncogène muté KRAS est toujours "allumé", tandis qu'un gène KRAS normal (un proto-oncogène) s'allume et s'éteint. La FDA recommande maintenant que les patients CRC soient testés pour la mutation KRAS avant qu'on leur administre cetuximab.

Profils d'expression de gène pour le diagnostic et le pronostic de la maladie

Dans une étude de cellules tumorales de patientes avec un cancer du sein nouvellement diagnostiqué, le profil d'expression des gènes a révélé qu'un profil particulier (dit "signature") parmi 70 gènes pronostiques a permis de distinguer les patientes qui allaient probablement rechuter de celles qui n'avaient probablement pas ce risque. Par la suite, un profil-test commercial d'expression de gènes a été développé appelé Oncotype DX. Il utilise 21 gènes pour obtenir une probabilité de score de récurrence (de 0 à 100)

qui aide le cancérologue à prendre une décision quant à la suite de la chimiothérapie.

Analyse de groupe de gènes contre analyse de gène simple

Quand de grands fumeurs avec le cancer du poumon ont été comparés avec des grands fumeurs sans cancer du poumon, aucun gène simple n'a aidé à distinguer les deux groupes. Cependant, un groupe de cinq gènes a été trouvé qui a vraiment permis la distinction entre les deux groupes. Cette approche est prolongée en direction de beaucoup d'autres maladies dans lesquelles l'analyse de gène simple n'avait rien apporté.

Application de la pharmacogénomique au myélome multiple

Le myélome multiple (MM) est une maladie maligne des plasmocytes. Environ 20 000 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année aux Etats-Unis et la survie à cinq ans est d'environ 35 %. Le profil d'expression de gène des plasmocytes normaux comparé au profil des plasmocytes malins a révélé que 120 gènes différencient les plasmocytes normaux des plasmocytes malins. Dans une étude différente utilisant la même technique, la comparaison de plasmocytes de MM et de cellules de tumeur de MW a montré beaucoup de différences entre les deux, aussi bien qu'une variation parmi les cellules tumorales de patients MW.

Le myélome est une maladie avec beaucoup d'instabilité génétique, caractérisée au niveau chromosomique par des translocations fréquentes (d'un segment d'un chromosome à un autre) impliquant le locus des gènes des chaînes lourdes d'immunoglobulines (sur le chromosome 14); des trisomies (trois copies d'un chromosome au lieu de deux); des délétions totales ou partielles de chromosomes et d'autres anomalies cytogénétiques complexes. En plus des importants défauts chromosomiques qui affectent la fonction de multiples gènes, des mutations individuelles de gène comme les SNPs (Single Nucleotide Polymorphism, *variation dans le génome limitée à un seul nucléotide*. ndt) ou l'amplification de gène (une augmentation du nombre de copies d'un gène) peuvent survenir. La mutation de gènes RAS est courante dans le myélome. Le rôle naturel des membres de la famille de gènes RAS est de coder pour des protéines qui retransmettent des signaux extracellulaires à un certain nombre de voies intracellulaires contrôlant la division et la différenciation de la cellule. Quand ils subissent une mutation, comme c'est le cas au diagnostic, chez 39 % de patients avec un myélome multiple, ces gènes sont activés ou régulés à la hausse de manière permanente comme des oncogènes. Cela active à leur tour d'autres gènes qui sont impliqués dans la division cellulaire. KRAS en particulier confère une agressivité tumorale accrue, une survie plus courte et une résistance accrue au traitement. Le gène MYC est un gène régulateur qui code pour une protéine qui se lie à des séquences d'ADN spécifiques et contrôle la transcription de l'ADN en ARNm. Il est régulé à la hausse chez plus de 60 % de

patients de myélome multiple. Ceci entraîne une progression du cycle de division et de prolifération cellulaire et conduit aussi à la perte de sensibilité à l'apoptose. Les gènes anti-apoptotiques BCL2, BCL-XL et MCL1 peuvent aussi être régulés à la hausse, ce qui conduit à une résistance accrue au traitement et à la rechute.

Quand le Dr Van Ness et ses collègues ont traité des cellules tumorales de myélome auxquelles manquait la mutation de gène RAS, avec le stéroïde dexaméthasone, 70 % environ des cellules sont mortes en quelques jours. Un gène mutant RAS a été prélevé dans une lignée cellulaire de myélome et inséré dans une autre lignée de cellule de myélome dans laquelle ce mutant manquait. Une fois que le gène RAS mutant a été inséré, les cellules de myélome n'ont plus répondu à dexaméthasone. Cette expérience illustre le rapport entre la résistance à la drogue et la variation génétique dans la tumeur.

Le Dr Van Ness a aussi discuté de la création d'une banque d'ADN de cellules tumorales de myélome appelée Banque pour un Projet de Guérison, qui est une action menée en collaboration avec la Fondation Internationale du Myélome et des laboratoires, dans le monde entier. Son but est de développer une corrélation génétique avec le risque du myélome, la progression, la réponse et les toxicités associées aux traitements. Le but ultime est de fournir des services médicaux individualisés avec l'avantage maximal et le risque minimal. Des associations génétiques ont déjà été découvertes qui ont un impact sur la survie du patient, la sévérité des lésions osseuses, et des problèmes de coagulation sanguine liés à certains traitements.

Modèles murins (souris) et pharmacogénomique dans le myélome multiple

La réponse au traitement du cancer humain est souvent compliquée par la variabilité génétique non seulement dans un cancer donné, mais par la variation génétique dans la capacité d'individus différents ayant ce cancer de métaboliser les agents thérapeutiques. Pour éliminer le problème de variation individuelle, le Dr Van Ness et ses collègues ont produit une race de souris identiques co-exprimant les gènes BCL-XL (qui bloquent la mort cellulaire) et MYC (un oncogène) afin d'étudier le myélome multiple. La dérégulation de ces gènes a abouti à la mort de 100 % des souris en raison de tumeurs plasmocytaires qui ont des caractéristiques semblables à celles du myélome multiple humain. Bien que la drogue bortezomib puisse prolonger la vie de la souris pendant un court traitement, certaines tumeurs de souris étaient plus résistantes que d'autres. Pour étudier plus avant ce problème, ils ont forcé le développement de résistance à la drogue en cultivant des cellules tumorales de souris en présence de bortezomib. Ils ont utilisé la technologie génétique des microarrays (*puces à ADN*. ndt) pour développer une représentation graphique des profils d'expression des gènes, avec expression « accrue » et

« diminuée » dans les lignées cellulaires bortezomib-résistantes et bortezomib-sensibles.

En cultivant des cellules tumorales issues de plusieurs lignées cellulaires de cellule tumorales de souris différentes en présence de bortezomib (pour forcer la résistance), ils ont constaté que le profil des gènes régulés à la hausse et celui des gènes régulés à la baisse changeait significativement. Les lignées cellulaires de myélome humain cultivées en présence de bortezomib ont montré un modèle de changements semblable. A partir de profils d'activité génique, on a trouvé "une signature" particulière qui différenciait les tumeurs bortezomib-résistantes des tumeurs bortezomib-sensibles. Pour découvrir si ces signatures pouvaient vraiment être utiles pour prévoir les réponses cliniques au traitement chez des patients humains, ils se sont adressés à leurs collègues spécialistes en bio-informatique qui utilisent le GEP (profil d'expression des gènes) des cartes de connectivité pour trouver d'autres drogues qui pourraient être utiles dans le traitement du myélome multiple.

Les cartes de connectivité sont des diagrammes ou des graphiques qui relient les gènes qui sont proches l'un de l'autre parce qu'ils sont co-régulés par une même drogue. Ces diagrammes sont obtenus en traitant de grandes quantités de données de GEP avec des programmes informatiques d'appariement de formes. Comme on pouvait l'attendre de cartes d'expression génique, les cartes de connectivité préparées à partir de profils de lignées cellulaires sensibles à une drogue ont révélé des profils de corrélation de gènes différents des profils des lignées cellulaires résistantes à la drogue. Les résultats des expérimentations du Dr Van Nees et de celles des autres chercheurs ont été chargés dans les banques de données des Instituts Nationaux de Santé (NIH).

Si les données des cartes de connectivité sont comparées avec une grande base de données comportant des milliers de jeux de gènes et des produits chimiques qui affectent leurs fonctions, on peut trouver des jeux de gènes ayant une même activité ainsi qu'une drogue qui affecte leur fonction.

L'équipe du Dr Van Ness a interrogé la base de données pour découvrir si vraiment il y avait une drogue qui était active contre le même jeu d'activité de gène que le profil d'activité du gène bortezomib-résistant. Ils ont trouvé la drogue panobinostat. Pour découvrir si cette drogue pourrait être un traitement efficace pour le myélome bortezomib-résistant, ils ont refait le profil d'expression des gènes sur des cellules bortezomib-résistantes et bortezomib-sensibles en présence de panobinostat. Un résultat surprenant est apparu : les cellules bortezomib-résistantes se sont avérées être plus sensibles à panobinostat que les cellules bortezomib-sensibles. Cet exemple illustre le potentiel de ces techniques et des modèles de laboratoire pour identifier des profils qui ont un impact sur notre compréhension des maladies, les décisions à propos d'alternatives thérapeutiques et l'identification de nouvelles drogues.

