

Journée SFPO – 9 octobre 2014

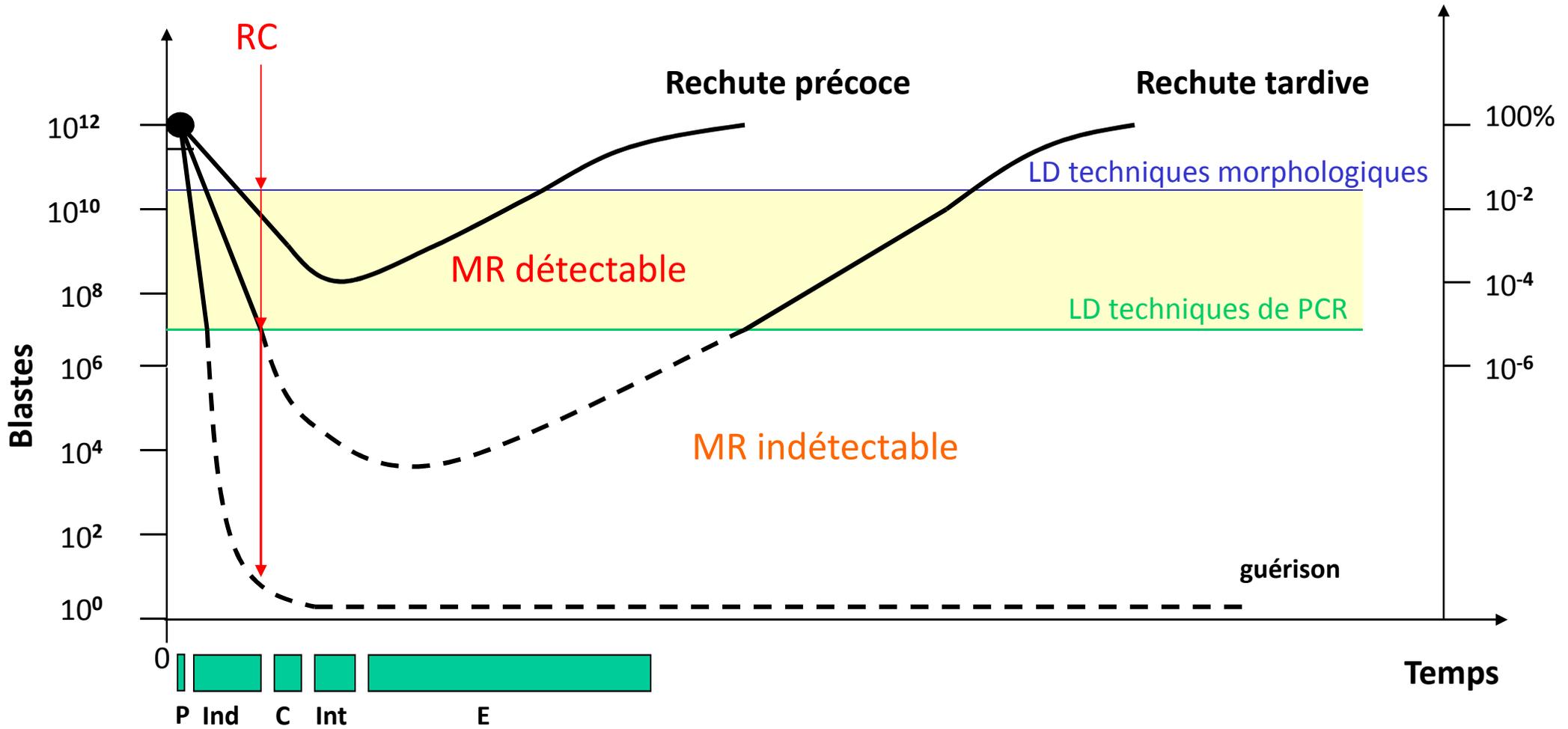
# Mise en évidence et valeur pronostique de la maladie résiduelle en hématologie

Jean-Michel Cayuela  
Laboratoire d'hématologie  
Hôpital Saint Louis

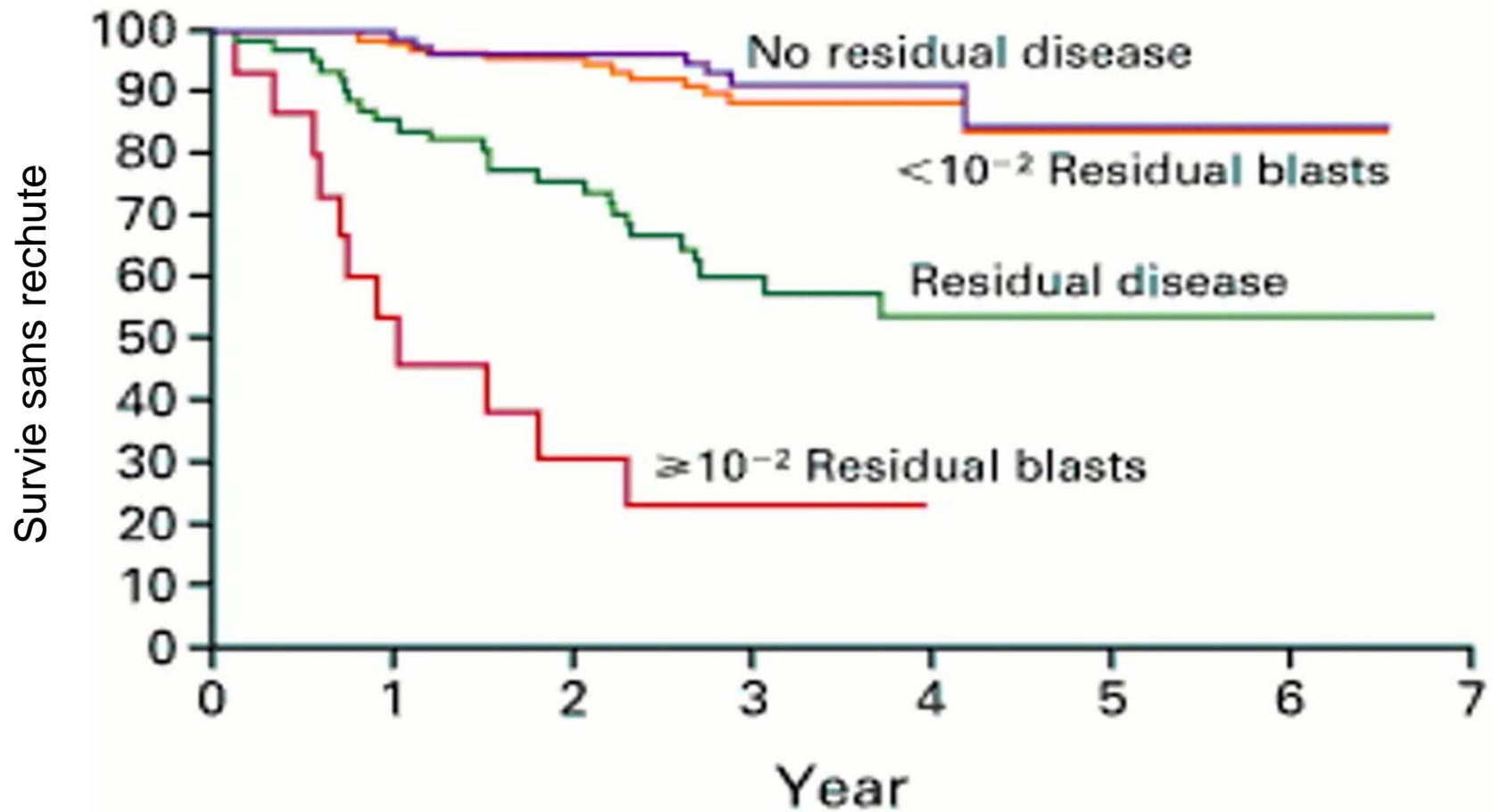
## Liens d'intérêts JM Cayuela

<b>Entreprise</b>	<b>Conseiller</b>	<b>Conférencier</b>	<b>Congrès</b>	<b>Autres</b>
Novartis	Oui	Oui	Oui	Non
BMS	Oui	Oui	Oui	Non
QIAGEN	Oui	Non	Non	Non
CEPHEID	Non	Oui	Non	Non
ASSURAGEN	Non	Oui	Non	Non

# Réponse au traitement et maladie résiduelle (MRD)



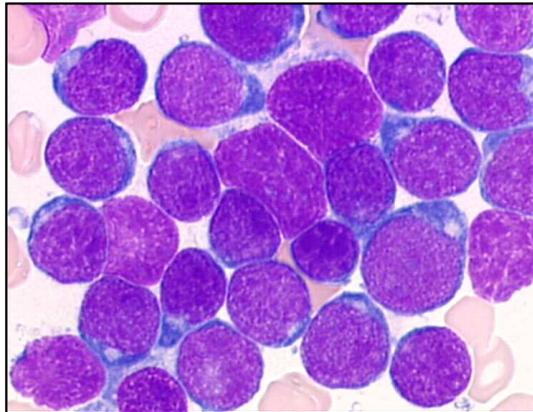
## MRD post Induction et RFS



## Marqueurs tumoraux utilisables pour la quantification de la maladie résiduelle

Marqueurs	Type	Application
physiologiques	Réarrangements IG et TCR	LAL
Pathologiques	Réarrangements génomiques	LAM, LNH, MM
	Transcrits fusion/surexprimés	LMC, LAL, LAM
	Immuno-phénotypes aberrants	LAL, LAM, LLC

# Réponse au traitement des LAL de l'enfant



# Traitement et pronostic

- Adaptation du traitement aux facteurs de risque initiaux et secondaires
  - Polychimiothérapie : « le plus est le mieux »
    - 4 phases thérapeutiques (pendant 2-3 ans)
  - Gestion des risques :
    - risques infectieux
    - toxicité
- ✓ Survie globale à 5 ans : 85%  
(Registre Français des LAL de l'enfant, >1997)

