

**THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 12 Octobre 2023
Par Madame Manon DESCHILDT**

**Caractérisations biologiques des leucémies aiguës myéloïdes
associées à un excès de cellules dendritiques plasmocytoïdes (LAM-pDC)
identifiées par cytométrie en flux sur une cohorte rétrospective de 2018 à 2020
au CHU de Lille.**

Membres du jury :

Présidente : Madame le Professeur Stéphanie Poulain, PU-PH, CHU Lille, Faculté de Pharmacie

Directeur, conseiller de thèse : Monsieur le Docteur Florent Dumézy, PH, CHU Lille

Assesseur : Madame le Docteur Céline Berthon, PH, CHU Lille

LISTE DES PROFESSEURS

Université de Lille

Président	Régis BORDET
Premier Vice-président	Etienne PEYRAT
Vice-présidente Formation	Christel BEAUCOURT
Vice-président Recherche	Olivier COLOT
Vice-présidente Réseaux internationaux et européens	Kathleen O'CONNOR
Vice-président Ressources humaines	Jérôme FONCEL
Directrice Générale des Services	Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen	Dominique LACROIX
Premier Vice-Doyen	Guillaume PENEL
Vice-Doyen Recherche	Éric BOULANGER
Vice-Doyen Finances et Patrimoine	Damien CUNY
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires	Sébastien D'HARANCY
Vice-Doyen RH, SI et Qualité	Hervé HUBERT
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie	Caroline LANIER
Vice-Doyen Territoires-Partenariats	Thomas MORGENROTH
Vice-Doyenne Vie de Campus	Claire PINÇON
Vice-Doyen International et Communication	Vincent SOBANSKI
Vice-Doyen étudiant	Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen	Delphine ALLORGE
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études	Benjamin BERTIN
Assesseur aux Ressources et Personnels	Stéphanie DELBAERE
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement	Anne GARAT
Assesseur à la Vie de la Faculté	Emmanuelle LIPKA
Responsable des Services	Cyrille PORTA
Représentant étudiant	Honoré GUISE

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80

Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bio inorganique	85
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87

Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédict	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86

M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87

M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81

Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bio inorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux
opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à
leurs auteurs.**

REMERCIEMENTS

A ma présidente de jury de thèse,

Madame le Professeur Stéphanie Poulain

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Laboratoire d'hématologie cellulaire

Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse. Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A mon assesseur,

Madame le Docteur Céline Berthon

Praticien Hospitalier

Service des Maladies du sang

Hôpital Claude Huriez – Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille

Vous avez aimablement accepté de participer à ce jury de thèse. Je vous remercie de l'attention que vous avez portée à ce travail. Soyez assurée de mon profond respect et de toute ma considération.

A mon directeur de thèse,

Monsieur le Docteur Florent Dumézy

Praticien Hospitalier

Laboratoire d'Hématologie cellulaire

Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille

Un grand merci tout d'abord d'avoir accepté d'encadrer ce travail. Et surtout, merci pour tous les conseils, le temps passé sur le projet, votre patience et vos encouragements. Je suis ravie d'avoir l'occasion de revenir pour les 6 prochains mois dans le service de cytométrie et de poursuivre ensemble notre travail via la rédaction de mon mémoire de DES.

Je tiens également à remercier,

Toutes les personnes qui ont participé à cette thèse.

Tout d'abord, le docteur Christophe Roumier. Merci de votre implication et de vos conseils pour l'écriture de cette thèse. Il me tarde de revenir travailler pour les 6 prochains mois dans votre secteur.

Merci au docteur Olivier Nibourel pour son temps et sa rapidité dans le traitement et la récupération de toutes ces données. Sans vous, ce travail aurait difficilement pu voir le jour.

Merci à Augustin Boudry, pour sa gentillesse, sa patience et sa disponibilité.

Merci à Wissal Chkili pour son aide en cytogénétique et ses encouragements.

Merci à mes relecteurs : Ilyès, Ludovic, Mélinda, Hervé et Flore, pour leur temps et leurs conseils.