Modélisation de souris dans la MW

Le Dr Siegfried Janz de l'Université de l'Iowa, qui s'était exprimé au cours du Forum Éducatif IWMF 2011 et qui est bénéficiaire d'une bourse de recherche IWMF, a développé un modèle de souris MW dont les cellules tumorales expriment l'IgM. Ces souris ont été génétiquement modifiées pour forcer l'expression d'IL-6 à stimuler la division cellulaire, et celle de BCL-2 pour bloquer la mort cellulaire, et ces souris AIDmice n'ont pas la mutation MYD88 humaine trouvée chez les patients MW par Steven Treon ; leurs tumeurs sont caractérisées par un niveau élevé d'activation de la voie de signalisation du facteur de croissance NF-kappa B, qui est aussi activée par la mutation MYD88. Les chercheurs de l'Institut du Cancer au Dana-Farber travaillent aussi pour développer des modèles de souris MW. Comme avec le modèle de souris myélome, les buts sont d'utiliser des modèles de souris MW pour examiner l'expression des gènes en laboratoire, tester des agents thérapeutiques qui pourraient affecter le MYD88 et la voie de signalisation NF-kappa B et introduire ces drogues dans des expérimentations cliniques.

ETUDES FAMILIALES DANS LA MW

Marie L. McMaster, M.D.

Institut National du Cancer, Bethesda, MD



Mary L. McMaster, M.D.

Pourquoi est-il important de comprendre la MW familiale alors que beaucoup de patients MW n'ont pas d'antécédents de MW dans leur famille ?

Le Dr McMaster a répondu que ce que nous apprenons des familles qui ont des antécédents avec certains cancers peut souvent être généralisé à une population plus étendue de personnes qui ont un cancer. Elle a cité l'exemple du cancer du sein – on a pu mettre en

évidence le fait que certains gènes découverts dans le cancer du sein familial se révélaient être importants également chez les personnes avec un cancer du sein qui, dans leurs antécédents, n'avaient pas cette pathologie.

Quand le Dr McMaster a envisagé dans un premier temps sa recherche sur la MW familiale au NCI (*National Cancer Institute*), plusieurs questions d'ordre général se sont posées : qu'est-ce qui cause la MW et quels facteurs génétiques, environnementaux ou liés au style de vie peuvent augmenter le risque de contracter la MW? Pourquoi la MW survient-elle dans certaines familles ? Est-ce que la MW familiale est différente de la MW non-familiale ?

L'étude familiale NCI, qui a commencé en 2000, s'est concentrée sur des familles MW à haut risque, principalement celles avec au moins deux patients MW. Pour étudier ces familles, des questionnaires ont été élaborés pour explorer la famille et les histoires individuelles, l'accès aux dossiers médicaux nécessaires a été autorisé, du sang et des échantillons de salive ont été obtenus et on a demandé aux patients pour lesquels un examen clinique complémentaire s'avérait nécessaire, de se rendre dans un des Instituts Nationaux de Santé. Cette étude a aussi utilisé plusieurs autres outils pour l'enquête, y compris des registres de population (comme le registre SEER (*Surveillance Epidemiology and End Results* aux Etats-Unis, pour les patients avec un cancer), la génétique de population (les études génétiques d'un échantillon de population représentatif) et des études cas-témoin (la comparaison de personnes avec la MW avec d'autres sans MW pour voir quelles sont les différences).

Le Dr McMaster nous a fait part de plusieurs conclusions de cette étude.

La MW familiale s'est avérée être plus fréquente que présumée à l'origine. Alors que douze familles MW seulement avaient été annoncées quand l'étude a commencé, aujourd'hui plus de 100 familles MW sont inscrites. Lorsqu'on a pu obtenir plus d'information sur les histoires familiales, l'étude a découvert que la famille type a deux patients MW et que d'autres désordres comme la MGUS (gammopathie monoclonale de signification indéterminée, (GMSI, abréviation française), la leucémie lymphoïde chronique (CLL), d'autres lymphomes non-Hodgkinien (NHL) et des maladies auto-immunes sont apparus plus fréquemment chez des membres de la famille. Donc on s'est posé la question suivante : est-ce que les membres des familles de patients MW ont un risque plus élevé à l'égard de ces autres maladies ou s'agit-il seulement d'une aberration statistique ?

L'étude du NCI a utilisé des registres de population pour confirmer ces observations. Notamment plusieurs registres suédois ont été utilisés, à cause de leur facilité d'utilisation statistique. En Suède, tous les citoyens reçoivent un numéro d'identification à la naissance qui les suit partout dans la vie. En utilisant ces numéros, la Suède a développé plusieurs registres de population, notamment un qui suit les patients cancéreux et un autre qui suit les familles. Le registre suédois a permis de dénombrer 2 144 patients MW/LPL (MW ou lymphome lymphoplasmocytaire : LPL). (*La MW est un LPL qui sécrète l'IgM monoclonale, sans sécrétion ou avec sécrétion d'une autre Ig, IgG par exemple, on parle de LPL*, ndt) et 8 279 personnes témoins qui n'avaient pas MW/LPL, mais dont le sexe et l'âge pouvaient être appariés à ceux des patients. Le NCI a recherché les maladies liées aux lymphocytes B chez les membres des familles de ces patients MW et découvert que les membres des familles de patients MW avaient un risque relatif plus élevé, statistiquement significatif, par rapport aux personnes témoins, de développer les maladies suivantes : MW/LPL, NHL, CLL, MGUS, syndrome de Sjogren et lupus systémique (les deux dernières sont des

maladies auto-immunes). Les incidences légèrement plus élevées de lymphome de Hodgkin et myélome multiple n'étaient pas statistiquement significatives. Le Dr McMaster a souligné que bien que les risques relatifs pour certaines maladies soient augmentés, cela ne devait pas être une cause d'inquiétude car la plupart de ces maladies sont rares et leur risque relatif augmenté n'augmente pas pour autant la probabilité qu'elles surviennent.

Le Dr McMaster a discuté de la MGUS (la gammopathie monoclonale de signification indéterminée) qui est un état précurseur de la MW. Elle a remis en cause la terminologie MGUS et expliqué qu'il s'agit d'un désordre concernant une immunoglobuline (anticorps) d'un certain type, dans lequel toutes les cellules qui prolifèrent sont génétiquement identiques. Dans de nombreux cas cette anomalie ne cause pas de problème, de sorte que sa seule présence peut ne pas avoir de signification; dans d'autres cas, les personnes finiront par développer la MW ou d'autres formes de cancers des lymphocytes B.

Le Dr McMaster a aussi évoqué les expositions environnementales possiblement associées à la MW. Dans cette partie de l'étude, 103 patients MW familiaux et 273 de leur parents indemnes ont été interrogés quant à une possible exposition à certains toxiques environnementaux connus, et les expositions aux produits indiqués ci-après étaient statistiquement significatives : agriculture, pesticides, solvants organiques et poussière de bois. Elle a averti que certains de ces résultats pouvaient être biaisés parce que les patients MW sont habituellement plus enclins à se rappeler d'anciennes expositions aux risques que des personnes qui n'ont pas été diagnostiquées avec la maladie. Ensuite, l'étude du NCI a cherché s'il y avait des gènes qui prédisposent à la MW. Les gènes peuvent subir des modifications de leur "orthographe" (*modification d'écriture dans une séquence de l'ADN*, ndt) qui sont appelés des variants. Ces variants, pas nécessairement délétères, diffèrent dans leurs effets sur le risque de maladie. Le Dr McMaster a expliqué que certains gènes ont un effet important sur le développement d'une maladie, tandis que d'autres gènes peuvent avoir un faible effet. Les gènes avec un effet important sont habituellement rares mais ils apportent un risque élevé qu'une personne qui les possède développe la maladie. Les gènes à faible effet sont plus répandus, mais n'apportent qu'une plus petite augmentation du risque.

L'étude du NCI a recherché des anomalies chromosomiques évidentes dans la MW familiale. Bien que diverses modifications chromosomiques soient apparues, l'étude n'a pu en trouver aucune qui soit cohérente pour la majorité de patients MW familiaux ou qui permette de distinguer les MW familiales des MW non-familiales. L'étude a donc conclu que plusieurs gènes différents sont probablement responsables de la MW familiale plutôt qu'un seul gène.

Le Dr McMaster a parlé d'une nouvelle étude qui cherchera des gènes communs qui ont de faibles effets, y compris BCL6, IL-10, IL-6, IL-8RA, TRAIL et WRN, qui sont tous

importants dans le système immunitaire. Cela nécessitera de parcourir le génome entier de beaucoup de patients MW différents – MW familiale et non-familiale - et on cherchera des marqueurs qui pourraient être utilisés pour prévoir le risque de développer une MW. L'étude est ouverte à tous les patients MW et consiste en un questionnaire et un échantillon de salive. Le Dr McMaster, ainsi que Laura Fontaine, une infirmière du NCI, étaient présentes au Ed Forum pour encourager les MW présents à participer à cette étude et pour recueillir les échantillons des participants.

Le Dr McMaster a résumé sa présentation de la façon suivante :

1. Les parents de patients MW ont une plus forte probabilité que les personnes sans MW dans leur famille d'avoir la MW ou un désordre des lymphocytes B apparenté, une MGUS à IgM ou certaines maladies auto-immunes. Ce risque est augmenté, mais il est toujours faible.
2. Les patients qui ont une MW ont une plus grande probabilité d'annoncer leur exposition à certains risques que les personnes non touchées, mais n'y a aucune preuve formelle que les expositions qu'ils ont subies soient la cause de la MW.
3. Les modifications chromosomiques observées dans la MW familiale ne diffèrent pas de celles rencontrées dans la MW non-familiale.
4. Toutes les MW familiales ne peuvent probablement pas être mises au compte d'un seul gène.
5. Ces résultats nécessitent plus d'études et l'utilisation de nouvelles approches.

