



UNIVERSITE DE LILLE
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2018

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Etude du profil moléculaire des leucémies aiguës myéloïdes
dans la population adolescents et jeunes adultes (AJA, 15-25 ans)**

Présentée et soutenue publiquement le 5 juillet 2018 à 16 heures
au Pôle Recherche

Par Laurène FENWARTH

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Bruno QUESNEL

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Nicolas BOISSEL

Monsieur le Docteur Wadih ABOU CHAHLA

Directeur de Thèse :

Monsieur le Professeur Claude PREUDHOMME

AVERTISSEMENT

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-----------|
| TABLE DES ILLUSTRATIONS | 1 |
| LISTE DES ABREVIATIONS | 3 |
| RESUME | 5 |
| INTRODUCTION | 6 |
| A. Généralités..... | 6 |
| B. Epidémiologie..... | 6 |
| C. Présentation clinique | 7 |
| D. Diagnostic biologique | 9 |
| 1. Cytologie..... | 9 |
| 2. Immunophénotypage | 9 |
| 3. Cytogénétique conventionnelle et hybridation in situ en fluorescence | 10 |
| 4. Biologie moléculaire..... | 11 |
| 5. Facteurs pronostiques | 14 |
| E. Classification OMS 2016 | 17 |
| F. Traitement des LAM | 18 |
| G. Etat des lieux des LAM chez les AJA..... | 19 |
| OBJECTIFS | 22 |
| MATERIELS ET METHODES | 23 |
| A. Patients | 23 |
| 1. Protocole ELAM02..... | 23 |
| 2. Protocole ALFA-0702 | 26 |
| 3. Protocole CBF-2006 | 27 |
| B. Analyse du statut mutationnel des patients | 29 |
| 1. Préparation de la librairie Haloplex..... | 30 |
| 2. Préparation de la matrice de séquençage (amplification clonale)..... | 31 |
| 3. Séquençage par synthèse (SBS)..... | 32 |
| 4. Analyse des données | 32 |
| C. Analyses statistiques | 33 |
| RESULTATS | 34 |
| A. Caractéristiques de la population AJA..... | 34 |
| 1. Caractéristiques clinico-biologiques des AJA | 34 |
| 2. Caractéristiques cytogénétiques de la population AJA | 36 |

| | |
|---|-----------|
| 3. Profil moléculaire de la population AJA | 37 |
| 4. Stratification pronostique des AJA selon l'ELN | 40 |
| B. Comparaison des adolescents aux jeunes adultes | 41 |
| C. Comparaison des AJA à la population pédiatrique..... | 42 |
| 1. Caractéristiques clinico-biologiques..... | 42 |
| 2. Caractéristiques cytogénétiques..... | 43 |
| 3. Comparaison du profil mutationnel de la population pédiatrique aux AJA | 44 |
| DISCUSSION | 46 |
| CONCLUSION | 51 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 52 |
| ANNEXES | 60 |

TABLE DES ILLUSTRATIONS

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Classification des LAM selon FAB | 9 |
| Tableau 2 : Comparaison de la fréquence des anomalies cytogénétiques selon l'âge | 11 |
| Tableau 3 : Classification pronostique ELN 2017, d'après (17) | 16 |
| Tableau 4 : Classification des LAM selon l'OMS en 2016 (12) | 18 |
| Tableau 5 : Comparaison des caractéristiques des AJA selon les protocoles des traitements (pédiatrique vs. adultes)..... | 35 |
| Tableau 6 : Comparaison des caractéristiques clinico-biologiques entre la population pédiatrique et la population AJA | 43 |
| Tableau 7 : Comparaison du profil mutationnel entre les populations pédiatrique et AJA..... | 45 |
| | |
| Figure 1 : Taux d'incidence des LAM par tranche d'âge, d'après le registre des cancers du réseau Francim en France en 2012. | 7 |
| Figure 2 : Evolution des découvertes moléculaires dans les LAM au cours des dernières décennies. | 12 |
| Figure 3 : Classification fonctionnelle des mutations récurrentes dans les LAM. | 13 |
| Figure 4 : Schéma du protocole ELAM02..... | 25 |
| Figure 5 : Schéma de l'étude ALFA-0702..... | 27 |
| Figure 6 : Schéma du protocole CBF-2006 | 29 |
| Figure 7 : Préparation de la librairie par panel Haloplex™ | 31 |
| Figure 8 : Etude de la survie des AJA selon les protocoles de traitement | 35 |
| Figure 9 : Altérations cytogénétiques observées dans la population AJA. | 36 |
| Figure 10 : Profil génomique des LAM chez les AJA selon le groupe cytogénétique | 37 |
| Figure 11 : Fréquence des classes de gènes mutés dans la population AJA..... | 38 |
| Figure 12 : Fréquence des gènes mutés chez les AJA | 38 |
| Figure 13 : Fréquence des gènes mutés dans la population AJA selon le profil cytogénétique | 39 |
| Figure 14 : Survie globale des AJA selon la stratification pronostique de l'ELN. | 40 |
| Figure 15 : Survie globale des AJA selon le classifieur moléculaire pédiatrique. | 41 |
| | |
| Annexe 1 : Caractéristiques clinico-biologiques des patients AJA analysés en NGS | |

| | |
|---|----|
| en comparaison aux patients AJA n'ayant pas pu être analysés..... | 60 |
| Annexe 2 : Comparaison du profil mutationnel des AJA selon leur protocole de traitement..... | 61 |
| Annexe 3 : Caractéristiques clinico-biologiques des adolescents (15-19 ans) et des jeunes adultes (20-25 ans) | 62 |
| Annexe 4 : Comparaison du profil mutationnel des adolescents (15-19 ans) et des jeunes adultes (20-25 ans) | 63 |

LISTE DES ABREVIATIONS

AJA : adolescents et jeunes adultes

ALFA : *Acute Leukemia French Association*

CALGB : *Cancer and Leukemia Group B*

CBF : *Core Binding Factor*

CEBPAdm : double mutation de *CEBPA*

CEBPAsm : simple mutation de *CEBPA*

CIVD : coagulation intra-vasculaire disséminée

CIR : *Cumulative Incidence of Relapse*

CLARA : *clofarabine*

COG : *Children's Oncology Group*

CSH : cellules souches hématopoïétiques

dNTP : désoxyribonucléotide

ELN : *European LeukemiaNet*

ExAC : *Exome Aggregation Consortium*

FAB : Franco Américano Britannique

FDA : *Food and Drug Administration*

FILO : *French Innovative Leukemia Organization*

FISH : hybridation in situ en fluorescence

FLT3-TKD : fms-like tyrosine kinase 3 – tyrosine kinase domain mutation

FLT3-ITD : FLT3-internal tandem duplication mutation

GOELAMS : Groupe Ouest-Est d'études des Leucémies Aigües et autres Maladies du Sang

HDAC : *High Dose Aracytine*

IL2 : interleukine 2

KMT2A-PTD : KMT2A-Partial tandem duplication

LA : leucémie aiguë

LAL : leucémie aiguë lymphoblastique

LAM : leucémie aiguë myéloïde

LAP : leucémie aiguë promyélocytaire

MAPP : *Multivariate Analysis of Protein Polymorphism*

MPO : myéloperoxydase

MRD : *Minimal Residual Disease*

NCI : *National Cancer Institute*

NGS : *Next Generation Sequencing*

OMS : *Organisation Mondiale de la Santé*

OS : *Overall Survival*

PhD-SNP : *Predictor of human Deleterious Single Nucleotide Polymorphism*

RC : *rémission complète*

RC1 : *1ère rémission complète*

RCp : *rémission complète avec récupération plaquettaire incomplète*

RT-MLPA : *reverse transcriptase–Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*

RT-PCR : *reverse transcription polymerase chain reaction*

RT-qPCR : *reverse transcription quantitative polymerase chain reaction*

SFCE : *Société Française des Cancers de l'Enfant*

SIFT : *Sorting Intolerant From Tolerant*

SNAP : *Screening for Non-Acceptable Polymorphisms*

SNP-array : *Single Nucleotide Polymorphism Array*

RESUME

Contexte : Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) constituent un groupe hétérogène d'hémopathies malignes, dont l'incidence augmente avec l'âge. Les adolescents et jeunes adultes (AJA, 15-25 ans) constituent une population dont le profil mutationnel est mal caractérisé. L'objectif de cette étude était de définir le profil moléculaire de la population AJA.

Méthode : L'ensemble des AJA présentant une LAM de novo issus des protocoles ELAM02, CBF-2006 et ALFA-0702 ont été inclus. L'étude du profil mutationnel des AJA a été réalisée par technique de séquençage à haut débit sur des bibliothèques Haloplex™ (Agilent®) et/ou AmpliSeq™ (Thermo Fisher®).

Résultats : Un total de 140 patients a été inclus dans l'étude. Le nombre médian de mutations était de 2 par patient chez les AJA. Les mutations étaient présentes chez 84,3% des patients. Les mutations des gènes régulant les voies de signalisation étaient les plus fréquentes. En comparaison à la population pédiatrique (0-14,9 ans), les AJA avaient une charge mutationnelle plus importante ($p=0,014$). Les mutations des gènes *CEBPA*, *ASXL1*, *DNMT3A*, *KMT2A-PTD* *FLT3-ITD* ainsi que des gènes de la cohésine étaient plus fréquentes chez les AJA. La survie globale des AJA n'était pas influencée par le type de traitement (adulte vs pédiatrique) ($p=0,469$).

Conclusion : Les AJA présentent un profil cytogénétique et moléculaire s'inscrivant dans un continuum entre celui de la population pédiatrique et celui des adultes plus âgés. Les mutations sont plus fréquentes dans la population AJA, ce qui offre la possibilité de mieux stratifier cette population et ouvre la voie aux nouveaux traitements (inhibiteurs de *FLT3* notamment).

Mots-clés : Leucémie aiguë myéloïde – AJA – Séquençage NGS – Mutations

INTRODUCTION

A. Généralités

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) constituent un groupe hétérogène d'hémopathies malignes, caractérisées par une prolifération clonale de progéniteurs myéloïdes bloqués à un stade plus ou moins avancé de la différenciation. Ces progéniteurs, appelés blastes, altèrent l'hématopoïèse et conduisent à une insuffisance médullaire. Les LAM surviennent le plus souvent de novo (90%) (1,2), mais peuvent également être secondaires à l'évolution clonale de syndromes myélodysplasiques, de leucémies myélomonocytaires juvéniles, ou bien encore à des traitements antérieurs (chimiothérapie, radiothérapie). Certaines anomalies génétiques constitutionnelles représentent également des facteurs de risque de LAM (3,4).

B. Epidémiologie

La LAM constitue une affection rare, avec environ 2800 nouveaux cas par an, ce qui représente un taux d'incidence standardisé sur la population mondiale de 2,6/100 000 personnes-années chez l'homme et 2,3/100 000 personnes-années chez la femme en France en 2012, soit un sex-ratio de 1,1(5). L'incidence de la LAM est faible avant 40 ans puis augmente progressivement avec l'âge, avec un âge médian au diagnostic de 71 ans (Figure 1).

La population adolescents et jeunes adultes (AJA), définie par la tranche d'âge 15-25 ans en France, constitue une population à la frontière entre la pédiatrie et la population adulte. Chez les 15-24 ans, les LAM représentent près de 29% des

leucémies, soit 3 % de l'ensemble des cancers dans cette tranche d'âge (6). Le taux d'incidence standardisé des LAM chez les AJA en France entre 2000 et 2008 est de 7,7/million d'habitants par an, soit 72 nouveaux cas par an en France (6).

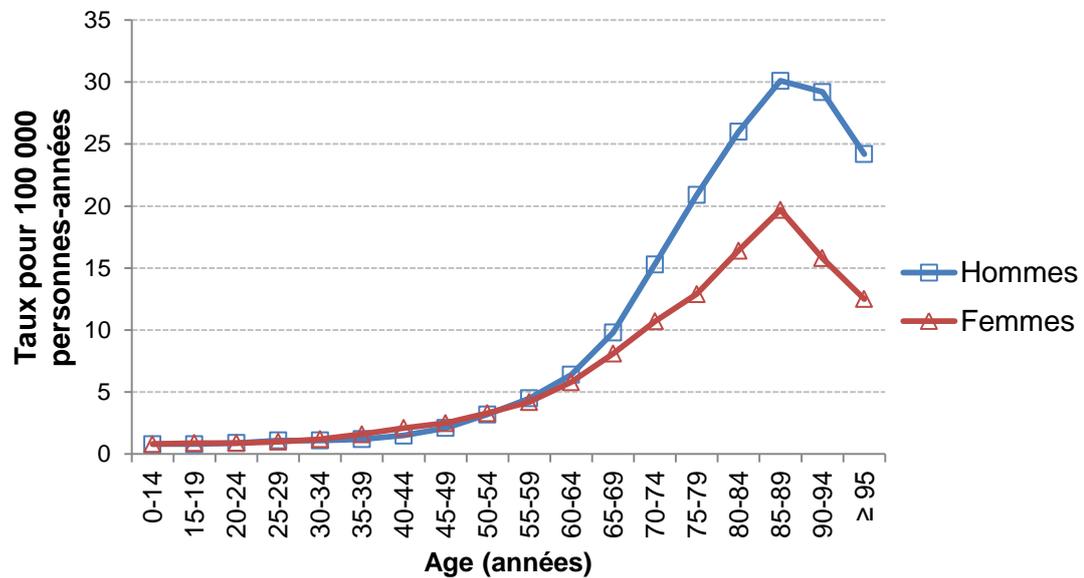


Figure 1 : Taux d'incidence des LAM par tranche d'âge, d'après le registre des cancers du réseau Francim en France en 2012 (5).

Le pronostic de la LAM à l'heure actuelle est sombre, avec une survie globale à 5 ans variant de 62,7% chez les moins de 15 ans (7) à 17,1% chez l'adulte (8), avec une taux intermédiaire de 52,2-55,2% chez les 15-24 ans (9) entre 2000 et 2007 en Europe. Au cours des dernières années, la survie globale a essentiellement été améliorée au sein des plus jeunes patients (10).

C. Présentation clinique

La présentation clinique des LAM est polymorphe, non spécifique et variable d'un patient à l'autre. Elle est directement en lien avec l'insuffisance médullaire et, la prolifération et l'accumulation des blastes dans les organes (11). La sémiologie des

LAM permet dans certains cas d'orienter vers un type de LAM en particulier, sans qu'aucun signe n'en soit pour autant pathognomonique.

L'insuffisance médullaire est fonction du degré des cytopénies, et se manifeste par un syndrome anémique, un syndrome hémorragique (thrombopénie, coagulation intra-vasculaire disséminée (CIVD)), et un syndrome infectieux (fièvre, infections à répétition...). Le syndrome hémorragique (CIVD) est plus volontiers rencontré dans les leucémies aiguës promyélocyaires.

Les signes cliniques d'infiltration tumorale sont variés, et peuvent être :

- le syndrome de leucostase, plus fréquent dans les leucémies aiguës à composante monocyttaire, où l'hyperleucocytose au diagnostic est souvent majeure

- des chloromes ou sarcomes granulocytaires (orientant plutôt vers une LAM de type 2 selon la classification Franco Américano Britannique (FAB))

- l'hypertrophie gingivale et les localisations cutanée sont plutôt évocatrices d'une LAM de type 5 selon la classification FAB

- les douleurs osseuses, la splénomégalie l'hépatomégalie et les adénopathies.

Le syndrome de leucostase est lié à l'hyperviscosité sanguine par prolifération massive des blastes, et au passage de ceux-ci dans la circulation sanguine. Dans un deuxième temps, les blastes vont migrer dans les espaces périvasculaires. Les cellules leucémiques vont libérer des facteurs solubles qui vont interagir avec l'endothélium vasculaire et créer des lésions au niveau des micro-vaisseaux. Le syndrome de leucostase peut se manifester au niveau cérébral par des troubles de la vigilance, coma, convulsions, au niveau pulmonaire par une dyspnée voire un syndrome de détresse respiratoire aiguë, et enfin, au niveau hépatique par une

cytolyse, voire une insuffisance hépatocellulaire. Il s'agit d'un signe clinique de gravité qui peut mettre en jeu le pronostic à court terme.

Les signes de syndrome tumoral sont beaucoup moins fréquents que dans les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL).

D. Diagnostic biologique

1. Cytologie

Le diagnostic de leucémie aiguë repose sur l'examen cytologique, mettant en évidence au moins 20% de blastes dans le sang périphérique ou dans la moelle osseuse, excepté pour les LAM avec t(15 ;17), inv(16) ou t(16 ;16) ou t(8 ;21) (12,13) où la seule présence de l'anomalie cytogénétique pose le diagnostic. La classification morphologique des LAM selon FAB décrite ci-après (Tableau 1, d'après (14)) repose sur le phénotype des blastes (indifférenciés, myéloïdes, monoblastiques, érythroblastiques ou mégacaryoblastiques) (14,15).

Tableau 1 : Classification des LAM selon FAB

| Sous-type FAB de LAM | Description |
|-----------------------------|---|
| LAM 0 | Indifférenciée |
| LAM 1 | Myéloblastique sans différenciation |
| LAM 2 | Myéloblastique avec différenciation |
| LAM 3 | Promyélocytaire |
| LAM 4 | Myélomonocytaire |
| LAM 4 Eo | Myélomonocytaire avec éosinophilie |
| LAM 5 | Monoblastique (M5a : sans différenciation, M5b : avec différenciation) |
| LAM 6 | Erythroblastique |
| LAM 7 | Mégacaryoblastique |

2. Immunophénotypage

L'immunophénotypage met en évidence des marqueurs spécifiques de la lignée myéloïde (myéloperoxydase (MPO), CD13, CD33, CD117...) (16,17). Cet examen est nécessaire pour classer les LAM 0 (positivité des marqueurs myéloïdes : MPO,

CD13, CD33 et CD117) ainsi que les LAM7 (positivité des marqueurs plaquettaires : CD41 et CD61).