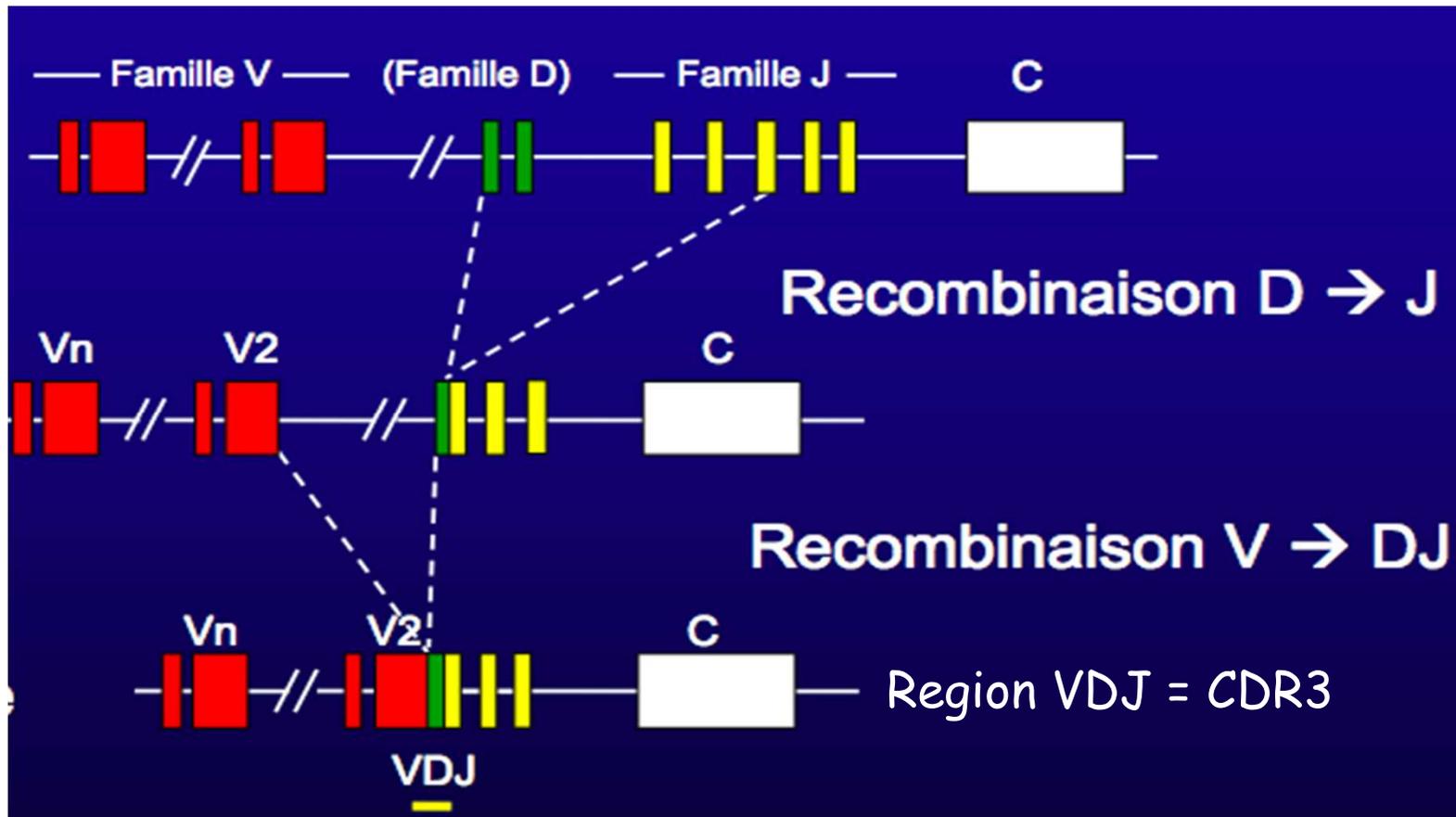
# Problèmes et challenges

- La résistance au traitement :
  - 20 % des enfants rechutent encore actuellement
- Prédiction de la rechute :
  - En cours de traitement, évaluation précoce de la réponse au traitement pour détecter les « mauvais répondeurs » : maladie résiduelle évaluée en routine
- Intérêts thérapeutiques pour le patient :
  - Traiter plus intensivement les formes résistantes
  - Traiter moins intensivement les formes sensibles

# La réponse précoce au traitement est pronostique de la rechute

- J8 : Réponse à la Prednisone
  - Sensibles :  $< 1000$  vs Résistants :  $\geq 1000$  blastes/ $\mu\text{l}$  sang
- J21 : Réponse médullaire
  - Sensibles :  $M1 \leq 5\%$  vs Résistants :  $M2/M3 \geq 6\%$  de blastes (*Baruchel A et al., ASH 2000 ; Sandlund JT et al., Blood 2002*)
- J35 : Fin d'induction :
  - Réponse médullaire cytologique
    - RC vs échec (*Oudot et al., J Clin Oncol 2008*)
  - Maladie résiduelle moléculaire des patients en RC (*Cavé H et al., NEJM 1998 ; van Dongen JJM et al., Lancet 1998 ; Coustan-Smith E et al., Blood 2000*)
    - Très mauvais répondeurs :  $MR \geq 10^{-2}$
    - Mauvais répondeurs :  $10^{-4} \leq MR < 10^{-2}$
    - Bon répondeurs : MR indétectable avec une technique très sensible ( $10^{-4}$ )

# CDR3: site de la diversification délétion / N diversité (TdT)



Germline

ProB

2 allèles

PréB

# Chaque Région CDR3 est unique

## Empreintes digitales dites « fingerprint-like »

### =cibles clone spécifique

ACACGGCTGTGTAT TAC TGT GCA AGA GA	GGA	ATGATAGTAGTGGTTATTACTAC	G	TAC TAC TACTACTACTACATGGACGTCT
ACACGGCTGTGTATTACTGT GCA AGA GA	GGCCAGTGCC	TATTGTAGTAGTACCAGCTGCTA	GAAAA CTT	C TAC TAC TAC GGTATGGACGTCTGGGGCA
ACACCCCATGTATTAC TGT GCG AG	CCCCGGC	ATATTGTAGTGGTGGTAGCTGCTACTCC	CGGATGG	.....TAC TACTACTAC
ACGGCTGTGTAT TAC TGT GCG AGA	TTT AAG	TAC AAT AAC T		AC TAC TTT GAC TACTGGGGCC
TAC TGT GCG	TTC CGA AGA AGG CTA	AAC TGG AAC T		AC TAC TGG GGC
TACTGT GCG A	AA GAT CAA GAG AGG GGA GGC CCT	AGC ATA TTG TGG TGG TGA CTG CT	G TAA T	C TTT GACTACTGGGG
TACTGTGCAAGAG	TG	GTATAGCAGCTC	CTCT	AC AAC TGGTTCGACCC
ACACGGCTGTGTATTAC TGT GCG AGA G	GCGG	ACGGTGACTACG	TATCGGCGAC	C TAC TGGGGCCA
ACACGGCTGTGTATTACTGT GTG AAA GA	GG	ACTGGAACGAC	GGGGGGTAC	ATG GAC GTCTGGGGCA
ACACGGCTGTGTAT TAC TGT GCA AGA G	GGGGACCCCTCCTCCTTC			C TTT GACTACTGGGGCCA
ACACGGCCGTGTATTAC TGT GCG AGA GA	TTTGGG			TTC GAC CCCTGGGG
.....	GGGGG			TGG GGCCA
ACACGGCCGTGTATTAC TGT GCG	TCTCCT	GCAGCAGCTGGT	TTCGAATGAT	GAC TACTGGGGCCA
ACACGGCTGTGTATTAC TGT GCG AGA G	G	GTGGTGGTGAC	CTGGGGACA	AC TGG GG
AC TGT GCG	TCCGACT CGGC GAG	GGTGGTAGCTGC	G	TGG TTCGACCCCTG
ACACGGCCGTGTATTAC TGT GCG AGA	GA	TATTGTACTGGT	CCCC	AC TAC TTT GACTACTGGGGCCA
ACACGGCTGTGTATTACTGT GCG AGA GA	TTGAG CAA CTG GAG GAG	GTGGCTG	ACCG AAGA	C TAC TACTACTACTACATGGACCCGCA
ACACAGCAGCATATTACTGT GCA CAC AG	TCCAG CCCCAGG	TATTACGATTTTGGAGTGGTTATT		TAC TACTACTACGGTATGGACGTCTGGCCA
ACACGGCTGTATTAC TGT	CCCCGGG	GGATATTAGTATTACC	GGT T AAG	TAC TACTACTACGGTATGGACGTCTGGCCA
ACACAGCAGCATATTACTGTGCACAC AGA CC	GGAGAG GGC	GTATTACTGTGGTGGGGAG	CGCTT	TAC TACTACTACGGTATGGACGTCTGGCCA
ACACGGCCGTATTAC TGT GCG A	TTTGGG	CGATTTTGGT	TGCTT CCG	T TAC TAC TACTACTACGGTATGGACGTCTGGCCA
ACACGGCTGTGTATTACTGT GCG AGA G	CCCAATGGGGAGATCGG	CTAAGTGGGA	TTCG	C TGG GACCCCTG
AC TGT G.....	TCGAGGGGAAG	ATAGTGGGAGCT	TATGGGGGGG	C TGG GGCCA
AC TGT .....	GCGAGAGATAGGGG	GGATACAGCTATGGTT		AAC TGG TTCGACCCCTG
ACTGT ACC ACA GA	TCTACCG	GTATAGCAGCTCGTCC		.....C TAC TACTAC
ACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA	GTA			T GCT TTTGATATCTGGGG
ACACGGCTGTGTATTACTGT GCA AGA GA	TGGCCATGAGAAATTTTGCGTATAC	TACTATGATAGTAGTGGTTATT		TAC TGG TAC TTCGATCTCTGGGG
ACACGGCTGTGTATTAC TGT GCA AGA	TACGAGCTAACAGTGG			AC TAC TTT GACTACTGGGGCCA
ACACGGCTGTGTAT TAC T		GTGGGA		GCT TTT GATATCTG
ACACGGCTGTGTATTACTGT GCA AG	GGGG	TGTAGTGGTGGTAGCTGCT	TT	G GAC GT
ACACGGCTGTGTATTACTGT GCG AG	CCCCCGTAGG	TAAGTGGG	CCCAAG	AAC TGG TTCGACCCCTG
ACACGGCC GT	GC	CAGCTGCT	TCTTATTG ACGG C	GAC TACTGGGGCCA
ACAGCCTG AAA A	CCGGGGTATGTGGGCGGG			TT GACTACTGGGGCCA
ACACCCCATGTATTACTGT GCG AGA	CCGGA AA	ATAGTGG	TAATATCCCCGGGG	CC TGG TCACC
CAC.....	CCTCCCTCTAC	GGTATAGCAGTGGCTG	A	ATG GAC GTCTGGGGCA
ACACGGCTGTGTATTACTGT GCA A				TAC TTT GACTACTGGGGCCA
ACACGGCTGTGTATTACTGT GCA AGA G	GTGTGACAGGGG	GTATTACGATTTTGGAGTGGTT	CGGGGCGG AAGA ACAA	TAC TAC TAC GGTATGGACGTCTGGGGCCA
AC TGT GCG AGA GA	CCAGGGGTTGCGATCG	GGTGACTACG		TGG GGCCA
ACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAG	TT	GTATTACGATTTTGGAGTGGTTA	TCCA	AC TTT GACTACTGGGGCCA
ACACGGCTGTGTATTACTGTGCG AGA GG	CCCACG GAAAGA		CCCTACTT	TAC TGG TAC TTCGATCTCTGGGGCC
ACACGGCTGTGTAT TAC	CG	GGGGGAG		GG TTC GACCCCTGGGGCCA
ACACCCCATGTATTACTGTGCG AGA CA	CA	GGGGGAG	GACCTCCGGGC	TC GAC CCTG
			ACTG GAAA C	GAC TACTGGGGCCA