Merci à tous les biologistes, assistants et techniciens des laboratoires de Béthune, des services de Bactériologie, de Biochimie, d'Hématologie, de Cytométrie et d'Immunologie du CHU de Lille, au secteur d'Hématologie de Lens et de Valenciennes, qui m'ont encadrée et tant appris pendant ces années d'internat.

À tous mes co-internes, Kévin, Manon P, Alexandre, Camille, Leïla, Joan, Sarah, Alan, Thomas, Chloé, Loïc, Thibault G, Amine, Thibault P, Mélinda. Merci pour ces années de stages passées à vos côtés. À toutes nos galères traversées, nos bons moments et surtout, toutes les pauses café (enfin, thé pour moi, toujours). Sans oublier mes co-internes de promotion, avec qui je n'ai malheureusement pas eu l'occasion de faire un stage mais qui m'ont accompagnée dans ces années d'internat : Madhi, Mariam, Guillaume, Ilyès.

Et plus particulièrement, merci à Fanny, Ludovic, Manon F. Sans vous, cet internat n'aurait certainement pas eu la même saveur.

A mes amis pharmaciens et leurs +1, rencontrés sur les bancs de la faculté : Adèle, Maÿlis, Virginie, Victoire, Thibault, Grégoire, Romain, Germain et Germain, accompagnés de Lucka, Thomas, Anthony, Mathilde, Lisa, Pauline. Merci d'avoir toujours été là pour moi, de m'avoir soutenue durant toutes ces années. A tous nos fous rires, nos soirées, nos sorties et nos week-ends. Je suis très heureuse de faire partie aujourd'hui de vos vies et j'espère vous avoir à mes côtés encore bien des années.

A mes amies du lycée et mes amis sudistes. Merci pour vos pensées, vos attentions et votre soutien. Mais surtout, merci pour votre motivation et votre disponibilité.

À ma grande famille recomposée,

Aux Deschildt, Nieuwjaer, Decoopman, Decool et Medez

Merci de votre soutien sans faille, depuis toujours, de votre bienveillance et de votre écoute. Vous m'avez tous accompagnée dans les différentes étapes de ma vie et cette thèse en fait partie. Je suis fière et heureuse de tous les moments que l'on a pu vivre ensemble et je ne peux m'empêcher d'avoir une pensée émue pour tous ceux qui ne sont plus avec nous.

Aux Hameau et aux Hannoir, vous qui m'avez accueillie dans votre famille à bras ouverts. Merci de votre gentillesse, de votre affection et de m'avoir toujours fait sentir comme un membre à part entière de votre famille.

Aux Marcotte-Ruffin et Fetel. Merci pour votre présence et votre soutien. Bien que nous ne nous connaissions que depuis quelques années, je suis heureuse de faire partie de vos vies.

A mon Papa, Flore (ma belle-mère préférée), mon frère et ma sœur. Merci de votre présence, de vos encouragements et de votre soutien dans tous mes choix de vie. Je suis plus qu'heureuse de la famille que nous formons aujourd'hui. Tout comme je sais à quel point vous êtes fiers de moi, je suis extrêmement fière d'être votre fille, belle-fille et grande sœur.

A ma Maman, mon premier soutien. Merci d'avoir toujours cru en moi, de m'avoir aidée, poussée, encouragée, durant toutes ces années. Merci, tout simplement, d'être celle que tu es. Je sais à quel point cette thèse est une étape symbolique pour toi. Sois fière du chemin que l'on a parcouru ensemble. En tout cas, moi, je le suis.

Et enfin, **à Félix**, mon partenaire de vie, mon plus grand supporter depuis ces 6 dernières années. Merci pour ta patience, ton soutien, ta joie de vivre et surtout, le plus important, tous tes bons petits plats. Il me tarde de continuer à vivre et grandir avec toi.

Ces quelques remerciements ne pourraient exprimer toute la gratitude que j'ai pour chacun d'entre vous. Encore une fois, merci à vous tous.