3. Cytogénétique conventionnelle et hybridation in situ en fluorescence

La cytogénétique conventionnelle est un examen indispensable au diagnostic de LAM, permettant de détecter les réarrangements chromosomiques numériques ainsi que les inversions et translocations équilibrées. Les anomalies en cytogénétique conventionnelle sont particulièrement fréquentes chez l'enfant (70-80%) (18,19), tandis que près de 50% des LAM de l'adulte ont un caryotype normal. L'hybridation in situ en fluorescence (FISH) identifie certains réarrangements non vus en cytogénétique conventionnelle (perte de matériel chromosomique, translocations cryptiques par exemple). La fréquence et le type d'anomalies en cytogénétique conventionnelle varient entre la population pédiatrique et la population adulte (20,21) (Tableau 2, d'après (12,20)).

Tableau 2 : Comparaison de la fréquence des anomalies cytogénétiques selon l'âge, d'après (12,20)

| Translocations | Fusions de gènes | Fréquence | | Groupe d'âge |
|---------------------------------------|-----------------------------|------------------|-------------------|---|
| | | Enfant (< 18ans) | Adulte (18-60ans) | |
| t(8;21)(q22;q22) | <i>RUNX1-RUNX1T1</i> | 12-14% | 8% | |
| inv(16)(p13.1q22) | <i>CBFβ-MYH11</i> | 8% | 5% | |
| t(15;17)(q22;q21) | <i>PML-RARA</i> | 6-10% | 5-10% | |
| 11q23.3 | <i>KMT2A</i> réarrangé | 25% | 5-10% | Nourrissons 50% |
| t(9;11)(p21.3;q23.3) | <i>KMT2A-MLLT3</i> | 9,50% | 2% | Enfants |
| t(10;11)(p12;q23.3) | <i>KMT2A-MLLT10</i> | 3,50% | 1% | Enfants |
| t(6;11)(q27;q23.3) | <i>KMT2A-MLLT4</i> | 2% | <0,5% | Enfants |
| t(1;11)(q21;q23.3) | <i>KMT2A-MLLT11</i> | 1% | <0,5% | Enfants |
| t(5;11)(q35.3;p15.5) | <i>NUP98-NSD1</i> | 7% | 3% | Enfants plus âgés, jeunes adultes |
| inv(16)(p13.3q24.3) | <i>CBFA2T3-GLIS2</i> | 3% | 0% | 10% chez les nourrissons |
| t(11;12)(p15.5;p13.5) | <i>NUP98-KDM5A</i> | 3% | 0% | Enfants < 5ans, 10% des LAM7-FAB |
| t(1;22)(p13.3;q13.1) | <i>RBM15(OTT)-MKL1(MAL)</i> | 0,80% | 0% | Nourrissons |
| t(7;12)(q36.3;p13.2) | <i>MX1-ETV6</i> | 0,80% | <0,5% | Nourrissons |
| t(8;16)(p11.2;p13.3) | <i>KAT6A-CREBBP</i> | 0,50% | <0,5% | Nourrissons et enfants |
| t(6;9)(p23;q34.1) | <i>DEK-NUP214</i> | 1,70% | 1% | Enfants plus âgés; rares chez nourrissons |
| inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2) | <i>RPN1-EVI1</i> | <1% | 1% | |

4. Biologie moléculaire

La LAM résulte de différentes altérations génétiques : réarrangements, délétions, amplifications, perte d'hétérozygotie ou mutations ponctuelles, affectant la prolifération, la différenciation ou la survie cellulaire. Le modèle de leucémogénèse a initialement été décrit comme la coopération entre une altération conférant un avantage prolifératif (événement de classe I) et une altération induisant un blocage de différenciation cellulaire (événement de classe II) (22). Au cours des dernières années, le développement des techniques de biologie moléculaire, avec notamment l'arrivée des approches moléculaires pangénomiques telles que le séquençage de l'exome ou du génome entier, ont permis d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans les LAM (23,24) (Figure 2, d'après (25)).

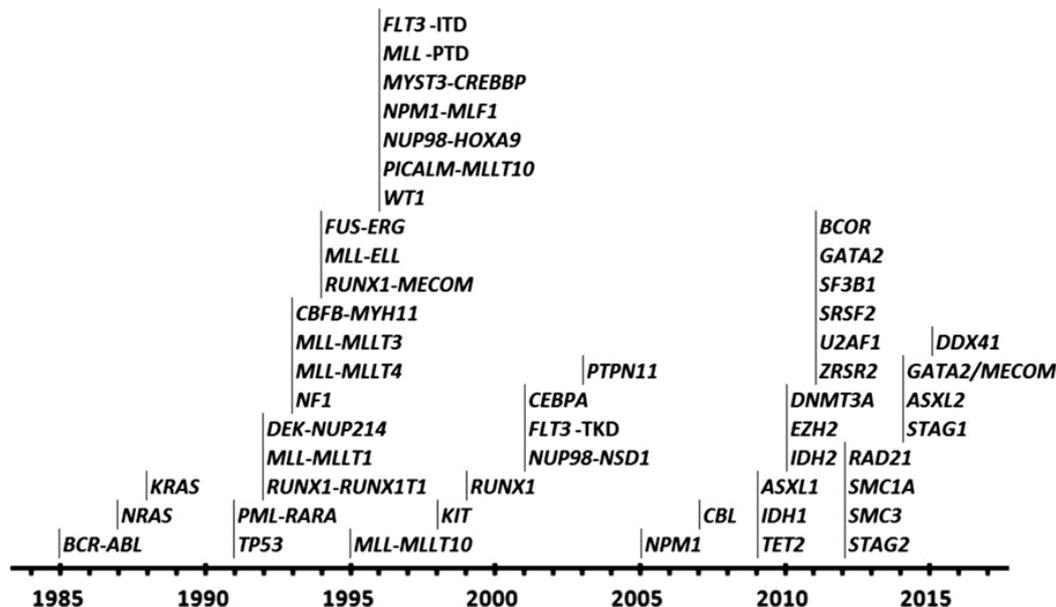


Figure 2 : Evolution des découvertes moléculaires dans les LAM au cours des dernières décennies, d'après (25).

Ainsi, le modèle de leucémogénèse a été révisé à la lumière des découvertes en biologie moléculaire, qui ont permis de mieux préciser la complexité de la leucémogénèse et de mieux caractériser l'hétérogénéité et l'évolution clonale des LAM (23,26).

A l'heure actuelle, les altérations génétiques sont classées en 8 classes fonctionnelles (Figure 3, d'après (27)).

Les mutations dans les gènes codant pour des protéines des voies de signalisation (*FLT3*, *KIT*, *NRAS*, *KRAS*, *PTPN11*, *JAK2*) confèrent un avantage sur la survie cellulaire. Les mutations ou les réarrangements des gènes codant pour des facteurs de transcription myéloïdes (*RUNX1*, *CEBPA*, *RUNX1-RUNX1T1*,...) entraînent un blocage de la différenciation hématopoïétique. Le gène *NPM1* ou nucléophosmine code pour une protéine nucléocytoplasmique multifonctionnelle, dont les mutations altèrent le transport nucléo-cytoplasmique et ses fonctions

nucléolaires (régulation transcriptionnelle notamment). Des mutations dans les gènes régulant la méthylation de l'ADN sont également décrites (*DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2*). Les mutations des gènes modulant le remodelage chromatinien (*ASXL1*, *EZH2*, *KMT2A*) sont responsables de perturbation des modifications post-traductionnelles. Les mutations des gènes du spliceosome (*SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*, *ZRSR2*) altèrent le processus d'épissage des ARN pré-messagers. Les mutations dans les gènes du complexe de la cohésine (*STAG2*, *RAD21*, *SMC1A*, *SMC3*) altèrent la ségrégation des chromosomes lors de la division cellulaire et la régulation transcriptionnelle. Les mutations des suppresseurs de tumeur (tels que TP53) dérèglent la voie de signalisation des dommages de l'ADN.

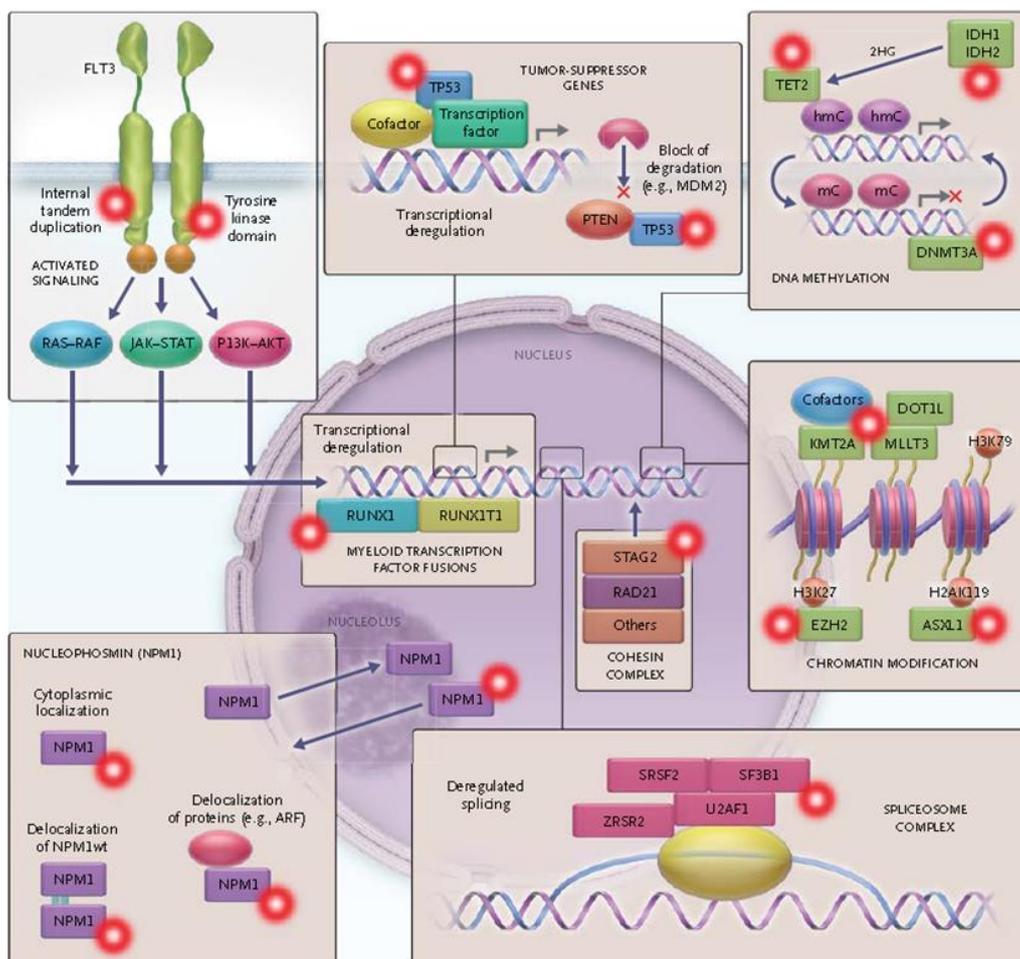


Figure 3 : Classification fonctionnelle des mutations récurrentes dans les LAM, d'après Döhner (27).

Les mutations sont plus fréquentes dans la population adulte que dans la population pédiatrique soulignant une hétérogénéité de la biologie entre ces deux populations (18).

L'analyse moléculaire réalisée en routine au diagnostic de LAM concerne les gènes dont l'impact pronostique a été démontré (afin d'adapter le traitement), ou accessibles aux thérapies ciblées (28).

Les recommandations concernant les analyses moléculaires sont différentes selon l'âge :

- chez l'adulte, il est recommandé de rechercher les mutations de *NPM1*, *CEBPA*, *FLT3-ITD*, *TP53* et *ASXL1* (17),
- dans la population pédiatrique, l'analyse moléculaire doit évaluer le profil mutationnel de *NPM1*, *FLT3-ITD*, *WT1*, *C-KIT*, et *CEBPA* (20,29).

La congélation d'ADN et d'ARN au diagnostic et aux différents points de suivi ainsi que de matériel constitutionnel (fibroblastes de peau par exemple) est recommandée après recueil du consentement des patients, ou dans le cas de la pédiatrie, des titulaires de l'autorité parentale (20). Ce biobanking a pour objectif d'aider à la recherche translationnelle ultérieure afin d'identifier de nouveaux biomarqueurs ou de valider de nouvelles méthodes de suivi de la maladie résiduelle (*Minimal Residual Disease – MRD*).

5. Facteurs pronostiques

Les facteurs pronostiques identifiés dans les LAM dépendent surtout du profil cytogénétique et moléculaire de la LAM (29–32), mais également du patient et de la réponse au traitement.

a. Liés au patient

L'âge du patient constitue un facteur indépendant de mauvais pronostic dans les LAM (33–35). Plus l'âge au diagnostic est élevé et plus le pronostic de la LAM est sombre. Ceci est lié aux altérations génétiques spécifiques liées à l'âge. Cependant le facteur « âge » est modulé par l'état général du patient et les comorbidités au diagnostic de LAM qui impactent directement la tolérance et la réponse au traitement (17). Toutefois dans les populations les plus jeunes (< 21 ans), l'âge ne constitue pas un facteur pronostic indépendant en analyse multivariée (33).

b. Liés aux altérations cytogénétiques

Les altérations cytogénétiques constituent des marqueurs pronostiques aussi bien chez l'adulte qu'en pédiatrie. Ainsi les LAM à *Core-Binding Factor* (CBF) (t(8;21), t(16;16), et inv(16)) ainsi que les t(15;17) constituent des facteurs de bon pronostic. La translocation t(1;11)/*KMT2A-MLLT11* observée chez l'enfant, est un facteur de bon pronostic dans cette population (36). Toutefois le pronostic des autres réarrangements impliquant *KMT2A (MLL)* est hétérogène (36,37).

La monosomie 7 et les translocations t(6;11)(q27;q23)/(*MLL-MLLT4*), et t(6;9)(p23;q34)/*DEK-NUP214*, confèrent un pronostic défavorable. Les translocations t(10;11)(p12;q23)/*MLL-MLLT10*, t(7;12)(q36;p13)/*ETV6-HLBX9*, et t(5;11) (q35;p15.5)/*NUP98-NSD1* sont des facteurs de mauvais pronostic dans la population pédiatrique. La translocation t(9;22)(q34.1;q11.2)/*BCR-ABL1*, la délétion 5q/monosomie 5 et 17p restent l'apanage de la population adulte chez qui elles confèrent un pronostic défavorable (38). La monosomie 5/délétion 5q, l'inversion/t(3;3) (q21.3;q26.2); *GATA2-MECOM (EVI1)* sont également des facteurs de mauvais pronostic chez l'adulte (17). Enfin, les caryotypes complexes, dont le

pronostic est très défavorable chez l'adulte (38), ont un impact pronostique plus discuté dans la population pédiatrique (39,40).

c. Liés à la biologie moléculaire

Chez l'adulte, la classification ELN (*European LeukemiaNet*) révisée en 2017 a permis de stratifier les LAM en différents sous-groupes en intégrant les altérations observées en cytogénétique et en biologie moléculaire. Les mutations de *NPM1* et les double-mutations de *CEBPA* (*CEBPAdm*) sont de bon pronostic (41,42), tandis que les mutations de *FLT3-ITD* avec ratio allélique bas (strictement inférieur à 0,5) sont de pronostic intermédiaire, et les mutations de *FLT3-ITD* avec ratio allélique élevé sont de mauvais pronostic. Par ailleurs, les mutations de *RUNX1* (43), d'*ASXL1* (44) et de *TP53* (31) sont intégrées dans le groupe défavorable de cette classification (Tableau 3, d'après (17)). En pédiatrie, il n'existe pas de classification pronostique consensuelle à l'heure actuelle.

Tableau 3 : Classification pronostique ELN 2017, d'après (17)

| Pronostic | Altérations génétiques et cytogénétiques |
|----------------------|---|
| Favorable | t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> Mutation de <i>NPM1</i> sans <i>FLT3-ITD</i> ou avec ratio allélique de <i>FLT3-ITD</i> bas (<0,5) Mutations bialléliques de <i>CEBPA</i> |
| Intermédiaire | Mutation de <i>NPM1</i> et <i>FLT3-ITD</i> avec ratio allélique élevé Absence de <i>FLT3-ITD</i> ou <i>FLT3-ITD</i> avec ratio allélique bas sans mutation de <i>NPM1</i> (sans altération génétique de mauvais pronostic) t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i> Anomalies cytogénétiques non classées favorables ni de mauvais pronostic |
| Défavorable | t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> t(v;11q23.3); réarrangement de <i>KMT2A</i> t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2-MECOM (EVI1)</i> -5 ou del(5q); -7; -17/abn(17p) Caryotype complexe ou présence d'une monosomie sur le caryotype <i>FLT3-ITD</i> avec ratio allélique élevé sans mutation de <i>NPM1</i> Mutation de <i>RUNX1</i> , <i>ASXL1</i> ou <i>TP53</i> |

d. Liés à la réponse au traitement

La réponse au traitement est évaluée à différents temps du traitement (après induction, consolidation...) et constitue un facteur pronostique indépendant majeur (45,46). L'évaluation de la MRD s'effectue le plus souvent en cytométrie en flux mais peut être réalisée en RT-qPCR (*reverse transcription quantitative polymerase chain reaction*), selon les anomalies présentes initialement. Le suivi de la MRD permet d'évaluer la cinétique de réponse au traitement le cas échéant, et de détecter précocement les rechutes. De même que les caractéristiques cytogénétiques et moléculaires, la MRD participe à la stratification thérapeutique des patients.

E. Classification OMS 2016

La classification actuelle des LAM est celle révisée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) en 2016 (Tableau 4). A l'instar de la classification FAB, elle intègre les éléments morphologiques, cytochimiques et immunohistochimiques permettant d'identifier la lignée et le degré de maturation des cellules tumorales (12,47). A la différence de la classification FAB, elle inclut des données cytogénétiques et moléculaires, la notion de myélodysplasie sous-jacente ou de traitement antérieur, ou d'un syndrome de prédisposition sous-jacent.