V

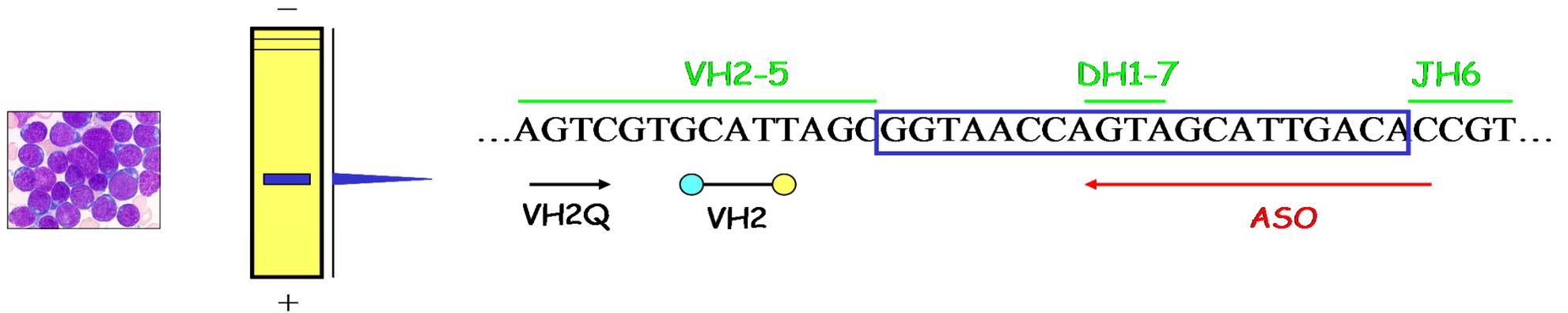
N1

D

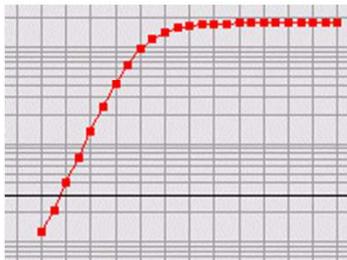
N2

J

# Quantification de la MR par RQ-PCR spécifique d'allèle

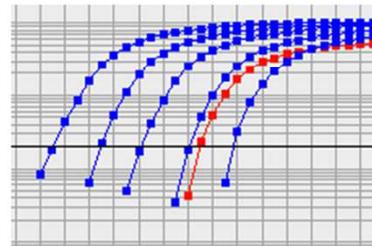


RQ-PCR n°1



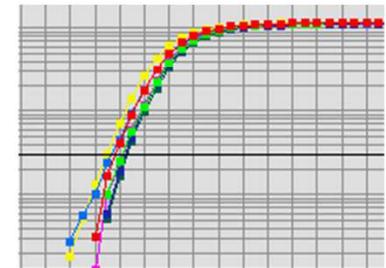
- amorçage
- spécificité

RQ-PCR n°2



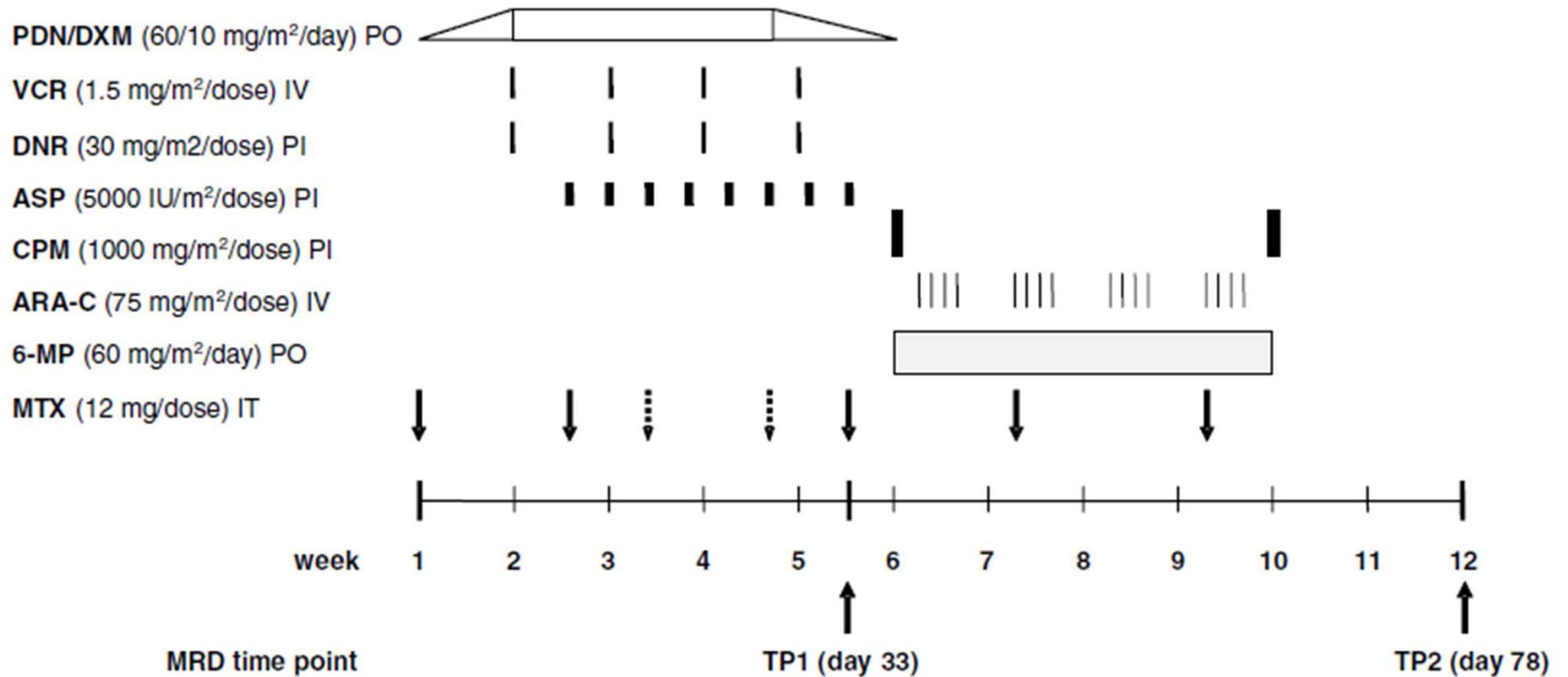
- point de suivi

RQ-PCR albumine



- qualité des ADN
- normalisation

# MRD analysis in AIEOP-BFM ALL 200



# Utilisation de la MR : exemple du AIEOP-BFM ALL 2000

Groupe MRD	Points décisionnels	Conséquences thérapeutiques
MRD-SR	J33 et J78 neg pas de CHR	désescalade randomisée
MRD-IR	ni MRD-LR ni MRD-HR	intensification thérapeutique randomisée
MRD-HR	J78 $\geq 10^{-3}$ et/ou CHR	intensification thérapeutique extension des indications d'ABMT

*CHR : critère de haut risque*

# Groupes de risque définis par la MR

*Etude de l'AIEOP-BFM ALL - 3184 LAL B Phi(-)*

		TP1 = J33		
MR		$\geq 10^{-3}$	$+ < 10^{-3}$	$- < 10^{-4}$
TP2	$\geq 10^{-3}$			
=	$+ < 10^{-3}$			
J78	$- < 10^{-4}$			

	% de patients	% de rechutes
<b>Haut risque</b>	<b>5.9</b>	<b>31.7</b>
<b>Risque intermédiaire</b>	<b>51.7</b>	<b>16.2</b>
<b>Risque standard</b>	<b>42.3</b>	<b>4.5</b>

# Distributions de événements en fonction de la MRD

*Etude de l'AIEOP-BFM ALL - 3184 LAL B Phi(-)*

Groupe de risque MRD	Standard		Intermédiaire		Elevé		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Total	1348	42.3	1647	51.7	189	5.9	3184	
Echecs	0		0		3	1.6	3	0.1
<b>Rechutes</b>	<b>61</b>	<b>4.5</b>	<b>266</b>	<b>16.2</b>	<b>60</b>	<b>31.7</b>	<b>387</b>	<b>12.1</b>
Médullaires	32	2.4	168	10.2	49	25.9	249	7.8
CNS	9	0.6	29	1.8	1	0.5	39	1.2
Testis	7	0.5	21	1.3	1	0.5	29	0.9
Méd. + autre	12	0.9	41	2.5	8	4.3	61	1.9
autres	1	0.1	7	0.4	1	0.5	9	0.3
Morts en RC	10	0.7	13	0.8	20	10.6	43	1.4
Post-chimio	10	0.7	10	0.6	6	3.2	26	0.8
Post-SCT	0		3	0.2	14	7.4	17	0.6
Tumeur II	10	0.7	9	0.5	3	1.6	22	0.7
CCR	1267	94.1	1359	82.5	103	54.5	2729	85.7

# Distributions de événements en fonction de la MRD

*Etude de l'AIEOP-BFM ALL - 3184 LAL B Phi(-)*

Groupe de risque MRD	Standard		Intermédiaire		Elevé		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Total	1348	42.3	1647	51.7	189	5.9	3184	
Echecs	0		0		3	1.6	3	0.1
Rechutes	61	4.5	266	16.2	60	31.7	387	12.1
Médullaires	32	2.4	168	10.2	49	25.9	249	7.8
CNS	9	0.6	29	1.8	1	0.5	39	1.2
Testis	7	0.5	21	1.3	1	0.5	29	0.9
Méd. + autre	12	0.9	41	2.5	8	4.3	61	1.9
autres	1	0.1	7	0.4	1	0.5	9	0.3
<b>Morts en RC</b>	<b>10</b>	<b>0.7</b>	<b>13</b>	<b>0.8</b>	<b>20</b>	<b>10.6</b>	<b>43</b>	<b>1.4</b>
Post-chimio	10	0.7	10	0.6	6	3.2	26	0.8
Post-SCT	0		3	0.2	14	7.4	17	0.6
Tumeur II	10	0.7	9	0.5	3	1.6	22	0.7
CCR	1267	94.1	1359	82.5	103	54.5	2729	85.7

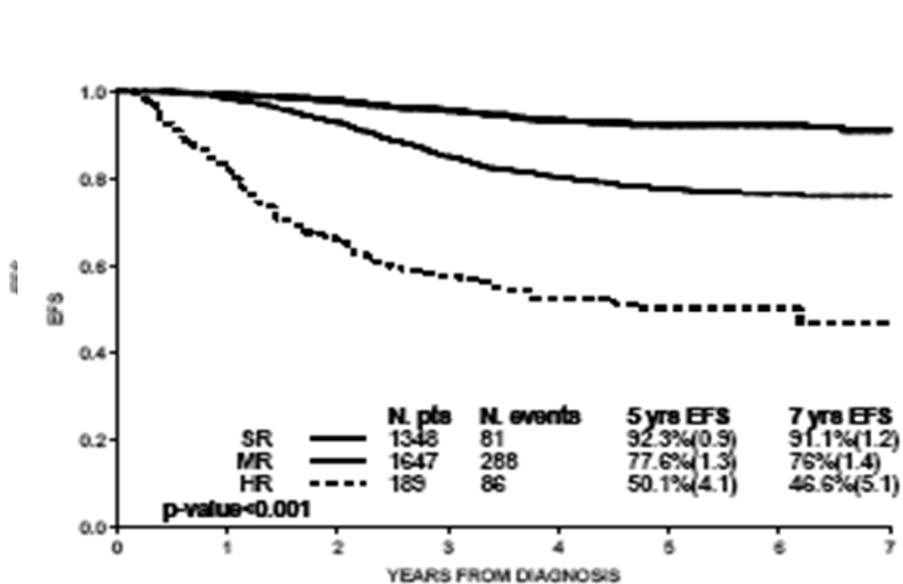
# Distributions de événements en fonction de la MRD

*Etude de l'AIEOP-BFM ALL - 3184 LAL B Phi(-)*

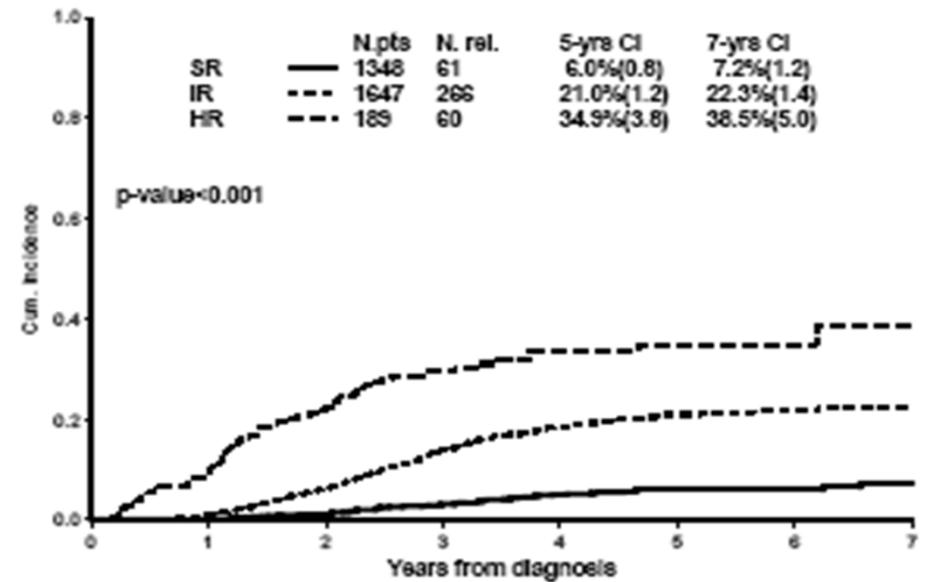
Groupe de risque MRD	Standard		Intermédiaire		Elevé		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Total	1348	42.3	1647	51.7	189	5.9	3184	
Echecs	0		0		3	1.6	3	0.1
Rechutes	61	4.5	266	16.2	60	31.7	387	12.1
Médullaires	32	2.4	168	10.2	49	25.9	249	7.8
CNS	9	0.6	29	1.8	1	0.5	39	1.2
Testis	7	0.5	21	1.3	1	0.5	29	0.9
Méd. + autre	12	0.9	41	2.5	8	4.3	61	1.9
autres	1	0.1	7	0.4	1	0.5	9	0.3
Morts en RC	10	0.7	13	0.8	20	10.6	43	1.4
Post-chimio	10	0.7	10	0.6	6	3.2	26	0.8
Post-SCT	0		3	0.2	14	7.4	17	0.6
<b>Tumeur II</b>	<b>10</b>	<b>0.7</b>	<b>9</b>	<b>0.5</b>	<b>3</b>	<b>1.6</b>	<b>22</b>	<b>0.7</b>
CCR	1267	94.1	1359	82.5	103	54.5	2729	85.7