FACTEURS DE REGULATION DES LYMPHOCYTES B PRODUCTEURS d'IgM

Stéphane Ansell, M.D., Ph.D.
Mayo Clinique, Rochester, MN



Stephen Ansell, M.D., Ph.D.

Le Dr Ansell a rappelé à chacun d'entre nous qu'il est important de déterminer la biologie d'une maladie pour concevoir une drogue permettant de la traiter. Le temps où on allait dans une forêt tropicale humide ou dans le cabinet d'un chimiste pour trouver des drogues à essayer est révolu. Maintenant le but est de concevoir des drogues qui sont dirigées vers des cibles spécifiques. Ces cibles peuvent

comprendre les voies de signalisation cellulaires qui contrôlent le taux de croissance des cellules normales et malignes et le Dr Ansell et l'équipe de son laboratoire étudient actuellement les mécanismes qui contrôlent ou régulent la prolifération des cellules MW et la quantité d'IgM qu'elles produisent.

La MW est un cancer qui implique la prolifération de lymphocytes B et leur différenciation vers des plasmocytes qui génèrent la production d'IgM. Parce que les lymphocytes B de la MW sont issus du même clone, l'IgM produite par les cellules est de même type et de même spécificité. Les molécules normales d'IgM sont variables dans leur fonction. L'organisme régule et contrôle le nombre de lymphocytes B et la quantité d'IgM normale produite en utilisant des protéines de signalisation appelées cytokines. Des aperçus sur la biologie de la MW peuvent donc être obtenus, en comparant les concentrations de cytokines dans des échantillons de sang de volontaires sains (le groupe témoin) avec ceux trouvés dans des échantillons de patients MW.

En utilisant des techniques qui permettent l'analyse de 30 cytokines dans un seul millilitre de sang, le Dr Ansell et son groupe ont constaté que beaucoup de différences existaient dans les concentrations de cytokines entre les patients MW et le groupe témoin. Parmi les cytokines les plus importantes qui ont une concentration élevée dans la MW figurent BLYS (prononcez « bliss »), IL-6, IL-21 et CCL5 (également appelée Rantes).

BLYS stimule les lymphocytes B. Cette cytokine est essentielle pour maintenir les lymphocytes B normaux et une production normale d'IgM. On a constaté que des souris avec trop peu de BlyS avaient peu de lymphocytes et de faibles niveaux d'immunoglobulines. Les patients MW ont de très hauts niveaux de BLYS. Si des cellules de MW sont transférées dans des tubes à essai et qu'on leur fournit une quantité supplémentaire de BlyS, on constate que la production d'IgM augmente.

BLYS est produite naturellement par d'autres cellules de l'organisme, mais les cellules MW peuvent également produire BLYS. Ceci est particulièrement problématique parce que cela signifie que quand les cellules de MW produisent BlyS, elles donnent en même temps le signal de produire plus d'IgM. Il n'est pas difficile de voir comment cela peut entraîner la production d'IgM hors de contrôle. De plus, cette sorte de boucle d'auto-stimulation rend la voie de signalisation plus difficile à traiter.

BLYS collabore avec d'autres cytokines, y compris IL-6 et IL-21, pour produire l'IgM. IL-6 est une cytokine que l'organisme produit chaque fois qu'il y a une inflammation. Cette cytokine cause la prolifération des lymphocytes B et leur différenciation et stimule également la prolifération des lymphocytes T. Ses concentrations sont typiquement beaucoup plus hautes chez les patients MW que dans les groupes témoins. Quand IL-6 est ajoutée aux cellules de MW dans des tubes à essai, la concentration en IgM augmente.

IL-21 est une autre cytokine dont l'expression est augmentée chez les patients MW. IL-21 est produite par les lymphocytes T et les cellules NK (*natural killer* : tueuses naturelles). Cette cytokine favorise la différenciation plasmocytaire et la croissance, empêche la mort des cellules MW et stimule aussi la production d'IL-6. Quand IL-21 est ajoutée à des lymphocytes B dans un tube à essai, un plus grand nombre de lymphocytes B deviennent des plasmocytes.

Une autre cytokine mise en évidence par le Dr Ansell était CCL5 ou Rantes. CCL5 est élevée chez les patients MW comparés aux témoins et peut se révéler particulièrement élevée chez des patients MW avec des concentrations élevées d'IgM. CCL5 contrôle le niveau d'IL-6 dans la MW et elle est produite par les cellules MW.

En résumé, la moelle osseuse des patients de MW est un environnement riche en messages qui font un va-et-vient parmi les populations de cellules. Ces messages sont envoyés via des produits chimiques, connus sous le nom de cytokines, qui soutiennent la croissance des cellules malignes et la production d'IgM. Dans la MW, cytokines et cellules sont engagées dans un effort coordonné qui aboutit à trop de cellules, vivant trop longtemps et produisant beaucoup trop d'IgM.

En comprenant la biologie du processus et en sachant que les cytokines se situent à des niveaux anormaux, nous pouvons exploiter cette information pour tenter de contrôler la maladie.

PANEL DE LIGNÉES CELLULAIRES

**Par les destinataires de subventions de recherche
conjointes IWWMF-LLS
afin de développer de nouvelles lignées cellulaires de
MW**

Il y a quelques années, la *Leukemia & Lymphoma Society* a organisé une réunion avec des représentants de l'IWWMF, des médecins, des chercheurs et la *Food & Drug Administration*, pour déterminer l'état actuel de la recherche sur la MW et voir comment elle pourrait être améliorée. A partir de cette réunion, des recommandations ont été faites pour essayer de développer de meilleures lignées cellulaires de MW, un modèle de souris MW transgénique et une banque de tissus, dans l'espoir d'obtenir comme résultat des traitements pour la MW que la FDA pourrait approuver. Dans les années qui ont suivi, l'IWWMF a subventionné tous ces projets, dont la plupart sont en cours.

Les présentations du panel des lignées cellulaires ci-dessous exposent l'état actuel des recherches de trois des quatre équipes de chercheurs qui reçoivent un financement pour le développement de nouvelles lignées cellulaires de MW.

Anne Novak, Ph.D.
Mayo Clinique, Rochester, MN

Pourquoi avons-nous besoin de lignées cellulaires de MW ? Le Dr Novak a expliqué qu'il y a plusieurs raisons qui font que les lignées cellulaires sont importantes. La MW est une maladie très rare et il a de tous temps été difficile d'obtenir un nombre suffisant de cellules tumorales de patients pour les besoins de la recherche. La maladie a certaines propriétés uniques qui la rendent différente des autres types de lymphomes non-hodgkinien, en sorte que les lignées cellulaires d'autres tumeurs ne peuvent pas toujours être valables pour la MW. Les cellules tumorales de MW tardent à proliférer et ne se développent pas bien en culture. Bien qu'il y ait actuellement trois lignées cellulaires de MW annoncées comme telles et qui sont utilisées, personne n'a apporté la preuve qu'elles étaient génétiquement liées aux tumeurs des patients d'origine, ni qu'elles sécrétaient de l'IgM.

Le Dr Novak s'est beaucoup impliquée dans l'effort du Dr Stéphane Ansell à la *Mayo Clinic* de Rochester pour développer une nouvelle lignée cellulaire de MW. Les buts de *Mayo* étaient de développer une lignée cellulaire

1. qui soit immortelle, c'est à dire qui se développe continuellement en flacon de culture et ne meure pas;
2. qui soit biologiquement stable, pour que, dans le temps, ses caractéristiques ne changent pas;
3. qui soit génétiquement proche de la tumeur dont elle a été tirée à l'origine, et
4. qui réunisse les caractéristiques de la tumeur MW originale, telles la croissance indolente et la production d'IgM.

À *Mayo*, chaque échantillon de moelle osseuse qui entre au laboratoire en provenance d'un patient MW passe par le protocole de développement de lignée cellulaire. Les échantillons peuvent être non triés, ce qui signifie que les cellules de tumeur sont mélangées avec d'autres cellules de l'environnement de moelle osseuse, ou ils peuvent être triés, ce qui signifie que seules les cellules tumorales, qui sont choisies pour les marqueurs superficiels CD19 et CD138, sont utilisées. Les cellules sont mises en flacon de culture et incubées jusqu'à ce que la croissance soit détectée, ce qui peut demander de 1-2 semaines jusqu'à plusieurs mois.

Une fois que la croissance cellulaire a été détectée, le laboratoire de *Mayo* cherche une sécrétion d'IgM, détermine le statut à l'égard du virus Epstein-Barr (EBV), réalise une cytométrie en flux pour chercher les marqueurs superficiels propres à la MW et fait un dépistage génétique pour être sûr que les cellules en croissance sont génétiquement proches des cellules tumorales du patient d'origine.