Tableau 4 : Classification des LAM selon l'OMS en 2016 (12)

| |
|---|
| LAM avec anomalies génétiques récurrentes |
| LAM avec t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> |
| LAM avec inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> |
| LAP avec <i>PML-RARA</i> |
| LAM avec t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i> |
| LAM avec t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> |
| LAM avec inv(3)(q21.3q26.2) ou t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM</i> |
| LAM (mégacaryoblastique) avec t(1;22)(p13.3;q13.3); <i>RBM15-MKL1</i> |
| Entité provisoire: LAM avec <i>BCR-ABL1</i> |
| LAM avec mutation <i>NPM1</i> |
| LAM avec mutation biallélique <i>CEBPA</i> |
| Entité provisoire: LAM avec mutation <i>RUNX1</i> |
| LAM avec anomalies associées aux myélodysplasies |
| Néoplasies myéloïdes post-chimiothérapie |
| LAM, sans autre spécification par ailleurs |
| LAM avec différenciation minimale |
| LAM sans maturation |
| LAM avec maturation |
| Leucémie aiguë myélomonocytaire |
| Leucémie aiguë monoblastique/monocytaire |
| Leucémie érythroïde pure |
| Leucémie aiguë mégacaryoblastique |
| Leucémie aiguë à composante basophile |
| LA avec myélofibrose |
| Sarcomes myéloïdes |
| Proliférations myéloïdes liés au syndrome de Down |
| Prolifération myéloïde transitoire |
| Leucémies myéloïdes associées au syndrome de Down |

LAP : Leucémie aiguë promyélocytaire, LA : Leucémie aiguë

F. Traitement des LAM

Au cours des dernières années, il a été observé une augmentation de la survie de la population pédiatrique et des jeunes adultes liée à l'intensification de la chimiothérapie et l'amélioration des soins de support (48,49).

Le traitement des LAM repose sur une ou deux cures d'induction intensive comprenant 3 jours d'anthracyclines (daunorubicine, idarubicine, mitoxantrone, seuls ou en association) et 7 jours de cytarabine, régime connu sous le nom de « 3+7 ». Chez l'adulte, ce régime d'induction n'est proposé que chez les individus « fit » (avec

un performans status correct et sans comorbidité majeure). Le traitement d'induction permet l'obtention d'une rémission complète (RC) chez plus de 85% des enfants (20) et 60-80% des adultes âgés de moins de 60 ans (17). Le traitement de consolidation comporte 2 à 5 cures de cytarabine haute-dose aussi bien chez l'enfant que l'adulte « fit » (17,20,27). L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) est indiquée chez les patients de groupe de haut-risque ou en 2^{ème} rémission complète tandis que son indication est encore discutée pour les autres groupes pronostiques. La prophylaxie du système nerveux est systématique en pédiatrie et repose sur des injections intra-thécales de cytarabine, de methotrexate, seuls ou en association avec des corticostéroïdes. A ce jour, l'efficacité des nouvelles thérapies est plus largement évaluée dans la population adulte. Ainsi, les inhibiteurs de FLT3 ont reçu l'approbation de la FDA (*Food and Drug Administration*) en traitement de première ligne des LAM des adultes présentant une mutation du gène *FLT3* (*fms-like tyrosine kinase-3*) dans le domaine tyrosine kinase (*FLT3-TKD*, *FLT3-tyrosine kinase domain mutation*) ou une mutation de type duplication en tandem (*FLT3-ITD*, *FLT3-internal tandem duplication*) (50). L'évaluation de l'efficacité de ces inhibiteurs est en cours d'évaluation dans la population pédiatrique (51).

G. Etat des lieux des LAM chez les AJA

La population adolescents et jeunes adultes est une population à la frontière entre la population pédiatrique et la population adultes. Si les limites d'âge des adolescents semble similaire sur le plan international (15-19 ans), la limite d'âge supérieure chez les jeunes adultes est moins consensuelle (52). En Europe, cette limite est fixée à 24 ans dans le groupe de travail EURO CARE (53), tandis qu'aux Etats-Unis, l'Institut National du Cancer (NCI – *National Cancer Institute*) cette

population s'étend jusqu'à l'âge de 39 ans (54). En France, la définition des jeunes adultes suit la tendance européenne en définissant les adultes jeunes selon la tranche d'âge 20-25 ans. Cette population s'est distinguée au cours des dernières années en raison de ses caractéristiques propres (55).

La population AJA représente une population avec des enjeux spécifiques : psychosociaux, socio-économique, de préservation de la fertilité, et de toxicité. Les toxicités liées au traitement sont plus nombreuses et plus sévères chez les AJA en comparaison aux enfants. Les modifications physiologiques liées à la puberté et les modifications du métabolisme des médicaments (56) pourraient expliquer l'incidence plus élevée des toxicités liées au traitement dans cette population (57).

La spécificité des AJA réside également dans l'hétérogénéité de leur prise en charge, qui peut être réalisée dans les services pédiatriques ou adultes, l'accès aux soins, et leur faible inclusion dans les essais cliniques en comparaison aux populations pédiatrique et adulte (58). Peu de structures répondent aux spécificités psychiques et sociales (59) de cette population, mais celles-ci tendent à se développer depuis ces dernières années. Si la couverture sociale en France permet une couverture quasi intégrale des frais liés à la prise en charge de la maladie, il n'en est pas de même dans tous les autres pays. Ainsi aux Etats-Unis, on estime que près de la moitié des jeunes adultes ne souscrivent pas d'assurance ou sont insuffisamment assurés, expliquant le retard au diagnostic et aux soins (58,60). D'autre part, le retard au diagnostic peut également être lié à une banalisation des signes physiques de la maladie. La compliance au traitement est similaire entre les AJA et les enfants. Cela est lié au fait que le traitement se déroule essentiellement à l'hôpital ; cependant en cas de traitement d'entretien, tel que cela est réalisé en Allemagne, l'observance du traitement de chimiothérapie orale pourrait être plus

faible chez les AJA que dans la population pédiatrique, tel qu'observé dans les LAL (61). La population AJA est peu étudiée dans les essais cliniques en comparaison aux patients plus jeunes ou plus âgés (58,62,63). Aux Etats-Unis, on estime que moins de 5% des AJA ont été inclus dans les essais cliniques récents (1997-2005), en partie lié au fait qu'ils n'ont pas été adressés dans les centres participants à ces essais (64). Les taux d'inclusion des AJA sont plus élevés en Europe car les AJA sont inclus dans les protocoles nationaux. Cependant les résultats de ces études ne distinguent pas la population AJA des adultes plus âgés, donc les données relatives à cette population sont limitées (65).

OBJECTIFS

Les LAM constituent des hémopathies hétérogènes tant sur le plan cytogénétique que moléculaire et ces disparités semblent corrélées à l'âge (20,21,66). Au cours des dernières années, le développement des techniques de biologie moléculaire de haute résolution et notamment du séquençage à haut débit (*Next Generation Sequencing* – NGS) a permis de mieux apprécier le profil moléculaire des LAM de l'adulte. Les études du profil moléculaire des LAM pédiatriques sont toutefois moins nombreuses. Bien que la population pédiatrique partage certaines caractéristiques moléculaires avec la population adulte, il a été récemment rapporté certaines caractéristiques distinctes de la population adulte, avec notamment moins de mutations dans les gènes impliqués dans régulation épigénétique (67).

D'autre part, l'identification des altérations moléculaires revêt d'un intérêt majeur sur le plan pronostique (17,30,31,68) et a permis de moduler la prise en charge thérapeutique des patients, non seulement en adaptant le type de traitement aux altérations cytogénétiques et moléculaires identifiées mais également par l'introduction de thérapies ciblées (inhibiteur de FLT3, inhibiteurs d'IDH) le cas échéant (17,69).

L'objectif principal de ce travail était de caractériser le profil cytogénétique et moléculaire des LAM chez les AJA. Les objectifs secondaires étaient l'étude de l'impact du type de traitement (pédiatrique vs adulte) sur la survie des AJA, et la comparaison du profil moléculaire des AJA à la population pédiatrique.

MATERIELS ET METHODES

A. Patients

L'analyse des données cliniques, cytogénétiques et de biologie moléculaire des patients a été réalisée sur l'ensemble des patients âgés de 15 à 25 ans issus des bases ELAM02, ALFA-0702 et CBF-2006.

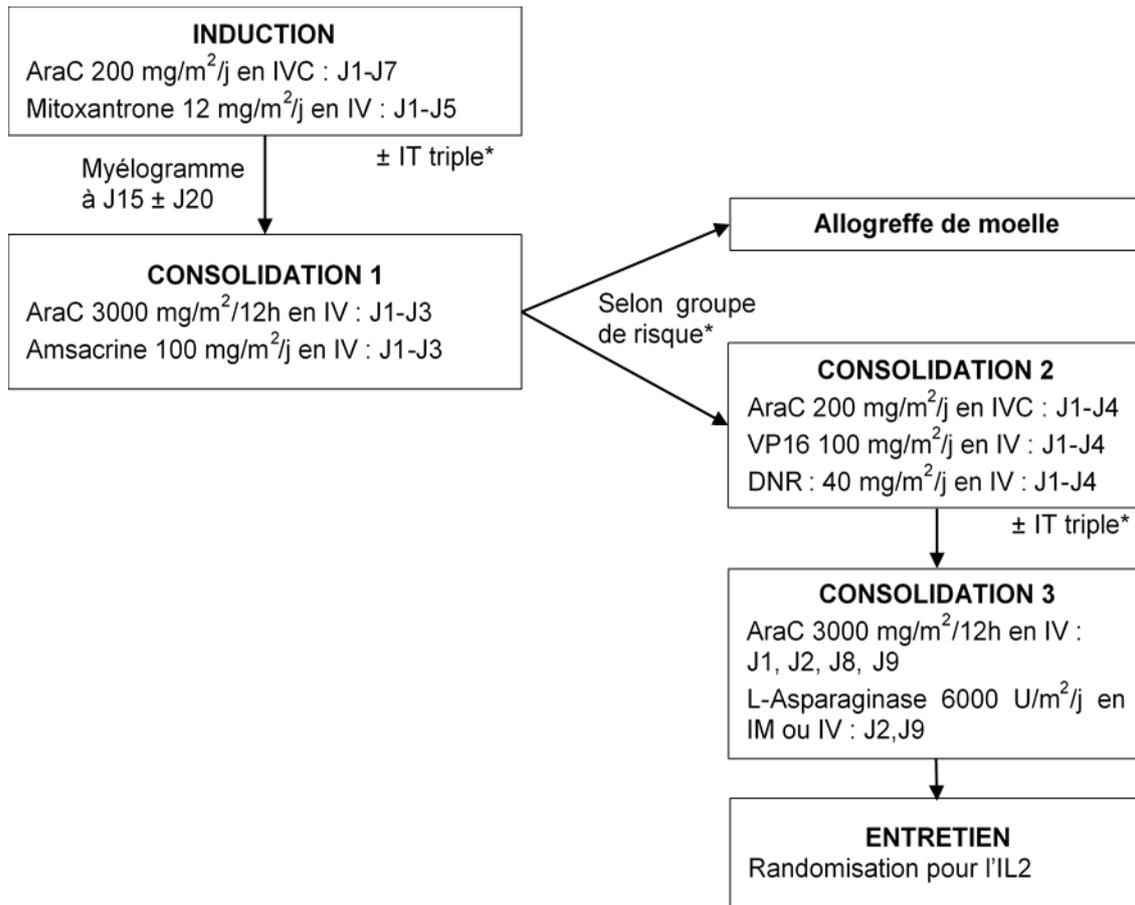
1. Protocole ELAM02

Le protocole ELAM02 (*ClinicalTrials.gov ID #NCT00149162*) est un essai contrôlé de phase III, prospectif, évaluant de façon randomisée l'intérêt sur la survie sans rechute d'un traitement d'entretien par de l'Interleukine 2 (Proleukine®) chez les patients non allogreffés en RC à l'issue d'une prise en charge thérapeutique habituelle dans le cadre des LAM (Figure 4). Il s'agit d'une étude internationale, multicentrique, menée dans 28 centres en France et soutenue par la Société Française des Cancers de l'Enfant (SFCE). Cet essai – mené entre mars 2005 et décembre 2011 – incluait les patients âgés de 0 à 18 ans, diagnostiqués pour une LAM (n=438 patients). Etaient exclues les LAM secondaires à un syndrome de prédisposition connu lors du diagnostic, les LAM promyélocytaires et LAM 3 variant, ainsi que les LAM secondaires à un traitement antérieur d'une affection maligne. Au sein de ce protocole, les AJA étaient au nombre de 70 patients.

Le traitement d'induction de ce protocole comprenait une bi-chimiothérapie associant Cytarabine et Mitoxantrone. Un myélogramme d'évaluation de la chimiosensibilité était réalisé à J15. En cas de blastose médullaire supérieure à 5%, un 2^{ème} myélogramme était réalisé à J20. Une 1^{ère} cure de consolidation par Cytarabine haute-dose et Amsacrine était ensuite effectuée.

Une allogreffe de moelle géno-identique était réalisée chez les patients de risque intermédiaire en cas de donneur familial HLA identique, à l'exception des LAM avec t(8;21), après conditionnement par chimiothérapie. Chez les patients présentant des facteurs de mauvais pronostic, une allogreffe de moelle géno-identique voire phéno-identique ou de sang placentaire en 1^{ère} rémission complète (RC1) était également recommandée. Dans les autres cas, les patients recevaient deux autres cures de consolidation.

Des injections intra-thécales triples – associant cytarabine, methotrexate et methylprednisolone – pendant l'induction et la consolidation 2 (et la Cytarabine haute-dose) assuraient la prophylaxie ou le traitement des atteintes neuroméningées. Une randomisation du traitement d'entretien par IL2 vs rien était menée chez les patients non allogreffés en RC1 à l'issue des 3 cures de consolidation.



*** Groupes de risque :**

Risque standard : greffe non recommandée en RC1

t(8;21)(q22;q22) ou inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13;q22) et diminution MRD ≥ 3 logs en fin de consolidation 1

Caryotype normal et mutation *NPM1* et absence de mutation *FLT3-ITD*

Caryotype normal et double mutation *CEBPA* et absence de mutation *FLT3-ITD*

t(1;11)(q21;q23)

t(9;11)(p21;q23) isolée et leucocytes < 50 G/L au diagnostic et absence d'atteinte méningée au diagnostic

Risque intermédiaire : indication de greffe en RC1 si donneur HLA-identique intrafamilial

Ni risque standard, ni risque élevé

Risque élevé : indication de greffe phénoïdétique en RC1

Anomalie cytogénétique : monosomie 7, abn5q, t(6;9)(p23;q34), t(10;11)(p11-14;q23),

t(6;11)(q27;q23), inv(3)(q21q26) ou t(3;3)(q21;q26), caryotype complexe (≥ 3 anomalies)

Leucémie secondaire à une chimiothérapie préalable ou à une myélodysplasie préalablement diagnostiquée

Absence de rémission cytologique après consolidation 1, si une RC est obtenue ultérieurement

Anomalie en biologie moléculaire : présence de *FLT3-ITD* avec un rapport allèle muté/allèle sauvage > 0,4

Figure 4 : Schéma du protocole ELAM02.

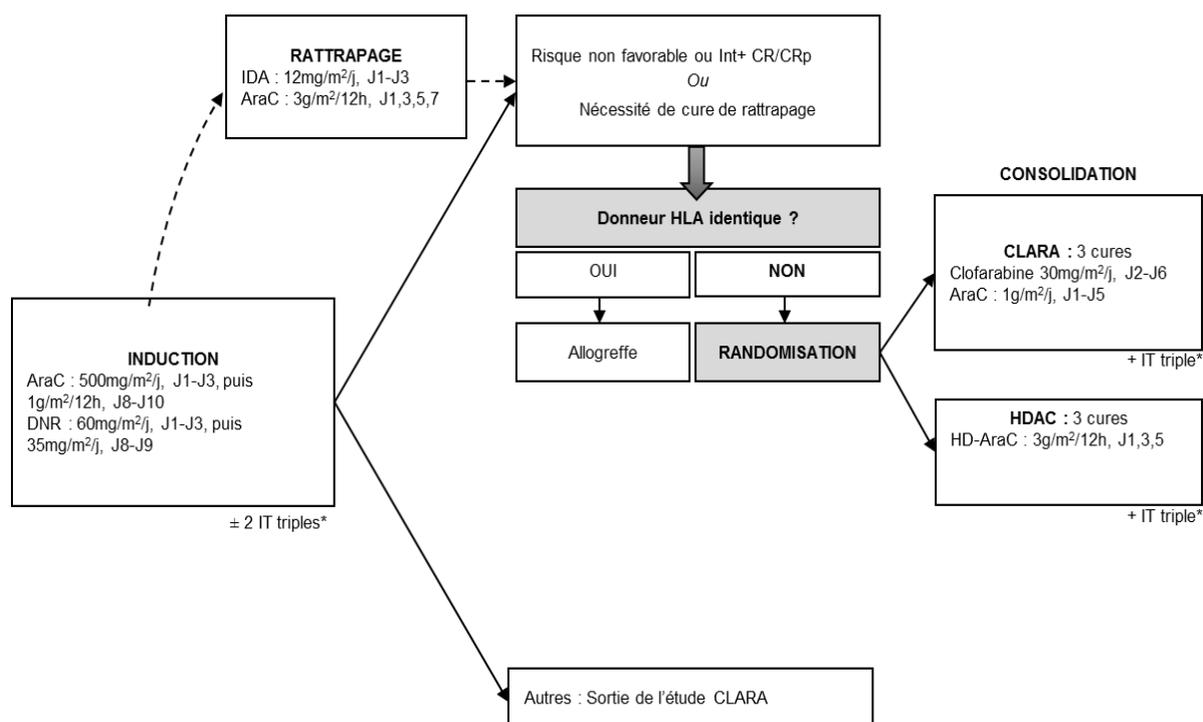
AraC : Cytarabine, DNR : daunorubicine, RC1 : 1^{ère} rémission complète, VP16 : Etoposide

2. Protocole ALFA-0702

Le protocole ALFA-0702 (*ClinicalTrials.gov* ID #NCT00932412) est une étude randomisée de phase II, multicentrique, prospective, menée entre septembre 2009 et mars 2013 chez l'ensemble des patients âgés de 18 à 59 ans, diagnostiqués avec une LAM de novo (n=713 patients). Etaient exclus les LAM avec « cytogénétique favorable » (leucémies aiguës promyélocytaïres, et LAM CBF). Les AJA étaient au nombre de 66 patients dans ce protocole. Cette étude a été conduite dans 37 centres du groupe ALFA (*Acute Leukemia French Association*). L'objectif de l'étude était de comparer la survie sans maladie à 2 ans des patients en RC1 recevant un traitement de consolidation associant clofarabine et Cytarabine à dose intermédiaire (CLARA) vs Cytarabine haute dose (HDAC), traitement de référence mais grevé d'une toxicité excessive, avec un risque augmenté de mortalité. Le schéma de l'étude est résumé ci-après (Figure 5).