Table des matières

I.	INTRODUCTION	19
II.	LEUCEMIES AIGÜES MYELOÏDES.....	19
A.	Définition.....	19
B.	Classifications.....	20
a.	French American British System (FAB)	20
b.	OMS et ICC 2022.....	21
c.	European Leukemia Net (ELN).....	24
III.	CELLULES DENDRITIQUES PLASMOCYTOÏDES (pDC).....	25
A.	Description.....	25
a.	Cytologie.....	25
b.	Fonction.....	25
B.	Origine.....	27
C.	Marqueurs immunophénotypiques	31
D.	Découverte des AS-DC (AXL+SIGLEC6+) : vers une nouvelle classification des cellules dendritiques.....	31
E.	Facteurs transcriptionnels	34
F.	Maturation	36
IV.	HEMOPATHIES A pDC.....	38
A.	Leucémies à pDC (LpDC)	38
a.	Épidémiologie	38
b.	Clinique.....	39
c.	Biologie.....	39
1.	Cytologie.....	39
2.	Immunophénotypage	41
3.	Anatomopathologie.....	43
4.	Caryotype.....	43
5.	Biologie moléculaire	44
d.	Traitements	45
1.	Chimiothérapies.....	45
2.	Greffe de cellules souches hématopoïétiques.....	46
3.	Thérapies ciblées	46
e.	Survie.....	47
B.	LAM-pDC.....	47
a.	Épidémiologie	47
b.	Immunophénotype.....	48
c.	Biologie moléculaire	49
d.	Maturation des blastes en pDC	51
e.	Pronostic.....	52
f.	Traitements	53
C.	Comparaison immunophénotypique et mutationnel des entités pathologiques associées aux pDC	53
V.	CYTOMETRIE EN FLUX	56
A.	Principe.....	56
a.	Fluidique.....	56
b.	Optique.....	57
c.	Électronique	58
B.	Réglages	58
a.	Contrôles	58
b.	Compensation	59
VI.	OBJECTIFS	60
VII.	MATERIELS ET METHODES.....	60
A.	Cohorte.....	60
B.	Immunophénotype	60
C.	Choix du panel.....	61
D.	Protocole	62

E.	<i>Analyse assistée par l'ordinateur : FLOW-SOM</i>	62
F.	<i>Biologie moléculaire</i>	63
G.	<i>Analyse statistique</i>	63
VIII.	RESULTATS	65
A.	<i>Épidémiologie</i>	65
B.	<i>Profils immunophénotypiques des pDC des LAM-pDC</i>	65
C.	<i>Comparaison des pourcentages de pDC par détermination manuelle vs supervisée (FLOW-SOM)</i>	67
D.	<i>Profils cytogénétiques des LAM-pDC</i>	69
E.	<i>Profils mutationnels des LAM-pDC</i>	69
a.	Description	69
b.	Comparaison des profils mutationnels des LAM-pDC vs LAM	71
c.	Comparaison des profils mutationnels des LAM-pDC de notre cohorte avec la littérature	72
d.	LAM-pDC mutés RUNX1 : classification FAB et pourcentage de pDC	73
e.	LAM-pDC mutés BCOR : classification FAB et pourcentage de pDC	74
F.	<i>Pronostic</i>	76
IX.	DISCUSSION	77
A.	<i>Épidémiologie des LAM-pDC</i>	77
B.	<i>Profils immunophénotypiques des pDC des LAM-pDC</i>	77
C.	<i>Estimation de la population de pDC : méthode manuelle versus méthode assistée par</i> <i>ordinateur</i>	78
D.	<i>Profils mutationnels</i>	80
E.	<i>Pronostic</i>	81
X.	CONCLUSION	82
	ANNEXE – PROTOCOLE	84
	LISTE DES TABLEAUX	86
	TABLE DES ILLUSTRATIONS	87
	BIBLIOGRAPHIE	88

ABRÉVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
AML1	Acute myeloid leukemia 1 protein
AS-DC	AXL+SIGLEC6+ dendritic cell
BDCA	Blood dendritic cell antigen
bHLH	Basic helix-loop-helix transcription factor
BPDCN	Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm
CBF	Core binding factor
CD	Cluster de différenciation
CDC	Cellules dendritiques classiques
CMF	Cytométrie en flux
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA	Cellule présentatrice d'antigènes
CSH	Cellule souche hématopoïétique
CSL	Cellule souche leucémique
DC	Cellules dendritiques
ELN	European Leukemia Net
FAB	French American British System
FS	Forward scatter
G-CSF	Granulocyte-colony stimulating factor
GvH	Greffon versus Hôte
ICC	International Consensus Classification
IFN-1	Interféron de type 1
IL	Interleukine
LAL	Leucémie aiguë lymphoïde
LAM	Leucémie aiguë myéloïde
LAM-pDC	Leucémie aiguë myéloïde associée à un excès de cellules dendritiques plasmocytoïdes
LCS	Liquide cérébro-spinal
LIN	Lineage
LMMC	Leucémie myélomonocytaire chronique
LpDC	Leucémie à cellules dendritiques plasmocytoïdes
LT	Lymphocyte T
M-CSF	Macrophage colony stimulating factor

MNC	Cellule mononucléée
MO	Moelle osseuse
MPDCP	Mature plasmacytoid dendritic cell proliferation
MPO	Myélopéroxydase
N/C	Rapport noyau sur cytoplasme
NK	Natural Killer
OMS	Organisation mondiale de la Santé
PDC	Cellules dendritiques plasmocytoïdes
PMT	Photomultiplicateur
SMD	Syndrome myélodysplasique
SMP	Syndrome myéloprolifératif
SS	Side scatter
TCR	T cell receptor

I. Introduction

En France métropolitaine, l'incidence estimée des Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM) est de 3 428 cas en 2018. Depuis 2010, cette incidence reste stable (1). L'évolution des techniques de diagnostic, notamment la cytométrie en flux (CMF), la cytogénétique et la biologie moléculaire, permettent d'optimiser la prise en charge de ces pathologies.

Ainsi, en 2021, Xiao et al. ont mis en lumière quelques cas de LAM associées à une population de cellules retrouvées en excès : les cellules dendritiques plasmocytoïdes (pDC). Cette nouvelle entité, appelée LAM-pDC, représenterait 5% des diagnostics de LAM. Elle se distinguerait des leucémies aiguës à cellules dendritiques plasmocytoïdes (LpDC) notamment par ses caractéristiques biologiques. Cet excès de cellules dendritiques plasmocytoïdes serait associé à une mutation du gène *RUNX1* (Runt-related transcription factor 1) dans environ 70% des cas ainsi qu'à un mauvais pronostic pour le patient (2).

II. Leucémies Aiguës Myéloïdes

A. Définition

Les LAM sont des pathologies rares. Elles touchent principalement le sujet âgé, avec une moyenne d'âge de 69 ans pour l'homme et 71 ans pour la femme et concernent préférentiellement le sexe masculin (1).

Elles se caractérisent par la prolifération clonale de cellules hématopoïétiques immatures, myéloïdes, appelées blastes, du fait d'un blocage de différenciation, retrouvées dans le sang, la moelle ou d'autres tissus.

Cliniquement, on observe fréquemment une altération de l'état général avec de l'asthénie, un amaigrissement, des essoufflements, mais aussi des signes hémorragiques et/ou une susceptibilité accrue aux infections. Ces différents symptômes sont la conséquence de l'insuffisance médullaire et des différentes cytopénies (anémie, thrombopénie, leucopénie) engendrées par l'infiltration blastique de la moelle osseuse.

Le diagnostic de LAM repose sur l'examen cytologique du sang et de la moelle, complété par l'immunophénotypage des blastes en CMF et les études cytogénétiques et moléculaires (3).

Le terme LAM regroupe différentes entités avec une hétérogénéité clinique, morphologique, immunophénotypique et génétique, pouvant impliquer les différentes lignées granulocytaires, monocytaires, mégacaryocytaires et érythrocytaires (4,5).

B. Classifications

a. French American British System (FAB)

La classification internationale Franco-Américano-Britannique (6–9), établie en 1976, se base essentiellement sur des critères morphologiques et cytochimiques (myélopéroxydase et estérase) pour distinguer différents sous types de LAM. Aujourd'hui elle en compte 8, numérotés de M0 à M7 (Table 1).