À *Mayo*, ce processus a abouti au développement de MWCL1 : Mayo Waldenström Lignée Cellulaire 1. Le diagnostic du patient donateur d'origine était MW avec chaîne légère kappa et une infiltration de moelle osseuse de 50 %. Cet échantillon a été reçu en 2009 et c'était le tout premier échantillon patient qui ait passé ce protocole; jusqu'ici c'est la seule lignée cellulaire parmi les 41 échantillons qui ait survécu au processus complet. Comme

l'a dit le Dr Novak, "Nous avons eu de la chance avec le numéro 1!"

Le Dr Novak a fait remarquer que cette lignée cellulaire a été développée à partir d'un échantillon non trié et elle croit que cela peut lui avoir donné un avantage parce qu'il a incubé avec d'autres cellules de l'environnement de moelle osseuse qui ont favorisé sa croissance. De nouveaux tests ont permis de déterminer que la lignée cellulaire était EBV positive et avait les marqueurs superficiels CD19, CD20, CD38, CD138, BCMA et TACI, ce qui est tout à fait typique des cellules de tumeur MW. Le laboratoire *Mayo* a aussi séquencé génétiquement la chaîne lourde des cellules et déterminé qu'elles étaient dérivées de la tumeur d'origine. *Mayo* a programmé des tests répétés pendant une période de 12 mois pour être sûre que la lignée cellulaire était stable avant de l'annoncer et de la mettre à la disposition des autres chercheurs.

Les travaux de l'équipe *Mayo* ont fait l'objet d'un rapport dans la revue scientifique *Blood*.

Le Dr Novak a dit qu'il y avait actuellement deux échantillons supplémentaires en incubation au laboratoire qui semblent prometteurs pour le développement d'un plus grand nombre de lignées cellulaires.

Asher Chanan-Khan, M.D.

Mayo Clinique, Jacksonville, FL

(Présenté de la part du Dr Chanan-Khan

par le Dr Anne Novak)

L'approche du Dr Chanan-Khan différait de l'approche du Dr Ansell parce qu'il a introduit les cellules tumorales de son patient donneur chez des souris plutôt que dans un flacon de culture. Il a commencé sa recherche au *Roswell Park Cancer Institute* avant de venir à la *Mayo Clinic* de Jacksonville, FL. Ses objectifs pour une lignée cellulaire étaient les suivants :

1. Comprendre les voies moléculaires impliquées dans la biologie de la MW.
2. Comprendre les anomalies génétiques classiques et leur pertinence dans la MW.
3. Développer un modèle de souris xéno greffe de MW - un modèle xéno greffe signifie que la souris a reçu une greffe de tissu humain, pour provoquer les symptômes de la maladie.
4. Disséquer et identifier les processus biologiquement actifs.
5. Étudier les effets anti-cancer de différentes drogues connues et plus récentes utilisées dans le traitement de la MW.
6. Comprendre les mécanismes de résistance aux drogues dans la MW.

Le Dr Chanan-Khan a recueilli les cellules de tumeur pour sa lignée cellulaire d'un patient et ami décédé et il les a immédiatement implantées chez des souris le Jour 1. Après environ 14 semaines, 25 % des souris avaient développé des tumeurs. Leurs cellules tumorales ont été filtrées pour obtenir des suspensions de cellules, qui ont été injectées à

un plus grand nombre de souris, dont 70 % ont développé des tumeurs. Un troisième extrait de tumeur chez un plus grand nombre de souris a abouti à ce que 100 % des souris développent des tumeurs. Ce processus était important pour choisir des cellules de tumeur qui soient bien en croissance.

En plus d'obtenir des cellules tumorales par l'intermédiaire des souris, le Dr Chanan-Khan a conservé des cellules de son patient d'origine, aussi bien que des cellules prélevées aux différentes étapes du processus de développement de la lignée cellulaire. Il a pu détecter des cellules sécrétant la chaîne légère IgM kappa qui étaient EBV négatives, comme était son patient. Il a séquencé la chaîne lourde de l'immunoglobuline IgM et réalisé d'autres dépistages génétiques au cours du temps pour déterminer que la nouvelle lignée cellulaire, qu'il a appelée RPC1-WM1, correspondait aux cellules tumorales du patient d'origine et que la lignée demeurait stable dans le temps. Il a aussi découvert que cette lignée portait la mutation MYD88 L265P annoncée par docteur Steven Treon dans son étude de la MW chez les patients du *Dana-Farber Cancer Institute*. La mutation a activé les voies de signalisation ERK1/2 et STAT dans sa lignée cellulaire, comme c'est typiquement le cas dans les cellules tumorales de MW.

Au cours de la présentation du travail du Dr Chanan-Khan, le Dr Novak a fait un commentaire pour indiquer que la mutation MYD88 était également présente dans la lignée cellulaire MWCL1 développée à la *Mayo*, à Rochester.

Le Dr Chanan-Khan a aussi testé sa lignée cellulaire RPC1-WM1 avec plusieurs inhibiteurs du protéasome et établi qu'elle était sensible à ces drogues. Bien que des études complémentaires restent à mener pendant la durée de la subvention, les résultats de Dr Chanan-Khan obtenus jusqu'ici sont les suivants :

1. La lignée cellulaire RPC1-WM1 montre des lésions moléculaires classiques aussi bien que des nouvelles.
2. Elle a la capacité de sécréter de l'IgM.
3. Elle a la capacité de se développer chez la souris.
4. Elle a les fonctions qui la rendent distincte d'autres lignées cellulaires disponibles, y compris la lignée cellulaire MWCL1.
5. Elle montre une réponse prévisible dans les études d'évaluation de drogue.

Irène Ghobrial, M.D.

Dana-Farber Cancer Institute, Boston, MA

Le Dr Ghobrial a évoqué les deux objectifs principaux de son processus pour développer des lignées cellulaires de MW.

L'objectif 1 était de développer des lignées cellulaires de MW humaines en réalisant un modèle de souris xéno greffe de MW. Un modèle xéno greffe a été produit en greffant des cellules tumorales de MW chez des souris SCID (souris avec une immunodéficience combinée sévère) ou des souris NSG. Celles-ci sont des souris sans lymphocytes

B fonctionnels ni lymphocytes T, auxquelles on peut donc injecter facilement des cellules tumorales sans risque de rejet. Les souris peuvent aussi servir au développement de cellules cancéreuses greffées. En même temps des cellules tumorales de MW ont aussi été mises en flacons de culture. L'objectif 2 était de développer des lignées cellulaires de MW de souris en utilisant des modèles de souris transgéniques. Une souris transgénique serait programmée pour développer la MW avec son propre matériel génétique, plutôt que développer la maladie à cause des cellules tumorales humaines greffées et elle pourrait passer les caractéristiques génétiques de la maladie à sa descendance.

Pour l'objectif 1, son équipe a injecté cinq échantillons de cellule de MW CD19 positives à des souris NSG et un échantillon à une souris SCID. Après un an, les souris survivantes ont montré des niveaux d'IgM augmentés et la présence de cellules anormales dans la rate, la moelle osseuse et les ganglions. Ces cellules ont été transférées à d'autres souris, avec une méthode semblable à l'étude du Dr Chanan-Khan exposée ci-dessus. En même temps, onze échantillons de cellules MW non triées ont été placés en flacons de culture avec des facteurs de croissance appelés CD40 et IL-4. A ce stade, les cellules semblent pousser en culture; dans six mois environ, les cellules seront testées avec les mêmes méthodes de test génétique que celles utilisées dans les études du Dr Ansell et du Dr Chanan-Khan pour voir si elles correspondent aux cellules tumorales des patients d'origine.

Dans l'objectif 2 de l'étude, le Dr Ghobrial, a étudié la souris transgénique CD21-cre/p53. Cette souris est génétiquement programmée avec un gène p53 inactivé, qui est un gène impliqué dans le développement de la MW. Cette souris a été d'abord développée dans un autre laboratoire, mais ses caractéristiques n'ont pas été étudiées pour voir si elle pouvait développer la MW. L'équipe du Dr Ghobrial a analysé 21 de ces souris, dont la majorité a développé des lymphomes à lymphocyte B IgM positifs qui étaient B220 positifs (l'équivalent pour la souris du CD20 humain). Elle avaient des rates hypertrophiées et souvent, un envahissement ganglionnaire. Des cellules de ces souris ont été injectées à des souris NSG immunodéficientes, qui ont développé une perte de poids significative et une paralysie des pattes arrières. Leur moelle osseuse, rate et foie étaient positifs pour B220, CD138 et MUM 1 et elles ont sécrété l'IgM en plus grande quantité. Le cours de la maladie était assez rapide chez ces souris, ce qui n'est pas une caractéristique de la MW. Donc, les cellules de ces souris ont été injectées à des souris immunocompétentes (qui possédaient un système immunitaire sain) pour voir si une maladie (moins rapide) plus indolente surviendrait. Après six mois, les souris semblaient toujours en bonne santé, bien que, lorsqu'on en avait sacrifié quelques unes, on avait trouvé une augmentation de B220 dans leurs moelle osseuse, rate et foie et qu'elles sécrétaient plus d'IgM. À stade, il semble que ces souris montrent en effet un cours de maladie plus

indolent. On va tenter de faire pousser des cellules de ces souris en milieu de culture.