Les patients recevaient une chimiothérapie d'induction par Cytarabine et Daunorubicine. En l'absence de donneur HLA compatible, les patients en RC/RCp après une cure d'induction ou une cure de rattrapage, avec un risque intermédiaire ou défavorable étaient randomisés pour le traitement de consolidation par 3 cures de chimiothérapie CLARA vs 3 cures de chimiothérapie HDAC. En présence d'un donneur HLA compatible ces patients étaient allogreffés. Enfin, les patients de risque favorable (présence de la mutation *CEBPA*, *NPM1* sans mutation *FLT3-ITD*) recevaient un schéma de consolidation par 3 cures de Cytarabine haute dose.

Une prophylaxie ou un traitement de l'atteinte neuroméningée était réalisé par des injections intra-thécales triples (associant cytarabine, methotrexate, methylprednisolone) lors de l'induction et de la consolidation.



| Classification | Caractéristiques |
|------------------------|---|
| Risque Intermédiaire-1 | Caryotype normal avec mutation de <i>NPM1</i> ou de <i>CEBPA</i> sans mutation <i>FLT3-ITD</i> |
| Risque Intermédiaire-2 | Autres |
| Défavorable | -5, -7, 5q-, 7q-, 11q23 ou <i>KMT2A-r</i> incluant <i>KMT2A-PTD</i> , excepté t(9;11) t(6;9) Caryotype complexe (> 2 anomalies) 3q26 anomalies ou <i>EVI-1+</i> > 1 cure pour obtention de la RC |

Figure 5 : Schéma de l'étude ALFA-0702

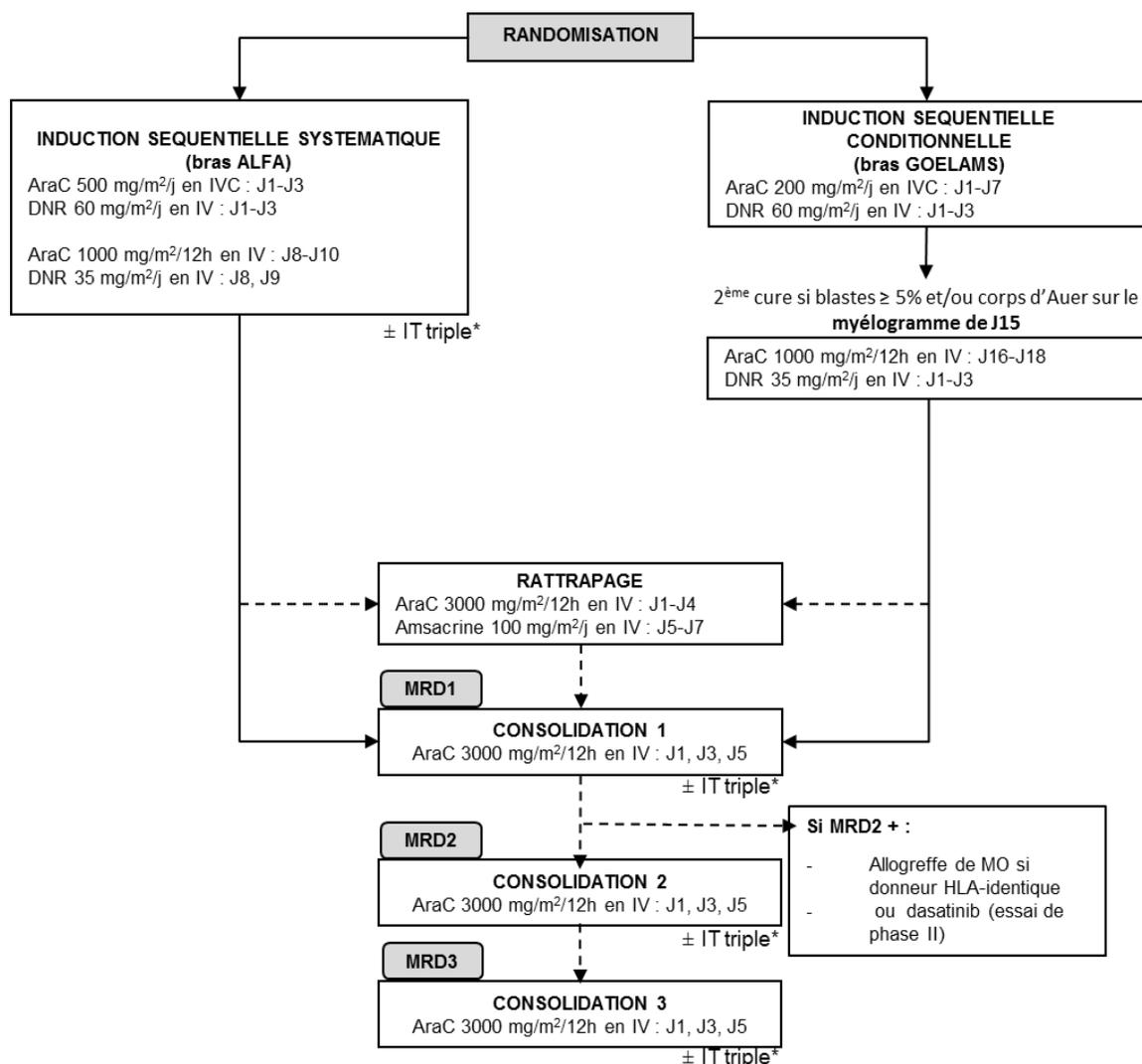
AraC : Cytarabine, CLARA : Clofarabine / Aracytine à dose intermédiaire, CR : 1ère rémission complète, CRp : 1ère rémission complète sans récupération plaquettaire, DNR : Daunorubicine, HDAC : *High Dose AraCytine*, HD-AraC : Aracytine Haute Dose, HLA : *human leukocyte antigen*, GMO : greffe de moelle osseuse, IDA : Idarubicine.

3. Protocole CBF-2006

Le protocole CBF-2006 (*ClinicalTrials.gov ID #NCT00428558*) est un essai de phase III, prospectif, randomisé multicentrique comparant la chimiothérapie d'induction séquentielle systématique à la chimiothérapie d'induction séquentielle conditionnelle sur la survie sans rechute chez des patients âgés de 18 à 60 ans

atteints d'une LAM de type CBF de novo ou secondaire (n=198 patients). Cette étude a été menée dans 46 centres des groupes ALFA et GOELAMS/FILO entre juillet 2007 et novembre 2010. Au total, le protocole CBF-2006 incluait 26 patients âgés de 18 à 25 ans.

Les patients recevaient de façon randomisée une induction séquentielle systématique J1-J8 (Bras ALFA) ou une induction séquentielle conditionnelle (selon le résultat du myélogramme de J15) J1-J16 (Bras GOELAMS). En l'absence de RC à l'issue de l'induction séquentielle, les patients qui n'étaient pas en RC recevaient une cure de rattrapage par Cytarabine haute-dose en association à l'Amsacrine. Tous les patients en RC après l'induction séquentielle ou la cure de rattrapage recevaient une 1^{ère} cure de consolidation par Cytarabine haute-dose. En cas de maladie résiduelle négative (MRD2) après cette cure, 2 autres cures de consolidations identiques à la 1^{ère} étaient réalisées. Dans le cas contraire, le patient était allogreffé s'il existait un donneur HLA-identique, si non, il était orienté vers un essai de phase II testant le Dasatinib (inhibiteur de tyrosine kinase) (Figure 6).



IT triple (Méthotrexate, AraC, Methylprednisolone) si LAM avec inv(16)/t(16;16) et leucocytes > 100 G/L au diagnostic

Figure 6 : Schéma du protocole CBF-2006

B. Analyse du statut mutationnel des patients

Le séquençage à haut débit ou *Next Generation Sequencing* (NGS) pour les patients issus du protocole ALFA-0702 a été réalisé par panel Haloplex™ (Agilent®) dont les étapes sont détaillées ci-après. Le séquençage en NGS des autres patients, issus de l'ELAM02 et du CBF-2006, avaient été analysés en cross-validation par panel AmpliSeq™ et Haloplex™. Un total de 36 gènes était analysé en NGS.

1. Préparation de la librairie Haloplex

La première étape de préparation de la librairie consiste en une digestion enzymatique par des enzymes de restriction. Un enrichissement par circularisation des fragments d'ADN est ensuite réalisé au moyen de sondes Haloplex™ constituées d'une séquence universelle flanquées de séquences spécifiques de la région cible aux extrémités.

Les hybrides ADN/sondes sont ensuite capturés par des billes magnétiques marquées à la streptavidine par liaison non covalente entre la streptavidine et la biotine. Ces hybrides ADN/sondes sont ensuite élués par des billes par dénaturation via l'hydroxyde de sodium. L'ADN est ensuite amplifié par PCR à l'aide d'amorces universelles liées à des adaptateurs. Les amplicons (75-675 bp) sont ensuite purifiés, puis quantifiés sur TapeStation (Agilent®). Les différentes étapes de préparation de la librairie sont illustrées dans la Figure 7.

La librairie ainsi constituée est normalisée sur le Bioanalyzer (Agilent®).

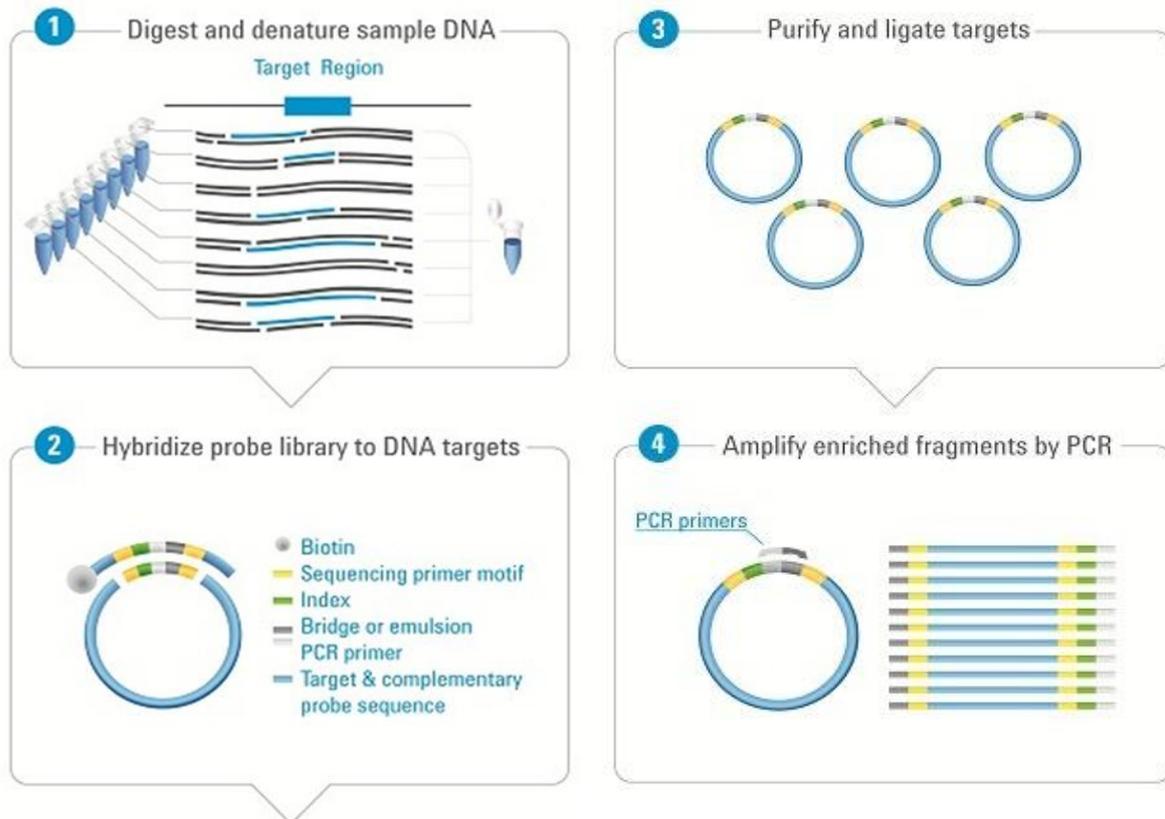


Figure 7 : Préparation de la librairie par panel Haloplex™

2. Préparation de la matrice de séquençage (amplification clonale)

La librairie est ensuite placée dans le séquenceur MiSeq™ (Illumina) pour être amplifiée afin de générer des clusters d'amplicons par bridge PCR. Les amplicons possédant des adaptateurs aux deux extrémités vont venir se fixer sur une surface solide en verre (*flow cell*) et ainsi générer des ponts. Une amplification clonale est ensuite réalisée par bridge-PCR. Les doubles brins d'amplicons sont ensuite dénaturés afin de générer des amplicons simples brins. Des millions de clusters sont ainsi créés.

3. Séquençage par synthèse (SBS)

Le séquençage de l'ADN est ensuite réalisé par synthèse du brin complémentaire par incorporation de désoxyribonucléotides (dNTPs) fluorescents à l'aide d'une ADN polymérase et d'un terminateur de chaîne qui stoppe la réaction. Chaque base émet un signal de fluorescence lorsqu'elle est ajoutée au brin en cours de synthèse, ce qui est utilisé par le séquenceur MiSeq™ (Illumina) pour déterminer la séquence d'ADN.

Les mutations *FLT3-ITD* étaient analysées par méthode de fragments. Les mutations du gène *CEBPA* étaient recherchées par technique de séquençage par méthode de Sanger en raison d'une mauvaise couverture du gène en NGS.

Les mutations de *KMT2A* de type duplication partielle en tandem (*KMT2A-PTD*) étaient recherchées par RT-PCR (*Reverse transcription polymerase chain reaction*) ou RT-MLPA (*Reverse transcriptase–Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*) selon les protocoles.

4. Analyse des données

Les données générées sont ensuite récupérées par deux pipelines (Illumina reporter et SeqNext) permettant d'aligner des séquences et de les comparer à une séquence de référence. Chaque variant détecté est analysé afin d'éliminer de potentiels artefacts.

Les variants *frameshift* et non-sens étaient considérés comme des mutations. Les substitutions étaient retenues en l'absence de description dans la base publique de polymorphismes ExAC (*Exome Aggregation Consortium*). L'analyse de la signification des variants était réalisée au moyen de 6 outils de prédiction : PolyPhen-1, PolyPhen-2, PhD-SNP (*Predictor of human Deleterious Single Nucleotide Polymorphism*), MAPP (*Multivariate Analysis of Protein Polymorphism*), SIFT (*Sorting*

Intolerant From Tolerant), et SNAP (*Screening for Non-Acceptable Polymorphisms*) ainsi que de la description du variant dans la littérature (70).

C. Analyses statistiques

L'étude de la survie globale (*Overall Survival – OS*), définie par le délai entre le diagnostic et le décès ou la date du dernier contact. L'incidence cumulée de rechute (*Cumulative Incidence of Relapse – CIR*) était définie à partir de la date de CR/CRp jusqu'à la date de rechute. L'OS et la CIR ont été calculées par la méthode de Kaplan-Meier au moyen du logiciel IBM SPSS Statistics 22.0. Les survies dans les différents groupes étaient comparées par le test du log-rank. Les comparaisons des différentes caractéristiques entre les groupes étaient réalisées par le test de Fisher.

Tous les tests statistiques ont été réalisés de façon bilatérale. Les résultats étaient statistiquement significatifs pour une *p-value* strictement inférieure à 0,05.

RESULTATS

A. Caractéristiques de la population AJA

1. Caractéristiques clinico-biologiques des AJA

Sur l'ensemble des 3 protocoles étudiés (n=1349 patients), la population AJA (n=162 patients) représentait 12% de l'ensemble des patients inclus. L'étude en NGS de la population AJA au diagnostic de LAM a été effective chez 140 d'entre eux (n=62 patients issus du protocole ELAM02, n=60 patients issus du protocole ALFA-0702 et n=18 patients issus du protocole CBF-2006). Les caractéristiques clinico-biologiques des patients analysés en NGS ne différait pas de celles des patients n'ayant pu être analysés (Annexe 1).

L'âge médian au diagnostic de la population AJA analysée était de 18,9 ans, était significativement différents entre les patients traités dans les protocoles adultes et ceux traités dans le protocole pédiatrique (22,2 ans vs 15,9 ans, $p < 0,0001$). Les hommes représentaient 53,6% de la population. La leucocytose médiane au diagnostic était de 16,4 G/L (range : 0,9-514 G/L).

Dans la population AJA, 90,7% des patients étaient en RC1. Il existait 5 décès précoces en cours d'induction (un dans le protocole ELAM02, 3 dans le protocole ALFA-0702 et un dans le protocole CBF-2006). Près de la moitié (42,8%) des AJA étaient allogreffés en RC1.

A 5 ans, l'incidence cumulée de rechute et la survie globale étaient respectivement de 26,6% (IC95% : 20,7-32,5) et 69,8% (IC95% : 63,8-75,8) chez les patients traités dans le protocole ELAM02. Chez les patients AJA traités dans les protocoles adultes (ALFA-0702 et CBF-2006) celles-ci étaient de 23,6% (IC95% : 18,4-28,8) et 76,5% (IC95% : 71,6-81,4) (Tableau 5). Il n'existait pas de différence

2. Caractéristiques cytogénétiques de la population AJA

Les groupes cytogénétiques étaient définis de la façon suivante : caryotype normal, réarrangements impliquant le gène *KMT2A* (*KMT2A-r*), réarrangements du CBF, caryotype défavorable (incluant les caryotypes complexes, les monosomies 7 et délétions 7q, inversions 3q, t(6 ;9)) et « autres » (incluant les autres anomalies non listées précédemment telle que la trisomie 8).