# EFS et CIR en fonction de la stratification MRD

## EFS



## CIR



# Analyse multi-variée des principaux facteurs de risque

*Etude de l'AIEOP-BFM ALL 2000 : 2927 LAL-B Phi(-) (354 rechutes)*

	Analyse uni-variée			Analyse multi-variée		
	Haz.ratio	95% IC	p-value	Haz. ratio	95% IC	p-value
<b>Age</b>						
1-9 ans	1			1		
10-17 ans	1.68	1.32-2.14	<0.001	1.17	0.91-1.51	0.21
<b>GB (/μL)</b>						
<50000	1			1		
50-100000	1.60	1.16-2.21	0.004	1.55	1.11-2.15	0.009
≥100000	2.41	1.73-3.34	<0.001	2.10	1.46-2.96	<0.001
<b>TEL-AML1</b>						
Négative	1			1		
Positive	0.47	0.35+0.63	<0.001	0.59	0.43-0.81	<0.001
<b>DNA index</b>						
<1.16 ou ≥1.6	1			1		
≥ 1.16 et <1.6	0.59	0.42-0.82	0.002	0.62	0.44-0.88	0.008
<b>Réponse à PDN</b>						
Sensible	1			1		
Résistant	1.37	0.95-1.99	0.09	0.66	0.44-0.98	0.04
<b>PCR-MRD</b>						
Risque standard	1			1		
Risque intermédiaire	3.83	2.86-5.12	<0.001	3.54	2.64-4.75	<0.001
Risque élevé	9.47	6.51-13.78	<0.001	7.51	5.06-11.15	<0.001

# Supériorité de la stratification MRD

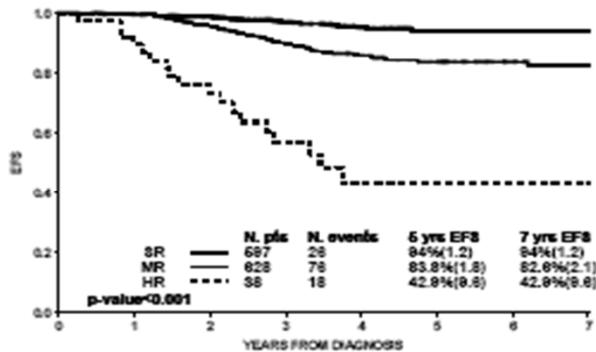
*Etude de l'AIEOP-BFM ALL - 3184 LAL B Phi(-)*

Groupe de risque MRD	Standard		Intermédiaire		Elevé		Total
	N (%)	5-yrs EFS	N	5-yrs EFS	N	5-yrs EFS	N
Total	1348	92.3	1647	77.6	189	50.1	3184
BFM-95 Standard	597 (47.3)	94.0	628 (49.7)	83.8	38 (3.0)	42.9	1263
BFM-95 Médium	714 (42.4)	90.9	889 (52.8)	73.3	81 (4.8)	56.2	1684
BFM-95 Elevé	37 (15.6)	92.2	130 (54.9)	77.4	70 (29.5)	47.3	237

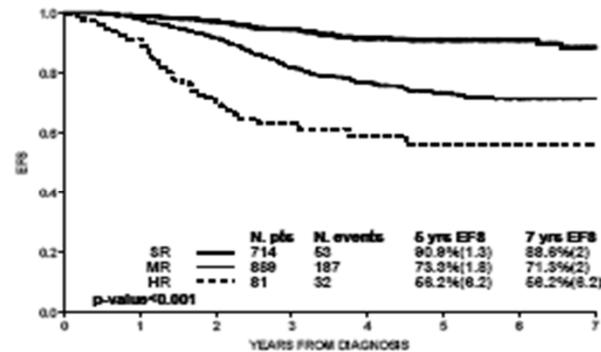
*Critères du BFM-95 : GB, âge, réponse PDN, t(4;11)*

# Impact pronostique de la MRD et critères de risques du BFM-95

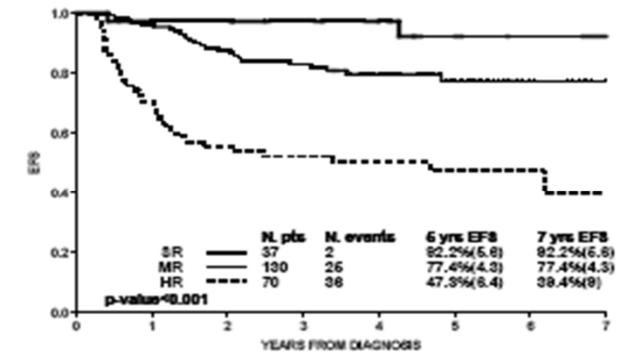
BFM95-standard  
1263 patients



BFM95-interm.  
1684 patients

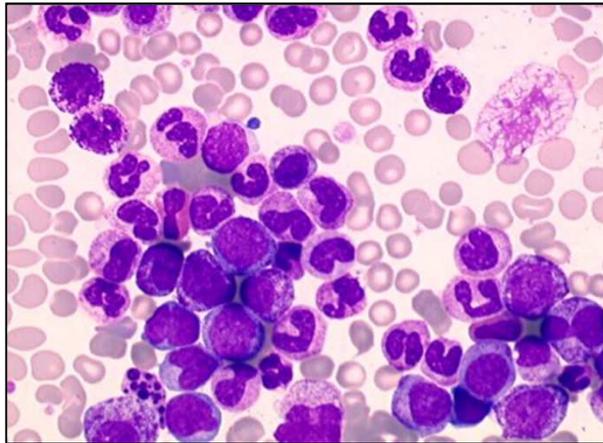


BFM95-high  
237 patients

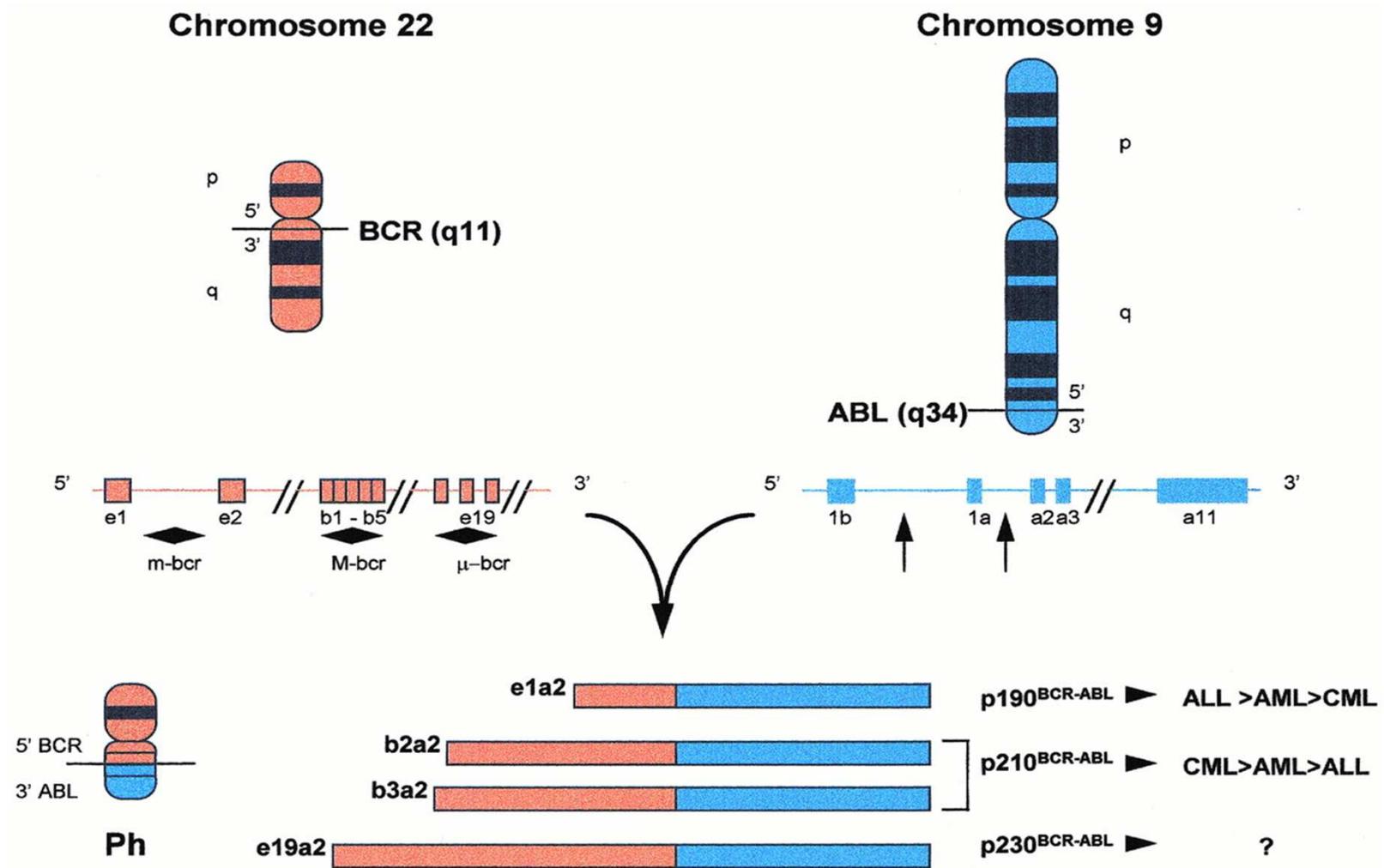


- Critères du BFM-95 : GB, âge, réponse PDN, t(4;11)