Le Dr Ghobrial essaye aussi de développer des modèles de souris transgéniques de MW en hybridant différentes souches de souris portant des gènes qui interviennent dans le développement de la MW. Jusqu'ici, son équipe a croisé des souris CD19cre avec des souris BLIMPL et celles-ci seront de nouveau croisées avec des souris XBP-1 et avec des souris micro-RNA155 pour voir si on peut se rapprocher d'un modèle de souris transgénique de MW. En cas de succès, un modèle de souris transgénique développerait, pendant sa croissance et sa maturité, une maladie semblable à la MW, et serait capable de transmettre génétiquement à sa descendance, une sensibilité à la maladie.

GÉNÉTIQUE DES LYMPHOMES

Anne Novak, Ph.D.

Mayo Clinique, Rochester, MN



Anne Novak, Ph.D.

Le Dr Novak s'est impliquée dans la recherche sur les lymphomes pendant les dix dernières années, et dans la recherche sur la MW pendant six d'entre elles. Elle a noté qu'il existait actuellement beaucoup de développements excitants dans divers secteurs de la recherche sur la génétique de la MW, y compris le micro-environnement de la moelle osseuse, la génétique de la cellule

tumorale, la génétique de l'hôte, les profils de cytokines, l'expression des micro-ARN et les profils d'expression de gène. Elle ne croit pas que l'énigme de la MW pourra être résolue par un élément unique de cette recherche, mais que nous devons prendre du recul et avoir une vue d'ensemble. Le Dr Novak a centré sa présentation sur trois secteurs principaux de recherche en génétique : la génétique de la cellule tumorale, la génétique de l'hôte et les profils de cytokine. Tous les trois ont un impact sur le développement du lymphome, son agressivité et la manière dont l'organisme répond au lymphome et à son traitement.

Génétique de la cellule tumorale et lymphome

Dans la génétique de la cellule tumorale, les chercheurs effectuent le séquençage de l'ADN ou de l'ARN de cellules tumorales et de cellules normales et les comparent pour déterminer les différences entre les deux, causées par les mutations acquises durant la vie d'un individu. Il existe

différentes sortes de séquençages utilisées pour étudier la génétique de la cellule tumorale. Le séquençage du génome entier examine l'ADN entier d'un organisme, et bien qu'il fournisse l'information la plus complète, l'analyse du grand volume de données qui en résulte peut s'avérer très lourde. Le séquençage de l'exome est ciblé et ne concerne que l'ADN qui code pour des protéines - parce qu'il est plus concentré, il est aussi moins cher. (l'exome, ensemble des parties codantes du génome, représente <2% du génome entier mais contient à lui seul 85% des mutations mises en cause dans les maladies génétiques. ndt)

Le séquençage du transcriptome est utilisé pour le séquençage de l'ARN (le transcriptome est l'ensemble des ARN messagers transcrits à partir du génome ndt).

Quand les chercheurs observent des mutations dans le génome tumoral, ils se posent plusieurs questions : est-ce que ces altérations génétiques ont un impact sur la fonction de la protéine et modifient-elle la biologie cellulaire ? Ont-elles une action sur l'agressivité de la tumeur, sur la survie du patient, sur la réponse au traitement ? Ainsi quand des mutations sont détectées, elles doivent être étudiées pour déterminer comment, ou même, si elles sont importantes.

Le Dr Novak a parlé de l'analyse de mutations dans plusieurs études concernant des lymphomes non-hodgkiniens et de quelques une des conclusions qui en ont été tirées:

1. La plupart des patients ont plus d'une mutation dans leurs cellules tumorales.
2. Les mutations qui sont groupées dans certains domaines importants sont probablement plus significatives que celles qui sont dispersées dans le génome.
3. Certaines mutations qui touchent des voies d'interaction protéiques, telles que NF-kappa B, JAK/STAT et BCL2 (pour n'en nommer que quelques unes), sont partagées en commun par plusieurs types de lymphomes non-hodgkiniens.

Les patients sont pressés de savoir quand ce type d'analyse génétique pourra être fait en routine. Mais il y a différents obstacles à franchir pour traduire la richesse de cette nouvelle information génétique dans le cadre clinique quotidien. Certaines de ces barrières sont techniques : c'est le cas des plates-formes génétiques complexes qui demeurent principalement accessibles seulement dans de grands centres universitaires ou des sociétés de biotechnologie; on a des difficultés pour obtenir assez d'échantillons de biopsies récentes avec de l'ADN de haute qualité ou de l'ARN; la gestion et l'analyse des grandes quantités de données obtenues sont de véritables défis. Le Dr Novak croit que tous ces obstacles peuvent être surmontés. Mais il y a aussi les barrières de la connaissance, car nous avons toujours une compréhension limitée de la signification biologique et clinique de ces mutations, seules ou en combinaison, aussi bien qu'une connaissance limitée des voies affectées par ces mutations.

Le côté positif, c'est que les chercheurs commencent à se servir de ce qu'ils savent sur certaines de ces voies et à utiliser des drogues pour les cibler. Certains de ces agents les plus récents comprennent des inhibiteurs de mTor, des inhibiteurs de BTK, des inhibiteurs de MYD88, des inhibiteurs de JAK/STAT et des inhibiteurs de l'IRAK.

Génétique de l'hôte et lymphome

Chacun d'entre nous a hérité de variations (variations d'un seul nucléotide) dans son ADN. Il s'agit de variations fréquentes qui en elles-mêmes sont imperceptibles et ne peuvent pas avoir beaucoup d'impact mais qui, regroupées, peuvent augmenter le risque de développer un lymphome. En comparant l'ADN d'individus qui ont un lymphome à l'ADN d'individus indemnes, les chercheurs peuvent être en mesure de déterminer quelles variations génétiques particulières héritées sont significatives. Plusieurs études ont, au cours des années, observé des variations d'un nucléotide unique dans la voie de l'apoptose, dans des gènes de l'immunité et de l'inflammation et dans la voie NF-kappa B et ont avancé l'hypothèse que ces variations étaient des facteurs de risque du lymphome. De façon récente, on s'intéresse aux variations survenant dans la famille des gènes BAFF, qui sont impliqués dans le développement et l'activation du lymphocyte B. On sait que les cellules des lymphomes, y compris la MW, expriment des quantités élevées de BAFF et que des quantités élevées de BAFF provoquent la survie des lymphocytes B qui devraient mourir. Par exemple, les lymphocytes B auto-immuns ne devraient pas survivre, par nature, mais dans un environnement avec des niveaux élevés de BAFF, ils le font. Une hypothèse est que ceux des lymphocytes B auto-immuns qui survivent acquièrent de nouvelles mutations qui peuvent mener au lymphome.

Le Dr Novak a participé à une étude centrée sur BAFF qui a observé BAFF et ses récepteurs pour voir quelles variations pourraient être significatives. Cette étude particulière a trouvé une variation appelée BAFF-R H159Y, qui n'est pas retrouvée chez des individus indemnes, mais dont on trouve des variations à différents petits degrés chez des patients avec un lymphome. Quelqu'un qui porte cette variation a une expression plus importante de NF-kappa B, qui est une voie importante dans beaucoup de lymphomes.

Cytokines et Lymphome

Pour cette partie de sa présentation, le Dr Novak a parlé des études sur les cytokines que l'équipe du Dr Stéphane Ansell a réalisées sur la MW à la Mayo Clinic. Les cytokines sont des molécules de signalisation secrétées par une cellule pour réguler la fonction d'une autre cellule. Ces études se sont intéressées à plus de 30 cytokines trouvées dans le sérum et en ont comparé l'expression chez des patients et chez des témoins indemnes. Les chercheurs ont constaté que plusieurs cytokines étaient plus fortement exprimées dans la MW, notamment IL-2R, IL-8, IL-10 et CCL5. Beaucoup de ces mêmes cytokines sont également élevées dans d'autres types de cancer, particulièrement

d'autres lymphomes à lymphocyte B. Même à un stade précoce dans le développement tumoral, l'altération du niveau d'expression de la cytokine peut avoir un effet important sur le micro-environnement de la moelle osseuse, permettant une nouvelle croissance et la survie de cellules tumorales. L'équipe de la Mayo Clinic a également effectué sa propre analyse de la mutation MYD88 L265P, annoncée dans une étude réalisée par le groupe du Dr Steven Treon au *Dana-Farber Cancer Institute* comme étant présente chez approximativement 90 % des patients MW. L'étude de Mayo a utilisé des témoins indemnes aussi bien que des cellules tumorales de moelle osseuse et des cellules ganglionnaires de MW ainsi que des cellules tumorales d'autres types de lymphomes à lymphocyte B. Mayo a constaté qu'environ 70 % de ses échantillons de moelle osseuse de MW portaient cette mutation particulière, mais, de façon intéressante, la mutation n'a été trouvée que dans 40 % seulement d'échantillons de ganglions de MW. Mais aussi, les échantillons de MW de la Mayo étaient hétérozygotes pour la mutation, ce qui signifie que la mutation a été trouvée sur un des chromosomes tandis que l'autre chromosome portait le gène MYD88 normal ou non muté.

Le Dr Ansell et d'autres chercheurs ont déjà annoncé que l'expression de NF-kappa B et des voies JAK/STAT était augmentée dans la MW et d'autres lymphomes; donc la question suivante était de savoir si la mutation MYD88 agit sur ces voies. Les résultats préliminaires indiquent que la mutation MYD88 a pour effet de maintenir ces voies ouvertes chez les patients qui sont homozygotes pour la mutation, c'est-à-dire ceux qui portent la mutation sur leurs deux chromosomes.