Les caryotypes normaux représentaient la forme cytogénétique la plus fréquente au sein de la population AJA (33,6%). Les réarrangements CBF constituaient l'anomalie cytogénétique la plus fréquente dans cette tranche d'âge. La distribution des anomalies cytogénétiques est illustrée dans la Figure 9, et était similaire entre les patients traités dans les protocoles adultes et ceux traités dans le protocole pédiatrique ELAM02 ($p=0,909$).

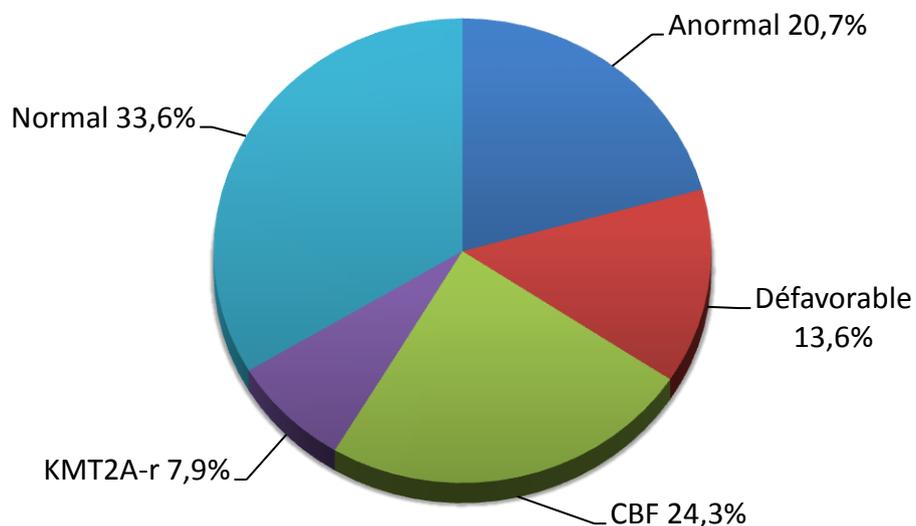


Figure 9 : Altérations cytogénétiques observées dans la population AJA.

3. Profil moléculaire de la population AJA

L'étude en NGS de la population AJA a permis d'identifier au moins 1 gène muté chez 118 patients (84,3%). Le nombre médian de gènes mutés par patient dans la population AJA était de 2 (range : 0-7 mutations/patient).

Le profil des mutations identifiées chez les AJA est illustré dans la

Figure 10.

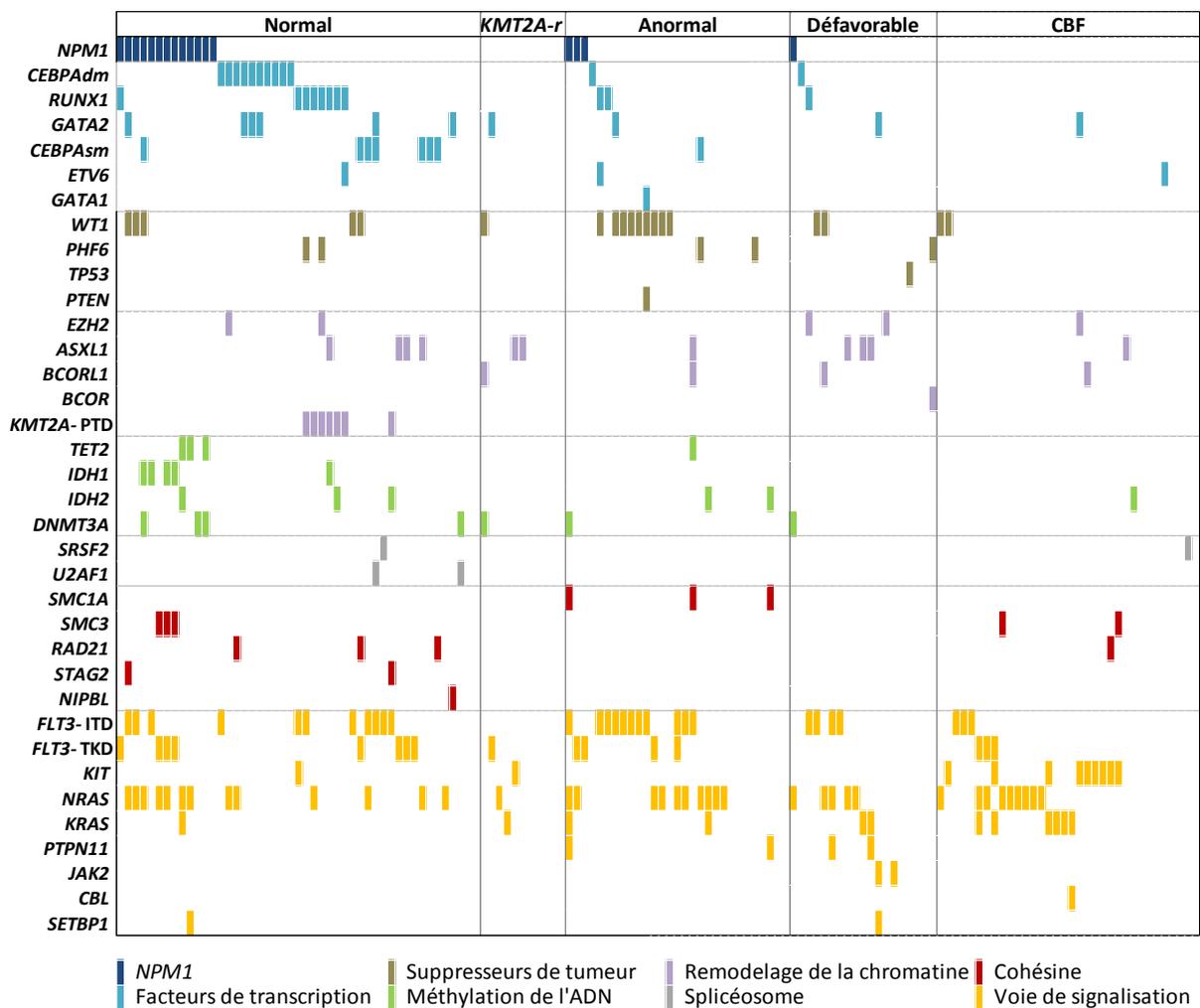


Figure 10 : Profil génomique des LAM chez les AJA selon le groupe cytogénétique

Les mutations des gènes de la classe des voies de signalisation étaient les plus

fréquentes (62,1% ; Figure 11). Au sein de cette classe de gènes, les mutations de *NRAS* et la duplication en tandem du gène *FLT3* (*FLT3-ITD*) constituaient les mutations les plus fréquentes (Figure 12). Les autres classes de mutations souvent retrouvées étaient les facteurs de transcription (39,3%), et les suppresseurs de tumeur (29,3% ; Figure 11).

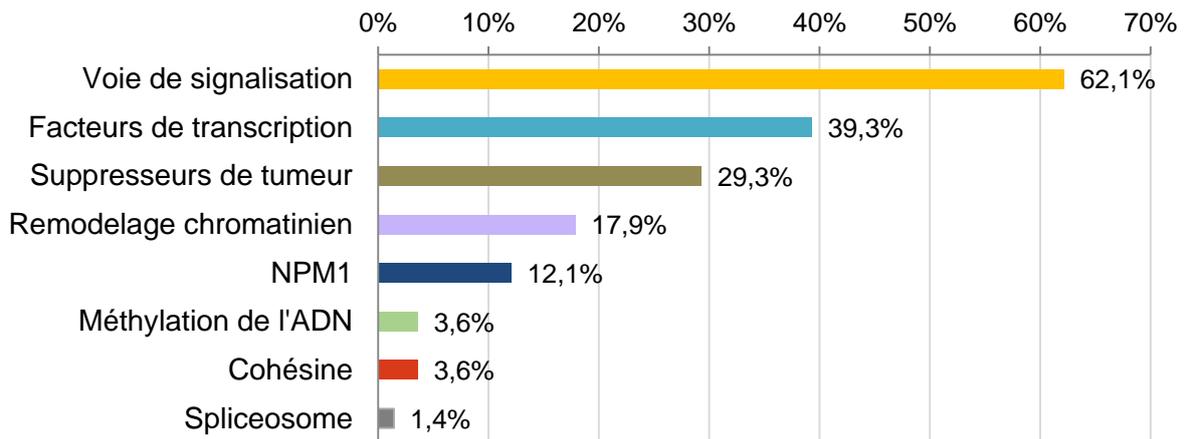


Figure 11 : Fréquence des classes de gènes mutés dans la population AJA

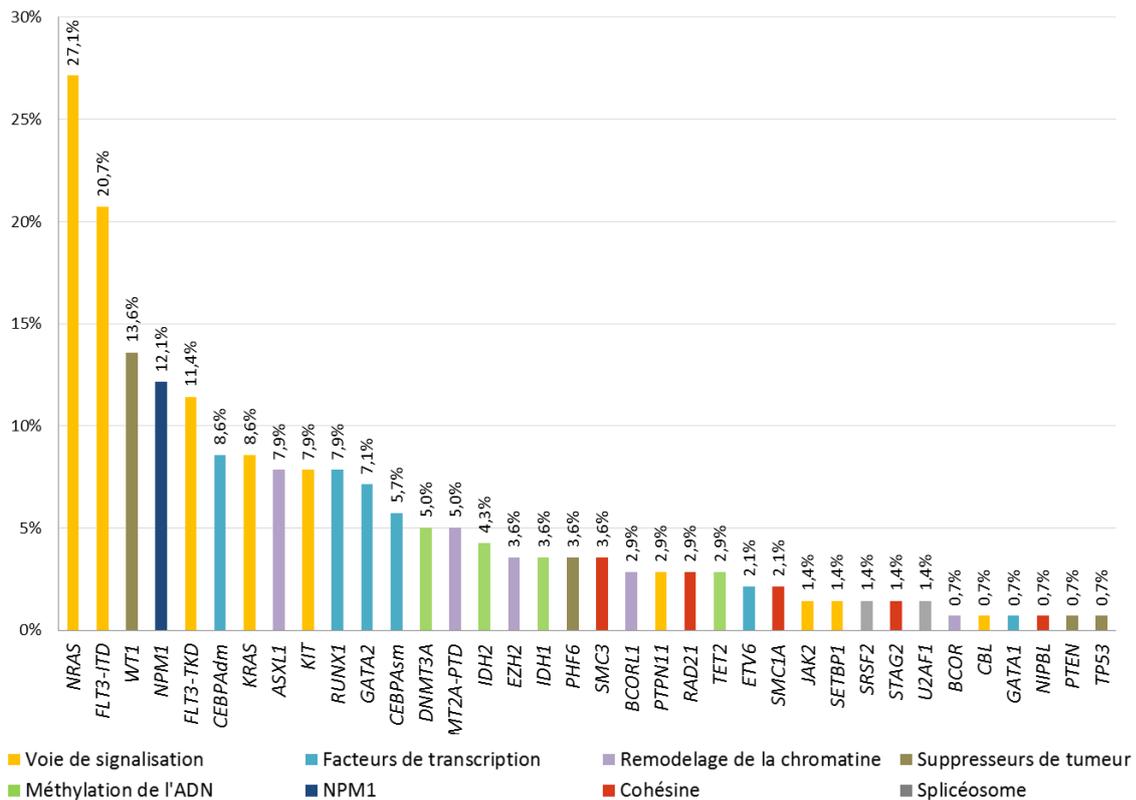


Figure 12 : Fréquence des gènes mutés chez les AJA

Les classes de gènes mutés sont corrélées à l'anomalie cytogénétique sous-jacente telles qu'illustrées par les histogrammes de la Figure 13.

Les mutations étaient plus fréquentes au sein des patients avec caryotype normal (95,7% vs 78,5%, $p=0,007$), avec un nombre médian d'anomalies par patient de 3 (range : 0-6 mutations/patient). Les mutations de *NPM1* et des gènes codant pour des facteurs de transcription étaient retrouvés essentiellement dans les caryotypes normaux (27,7% et 57,4%).

A l'inverse, les patients avec réarrangement impliquant *KMT2A* constituaient le groupe cytogénétique le moins souvent muté (54,5% vs 86,8%, $p=0,015$), avec un nombre médian de mutations de 1 par patient (range : 0-3 mutations/patient).

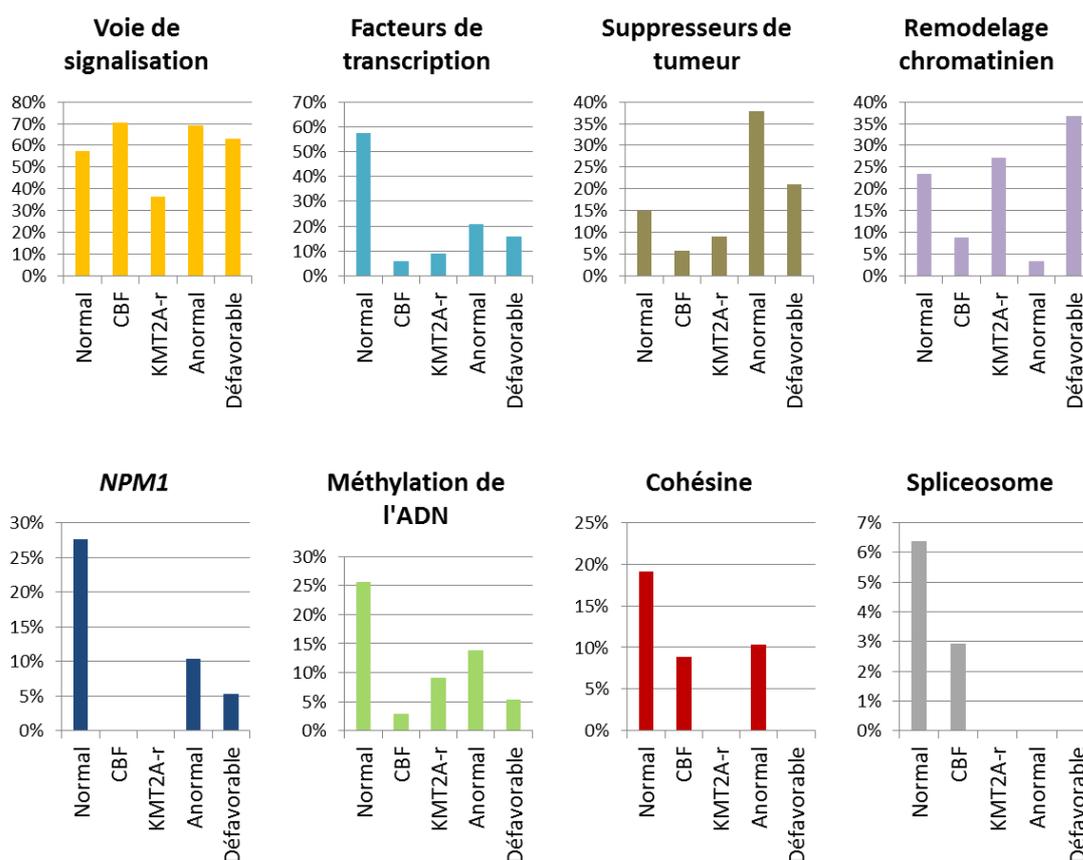


Figure 13 : Fréquence des gènes mutés dans la population AJA selon le profil cytogénétique

Au sein des LAM CBF, les mutations des gènes des voies de signalisation étaient les plus fréquentes, retrouvées chez 70,6% des patients présentant au moins une mutation d'un gène de cette classe (Figure 13).

D'autre part les profils mutationnels des AJA traités dans les protocoles pédiatrique et adultes étaient similaires, à l'exception des gènes impliqués dans le remodelage de la chromatine, plus fréquents chez les patients traités dans les protocoles adultes (24,4% vs 9,7%, $p=0,027$; Annexe 2).

4. Stratification pronostique des AJA selon l'ELN

La stratification des AJA selon le risque ELN permet de séparer la population AJA entre 3 groupes pronostiques distincts en survie globale ($p=0,0002$). En comparant la survie globale sans et avec censure à la greffe, cette classification montre son intérêt dans l'identification des patients adverses, bénéficiant de l'allogreffe (Figure 14). Dans cette classification la survie globale des patients de risque intermédiaires ou défavorable était similaire ($p=0,639$).

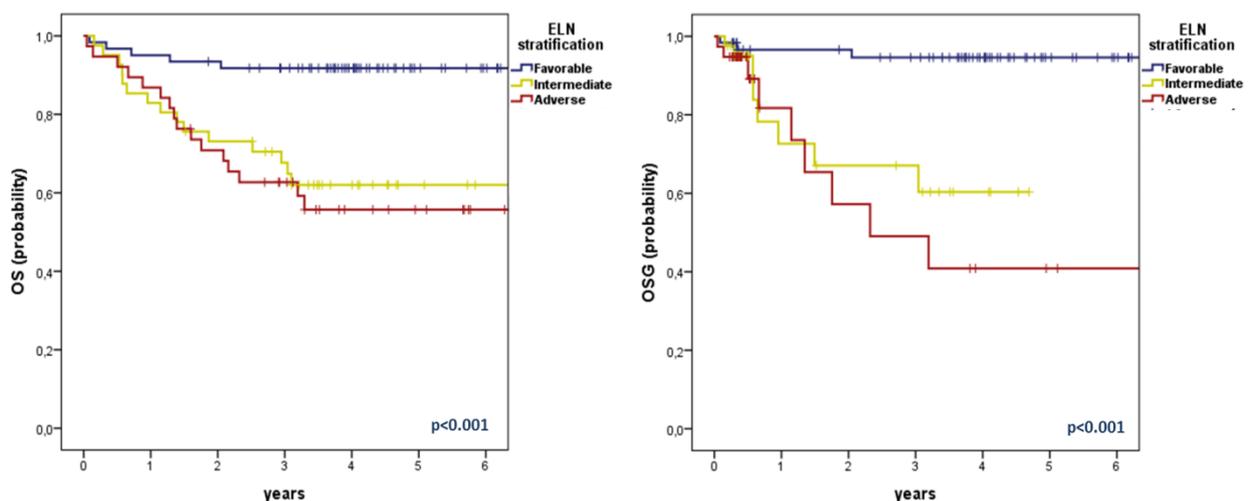


Figure 14 : Survie globale des AJA selon la stratification pronostique de l'ELN (OS : survie globale sans censure à la greffe et OSG : survie globale avec censure à la greffe). Dans cette classification 61 patients étaient inclus dans le groupe favorable, 41 dans le groupe intermédiaire et 38 dans le groupe défavorable.