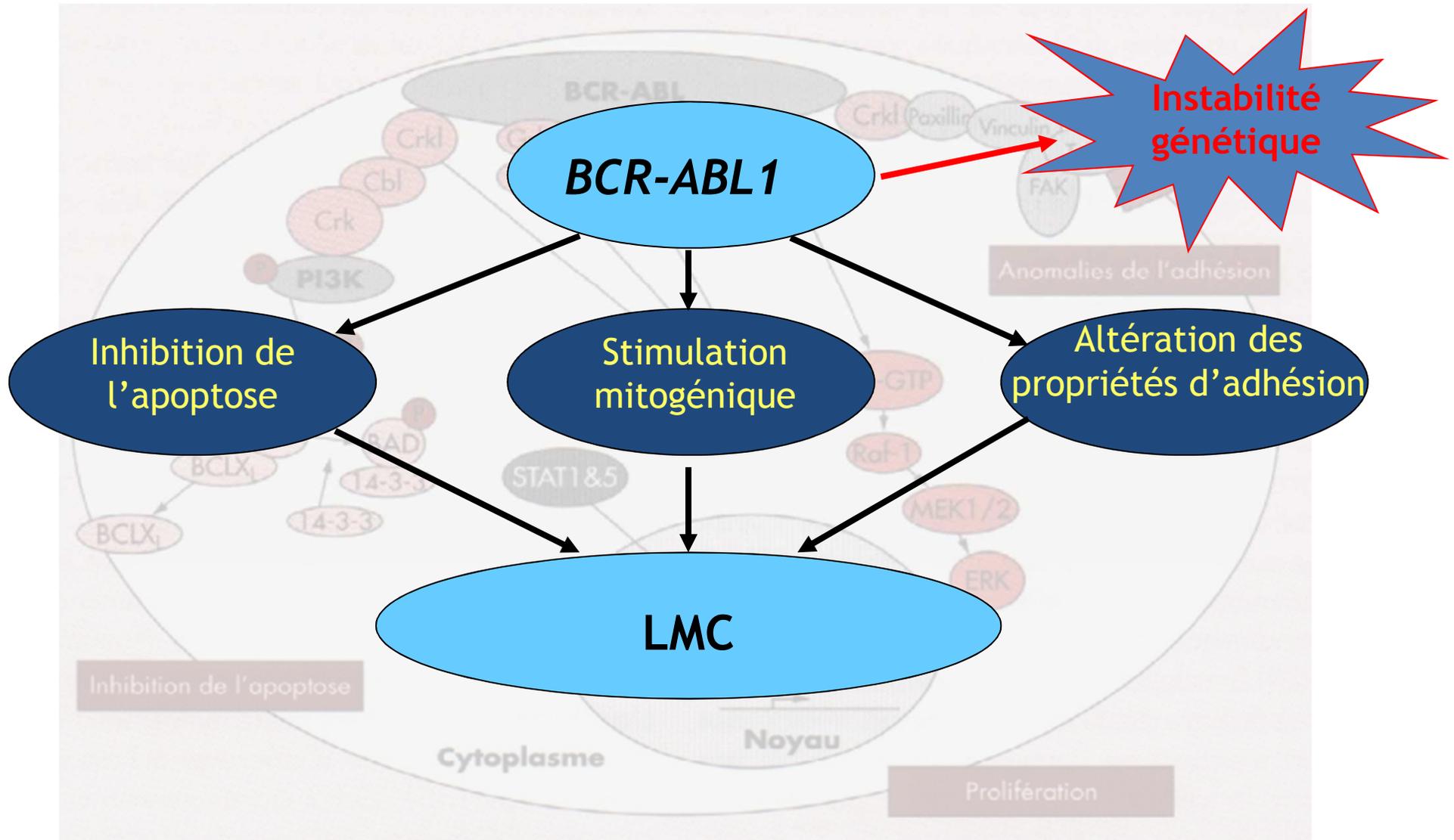
# Suivi moléculaire des patients LMC sous ITK



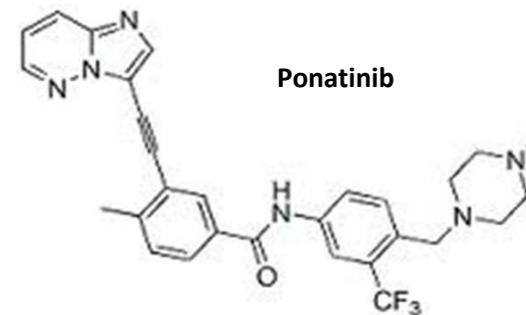
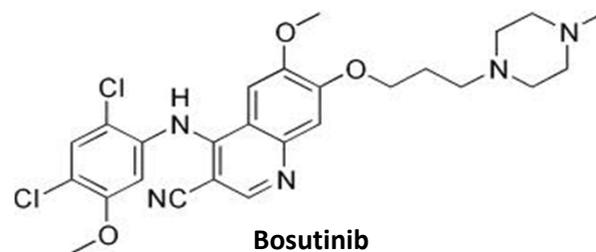
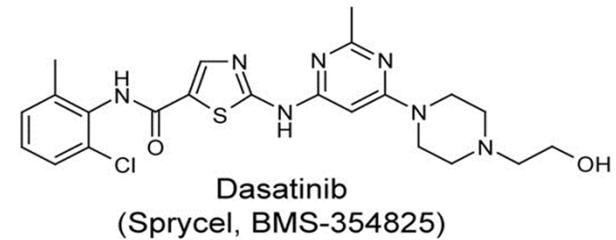
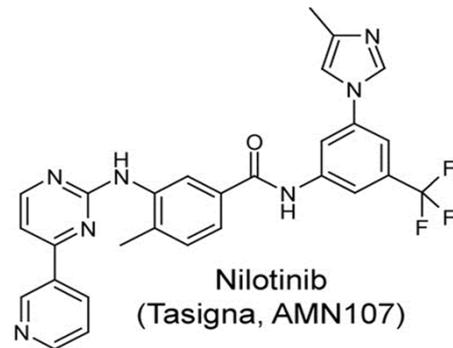
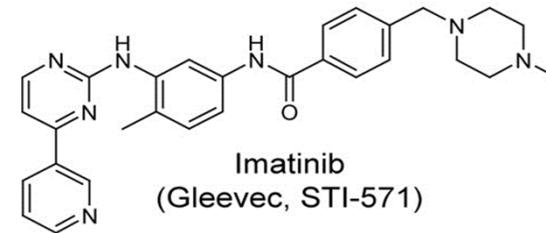
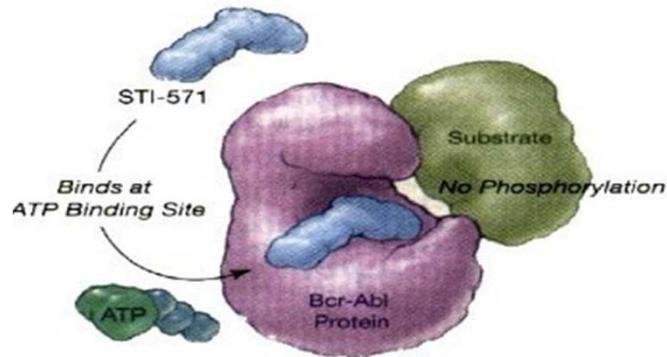
# t(9;22)(q34;q11)



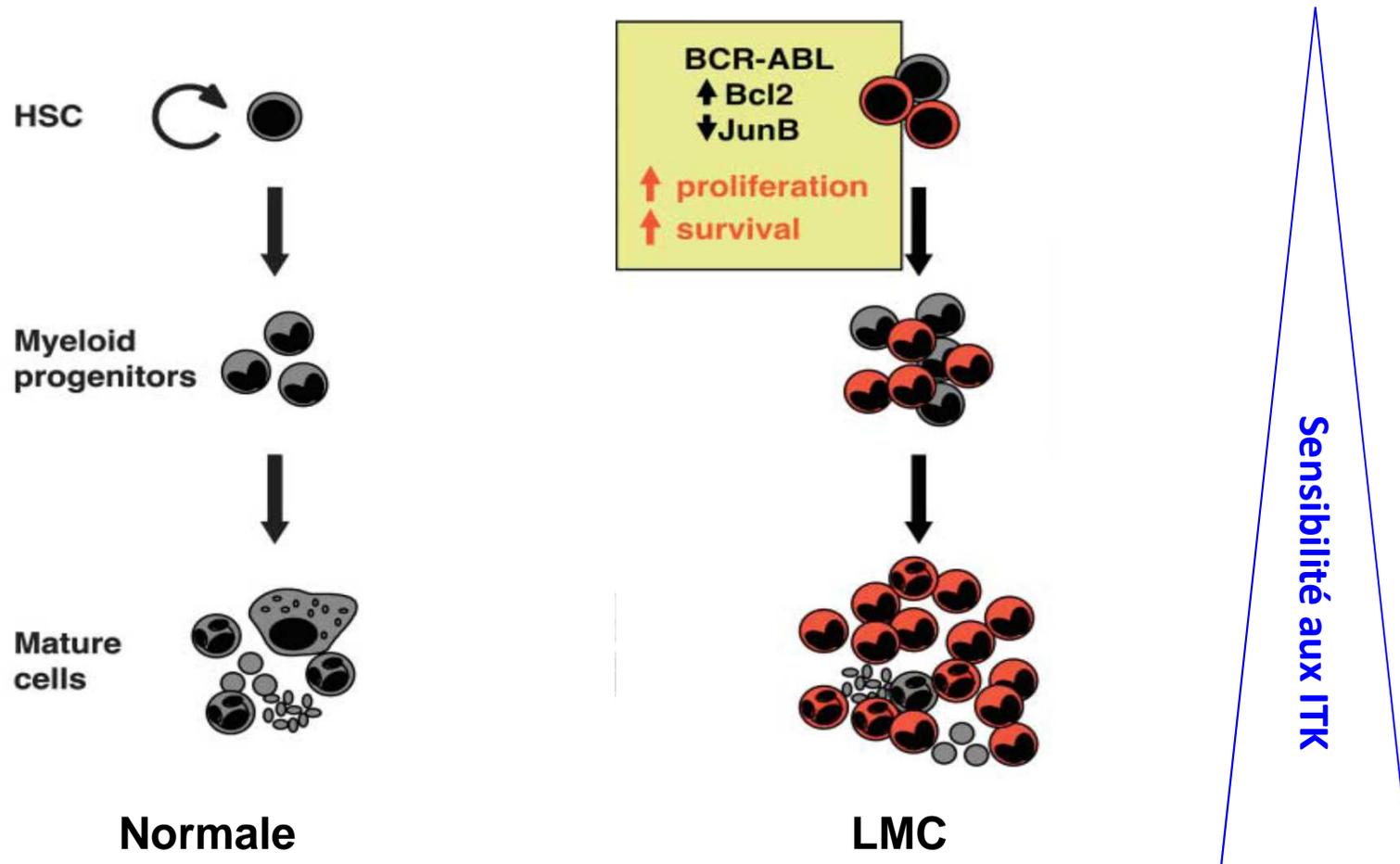
# Effets oncogénique de *BCR-ABL1* dans les cellules hématopoïétiques