L'étape suivante devait évaluer l'effet des drogues qui inhibent la voie MYD88 dans la MW et des cellules d'autres lymphomes. Mayo a testé un inhibiteur d'IRAK1/4, un inhibiteur de TAK1 et un inhibiteur de NF-kappa B, qui tous sont ciblés sur une partie de la voie. Les personnes qui ne portent pas la mutation sont insensibles à ces drogues. Cependant, les cellules qui portent la mutation sur les deux chromosomes (homozygotes) sont particulièrement sensibles à ces drogues, tandis que les cellules qui sont hétérozygotes se situent quelque part au milieu.

Les objectifs futurs d'évaluation du rôle de MYD88 dans la MW nécessitent qu'on réponde aux questions suivantes :

1. Est-ce que l'inhibition de la voie MYD88 a un effet sur la sécrétion de cytokine de la cellule MW ?
2. La mutation MYD88 L265P est-elle impliquée dans la signalisation BAFF?
3. Y a-t-il des différences biologiques entre mutation MYD88 L265P homozygote et hétérozygote ?
4. Existe-t-il des différences entre cellules de DLBCL (lymphome diffus à grand lymphocyte B) et cellules de MW qui portent la mutation MYD88 L265P ?

Le Dr Novak a conclu en disant que la mutation MYD88 est très intéressante parce qu'elle semble être présente dans

plusieurs affections malignes à lymphocyte B. Il sera nécessaire qu'un certain nombre de chercheurs travaillent ensemble pour résoudre l'énigme de la MW et elle a souligné que, bien que MYD88 semble être importante, nous ne devrions pas nous focaliser sur cette seule mutation. Il peut y en avoir d'autres qui entrent en jeu et qui sont déterminantes sur l'agressivité de la maladie ou la façon dont elle répond au traitement.

ACTUALISATION DE LA BIOLOGIE ET DE LA THERAPIE DES LYMPHOMES LYMPHOPLASMOCYTAIRES

Irene Ghobrial, M.D.

Dana-Farber Cancer Institute, Boston, MA



Irene Ghobrial, M.D.

Le Dr Ghobrial a d'abord présenté une vue d'ensemble des activités de son groupe de recherche, au laboratoire, et en clinique. Dans le laboratoire, son groupe travaille sur la banque de tissus MW et sur l'évaluation des microARN – particulièrement du microARN155, qui est étudié en tant que nouveau marqueur pronostique, cible de thérapie, et indicateur de réponse au médicament RAD001. En clinique, son

groupe dirige les essais cliniques du LBH589 (panobinostat), de la combinaison RAD001/Velcade/Rituxan, de ONX 0912, INK128 et de BEZ235. Elle a fait référence à la combinaison de tous ces éléments comme étant son « plan stratégique ».

Le projet Banque de tissus MW

Le projet avance, et va au-delà de la seule création d'une banque de tissus. C'est aussi la base de tout ce que son groupe s'efforce de faire. Il combine information clinique et une enquête épidémiologique avec tout ce qu'on peut apprendre à partir des échantillons de tissus en vue de relier la génétique, les informations spécifiques à la maladie, l'histoire familiale et l'exposition environnementale. La base de données résultante permettra aux chercheurs de connaître les causes de la MW et la façon de mieux la traiter.

La banque de tissus est soutenue financièrement par l'IWMF, mais l'effort dépend d'abord des patients. Si un patient choisit de participer, il doit demander à son médecin de fournir des échantillons de tissus et de sang à

Dana-Farber, et le groupe du Dr Ghobrial fournira le matériel et l'emballage destinés à leur envoi. L'ajout de biopsies de moelle osseuse n'est pas nécessaire, mais si l'une d'elles est réalisée pour le traitement ou tout autre motif, Dana-Farber en sollicitera un petit échantillon. De même, à chaque fois qu'un patient effectuera un bilan sanguin, un échantillon supplémentaire sera adressé à Dana-Farber de façon à poursuivre l'enregistrement des données. Dana-Farber va créer un enregistrement des informations de tous les patients, qui puisse être disponible pour tous les chercheurs qui utilisent la banque de tissus. Ces informations sont enregistrées de façon anonyme, sans identificateurs personnels. Le patient remplira également un questionnaire médical, et cette information fera partie de la base de données de la banque de tissus. Ainsi chaque patient aura aidé à la création d'une base de données sur la MW. Le Dana-Farber demandera également aux membres de la famille, ainsi qu'à des personnes non apparentées de servir de témoins de contrôle. Ce genre d'études a été mené depuis des années pour d'autres maladies et a donné des informations de valeur. Le lien en ligne vers la banque de tissus est <http://tinyurl.com/tbstudy>. Les patients peuvent poser des questions au sujet de la banque de tissus via <http://tinyurl.com/tbstudy>.

Pourquoi est-ce important ? Le Dr Ghobrial expliqua que le séquençage complet du génome d'échantillons sélectionnés peut être relié aux données de chacun des patients de façon à pouvoir être utilisé pour identifier la réponse à la thérapie et les mécanismes de résistance. Ceci aidera à la compréhension des causes potentielles de la MW et à l'identification des facteurs qui peuvent accroître le risque de la développer.

Les gènes qui peuvent accroître les risques de développer la MW

Environ 30 à 50% des patients MW ont une anomalie sur le chromosome 6 appelée délétion 6q. Les mutations de gènes dans cette région peuvent accroître le risque de développer une MW. L'un de ces gènes est appelé BLIMP, à l'emplacement 6q21, un gène suppresseur de tumeur qui est le gène-maître régulant la prolifération des lymphocytes B. Une autre mutation ayant une possible signification est située sur le gène MYD88 et a été trouvée chez 90% des patients lors de l'étude du séquençage complet réalisée par le Dr Treon. Un troisième gène intéressant appelé CXCR4, a été trouvé dans 24% des échantillons. Pour plus d'informations sur MYD88, voir ci-après la présentation du Dr Treon.

MiARN155

Le Dr Ghobrial a également évoqué les microARN. A côté de l'acide nucléique ADN qui renferme les informations génétiques de base d'une cellule, un autre acide nucléique appelé ARN contrôle de nombreux processus à l'intérieur de la cellule, notamment la synthèse des protéines. Les ARN ne sont pas tous les mêmes ; il y en a un très petit appelé miARN qui régule négativement les gènes (il leur dit de ne pas s'activer). Le groupe du Dr Ghobrial a

examiné les patients MW et trouvé un miARN particulièrement important, appelé miARN155, qui paraît en corrélation avec la progression de la maladie et l'efficacité de son traitement. Il est sécrété par les cellules tumorales et les rend capables de croître et de résister à la chimiothérapie. Son groupe a collecté 120 échantillons de patients, certains de patients ayant été traités avec la combinaison Velcade/Rituxan/RAD001. Les chercheurs ont trouvé que 78% des cellules MW exprimaient miARN155 au lieu de seulement 13% pour les cellules normales de contrôle, et que son niveau d'expression était 20 fois plus élevé dans les cellules MW que dans les cellules normales. Ils cherchent si miARN155 peut être utilisé comme marqueur biologique de pronostic, de la progression de la maladie et de l'efficacité de la thérapie, et s'il pourrait constituer un marqueur meilleur que l'IgM. Les niveaux de miARN155 peuvent être détectés dans des échantillons de sang périphérique, aussi les participants qui ont envoyé des échantillons sanguins au Dr Ghobrial auront leurs niveaux de miARN155 mesurés.

Un agent appelé LNA (locked nucleic acid) a été développé pour cibler miARN155. En travaillant sur des souris, les chercheurs ont constaté qu'il pénètre la moelle osseuse, la rate, et le foie, et attaque miARN155. Ils ont transplanté des cellules MW dans des souris et constaté que le traitement avec LNA contractait les tumeurs résultantes. Il semble cibler les cellules MW et prévenir la réapparition des tumeurs. Les chercheurs travaillent maintenant à son utilisation clinique pour l'offrir aux patients chez qui il pourrait être efficace : ceux ayant des niveaux élevés de miARN155. C'est un exemple de médecine personnalisée.

Le Dr Ghobrial a également constaté que les cellules stromales de l'environnement de la moelle osseuse MW expriment fortement miARN155, en conséquence le traitement peut également améliorer le microenvironnement. En particulier, on a trouvé que RAD001 inhibe l'expression de miARN155, et peut être efficace chez ceux qui en possèdent un niveau élevé. L'ajout de Velcade et Rituxan à RAD001 a produit une importante réduction de la charge tumorale chez certains patients.

Essais cliniques de nouvelles thérapies

Comment ces découvertes peuvent-elles se traduire en essais cliniques pour trouver de nouvelles thérapies ? Le consensus de traitement le plus récemment défini lors du 4ème International Workshop de Stockholm sur la MW était d'utiliser des combinaisons telles que Rituxan/analogue de nucléoside, avec ou sans agent alkylant, R-CHOP, R-CVP, ou Rituxan/thalidomide pour les traitements de première ligne. Un réemploi de la thérapie de première ligne ou l'emploi d'un traitement différent, Velcade, Alemtuzumab, ou une greffe autologue de cellules souches étaient recommandés en thérapie de sauvetage. Ces traitements ont été très bons pour certains patients mais ils ont aussi leurs problèmes et leurs limitations. Nous savons maintenant qu'il existe des agents

plus intelligents, ciblant mieux lorsqu'ils utilisés en combinaisons, et qui sont potentiellement meilleurs.