Une nouvelle classification pronostique a été proposée en pédiatrie permettant de stratifier la population pédiatrique selon les altérations moléculaires (67). Les patients avec transcrit de fusion *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11*, ou avec mutation de *NPM1* ou de *CEBPA^{dm}* constituent le groupe favorable, les patients avec transcrit de fusion impliquant *NUP98* ou avec mutation de *RUNX1*, *WT1* ou *PH6* étaient classés dans le groupe défavorable. Les autres patients étaient classés dans le groupe intermédiaire. Cette classification permet également de séparer la population AJA en 3 groupes pronostiques distincts ($p < 0,001$, Figure 15), y compris entre les patients des groupes intermédiaire et défavorable ($p < 0,001$).

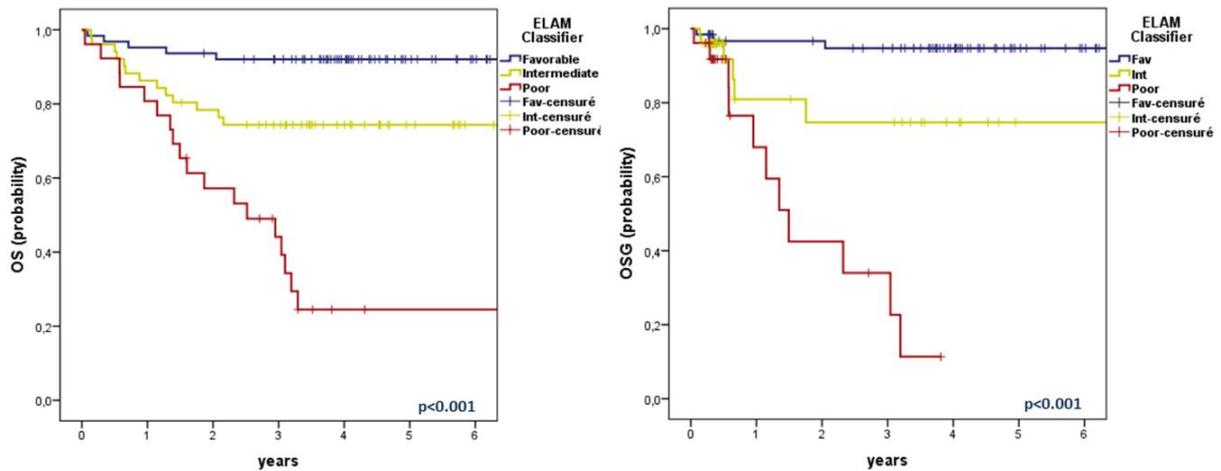


Figure 15 : Survie globale des AJA selon le classifieur moléculaire pédiatrique (OS : survie globale sans censure à la greffe et OSG : survie globale avec censure à la greffe). Dans cette classification 63 patients étaient inclus dans le groupe favorable, 51 dans le groupe intermédiaire, et 26 dans le groupe défavorable.

B. Comparaison des adolescents aux jeunes adultes

Les adolescents (15-19 ans) présentaient des caractéristiques clinico-biologiques et de survie semblables à celles des jeunes adultes (20-25 ans). Les profils cytogénétiques étaient similaires dans ces deux groupes d'âge ($p = 0,251$; Annexe 3).

Sur le plan moléculaire, les mutations des gènes de l'épigénétique – incluant les

gènes impliqués dans le remodelage de la chromatine et ceux impliqués dans la méthylation de l'ADN – étaient plus fréquentes chez les jeunes adultes ($p=0,022$). Il n'existait pas de différence dans les autres différentes classes de gènes mutés entre ces deux tranches d'âge (Annexe 4).

C. Comparaison des AJA à la population pédiatrique

1. Caractéristiques clinico-biologiques

La population pédiatrique (0-14,9 ans, $n=323$ patients) et les AJA présentait des caractéristiques biologiques (leucocytose) similaires ($p=0,804$ et $p=0,546$, Tableau 6). Le taux de RC1 était comparable entre les deux groupes d'âge ($p=1,000$). En RC1, les AJA étaient plus souvent allogreffés que la population pédiatrique (42,9% vs 26,9%, $p=0,001$).

La survie globale à 5 ans était similaire entre les deux groupes ($p=0,969$), mais l'incidence cumulée de rechute était plus élevée dans la population pédiatrique (36,8% vs 25,1%, $p=0,023$, Tableau 6).

Tableau 6 : Comparaison des caractéristiques clinico-biologiques entre la population pédiatrique et la population AJA

| | 0-14,9 ans | 15-25 ans | p |
|--|----------------------|----------------------|--------------------|
| Effectif | 323 | 140 | - |
| Hommes, nombre (%) | 174 (53,9) | 75 (53,6) | 0,516 |
| Age au diagnostic, médiane | 6,7 | 18,9 | <0,0001* |
| Leucocytose, médiane en G/L (range) | 16,1 (1,0-575,0) | 16,4 (0,9-514,0) | 0,804 |
| Caryotype, nombre (%) | | | |
| - Normal, nombre (%) | 80 (24,8) | 47 (33,6) | 0,055 |
| - CBF, nombre (%) | 76 (23,5) | 34 (24,3) | 0,905 |
| - <i>KMT2A</i>-r, nombre (%) | 75 (23,2) | 11 (7,9) | <0,0001* |
| - Complexe, nombre (%) | 25 (7,7) | 3 (2,1) | 0,019* |
| CR/CRp, en % | 90,1 | 90,7 | 1,000 |
| Allogreffe en RC1, en % | 26,9 | 42,9 | 0,001* |
| CIR à 5 ans (IC95%) | 36,8% (33,9-39,7) | 25,1% (21,2-29) | 0,023* |
| OS à 5 ans (IC95%) | 73,6% (71,1-76,1) | 73,5% (69,7-77,3) | 0,969 |

La distribution des profils cytogénétiques entre les AJA et la population pédiatrique était différente (p=0,003).

2. Caractéristiques cytogénétiques

Les profils cytogénétiques différaient entre la population pédiatrique et les AJA (p=0,003). Au sein de ces deux populations, les caryotypes normaux constituaient la présentation cytogénétique la plus commune, et tendaient à être plus fréquents dans la population AJA (33,6% vs 24,8%, p=0,055).

Les réarrangements de *KMT2A* et les caryotypes complexes étaient plus communément retrouvés dans la population pédiatrique (23,2% vs 7,9%, p<0,0001 et 7,7% vs 2,1%, p=0,019).

En excluant les patients avec réarrangement de *KMT2A*, la survie globale à 5 ans restait similaire entre les deux tranches d'âge (p=0,808), y compris en censurant les patients à la date de greffe (p=0,708), et l'incidence cumulée de rechute était similaire (p=0,195).

Au sein des patients avec caryotype normal, il n'existait pas de différence de

survie globale entre la population pédiatrique et les AJA ($p=0,063$) y compris en censurant les patients à la date de greffe ($p=0,160$), mais l'incidence cumulée de rechute était supérieure dans la population pédiatrique ($p=0,012$).

Au sein des patients avec réarrangement de CBF, la survie globale et l'incidence cumulée de rechute étaient similaires entre les deux tranches d'âge ($p=0,559$ et $p=0,459$).

3. Comparaison du profil mutationnel de la population pédiatrique aux AJA

Le nombre médian de gènes mutés dans la population AJA était de 2 par patient (range : 0-7/patient) vs 1 par patient dans la population pédiatrique (0-14,9 ans) (range : 0-5/patient) ($p=0,014$).

La population pédiatrique présentait plus souvent un profil mutationnel dépourvu de mutation que la population AJA (25,1% vs 15,7%, $p=0,028$).

Il existait autant de mutations de *NPM1*, des gènes suppresseurs de tumeurs, des voies de signalisation ou du dans les deux groupes d'âge. Cependant, certaines mutations étaient plus fréquentes dans la population AJA, telles que : *CEBPA^{dm}* ($p=0,033$), *CEBPAsm* ($p=0,009$), *ASXL1* ($p=0,005$), *KMT2A-PTD* ($p=0,004$), *DNMT3A* ($p=0,001$) ou encore *FLT3-ITD* ($p=0,024$). En terme de classe de gènes mutés, il existait une différence significative dans les gènes des facteurs de transcription ($p=0,001$), dans les gènes impliqués de l'épigénétique ($p=0,001$) et dans les gènes de la cohésine ($p=0,022$), plus fréquents chez les AJA (Tableau 7).

Tableau 7 : Comparaison du profil mutationnel entre les populations pédiatrique et AJA

| | 0-14,9 ans | | 15-25 ans | | p |
|--|------------|------|-----------|------|---------------|
| | n | % | n | % | |
| <i>NPM1</i> | 27 | 8,4 | 17 | 12,1 | 0,228 |
| Facteurs de transcription | 45 | 13,9 | 39 | 27,9 | 0,001* |
| <i>CEBPA_{adm}</i> | 11 | 3,4 | 12 | 8,6 | 0,033* |
| <i>RUNX1</i> | 19 | 5,9 | 11 | 7,9 | 0,418 |
| <i>GATA2</i> | 14 | 4,3 | 10 | 7,1 | 0,253 |
| <i>CEBPA_{sm}</i> | 4 | 1,2 | 8 | 5,7 | 0,009* |
| <i>ETV6</i> | 5 | 1,5 | 3 | 2,1 | 0,703 |
| <i>GATA1</i> | 1 | 0,3 | 1 | 0,7 | 0,514 |
| Suppresseurs de tumeur | 45 | 13,9 | 25 | 17,9 | 0,323 |
| <i>WT1</i> | 33 | 10,2 | 19 | 13,6 | 0,336 |
| <i>PHF6</i> | 12 | 3,7 | 5 | 3,6 | 1 |
| <i>TP53</i> | 4 | 1,2 | 1 | 0,7 | 1 |
| <i>PTEN</i> | 0 | 0 | 1 | 0,7 | 0,302 |
| Remodelage chromatinien | 27 | 8,4 | 25 | 17,9 | 0,006* |
| <i>EZH2</i> | 10 | 3,1 | 5 | 3,6 | 0,780 |
| <i>ASXL1</i> | 6 | 1,9 | 11 | 7,9 | 0,005* |
| <i>BCORL1</i> | 5 | 1,5 | 4 | 2,9 | 0,463 |
| <i>BCOR</i> | 5 | 1,5 | 1 | 0,7 | 0,673 |
| <i>KMT2A-PTD</i> | 2 | 0,6 | 7 | 5,0 | 0,004* |
| Méthylation de l'ADN | 23 | 7,1 | 19 | 13,6 | 0,034* |
| <i>TET2</i> | 8 | 2,5 | 4 | 2,9 | 0,760 |
| <i>IDH1</i> | 10 | 3,1 | 5 | 3,6 | 0,78 |
| <i>IDH2</i> | 4 | 1,2 | 6 | 4,3 | 0,073 |
| <i>DNMT3A</i> | 1 | 0,3 | 7 | 5,0 | 0,001* |
| Spliceosome | 8 | 2,5 | 4 | 2,9 | 0,760 |
| <i>SRSF2</i> | 1 | 0,3 | 2 | 1,4 | 0,218 |
| <i>U2AF1</i> | 4 | 1,2 | 2 | 1,4 | 1 |
| <i>SF3B1</i> | 1 | 0,3 | 0 | 0 | 1 |
| <i>ZRSR2</i> | 2 | 0,6 | 0 | 0 | 1 |
| Cohésine | 15 | 4,6 | 15 | 10,7 | 0,022* |
| <i>SMC1A</i> | 5 | 1,5 | 3 | 2,1 | 0,703 |
| <i>SMC3</i> | 3 | 0,9 | 5 | 3,6 | 0,058 |
| <i>RAD21</i> | 4 | 1,2 | 4 | 2,9 | 0,251 |
| <i>STAG2</i> | 1 | 0,3 | 2 | 1,4 | 0,218 |
| <i>NIPBL</i> | 2 | 0,6 | 1 | 0,7 | 1 |
| Voie de signalisation | 196 | 60,7 | 87 | 62,1 | 0,836 |
| <i>FLT3-ITD</i> | 40 | 12,4 | 29 | 20,7 | 0,024* |
| <i>FLT3-TKD</i> | 26 | 8,0 | 16 | 11,4 | 0,290 |
| <i>KIT</i> | 43 | 13,3 | 11 | 7,9 | 0,115 |
| <i>NRAS</i> | 85 | 26,3 | 38 | 27,1 | 0,909 |
| <i>KRAS</i> | 45 | 13,9 | 12 | 8,6 | 0,124 |
| <i>PTPN11</i> | 23 | 7,1 | 4 | 2,9 | 0,085 |
| <i>JAK2</i> | 9 | 2,8 | 2 | 1,4 | 0,517 |
| <i>MPL</i> | 2 | 0,6 | 0 | 0 | 1 |
| <i>CBL</i> | 1 | 0,3 | 1 | 0,7 | 0,514 |
| <i>SETBP1</i> | 1 | 0,3 | 2 | 1,4 | 0,218 |
| ***Epigénétique (Remodelage chromatinien + Méthylation de l'ADN) p=0,001* | | | | | |

DISCUSSION

Cette étude a permis de caractériser le profil cytogénétique et moléculaire de la population AJA à partir de trois cohortes protocolaires.

Sur le plan cytogénétique, la population AJA présente un profil distinct de la population pédiatrique, lié en particulier à la diminution de l'incidence des réarrangements de *KMT2A* avec l'âge, ce qui est en accord avec les précédentes études (21,39,40,71). Néanmoins, ces réarrangements restent plus fréquents que dans la population adulte (21,72). D'autre part, les réarrangements de CBF constituaient l'altération cytogénétique la plus commune, représentant près du quart des LAM pédiatriques et des AJA. L'incidence des LAM CBF est en effet plus élevée dans les populations les plus jeunes puis diminue ensuite progressivement avec l'âge (21). La survie globale des LAM CBF n'était pas impactée par l'âge dans notre étude, ce qui est cohérent avec les résultats d'études précédentes (73).

La proportion de patients avec anomalie cytogénétique tendait à être plus importante dans la population pédiatrique par rapport aux AJA, même s'il n'existait pas de différence significative entre les deux catégories d'âge, ceci pouvait être lié à un manque d'effectif dans la population AJA. L'incidence des altérations structurales est en effet plus fréquente dans les populations les plus jeunes (74–77). Nos résultats ont par ailleurs confirmé la faible charge mutationnelle dans la population pédiatrique (75) en comparaison aux patients plus âgés (23,30,78–80), avec une différence déjà significative entre la population pédiatrique et les AJA. Cette corrélation inverse entre altérations cytogénétiques et mutations témoigne de deux types de leucémogénèse, distinguant ainsi la physiopathologie des LAM pédiatriques de celles des AJA. En effet, les altérations cytogénétiques constituent des

événements critiques de la leucémogénèse et donc ne nécessitent pas voire peu d'altérations génétiques supplémentaires pour aboutir au phénotype leucémique, ce qui explique la faible charge mutationnelle dans la population pédiatrique. A l'inverse, en l'absence d'altération structurale, la leucémie résulte de l'accumulation de mutations *drivers* (24). Ainsi, les réarrangements chromosomiques sont plus rares chez les adultes plus âgés y compris au seuil des techniques de biologie moléculaire de haute résolution, telle que le SNP-array (*Single Nucleotide Polymorphism Array*) (81–83), mais sont corrélés à une charge mutationnelle plus élevée que dans la population pédiatrique.

Les AJA constituent une population d'âge restreint dont le profil moléculaire est peu décrit dans la littérature (65). Néanmoins, cette étude a permis de mieux appréhender le profil mutationnel des AJA. Il s'agit d'une population avec un profil mutationnel distinct des populations plus jeunes et plus âgées. En effet, cette population partage des caractéristiques communes aux populations pédiatrique et adulte.

Bien que la définition des AJA en France et en Europe soit plus restrictive en termes d'âge, en comparaison aux Etats-Unis, cette étude conforte les résultats de certaines particularités observées dans la population 15-39 ans, tels que sont définis les AJA aux Etats-Unis. La comparaison de nos résultats aux différentes études réalisées est délicate en raison des différences d'âge d'inclusion. Néanmoins, l'étude d'August et al., a comparé les caractéristiques génétiques des patients âgés de 16 à 21 ans à celles des patients plus jeunes issus des protocoles (AAML03P1 et AAML0531) du groupe coopérateur nord-américain COG (*Children's Oncology Group*). Les marqueurs pronostiques *CEBPA* et *FLT3-ITD* étaient plus fréquents chez les patients âgés de 16 à 21 ans en comparaison à la population pédiatrique

(84). De façon intéressante, l'incidence des mutations *FLT3-ITD* est plus élevée chez les AJA, ce qui confirme l'augmentation de l'incidence de ces mutations avec l'âge telles que décrites précédemment (85). Ces mutations constituent de nouvelles cibles thérapeutiques dans cette population. L'intégration des inhibiteurs de FLT3 aux futurs protocoles de traitements des AJA pourrait constituer une nouvelle option thérapeutique dans la prise en charge des LAM des AJA, au regard des résultats prometteurs de ces traitements dans les LAM de l'adulte (86).

L'incidence des mutations de *NPM1* augmente avec l'âge et constitue un facteur de bon pronostic chez les AJA en l'absence de mutation *FLT3-ITD* (87). L'incidence des mutations de *NPM1* était statistiquement plus élevée chez les 16-21 ans en comparaison aux patients plus jeunes (12,8% vs 6%, $p=0,001$) (84). Notre étude a confirmé ces résultats, à l'exception des mutations de *NPM1*, pour lesquelles nous n'avons pas retrouvé de différence significative d'incidence entre la population pédiatrique et la population AJA ($p=0,228$), possiblement lié à un manque d'effectif.