# Inhibition de l'activité tyrosine kinase de *BCR-ABL1*

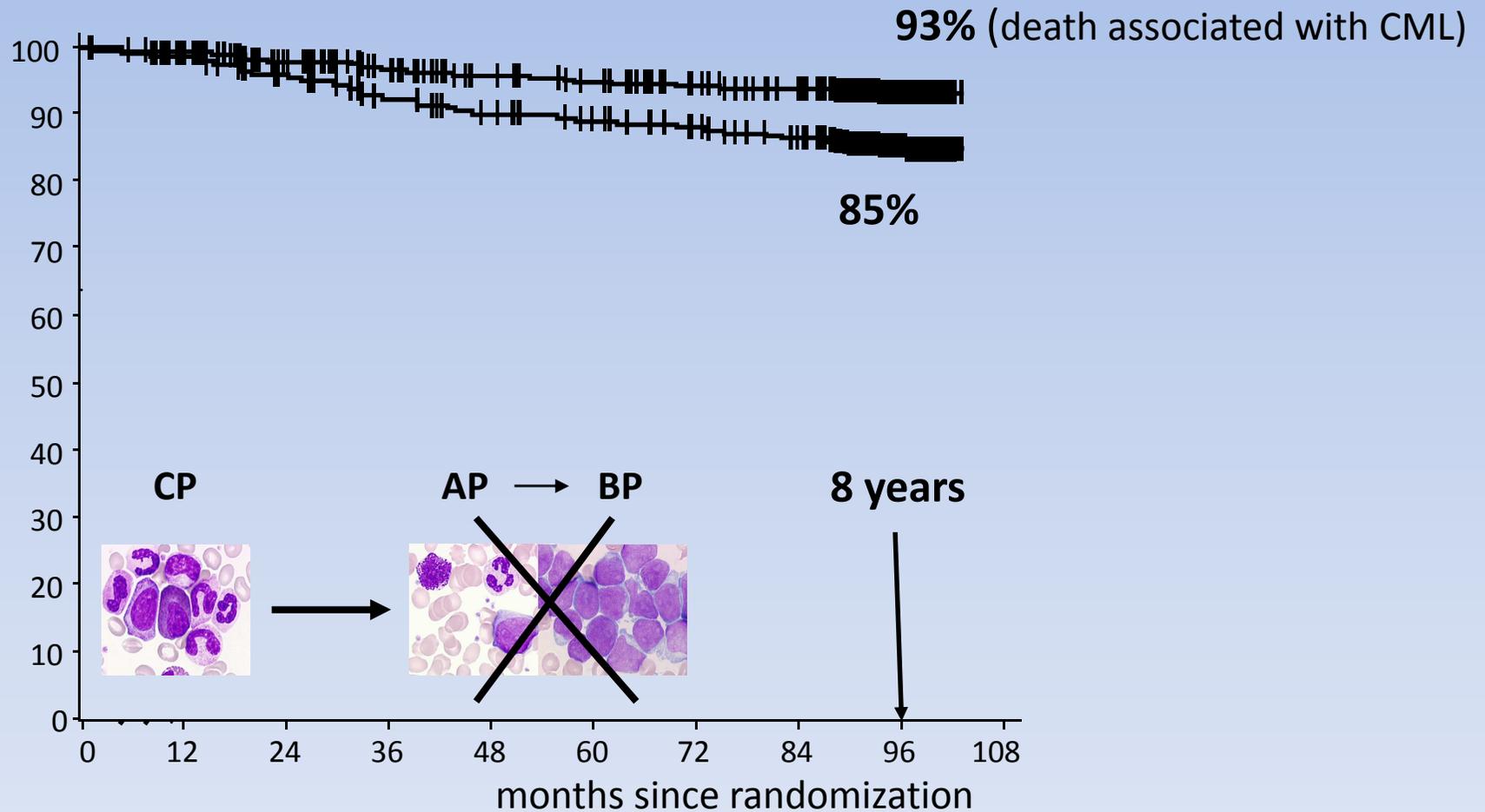


# Une maladie de la cellule souche hématoïétique



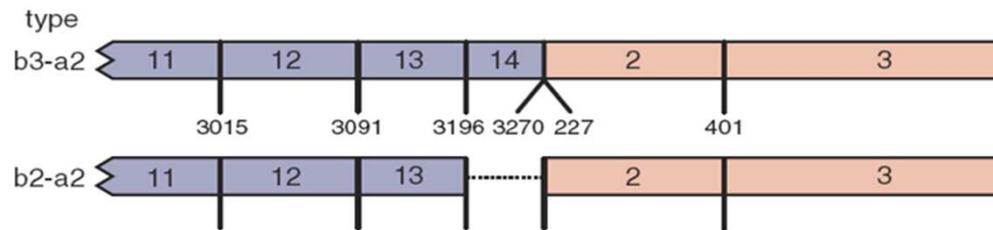
*Adapted from Jamieson CHM, Cancer Cell Dec. 2004:531*

# IRIS (bras Imatinib) : survie globale à 96 mois

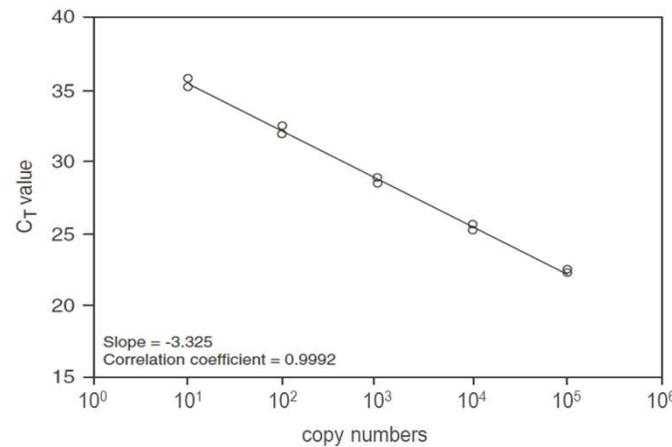
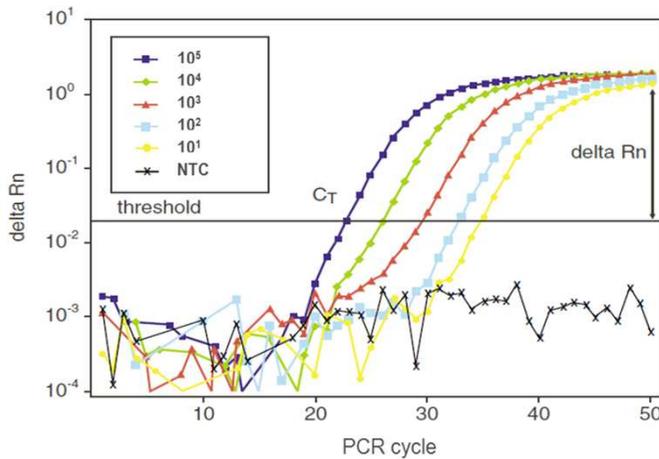


# Quantification des transcrits BCR-ABL1

M-bcr: BCR-ABL p210



ABL (9q34)

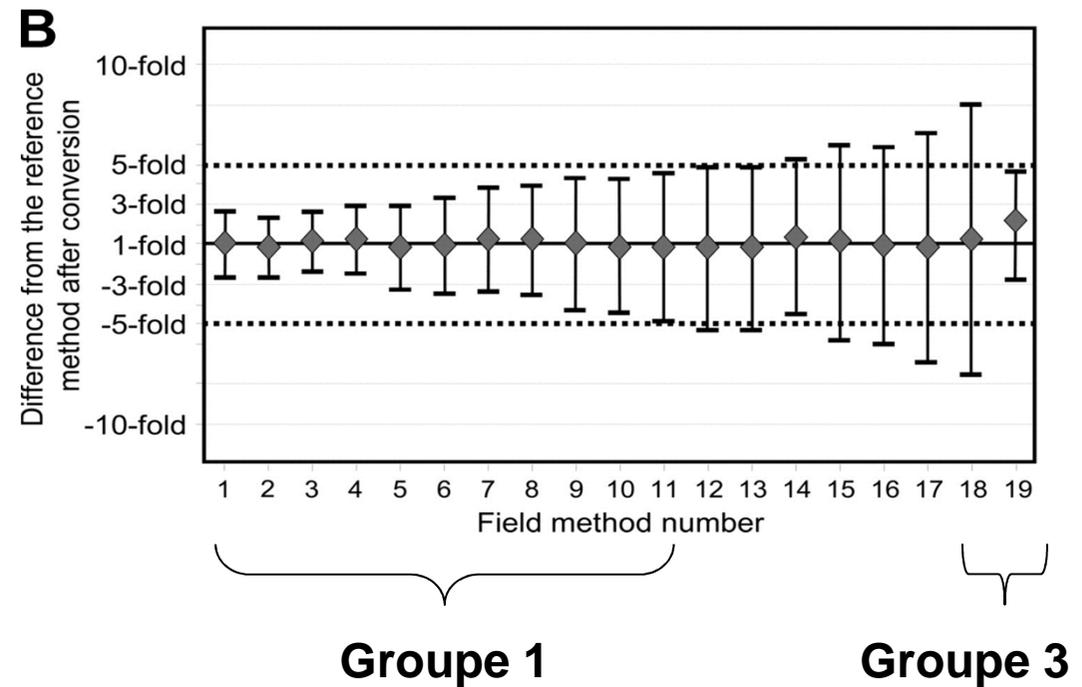
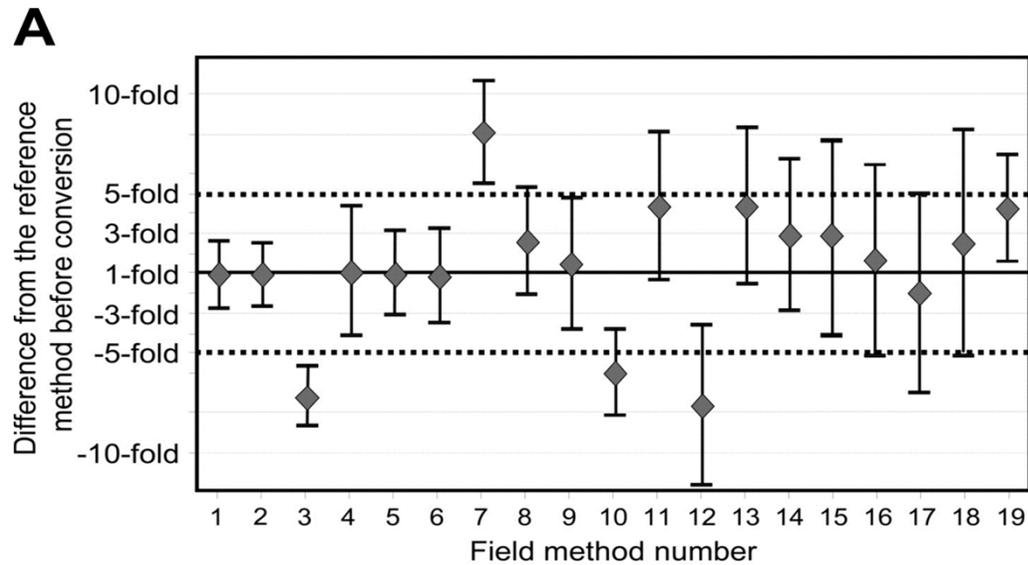


$$\frac{\text{BCR-ABL copy number}}{\text{Control Gene copy number}} \%$$

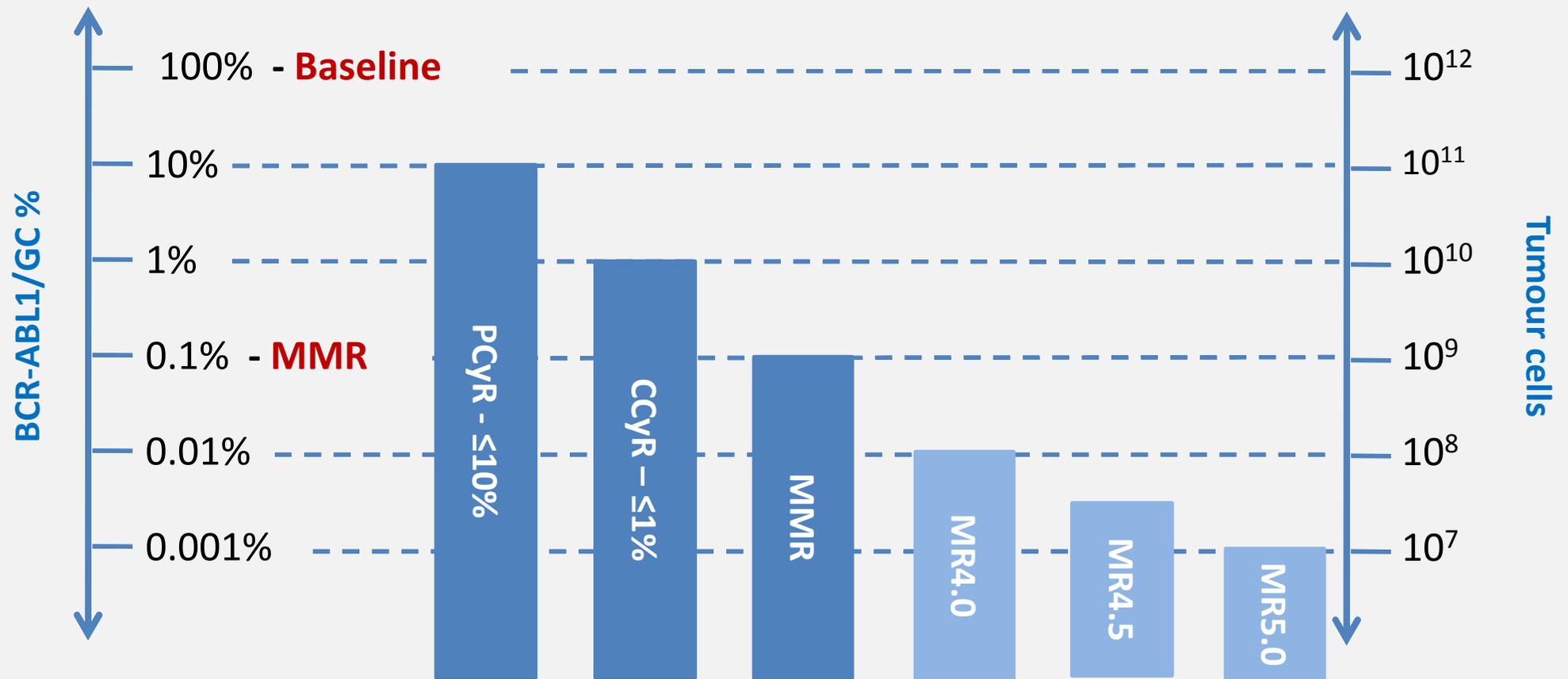
*Gabert J et al., Leukemia 17, 2318-57, 2003*