Les nouveaux agents agissent aussi bien que les anciens, mais à plus faibles doses. Quelques uns d'entre eux sont bendamustine, pomalidomide, carfilzomib, les inhibiteurs de la cible de la rapamycine chez les mammifères (mTOR), et les histones déacétylases (HDAC). RAD001 est un exemple d'inhibiteur de mTOR. Ces inhibiteurs ciblent des voies spécifiques du développement tumoral. Un autre exemple est la drogue orale appelée panobinostat (LBH589). Il a obtenu un taux de réponse de 55% en essais cliniques à faible dose, et ceux qui ont continué à dose plus élevée ont même obtenu une réponse meilleure. Il a des effets secondaires plus réduits que les chimiothérapies, bien qu'il n'en soit pas complètement dépourvu. Pour d'autres traitements, l'ajout de Velcade augmente le taux de réponse. Il y a une importante réduction d'IgM chez la plupart des patients, avec une durée de réponse moyenne de 14 mois.

Au cours des essais cliniques de la combinaison standard Velcade et Rituxan, où les études initiales avaient trouvé des neuropathies périphériques chez plus de la moitié des patients et une durée jusqu'à la progression de 8 à 9 mois, les chercheurs ont trouvé que délivrer Velcade par injection sous cutanée hebdomadaire donne un taux de réponse plus élevé et moins de neuropathies périphériques. RAD01 seul a un taux de réponse de 70%, et les combinaisons pourraient même apporter un progrès supérieur. Il y a un nouvel essai Phase I débutant à Dana-Farber sur Rituxan/Velcade/RAD001 (l'étude RVR) qui pourrait aider ceux intéressés par une telle option.

Une nouvelle génération d'inhibiteurs de mTOR arrive. BEZ235 est une nouvelle drogue orale qui inhibe simultanément les voies tumorales mTOR et PI3K. INK128, une autre nouvelle drogue orale, a démontré une réduction de l'infiltration des ganglions lymphatiques, et un nouvel essai est ouvert pour cette thérapie. Il y a une nouvelle drogue orale du type Velcade sans les effets neuropathiques secondaires appelée ONX 0912, un inhibiteur de protéasome qui est très efficace contre les cellules MW. Un essai clinique est programmé pour débuter en juin à Dana-Farber.

En résumé, le Dr Ghobrial et son équipe alternent entre recherche en laboratoire et essais cliniques. La mise en banque des tissus est un maillon critique dans l'amélioration des études génomiques et épidémiologiques sur la MW. Son équipe est en train de développer un biomarqueur avec le miRNA155 circulant, de créer une médecine personnalisée avec une thérapie utilisant miRNA155, de combattre la résistance miRNA155-induite avec RAD001, d'utiliser RAD001 avec Velcade et Rituxan, d'utiliser les super inhibiteurs de mTOR INK128 et BEZH235, et de tester les nouvelles drogues du type Velcade carfilzomib et ONX 0912. Le Dr Ghobrial estime qu'il existe beaucoup d'opportunités de toucher la cible dans ce « plan stratégique ».

BASES GÉNÉTIQUES DE LA MW RÉVÉLÉES PAR LE SÉQUENCÉMENT DU GÉNOME ENTIER

Steven P. Treon, M.D., Ph.D.

Dana-Farber Institut de Cancer, Boston, MA



Steven P. Treon, M.D., Ph.D.

Dans son introduction, le Dr Treon a rappelé à l'auditoire un concept important, exposé par le Dr Jan Waldenström en 1944 : comprendre la biologie d'une maladie c'est nous rendre capables de progresser dans sa connaissance. Avec cela en mémoire, plusieurs experts de la MW se sont rencontrés en 2003 au Deuxième Sommet Patients Médecins sur la MW, pour donner la priorité au besoin

de comprendre la base génétique de la MW. À ce moment-là, le premier génome humain venait d'être juste d'être séquencé.

Avant de discuter des résultats de ses études récentes sur le séquençement du génome de patients MW, le Dr Treon a rappelé d'autres découvertes importantes dans la génétique de la MW. Ainsi celle du Dr McMaster qui a montré qu'en observant des patients MW et leurs familles on pouvait constater un groupe d'environ 25 % de patients qui ont un parent au premier ou au deuxième degré qui présente une maladie maligne des lymphocytes B. C'est un chiffre élevé, même comparé aux familles où on rencontre d'autres formations cancéreuses intéressant les lymphocytes B : leucémie lymphoïde chronique, lymphome non-Hodgkinien et lymphome d'Hodgkin.

Génomique de la MW familiale

Dans une tentative pour mieux comprendre ce phénomène, le groupe de Dr Treon au Dana-Farber a entrepris un Projet de Génomique de la MW Familiale qui a enrôlé 200 familles et 800 individus. Ce projet recueille des arbres généalogiques, du sang périphérique et des échantillons de cellules buccales (de la joue), ainsi que des échantillons de cellules pour divers tests. Trois modèles de famille ont été observés : **MW sporadique**, familles dans lesquelles aucun individu autre que le patient MW lui-même, n'a été identifié avec une maladie des lymphocytes B; **MW familiale seulement**, les familles dans lesquelles un membre au moins, autre que le patient d'origine, avait la

MW ; et les familles **maladies mixtes du lymphocyte B** dans lesquelles d'autres membres de la famille du patient MW d'origine, présentaient d'autres maladies des lymphocytes B.

Est-ce que la MW familiale a des conséquences cliniques ? Des études suggèrent que les patients qui ont la maladie familiale ne répondent pas aussi bien au traitement rituximab que ceux avec la maladie sporadique et la durée de leurs réponses ne sont pas aussi longues. Il a été indiqué aussi que les patients avec la maladie familiale répondent vraiment bien à bortezomib (Velcade). On a tiré deux leçons de ces observations - la présence d'une MW familiale peut aider à guider des choix de traitements pour ces patients et parce que bortezomib a une action sur la voie NF-kappa B, il fournit un indice important pour la biologie de la MW.

Rituximab

La première drogue qui a fait la plus grande différence dans les résultats pour la MW et d'autres lymphomes de bas-grade est rituximab. Tous les patients cependant ne sont pas répondeurs et les tentatives pour comprendre pourquoi certaines personnes répondent et d'autres non, ont été le sujet de beaucoup d'études. La réponse des patients à rituximab semble être en relation avec le récepteur FcγRIIIA sur les cellules tueuses naturelles. Ce récepteur est le site de liaison des cellules tueuses naturelles à l'anticorps rituximab. À la position 158 de la protéine du récepteur, un individu peut avoir un acide aminé valine (V) ou phenylalanine (F). Les patients héritent les gènes pour valine ou phenylalanine de leurs deux parents. Rituximab s'attache plus solidement à un récepteur contenant une valine qu'à un récepteur contenant une phenylalanine, donc le récepteur qui contient valine permet mieux aux cellules tueuses naturelles de tuer les lymphocytes B qui sont attachés à l'anticorps rituximab. Les patients dont les deux gènes codent pour valine (V/V) ont une chance considérablement meilleure d'avoir une réponse complète ou une très bonne réponse partielle à rituximab que des patients dont les deux gènes codent pour phenylalanine (F/F). Les patients avec des gènes V/F codent quelque part entre les deux.

Dans un effort pour améliorer la liaison rituximab chez ceux des patients qui ont la combinaison génétique F/F, un anticorps rituximab-like modifié appelé GA101 a été développé. Il est actuellement dans la phase III d'une expérimentation clinique prometteuse pour des patients de leucémie lymphoïde chronique et le Dr Treon a l'espoir que ce nouvel anticorps puisse être disponible pour des essais chez des patients MW en 2013.

Le traitement rituximab peut induire une hausse paradoxale du niveau d'IgM (sans aucune augmentation de la charge tumorale) qu'on appelle « flare » d'IgM. Ce « flare » peut entraîner une hyperviscosité symptomatique chez certains patients. Pendant plusieurs années, on a soupçonné qu'une interaction entre rituximab et les cellules MW pouvait être la cause de ce phénomène ; cependant, on a pu observer qu'un traitement par immunoglobuline intraveineuse

(IgIV) était capable de déclencher également un « flare ».

On a donc envisagé qu'il pouvait s'agir d'un mécanisme différent. Le Dr Guang Yang au *Dana-Farber* a constaté que ni rituximab ni les IgIV ne parvenaient à stimuler directement les cellules MW pour leur faire libérer de l'IgM. Cependant, quand rituximab a été incubé avec une co-culture de cellules MW et de monocytes, la sécrétion d'IgM s'est produite. De plus, on a constaté que le facteur initiateur survenait quand rituximab ou les IgIV s'attachaient au récepteur FcγRIIA sur les monocytes, causant la libération d'interleukine-6 (IL-6). IL-6 se liait à son tour au récepteur IL-6 sur les cellules MW, déclenchant le flare d'IgM. Le Dr Treon a l'espoir que, puisque le mécanisme pour le flare d'IgM est maintenant mieux compris, des drogues ciblant cette voie seront utilisées pour bloquer la libération d'IgM et permettront aux patients de recevoir rituximab sans recours préalable à la plasmaphérèse.