Les mutations des gènes de l'épigénétique étaient plus fréquentes chez les AJA que dans la population pédiatrique, ce qui conforte les résultats des études précédentes (88,89).

Par ailleurs, la classification ELN est utilisée pour la stratification pronostique des LAM de l'adulte (17).

Dans cette étude, la classification ELN permet de repérer les patients susceptibles de bénéficier de l'allogreffe. Cependant, les patients des groupes défavorable et intermédiaire n'étaient pas distincts en survie globale. La classification moléculaire proposée dans la population pédiatrique (67) a permis de bien séparer les patients de risque intermédiaire. Une nouvelle étude de la population AJA incluant un plus grand effectif de patients est toutefois nécessaire pour affiner la

classification des patients de risque intermédiaire et évaluer cette nouvelle stratification en pratique clinique.

Enfin, l'augmentation de l'âge est un facteur indépendant de mauvais pronostic dans les LAM. Toutefois, dans cette étude, la survie globale des AJA à celle de la population. Les comparaisons des études de survie entre les AJA et les populations plus jeunes ou plus âgées sont rares et contradictoires. Dans l'étude de Canner et al., la survie globale à 5 ans des AJA (16-20 ans) était similaire à celle des patients plus jeunes (49% vs 54%, $p=0,058$), avec un taux de rechute plus faible chez les AJA que dans la population pédiatrique (30% vs 41%, $p=0,002$) (90). Dans cette même étude il a été montré un excès de mortalité lié au traitement chez les AJA (25% vs 12%, $p<0,001$).

Par ailleurs, le type de traitement (pédiatrique vs adulte) ne semblait pas influencer sur la survie globale des AJA dans cette étude, néanmoins l'âge était significativement différent selon le type de traitement. L'impact du type de traitement semble également difficile à préciser dans cette étude en raison de l'hétérogénéité cytogénétique et moléculaire des deux populations. Peu d'études ont évalué l'impact du type de traitement chez les AJA. L'étude de Woods, réalisée chez les AJA (16-21 ans) traités dans les protocoles pédiatriques du COG ou les protocoles adultes du CALGB (*Cancer And Leukemia Group B*) a néanmoins évalué l'impact du type de traitement sur la survie des patients (91). La survie globale à 10 ans était supérieure chez les patients traités dans les protocoles pédiatriques (45% vs 34%, $p=0,026$). Néanmoins ces résultats doivent être modérés par le fait que l'âge était significativement différents entre ces protocoles ($p<0,001$) et constituait donc un facteur confondant majeur dans cette étude.

L'impact de l'âge chez les AJA demeure un point essentiel dans leur prise en charge. De nouvelles études comparant le type de traitement (adulte vs pédiatrique) au sein d'une cohorte AJA serait intéressante afin d'évaluer l'impact du type de traitement.

CONCLUSION

Cette étude confirme l'impact de l'âge sur l'hétérogénéité moléculaire des LAM. Les LAM des AJA ont un profil mutationnel distinct, s'inscrivant dans un continuum entre les populations pédiatrique et adulte. La stratification pronostique selon l'ELN peut être appliquée à la population AJA ce qui peut aider optimiser la prise en charge des AJA selon leurs altérations moléculaires. D'autre part, cette étude a identifié une charge mutationnelle plus importante chez les AJA que dans la population pédiatrique, avec des mutations habituellement retrouvées chez l'adulte (gènes de l'épigénétique et de la cohésine). La population AJA présentait une fréquence élevée de mutations *FLT3-ITD*. Ainsi de nouvelles études évaluant les nouvelles stratégies thérapeutiques tels que les inhibiteurs de tyrosine kinase seraient intéressantes.

Enfin, la survie globale des AJA était similaire entre les patients traités dans le protocole pédiatrique et ceux traités dans les protocoles adultes. Ce résultat doit cependant être modéré par la différence d'âge entre les protocoles. Une étude comparant les traitements pédiatriques et adultes au sein d'une cohorte d'AJA permettrait de mieux appréhender l'impact du type de traitement dans cette population. Ce travail suggère donc l'importance de la collaboration des équipes adultes et pédiatriques dans la prise en charge des LAM des AJA.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Kayser S, Döhner K, Krauter J, Köhne C-H, Horst HA, Held G, et al. The impact of therapy-related acute myeloid leukemia (AML) on outcome in 2853 adult patients with newly diagnosed AML. *Blood*. 2011 Feb 17;117(7):2137–45.
2. Leone G, Pagano L, Ben-Yehuda D, Voso MT. Therapy-related leukemia and myelodysplasia: susceptibility and incidence. *Haematologica*. 2007 Oct;92(10):1389–98.
3. Furutani E, Shimamura A. Germline Genetic Predisposition to Hematologic Malignancy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2017 Mar 20;35(9):1018–28.
4. Babushok DV, Bessler M, Olson TS. Genetic predisposition to myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in children and young adults. *Leuk Lymphoma*. 2016;57(3):520–36.
5. Monnereau A, Remontet L, Maynadié M, Binder-Foucard F, Belot A, Troussard X, et al. Estimation nationale de l'incidence des cancers en France entre 1980 et 2012. Partie 2-Hémopathies Malignes St-Maurice Fra Inst Veille Sanit 2013 88 P. 2013;
6. Désandes E, Clavel J, Lacour B, Grosclaude P, Brugières L. La surveillance des cancers de l'adolescent et du jeune adulte en France. *Bull Epidémiol Hebd* 43-44-45. 2013;589–595.
7. Gatta G, Botta L, Rossi S, Aareleid T, Bielska-Lasota M, Clavel J, et al. Childhood cancer survival in Europe 1999–2007: results of EURO CARE-5—a population-based study. *Lancet Oncol*. 2014;15(1):35–47.
8. De Angelis R, Minicozzi P, Sant M, Dal Maso L, Brewster DH, Osca-Gelis G, et al. Survival variations by country and age for lymphoid and myeloid malignancies in Europe 2000–2007: Results of EURO CARE-5 population-based study. *Eur J Cancer*. 2015;51(15):2254–2268.
9. Trama A, Botta L, Foschi R, Ferrari A, Stiller C, Desandes E, et al. Survival of European adolescents and young adults diagnosed with cancer in 2000–07: population-based data from EURO CARE-5. *Lancet Oncol*. 2016;17(7):896–906.
10. Monnereau A, Urhy Z, Bossard N. Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine, 1989-2013. Partie 2–Hémopathies malignes. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2015. 2016.
11. Löwenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 1999 Sep 30;341(14):1051–62.
12. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391–405.
13. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al.

The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009 Jul 30;114(5):937–51.

14. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol*. 1976 Aug;33(4):451–8.
15. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med*. 1985 Oct;103(4):620–5.
16. Béné MC, Nebe T, Bettelheim P, Buldini B, Bumbea H, Kern W, et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia*. 2011 Apr;25(4):567–74.
17. Döhner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017 26;129(4):424–47.
18. Balgobind BV, Hollink IHIM, Arentsen-Peters STCJM, Zimmermann M, Harbott J, Beverloo HB, et al. Integrative analysis of type-I and type-II aberrations underscores the genetic heterogeneity of pediatric acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2011 Oct;96(10):1478–87.
19. Marcucci G, Haferlach T, Döhner H. Molecular genetics of adult acute myeloid leukemia: prognostic and therapeutic implications. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2011 Feb 10;29(5):475–86.
20. Creutzig U, van den Heuvel-Eibrink MM, Gibson B, Dworzak MN, Adachi S, de Bont E, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2012 Oct 18;120(16):3187–205.
21. Creutzig U, Zimmermann M, Reinhardt D, Rasche M, von Neuhoff C, Alpermann T, et al. Changes in cytogenetics and molecular genetics in acute myeloid leukemia from childhood to adult age groups. *Cancer*. 2016 Dec 15;122(24):3821–30.
22. Gilliland DG, Jordan CT, Felix CA. The molecular basis of leukemia. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2004;80–97.
23. Cancer Genome Atlas Research Network, Ley TJ, Miller C, Ding L, Raphael BJ, Mungall AJ, et al. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2013 30;368(22):2059–74.
24. Ding L, Ley TJ, Larson DE, Miller CA, Koboldt DC, Welch JS, et al. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing. *Nature*. 2012 Jan 11;481(7382):506–10.

25. Grimwade D, Ivey A, Huntly BJ. Molecular landscape of acute myeloid leukemia in younger adults and its clinical relevance. *Blood*. 2016;127(1):29–41.
26. Welters MJ, van der Sluis TC, van Meir H, Loof NM, van Ham VJ, van Duikeren S, et al. Vaccination during myeloid cell depletion by cancer chemotherapy fosters robust T cell responses. *Sci Transl Med*. 2016 Apr 13;8(334):334ra52.
27. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2015;373(12):1136–1152.
28. Perl AE. The role of targeted therapy in the management of patients with AML. *Blood Adv*. 2017 Nov 14;1(24):2281–94.
29. Pui C-H, Carroll WL, Meshinchi S, Arceci RJ. Biology, Risk Stratification, and Therapy of Pediatric Acute Leukemias: An Update. *J Clin Oncol*. 2011 Feb 10;29(5):551–65.
30. Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2012 Mar 22;366(12):1079–89.
31. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Roberts ND, et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2016 Jun 9;374(23):2209–21.
32. Balgobind BV, Van den Heuvel-Eibrink MM, De Menezes RX, Reinhardt D, Hollink IHIM, Arentsen-Peters STJCM, et al. Evaluation of gene expression signatures predictive of cytogenetic and molecular subtypes of pediatric acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2011 Feb;96(2):221–30.
33. Creutzig U, Büchner T, Sauerland MC, Zimmermann M, Reinhardt D, Döhner H, et al. Significance of age in acute myeloid leukemia patients younger than 30 years: a common analysis of the pediatric trials AML-BFM 93/98 and the adult trials AMLCG 92/99 and AMLSG HD93/98A. *Cancer*. 2008 Feb 1;112(3):562–71.
34. Juliusson G, Antunovic P, Derolf A, Lehmann S, Möllgård L, Stockelberg D, et al. Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood*. 2009 Apr 30;113(18):4179–87.
35. Büchner T, Heinecke A. The role of prognostic factors in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 1996;10:S28–9.
36. Balgobind BV, Raimondi SC, Harbott J, Zimmermann M, Alonzo TA, Auvrignon A, et al. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: results of an international retrospective study. *Blood*. 2009 Sep 17;114(12):2489–96.
37. Zwaan CM, Kolb EA, Reinhardt D, Abrahamsson J, Adachi S, Aplenc R, et al. Collaborative Efforts Driving Progress in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2015 Sep 20;33(27):2949–62.

38. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH, et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*. 2010 Jul 22;116(3):354–65.
39. Harrison CJ, Hills RK, Moorman AV, Grimwade DJ, Hann I, Webb DKH, et al. Cytogenetics of childhood acute myeloid leukemia: United Kingdom Medical Research Council Treatment trials AML 10 and 12. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010 Jun 1;28(16):2674–81.
40. von Neuhoff C, Reinhardt D, Sander A, Zimmermann M, Bradtke J, Betts DR, et al. Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AML-BFM 98. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010 Jun 1;28(16):2682–9.
41. Hollink IHIM, Zwaan CM, Zimmermann M, Arentsen-Peters TCJM, Pieters R, Cloos J, et al. Favorable prognostic impact of NPM1 gene mutations in childhood acute myeloid leukemia, with emphasis on cytogenetically normal AML. *Leukemia*. 2009 Feb;23(2):262–70.
42. Verhaak RGW, Goudswaard CS, van Putten W, Bijl MA, Sanders MA, Hagens W, et al. Mutations in nucleophosmin (NPM1) in acute myeloid leukemia (AML): association with other gene abnormalities and previously established gene expression signatures and their favorable prognostic significance. *Blood*. 2005 Dec 1;106(12):3747–54.
43. Gaidzik VI, Teleanu V, Papaemmanuil E, Weber D, Paschka P, Hahn J, et al. RUNX1 mutations in acute myeloid leukemia are associated with distinct clinico-pathologic and genetic features. *Leukemia*. 2016;30(11):2160–8.
44. Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI, Herzig JK, Aulitzky T, Bullinger L, et al. ASXL1 mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia: a study by the German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group. *Haematologica*. 2015 Mar;100(3):324–30.
45. Grimwade D, Freeman SD. Defining minimal residual disease in acute myeloid leukemia: which platforms are ready for “prime time”? *Blood*. 2014 Nov 27;124(23):3345–55.
46. Schuurhuis GJ, Heuser M, Freeman S, Béné M-C, Buccisano F, Cloos J, et al. Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2018 Mar 22;131(12):1275–91.
47. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood*. 2002 Oct 1;100(7):2292–302.
48. Othus M, Kantarjian H, Petersdorf S, Ravandi F, Godwin J, Cortes J, et al. Declining rates of treatment-related mortality in patients with newly diagnosed AML given “intense” induction regimens: a report from SWOG and MD Anderson. *Leukemia*. 2014 Feb;28(2):289–92.

49. Woods WG. Curing childhood acute myeloid leukemia (AML) at the half-way point: promises to keep and miles to go before we sleep. *Pediatr Blood Cancer*. 2006 May 1;46(5):565–9.
50. Levis M. Midostaurin approved for FLT3-mutated AML. *Blood*. 2017 Jun 29;129(26):3403–6.
51. Inaba H, Rubnitz JE, Coustan-Smith E, Li L, Furmanski BD, Mascara GP, et al. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the multikinase inhibitor sorafenib in combination with clofarabine and cytarabine in pediatric relapsed/refractory leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2011 Aug 20;29(24):3293–300.
52. Barr RD. On cancer control and the adolescent. *Med Pediatr Oncol Off J SIOP—International Soc Pediatr Oncol Soc Int Oncol Pédiatrique*. 1999;32(6):404–410.
53. Gatta G, Capocaccia R, De Angelis R, Stiller C, Coebergh JW. Cancer survival in European adolescents and young adults. *Eur J Cancer*. 2003;39(18):2600–2610.
54. Barr RD. Adolescents, young adults, and cancer—the international challenge. *Cancer*. 2011;117(S10):2245–2249.
55. Thomas DM, Albritton KH, Ferrari A. Adolescent and young adult oncology: an emerging field. *J Clin Oncol*. 2010;28(32):4781–4782.
56. Veal GJ, Hartford CM, Stewart CF. Clinical pharmacology in the adolescent oncology patient. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010 Nov 10;28(32):4790–9.
57. Gramatges MM, Rabin KR. The adolescent and young adult with cancer: state of the art-- acute leukemias. *Curr Oncol Rep*. 2013 Aug;15(4):317–24.
58. Bleyer A, Budd T, Montello M. Adolescents and young adults with cancer. *Cancer*. 2006;107(S7):1645–1655.
59. Treadgold CL, Kuperberg A. Been there, done that, wrote the blog: the choices and challenges of supporting adolescents and young adults with cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28(32):4842–4849.
60. Martin S, Ulrich C, Munsell M, Taylor S, Lange G, Bleyer A. Delays in cancer diagnosis in underinsured young adults and older adolescents. *The Oncologist*. 2007 Jul;12(7):816–24.
61. Bhatia S, Landier W, Shangguan M, Hageman L, Schaible AN, Carter AR, et al. Nonadherence to oral mercaptopurine and risk of relapse in Hispanic and non-Hispanic white children with acute lymphoblastic leukemia: a report from the children’s oncology group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012 Jun 10;30(17):2094–101.
62. Parsons HM, Harlan LC, Seibel NL, Stevens JL, Keegan THM. Clinical trial participation and time to treatment among adolescents and young adults with

- cancer: does age at diagnosis or insurance make a difference? *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2011 Oct 20;29(30):4045–53.
63. Burke ME, Albritton K, Marina N. Challenges in the recruitment of adolescents and young adults to cancer clinical trials. *Cancer*. 2007;110(11):2385–2393.
 64. Tai E, Beaupin L, Bleyer A. Clinical trial enrollment among adolescents with cancer: supplement overview. *Pediatrics*. 2014 Jun;133 Suppl 3:S85-90.
 65. Creutzig U, Kutny MA, Barr R, Schlenk RF, Ribeiro RC. Acute myelogenous leukemia in adolescents and young adults. *Pediatr Blood Cancer*. 2018;e27089.
 66. Juhl-Christensen C, Ommen HB, Aggerholm A, Lausen B, Kjeldsen E, Hasle H, et al. Genetic and epigenetic similarities and differences between childhood and adult AML. *Pediatr Blood Cancer*. 2012 Apr;58(4):525–31.
 67. Marceau-Renaut A, Duployez N, Ducourneau B, Labopin M, Petit A, Rousseau A, et al. Molecular Profiling Defines Distinct Prognostic Subgroups in Childhood AML: A Report From the French ELAM02 Study Group. *HemaSphere*. 2018 Feb;2(1):e31.
 68. Schnittger S, Schoch C, Kern W, Mecucci C, Tschulik C, Martelli MF, et al. Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *Blood*. 2005 Dec 1;106(12):3733–9.
 69. De Kouchkovsky I, Abdul-Hay M. “Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update.” *Blood Cancer J*. 2016 Jul 1;6(7):e441.
 70. Bendl J, Stourac J, Salanda O, Pavelka A, Wieben ED, Zendulka J, et al. PredictSNP: robust and accurate consensus classifier for prediction of disease-related mutations. *PLoS Comput Biol*. 2014;10(1):e1003440.
 71. Grimwade D. The clinical significance of cytogenetic abnormalities in acute myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2001 Sep;14(3):497–529.
 72. Grimwade D, Mrózek K. Diagnostic and prognostic value of cytogenetics in acute myeloid leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2011 Dec;25(6):1135–61, vii.
 73. Duployez N, Marceau-Renaut A, Boissel N, Petit A, Bucci M, Geffroy S, et al. Comprehensive mutational profiling of core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2451–9.
 74. Tarlock K, Zhong S, He Y, Ries R, Severson E, Bailey M, et al. Distinct age-associated molecular profiles in acute myeloid leukemia defined by comprehensive clinical genomic profiling. *Oncotarget*. 2018 May 11;9(41):26417–30.
 75. Bolouri H, Farrar JE, Triche T, Ries RE, Lim EL, Alonzo TA, et al. The molecular landscape of pediatric acute myeloid leukemia reveals recurrent structural alterations and age-specific mutational interactions. *Nat Med*. 2018

Jan;24(1):103–12.