*Beillard et al., Leukemia 17, 2474-86, 2003*

# LMC : Alignement des méthodes sur IS



# International scale (IS)



Adapted from Hughes T. et al.; Blood 2006, 108:28-37 and Baccarani M, Blood 2013, 122:872-84

# IRIS : Résultats à 7 ans en fonction de la Réponse Moléculaire à 12 et 18 mois

	≤ 0,1%	0,1 – 1%	1 – 10%	> 10%	Total no MMR
<b>12 months</b>	n = 153	n = 90	n = 36	n = 25	n = 151
EFS rate %	91	92	64	53	79
w/o AP/BC %	99	96	83	76	90
OS rate %	93	97	86	66	89
<b>18 months</b>	n = 164	n = 48	n = 25	n = 16	n = 89
EFS rate %	95	86	62	58	75
w/o AP/BC %	99	96	83	82	90
OS rate %	95	96	84	81	90

*p < 0,001*

# IRIS : Résultats à 7 ans en fonction de la Réponse Moléculaire à 12 et 18 mois

	≤ 0,1%	0,1 – 1%	1 – 10%	> 10%	Total no MMR
<b>12 months</b>	n = 153	n = 90	n = 36	n = 25	n = 151
EFS rate %	91	92	64	53	79
w/o AP/BC %	99	96	83	76	90
OS rate %	93	97	86	66	89
<b>18 months</b>	n = 164	n = 48	n = 25	n = 16	n = 89
EFS rate %	95	86	62	58	75
w/o AP/BC %	99	96	83	82	90
OS rate %	95	96	84	81	90

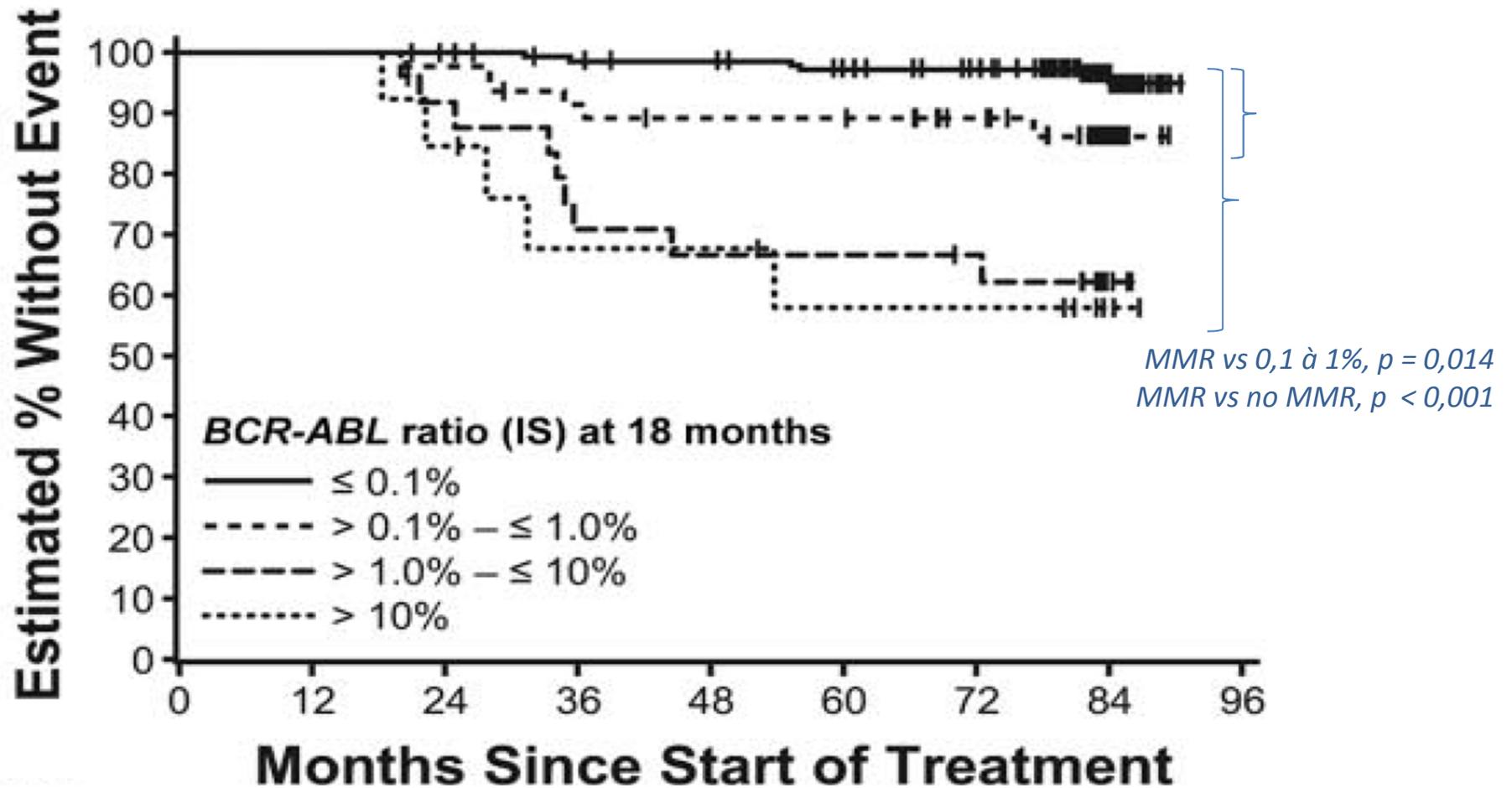
$p = NS$   
 $p = 0,014$

# IRIS : Résultats à 7 ans en fonction de la Réponse Moléculaire à 12 et 18 mois

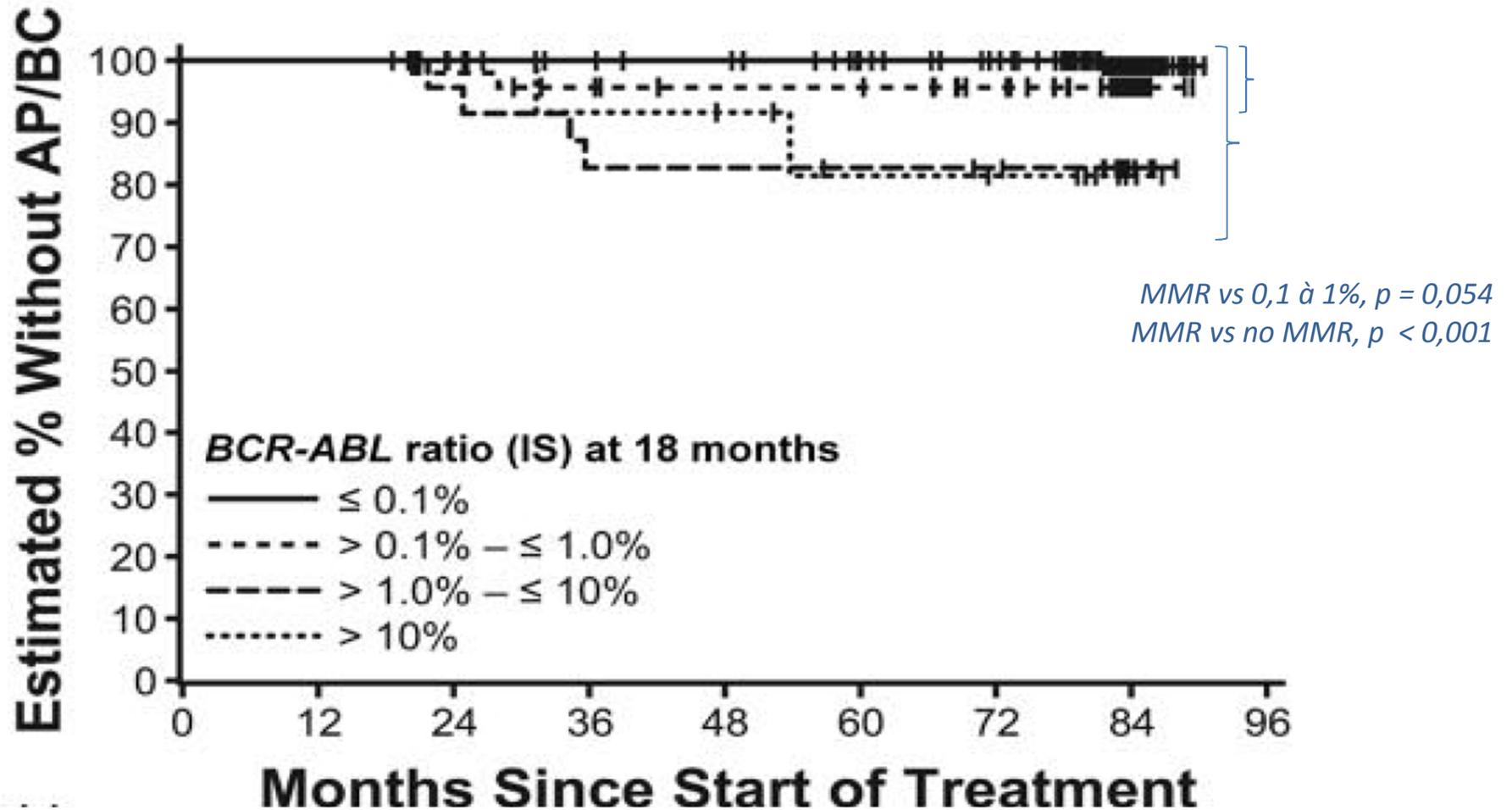
	≤ 0,1%	0,1 – 1%	1 – 10%	> 10%	Total no MMR
<b>12 months</b>	n = 153	n = 90	n = 36	n = 25	n = 151
EFS rate %	91	92	64	53	79
w/o AP/BC %	99	96	83	76	90
OS rate %	93	97	86	66	89
<b>18 months</b>	n = 164	n = 48	n = 25	n = 16	n = 89
EFS rate %	95	86	62	58	75
w/o AP/BC %	99	96	83	82	90
OS rate %	95	96	84	81	90

$p < 0,001$

# IRIS : EFS à 7 ans en fonction de la Réponse Moléculaire à 18 mois



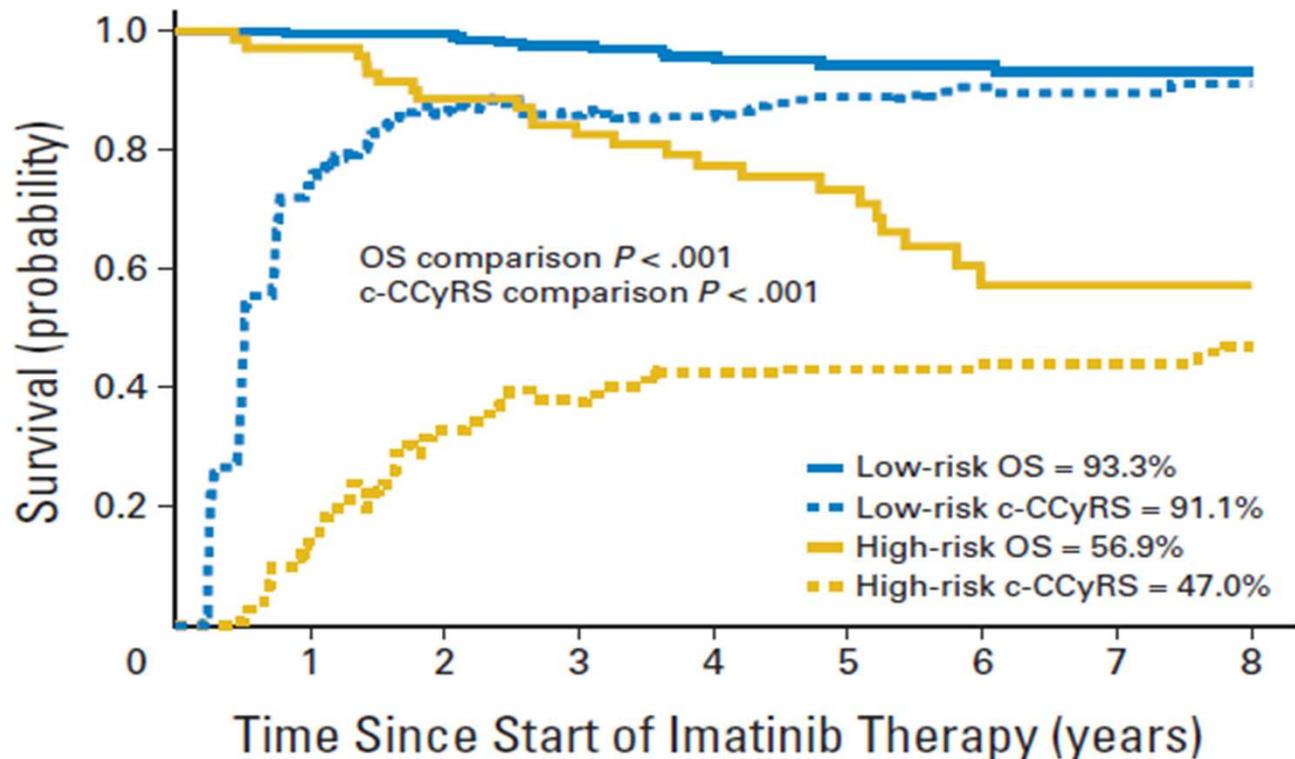
# IRIS : Taux de progression à 7 ans en fonction de la Réponse Moléculaire à 18 mois