Traitements basés sur Cyclophosphamide

Ces thérapies comportaient traditionnellement CHOP-R, CVP-R, CPR et CDR. Les chercheurs constatent maintenant qu'on peut se passer de doxorubicin (H) et vincristine (O ou V), qui sont potentiellement très toxiques, sans que les taux de réponse ou la survie sans progression en soient affectés. Les taux globaux de réponses pour les thérapies cyclophosphamide sont de 70-90 %, avec un taux de réponses complètes de moins de 10 %; la durée moyenne de rémission est d'environ trois ans quand elles sont données en traitement de première ligne. Ces thérapies ont un effet négatif sur la formule sanguine et peuvent causer une irritation de la vessie, mais un éventuel recueil de cellules souches est préservé et les risques de toxicité à long terme sont modérés.

Thérapie basée sur les analogues de nucléoside

Un des inconvénients principaux découverts avec les analogues de nucléoside est le risque de transformation en lymphome plus agressif, ou le développement de MDS/AML (syndrome myélodysplasique/leucémie myéloïde aiguë), qui est d'environ 15 %. Cependant, la survie complète n'a pas été modifiée par la transformation en raison de l'excellente thérapie de sauvetage que constitue CHOP-R pour le lymphome agressif. Le recueil de cellules souches est compromis par ce traitement et son utilisation devrait être évitée chez les patients potentiellement candidats à une auto-greffe de cellules souches. Le nombre de séances de traitement et la posologie peuvent être diminuées, particulièrement chez les patients âgés.

Thérapie basée sur les immunomodulateurs (IMiD)

Les IMiD (agents immunomodulateurs) incluent thalidomide, lenalidomide et pomalidomide. Ils semblent stimuler les cellules du système immunitaire et en combinaison avec rituximab ils peuvent augmenter ses effets. Le taux global de réponses à thalidomide/rituximab (Thal-R) est de 70 % et celui de lenalidomide/rituximab

(Len-R) de 40 %, cependant que la survie sans progression de la maladie est de quatre ans, avec Thal-R. La toxicité principale avec thalidomide est la neuropathie périphérique et avec lenalidomide (ainsi qu'à un degré moindre avec pomalidomide) une diminution brutale de l'hématocrite. Le flare d'IgM a été observé avec lenalidomide et pomalidomide. Des risques à long terme n'ont pas été identifiés.

Thérapie basée sur Bortezomib (Velcade)

Bortezomib deux fois par semaine en combinaison avec dexaméthasone et rituximab a procuré un taux global de réponses de 95 %, mais 30 % de patients ont connu une neuropathie périphérique de niveau 3. Avec une seule injection par semaine la combinaison bortezomib et rituximab a donné un taux de réponse global identique de 92 %, mais sans neuropathie périphérique de niveau 3. En vue de réduire la neuropathie périphérique, une drogue plus récente, de la même classe, appelée carfilzomib, a été combinée avec rituximab et dexaméthasone (thérapie CARD) dans un essai clinique actuellement en cours. Jusqu'ici, il semble que le produit tient ses promesses tant en ce qui concerne les bonnes réponses de la moelle osseuse qu'en ce qui concerne le nombre de neuropathies, moindre que celui connu avec bortezomib.

Thérapie Bendamustine-Rituximab

Le Dr Treon a dit que c'était une option excellente pour des patients qui ont des ganglions et la rate augmentés de volume. Un taux global de réponse de 90 % et un très bon taux de réponses partielles ou complètes de 30-40 % ont été obtenus. Des études récentes suggèrent que bendamustine épargne les cellules souches. Des modifications de posologie peuvent être nécessaires pour les patients qui ont eu un traitement antérieur prolongé ou une thérapie avec un analogue de nucléoside, qui sont âgés, ou qui présentent des problèmes rénaux. Il n'y a pas beaucoup de rapports concernant la toxicité à long terme de la thérapie bendamustine, mais le Dana-Farber a vu quelques cas de MDS/AML après bendamustine et le Dr Treon a recommandé de l'utiliser avec des précautions.

Maintenance rituximab

Dans la MW, nous n'avons aucune donnée éventuelle sur la maintenance rituximab, ce qui signifie que personne n'a mené un essai clinique et suivi des patients pour analyser les résultats. Cependant, il y a des données éventuelles sur d'autres lymphomes apparentés à la MW et les résultats en ont été positifs. Le Dr Treon a publié une étude rétrospective sur la maintenance rituximab en étudiant des patients qui avaient été observés après une thérapie d'induction rituximab ou qui étaient en maintenance après une thérapie d'induction rituximab. Il a observé que les patients qui étaient en maintenance avaient intensifié leur réponse, mais ce qui est plus important, ils ont également augmenté la durée de leur survie sans progression et leur survie totale. Cependant, le Dr Treon a indiqué que la meilleure façon d'administrer la thérapie de maintenance

n'a pas encore été fixée. Dans sa pratique il donne habituellement une perfusion tous les trois mois pendant deux ans, tandis que d'autres pratiques peuvent être de donner quatre perfusions tous les six mois. Le Dr Treon a indiqué que les patients sous maintenance rituximab semblent avoir un plus grand nombre d'infections des bronches et des sinus.

Séquencement du génome entier dans la MW

Beaucoup d'efforts ont été consacrés à la découverte de la base génétique de la MW par beaucoup de laboratoires utilisant différentes sortes de technologies. Mais, à la différence de beaucoup de formations cancéreuses qui ont de grands problèmes structurels de l'ADN ou des chromosomes, on n'en a pas découvert beaucoup de cette nature pour la MW. Donc l'équipe du Dr Treon au Dana-Farber a décidé d'utiliser le séquencement de génome entier, dans une étude partiellement financée par l'IWMF, pour rechercher les mutations qui pourraient causer la maladie. Le coût du séquencement aurait été prohibitif même il y a trois ou quatre ans - peut-être plusieurs millions de dollars par génome. Au moment où le groupe du Dr Treon a exécuté le séquencement, le coût avait été réduit à environ 15,000 \$ par génome - dans cinq ans ce sera probablement 500 \$.

Pour cette sorte d'étude, aussi bien du tissu tumoral que du tissu normal étaient séquencés pour chaque patient et comparés dans un processus appelé séquencement apparié. Les cellules MW ont été recueillies et isolées de la moelle osseuse cependant que des cellules normales, nettoyées à fond de tout lymphocyte B, ont été prélevées dans le sang périphérique. Ensuite l'ADN tumoral et l'ADN normal ont été alignés et analysés pour voir où se situaient les différences entre les deux.

Le résultat fut la découverte d'une mutation fortement récurrente (chez 91 % des patients) d'un gène appelé MYD88. Cette mutation est appelée MYD88 L265P et son incidence semble être la même dans la MW tant sporadique que familiale. Le séquencement Sanger (une méthode de séquencement différente) a été aussi réalisé sur des individus normaux aussi bien que sur des patients avec des maladies en relation avec les lymphocytes B, y compris MGUS à IgM, myélome multiple, lymphome lymphoplasmocytaire (LPL) avec sécrétion d'IgG ou IgA et lymphome de la zone marginale. De façon intéressante, les patients LPL avaient tous la mutation, mais l'incidence de la mutation chez les MGUS à IgM n'était trouvée que dans 9 % des cas et ceux avec un lymphome de la zone marginale n'étaient que 6,5 %. Les témoins normaux et les autres patients n'avaient pas la mutation.

Que sait-on de cette mutation ?

Sa présence, bien qu'à un degré moindre, a été annoncée dans d'autres types de lymphome, y compris un sous-type du lymphome diffus à grandes cellules B, la leucémie lymphoïde chronique et le lymphome primaire du système nerveux central. MYD88 lui-même est activé comme partie d'une voie dont les récepteurs sont alertés par la présence d'agents infectieux. De sorte qu'il est possible que la

pathogénèse de la MW soit initiée par une infection qui cause l'activation de MYD88 et [que] l'interrupteur reste bloqué sur la position « on » à cause de la mutation. Le même mécanisme peut être vrai pour des maladies auto-immunes.

Une fois que MYD88 est activé il forme un complexe avec les protéines de l'IRAK. Celles-ci déclenchent alors un certain nombre de voies, particulièrement la voie NF-kappa B, qui est aussi la voie que cible bortezomib (Velcade). À cause des études déjà faites sur des maladies auto-

immunes, plusieurs inhibiteurs de ces voies ont été développés. Dans des essais préliminaires sur des lignées cellulaires de MW et sur des cellules de patients, ces inhibiteurs ont bloqué la signalisation NF-kappa B et ont induit la mort cellulaire.

MYD88 peut aussi induire la signalisation par une voie alternative appelée Bruton's tyrosine kinase (BTK). La mutation MYD88 L265P semble en particulier activer la voie BTK qui a aussi un impact sur NF-kappa B.

BULLETIN DE COMMANDE

des DVD du FORUM EDUCATIF IWMF 2012 - Philadelphia, PA. USA.

Prix du jeu : \$14, frais d'envoi inclus

Retourner ce Bulletin sous enveloppe à l'adresse suivante :

**IWMF- 6144 Clark Center Avenue, Sarasota, FL 34238- Etats-Unis
ou le faxer au : 941-927-4467**

Je désire commander ____ jeu(x) complet(s) de DVD. Montant \$ _____

Name (Nom et Prénom) _____

Address (Adresse) _____

Check is enclosed (cochez ici, si vous versez par chèque)

Credit Card (Carte de crédit)

VISA

MasterCard

American Express

Credit Card Number (numéro de carte bancaire) _____

Expiration Date (date d'expiration) _____

Signature _____

Date _____