76. Ostronoff F, Othus M, Gerbing RB, Loken MR, Raimondi SC, Hirsch BA, et al. NUP98/NSD1 and FLT3/ITD coexpression is more prevalent in younger AML patients and leads to induction failure: a COG and SWOG report. *Blood*. 2014 Oct 9;124(15):2400–7.
77. Gruber TA, Larson Gedman A, Zhang J, Koss CS, Marada S, Ta HQ, et al. An Inv(16)(p13.3q24.3)-encoded CBFA2T3-GLIS2 fusion protein defines an aggressive subtype of pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Cancer Cell*. 2012 Nov 13;22(5):683–97.
78. Welch JS, Ley TJ, Link DC, Miller CA, Larson DE, Koboldt DC, et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell*. 2012;150(2):264–278.
79. Shen Y, Zhu Y-M, Fan X, Shi J-Y, Wang Q-R, Yan X-J, et al. Gene mutation patterns and their prognostic impact in a cohort of 1185 patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 2011 Nov 17;118(20):5593–603.
80. Xie M, Lu C, Wang J, McLellan MD, Johnson KJ, Wendl MC, et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat Med*. 2014 Dec;20(12):1472–8.
81. Bullinger L, Krönke J, Schön C, Radtke I, Urlbauer K, Botzenhardt U, et al. Identification of acquired copy number alterations and uniparental disomies in cytogenetically normal acute myeloid leukemia using high-resolution single-nucleotide polymorphism analysis. *Leukemia*. 2010 Feb;24(2):438–49.
82. Suela J, Alvarez S, Cigudosa JC. DNA profiling by arrayCGH in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Cytogenet Genome Res*. 2007;118(2–4):304–9.
83. Walter MJ, Payton JE, Ries RE, Shannon WD, Deshmukh H, Zhao Y, et al. Acquired copy number alterations in adult acute myeloid leukemia genomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Aug 4;106(31):12950–5.
84. August KJ, Aplenc R, Sung L, Raimondi SC, Hirsch BA, Horan JT, et al. Adolescents and Young Adults (AYA) with Acute Myeloid Leukemia (AML) Have Increased Treatment-Related Mortality with Similar Outcomes—a Report from the Children’s Oncology Group Trials AAML03P1 and AAML0531. *Am Soc Hematology*; 2014.
85. Kuwatsuka Y, Tomizawa D, Kihara R, Nagata Y, Shiba N, Iijima-Yamashita Y, et al. Prognostic value of genetic mutations in adolescent and young adults with acute myeloid leukemia. *Int J Hematol*. 2018 Feb;107(2):201–10.
86. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, Laumann K, Geyer S, Bloomfield CD, et al. Midostaurin plus chemotherapy for acute myeloid leukemia with a FLT3 mutation. *N Engl J Med*. 2017;377(5):454–464.
87. Döhner K, Schlenk RF, Habdank M, Scholl C, Rucker FG, Corbacioglu A, et al.

Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: interaction with other gene mutations. *Blood*. 2005 Dec 1;106(12):3740–6.

88. Ho PA, Kutny MA, Alonzo TA, Gerbing RB, Joaquin J, Raimondi SC, et al. Leukemic mutations in the methylation-associated genes DNMT3A and IDH2 are rare events in pediatric AML: a report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer*. 2011 Aug;57(2):204–9.
89. Renneville A, Abdelali RB, Chevret S, Nibourel O, Cheek M, Pautas C, et al. Clinical impact of gene mutations and lesions detected by SNP-array karyotyping in acute myeloid leukemia patients in the context of gemtuzumab ozogamicin treatment: results of the ALFA-0701 trial. *Oncotarget*. 2014 Feb 28;5(4):916–32.
90. Canner J, Alonzo TA, Franklin J, Freyer DR, Gamis A, Gerbing RB, et al. Differences in outcomes of newly diagnosed acute myeloid leukemia for adolescent/young adult and younger patients: A Report from the Children's Oncology Group. *Cancer*. 2013 Dec 1;119(23):4162–9.
91. Woods WG, Franklin ARK, Alonzo TA, Gerbing RB, Donohue KA, Othus M, et al. Outcome of adolescents and young adults with acute myeloid leukemia treated on COG trials compared to CALGB and SWOG trials: AYAs With AML on National Trials. *Cancer*. 2013 Dec 1;119(23):4170–9.

ANNEXES

Annexe 1 : Caractéristiques clinico-biologiques des patients AJA analysés en NGS en comparaison aux patients AJA n'ayant pas pu être analysés.

| Caractéristiques clinico-biologiques | NGS non réalisé | NGS réalisé | p |
|--------------------------------------|---------------------|---------------------|-------|
| Effectif, n | 22 | 140 | - |
| Age médian, en années | 20,7 | 18,7 | 0,217 |
| Sexe masculin, en % | 36,4 | 53,6 | 0,170 |
| Leucocyose médiane (G/L) (range) | 13,3 (1,0-165,0) | 16,4 (0,9-514,0) | 0,328 |
| CR/CRp, en % | 86,4 | 90,7 | 0,435 |
| Allogreffe en RC1, en % | 22,7 | 42,9 | 0,101 |

Cette comparaison ne montre pas de différence significative entre les deux groupes.

Annexe 2 : Comparaison du profil mutationnel des AJA selon leur protocole de traitement (pédiatrique : ELAM02 vs adultes : ALFA-0702 et CBF-2006)

| | Protocole pédiatrique | | Protocoles adultes | | p |
|----------------------------------|-----------------------|------|--------------------|------|---------------|
| | n | % | n | % | |
| <i>NPM1</i> | 7 | 11,3 | 10 | 12,8 | 1 |
| Facteurs de transcription | 16 | 25,8 | 23 | 29,5 | 0,706 |
| <i>CEBPAdm</i> | 5 | 8,1 | 7 | 9,0 | 1 |
| <i>RUNX1</i> | 5 | 8,1 | 6 | 7,7 | 1 |
| <i>GATA2</i> | 2 | 3,2 | 8 | 10,3 | 0,185 |
| <i>CEBPAsm</i> | 5 | 8,1 | 3 | 3,8 | 0,466 |
| <i>ETV6</i> | 2 | 3,2 | 1 | 1,3 | 0,584 |
| <i>GATA1</i> | 0 | 0 | 1 | 1,3 | 1 |
| Suppresseurs de tumeur | 9 | 14,5 | 16 | 20,5 | 0,384 |
| <i>WT1</i> | 7 | 11,3 | 12 | 15,4 | 0,621 |
| <i>PHF6</i> | 2 | 3,2 | 3 | 3,8 | 1 |
| <i>TP53</i> | 0 | 0 | 1 | 1,3 | 1 |
| <i>PTEN</i> | 0 | 0 | 1 | 1,3 | 1 |
| Remodelage chromatinien | 6 | 9,7 | 19 | 24,4 | 0,027* |
| <i>EZH2</i> | 0 | 0 | 5 | 6,4 | 0,066 |
| <i>ASXL1</i> | 3 | 4,8 | 8 | 10,3 | 0,346 |
| <i>BCORL1</i> | 1 | 1,6 | 3 | 3,8 | 0,63 |
| <i>BCOR</i> | 0 | 0 | 1 | 1,3 | 1 |
| <i>KMT2A-PTD</i> | 2 | 3,2 | 5 | 6,4 | 0,463 |
| Méthylation de l'ADN | 7 | 11,3 | 12 | 15,4 | 0,621 |
| <i>TET2</i> | 0 | 0 | 4 | 5,1 | 0,129 |
| <i>IDH1</i> | 2 | 3,2 | 3 | 3,8 | 1 |
| <i>IDH2</i> | 2 | 3,2 | 4 | 5,1 | 0,693 |
| <i>DNMT3A</i> | 3 | 4,8 | 4 | 5,1 | 1 |
| Spliceosome | 3 | 4,8 | 1 | 1,3 | 0,322 |
| <i>SRSF2</i> | 1 | 1,6 | 1 | 1,3 | 1 |
| <i>U2AF1</i> | 2 | 3,2 | 0 | 0 | 0,194 |
| <i>SF3B1</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| <i>ZRSR2</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| Cohésine | 4 | 6,5 | 11 | 14,1 | 0,177 |
| <i>SMC1A</i> | 0 | 0 | 3 | 3,8 | 0,254 |
| <i>SMC3</i> | 3 | 4,8 | 2 | 2,6 | 0,655 |
| <i>RAD21</i> | 1 | 1,6 | 3 | 3,8 | 0,63 |
| <i>STAG2</i> | 0 | 0 | 2 | 2,6 | 0,503 |
| <i>NIPBL</i> | 0 | 0 | 1 | 1,3 | 1 |
| Voie de signalisation | 39 | 62,9 | 48 | 61,5 | 1 |
| <i>FLT3ITD</i> | 17 | 27,4 | 12 | 15,4 | 0,095 |
| <i>FLT3TKD</i> | 7 | 11,3 | 9 | 11,5 | 1 |
| <i>KIT</i> | 5 | 8,1 | 6 | 7,7 | 1 |
| <i>NRAS</i> | 17 | 27,4 | 21 | 26,9 | 1 |
| <i>KRAS</i> | 2 | 3,2 | 10 | 12,8 | 0,066 |
| <i>PTPN11</i> | 1 | 1,6 | 3 | 3,8 | 0,63 |
| <i>JAK2</i> | 2 | 3,2 | 0 | 0 | 0,194 |
| <i>MPL</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| <i>CBL</i> | 0 | 0 | 1 | 1,3 | 1 |
| <i>SETBP1</i> | 1 | 1,6 | 1 | 1,3 | 1 |

Epigénétique : p=0,058

Annexe 3 : Caractéristiques clinico-biologiques des adolescents (15-19 ans) et des jeunes adultes (20-25 ans)

| | 15-19 ans | 20-25 ans | p |
|--|----------------------|----------------------|--------------------|
| Effectif | 83 | 57 | - |
| Hommes, nombre (%) | 48 (57,8%) | 27 (52,6%) | 0,233 |
| Age au diagnostic, médiane | 15,9 | 22,2 | <0,0001* |
| Leucocytose, médiane en G/L (range) | 15,0 (0,90-514,0) | 16,9 (1,1-230,9) | 0,934 |
| Caryotype | | | 0,251 |
| Normal | 32,5% | 35,1% | 0,856 |
| CBF | 27,7% | 19,3% | 0,317 |
| <i>KMT2A-r</i> | 6,0% | 10,5% | 0,355 |
| Complexe | 3,6% | 0% | 0,271 |
| CR/CRp, en % | 88 | 94,7 | 0,24 |
| Allogreffe en RC1, en % | 36,1% | 52,6% | 0,058 |
| CIR à 5 ans (IC95%) | 27,7% (22,4-33) | 19,3% (13,8-24,8) | 0,169 |
| OS à 5 ans (IC95%) | 69,0% (63,8-74,2) | 80,1% (74,7-85,5) | 0,153 |

Annexe 4 : Comparaison du profil mutationnel des adolescents (15-19 ans) et des jeunes adultes (20-25 ans)

| | 15-19 ans | | 20-25 ans | | p |
|----------------------------------|-----------|------|-----------|------|---------------|
| | n | % | n | % | |
| <i>NPM1</i> | 9 | 10,8 | 8 | 14,0 | 0,606 |
| Facteurs de transcription | 21 | 25,3 | 18 | 31,6 | 0,447 |
| <i>CEBPAdm</i> | 5 | 6,0 | 7 | 12,3 | 0,228 |
| <i>RUNX1</i> | 6 | 7,2 | 5 | 8,8 | 0,758 |
| <i>GATA2</i> | 3 | 3,6 | 7 | 12,3 | 0,09 |
| <i>CEBPAsm</i> | 7 | 8,4 | 1 | 1,8 | 0,142 |
| <i>ETV6</i> | 2 | 2,4 | 1 | 1,8 | 1 |
| <i>GATA1</i> | 1 | 1,2 | 0 | 0 | 1 |
| Suppresseurs de tumeur | 16 | 19,3 | 9 | 15,8 | 0,658 |
| <i>WT1</i> | 13 | 15,7 | 6 | 10,5 | 0,458 |
| <i>PHF6</i> | 3 | 3,6 | 2 | 3,5 | 1 |
| <i>TP53</i> | 0 | 0 | 1 | 1,8 | 0,407 |
| <i>PTEN</i> | 1 | 1,2 | 0 | 0 | 1 |
| Remodelage chromatinien | 9 | 10,8 | 16 | 28,1 | 0,013* |
| <i>EZH2</i> | 0 | 0 | 5 | 8,8 | 0,010* |
| <i>ASXL1</i> | 4 | 4,8 | 7 | 12,3 | 0,122 |
| <i>BCORL1</i> | 1 | 1,2 | 3 | 5,3 | 0,304 |
| <i>BCOR</i> | 1 | 1,2 | 0 | 0 | 1 |
| <i>KMT2A-PTD</i> | 4 | 4,8 | 3 | 5,3 | 1 |
| Méthylation de l'ADN | 11 | 13,3 | 8 | 14,0 | 1 |
| <i>TET2</i> | 1 | 1,2 | 3 | 5,3 | 0,304 |
| <i>IDH1</i> | 4 | 4,8 | 1 | 1,8 | 0,648 |
| <i>IDH2</i> | 3 | 3,6 | 3 | 5,3 | 0,687 |
| <i>DNMT3A</i> | 4 | 4,8 | 3 | 5,3 | 1 |
| Spliceosome | 3 | 3,6 | 1 | 1,8 | 0,646 |
| <i>SRSF2</i> | 1 | 1,2 | 1 | 1,8 | 1 |
| <i>U2AF1</i> | 2 | 2,4 | 0 | 0 | 0,514 |
| <i>SF3B1</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| <i>ZRSR2</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| Cohésine | 8 | 9,6 | 7 | 12,3 | 0,782 |
| <i>SMC1A</i> | 0 | 0 | 3 | 5,3 | 0,065 |
| <i>SMC3</i> | 4 | 4,8 | 1 | 1,8 | 0,648 |
| <i>RAD21</i> | 3 | 3,6 | 1 | 1,8 | 0,646 |
| <i>STAG2</i> | 1 | 1,2 | 1 | 1,8 | 1 |
| <i>NIPBL</i> | 0 | 0 | 1 | 1,8 | 0,407 |
| Voie de signalisation | 54 | 65,1 | 33 | 57,9 | 0,478 |
| <i>FLT3ITD</i> | 23 | 27,7 | 6 | 10,5 | 0,019* |
| <i>FLT3TKD</i> | 8 | 9,6 | 8 | 14,0 | 0,432 |
| <i>KIT</i> | 7 | 8,4 | 4 | 7,0 | 1 |
| <i>NRAS</i> | 22 | 26,5 | 16 | 28,1 | 0,849 |
| <i>KRAS</i> | 4 | 4,8 | 8 | 14,0 | 0,069 |
| <i>PTPN11</i> | 1 | 1,2 | 3 | 5,3 | 0,304 |
| <i>JAK2</i> | 2 | 2,4 | 0 | 0 | 0,514 |
| <i>MPL</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| <i>CBL</i> | 1 | 1,2 | 0 | 0 | 1 |
| <i>SETBP1</i> | 2 | 2,4 | 0 | 0 | 0,514 |

Epigénétique : p=0,022*

AUTEUR : Nom : FENWARTH

Prénom : Laurène

Date de Soutenance : jeudi 5 juillet 2018

Titre de la Thèse : Etude du profil moléculaire des leucémies aiguës myéloïdes dans la population adolescents et jeunes adultes (15-25 ans)

Thèse - Médecine - Lille 2018

Cadre de classement : Pédiatrie

DES + spécialité : DES de Pédiatrie

Mots-clés : Leucémie aiguë myéloïde – AJA – Séquençage NGS – Mutations

Résumé :

Contexte : Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) constituent un groupe hétérogène d'hémopathies malignes, dont l'incidence augmente avec l'âge. Les adolescents et jeunes adultes (AJA, 15-25 ans) constituent une population dont le profil mutationnel est mal caractérisé. L'objectif de cette étude était de définir le profil moléculaire de la population AJA.

Méthode : L'ensemble des AJA présentant une LAM de novo issus des protocoles ELAM02, CBF-2006 et ALFA-0702 ont été inclus. L'étude du profil mutationnel des AJA a été réalisée par technique de séquençage à haut débit sur des bibliothèques Haloplex™ (Agilent®) et/ou AmpliSeq™ (Thermo Fisher®).

Résultats : Un total de 140 patients a été inclus dans l'étude. Le nombre médian de mutations était de 2 par patient chez les AJA. Les mutations étaient présentes chez 84,3% des patients. Les mutations des gènes régulant les voies de signalisation étaient les plus fréquentes. En comparaison à la population pédiatrique (0-14,9 ans), les AJA avaient une charge mutationnelle plus importante ($p=0,014$). Les mutations des gènes *CEBPA*, *ASXL1*, *DNMT3A*, *KMT2A-PTD* *FLT3-ITD* ainsi que des gènes de la cohésine étaient plus fréquentes chez les AJA. La survie globale des AJA n'était pas influencée par le type de traitement (adulte vs pédiatrique) ($p=0,469$).

Conclusion : Les AJA présentent un profil cytogénétique et moléculaire s'inscrivant dans un continuum entre celui de la population pédiatrique et celui des adultes plus âgés. Les mutations sont plus fréquentes dans la population AJA, ce qui offre la possibilité de mieux stratifier cette population et ouvre la voie aux nouveaux traitements (inhibiteurs de *FLT3* notamment).

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Bruno QUESNEL

Assesseurs : Monsieur le Professeur Nicolas BOISSEL

Monsieur le Docteur Wadih ABOU CHAHLA

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Claude PREUDHOMME