# Résultats à 8 ans en fonction de la Réponse Moléculaire à 3 mois (Hammersmith)

	Cutoff %	≤ cutoff % (No of Pts)	> Cutoff % (No of Pts)
OS	9,84	93,3 (211)	56,9 (68)
PFS	9,84	92,8 (211)	55,5 (68)
EFS	9,84	65,1 (211)	6,9 (66)
CI-CCyR	9,84	97,9 (180)	14,8 (68)
CI-MMR	9,84	70,1 (210)	0 (68)
CI-CMR	9,84	19,3 (211)	0 (60)

# Survie globale et c-CCyRS à 8 ans en fonction de la réponse Moléculaire à 3 mois (Hammersmith)



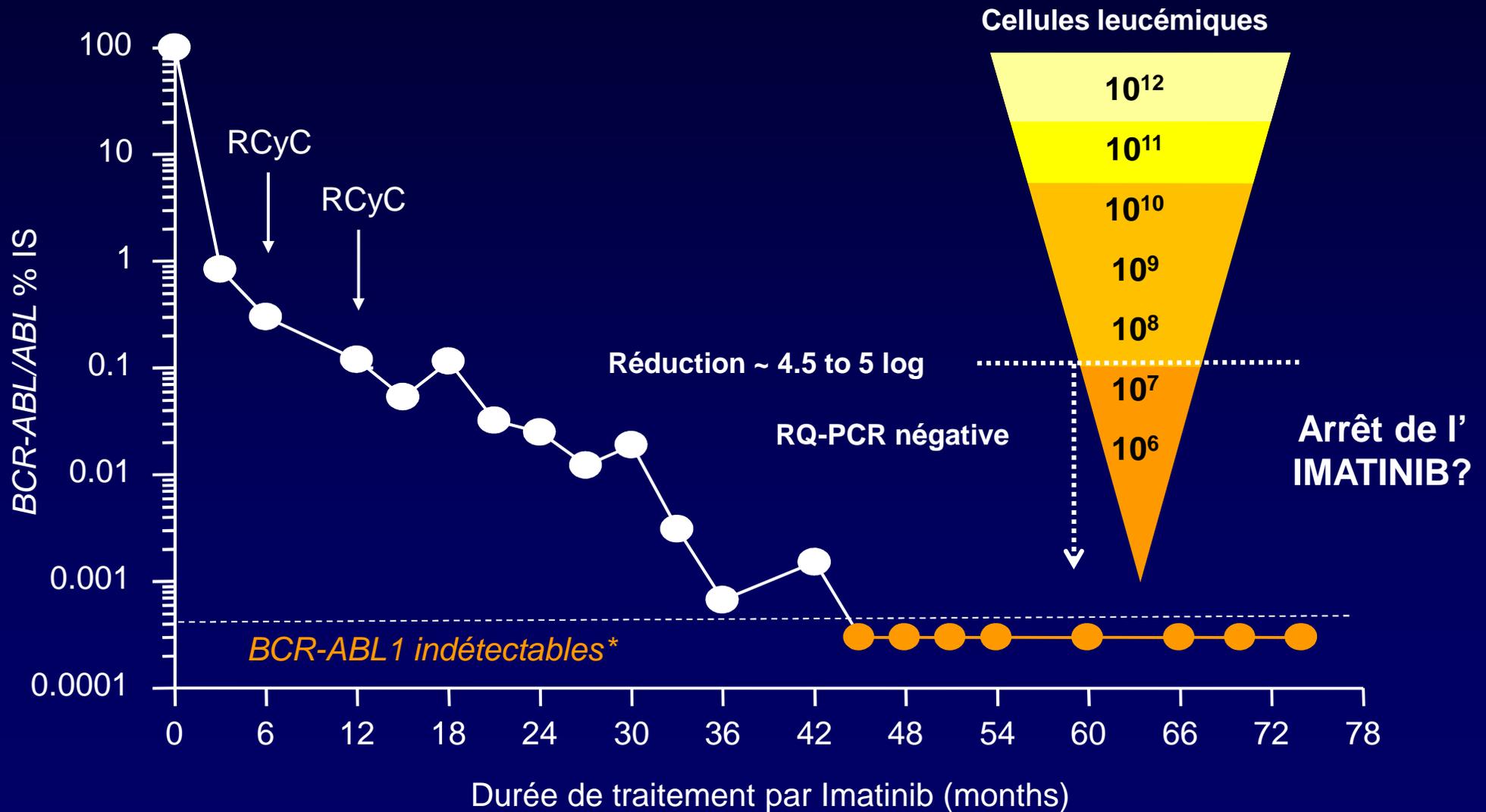
cutoff = 9,84%

# ELN 2013 : réponse au traitement de 1<sup>ère</sup> ligne

(Imatinib, Nilotinib et Dasatinib)

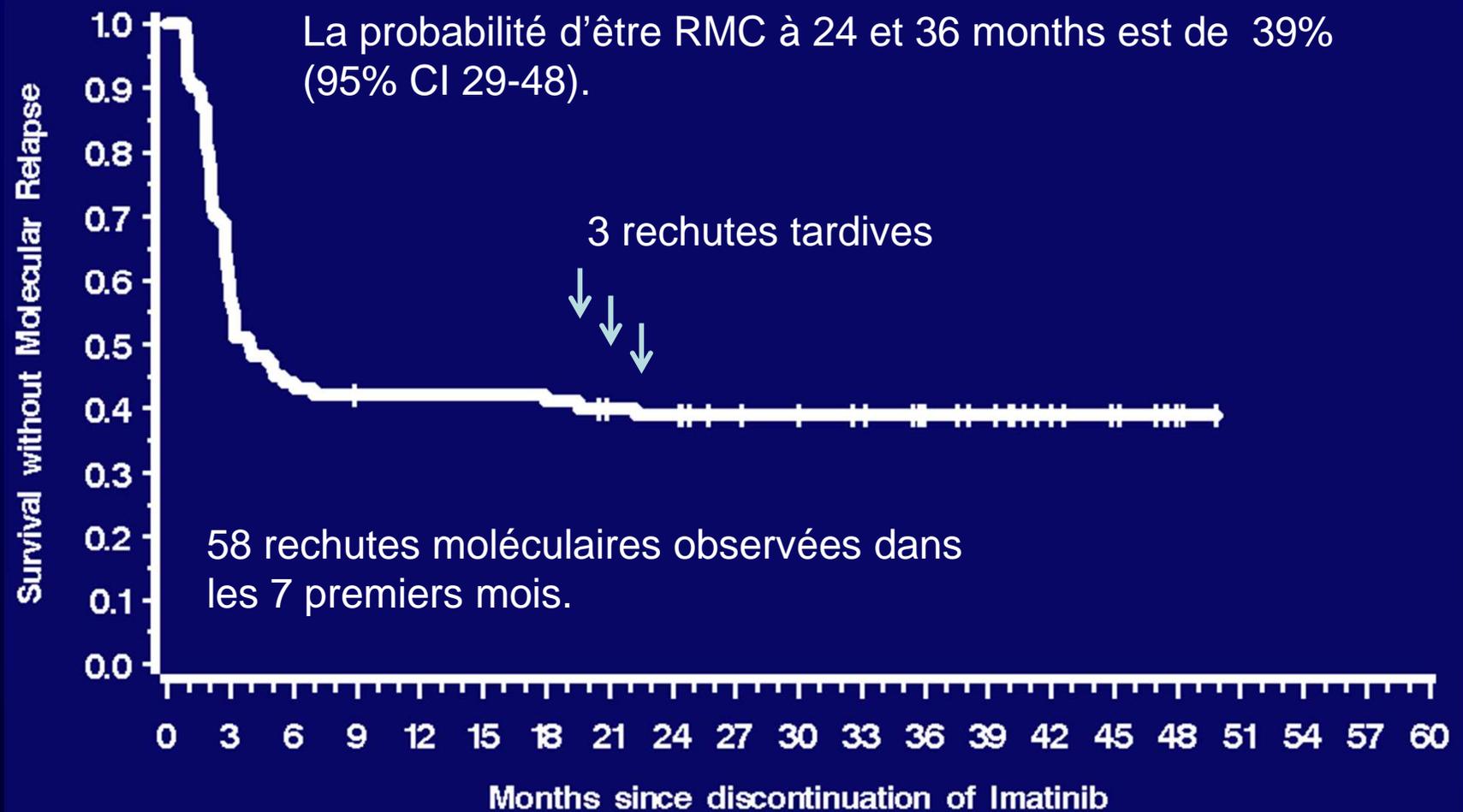
	Optimale	« warning »	Échec
<b>Diagnostic</b>	N.A.	Haut risque ACA/Ph+ majeures : <i>+8, i(17)(q10), +19, +der(22)</i>	N.A.
<b>3 mois</b>	RHC et RCyP (Ph+ ≤ 35%) ou <b>BCR-ABL ≤ 10%</b>	RHC et 35 < Ph+ ≤ 95% ou <b>BCR-ABL &gt; 10%</b>	Absence de RHC ou Ph+ > 95%
<b>6 mois</b>	RCyC (Ph+ = 0) ou <b>BCR-ABL ≤ 1%</b>	0 < Ph+ ≤ 35% ou <b>1% &lt; BCR-ABL ≤ 10%</b>	Ph+ > 35% ou <b>BCR-ABL &gt; 10%</b>
<b>12 mois</b>	<b>RMM (BCR-ABL ≤ 0,1%)</b>	<b>0,1% &lt; BCR-ABL ≤ 1%</b>	Ph+ > 0% ou <b>BCR-ABL &gt; 1%</b>
<b>Puis</b>	<b>RMM (BCR-ABL ≤ 0,1%)</b>	<b>0,1% &lt; BCR-ABL ≤ 1%</b>	<b>BCR-ABL &gt; 1%</b>

# Arrêt de traitement



\*RT-PCR avec au moins 32000 copies d'ABL1

# Etude STIM actualisée, survie sans rechute moléculaire n=100



# Conclusions

- La quantification de la MRD reflète la qualité de la réponse au traitement
- Valeur pronostique forte de la réponse initiale
  - Intégrateur de facteurs liés à l'hôte, à la leucémie, au traitement
- Adaptation thérapeutique
  - Intensification/désescalade
  - Switch
- Autres utilisations
  - Marqueur d'efficacité dans les essais thérapeutiques
  - Observance