LAM	Noms	Critères
0	LAM avec différenciation minimale	- Blastes > 90% dans la moelle osseuse (MO). - Myéloblastes sans granulations ni corps d'Auer. - MPO négative.
1	LAM sans maturation	- Blastes > 90% dans la MO - Myéloblastes avec quelques granulations, et/ou un corps d'Auer. - MPO positive.
2	LAM avec maturation	- Blastes : 20 – 90% dans la MO. - Myéloblastes granuleux, ont parfois un corps d'Auer volumineux. - Persistance d'une maturation granulocytaire (> 10%).

3	Leucémie aiguë promyélocytaire	- Blastes : 20 – 100% dans la MO. - Hypergranuleux, présence de corps d'Auer dits en fagots. - Forme variante hypogranuleuse, avec noyau en forme d'ailes de papillons. - MPO très positive.
4	Leucémie aiguë myélomonocytaire	- Blastes : 20 – 90% dans la MO. - Monocytose sanguine > 5 G/L ou monocytose médullaire > 20%
5	Leucémie aiguë monoblastique	- Cellules monocytaires > 80% dans la MO. - LAM 5a : peu différenciée (monoblastes). - LAM 5b : différenciée (promonocytes et monocytes).
6	Erythroleucémie	- > 50% d'érythroblastes dans la MO et > 20% de myéloblastes sur la lignée myéloïde (granulo-monocytaire). - N'existe plus dans la classification OMS 2016.
7	Leucémie aiguë mégacaryocytaire	- Blastes > 20% dans la MO. - Dont la majorité sont des mégacaryoblastes

Table 1 : Classification FAB (10)

Le diagnostic de LAM est posé, selon cette classification, lorsque le décompte de blastes au niveau de la moelle est supérieur ou égal à 20%.

b. OMS et ICC 2022

À la différence de la classification FAB, la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et la classification internationale consensuelle (ICC) prennent en compte, en plus des critères morphologiques, des critères immunophénotypiques, cytogénétiques et moléculaires (4,11).

Ainsi, dans la classification OMS présentée ci-dessous, pour certaines anomalies cytogénétiques et moléculaires, il n'existe plus de pourcentage minimal de blastes pour poser le diagnostic de LAM (Table 2).

LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes

Leucémie aiguë promyélocytaire avec PML-RARA
LAM avec fusion de RUNX1-RUNX1T1
LAM avec fusion de CBFβ-MYH11
LAM avec fusion de DEK-NUP214
LAM avec fusion de BCR-ABL1*
LAM avec réarrangement de KMT2A
LAM avec réarrangement de MECOM
LAM avec réarrangement de NUP98
LAM avec mutation de NPM1
LAM avec mutation de CEPBA*
LAM associées aux myélodysplasies
LAM avec d'autres altérations génétiques

LAM avec différenciation*

LAM avec différenciation minimale
LAM sans maturation
LAM avec maturation
Leucémie aiguë à basophiles
Leucémie aiguë myélomonocytaire
Leucémie aiguë monoblastique
Erythroleucémie pure
Leucémie aiguë mégacaryocytaire

* Le diagnostic de LAM requiert un pourcentage de blastes supérieur ou égal à 20% des cellules nucléées

Table 2 : Classification OMS 2022 (4)

Contrairement à la classification OMS 2016, on notera une disparition de la catégorie LAM avec mutation somatique de *RUNX1* (5).

L'ICC fixe son seuil minimal de blastes à 10% pour les LAM avec des anomalies cytogénétiques récurrentes. Ces deux classifications font exception pour les LAM avec fusion de *BCR::ABL* dont le seuil est fixé à 20% (Table 3)(11,12).

LAM avec anomalies cytogénétiques 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> Leucémie aiguë promyélocytaire avec PML-RARA; avec d'autres réarrangements de RARA. LAM avec t(9;11)(p21.3;q23.3)/<i>MLLT3::KMT2A</i>; avec d'autres réarrangements de <i>KMT2A</i> LAM avec t(6;9)(p22.3;q34.1)/<i>DEK::NUP214</i> LAM avec inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2)/<i>GATA2::MECOM(EVI1)</i>; LAM avec d'autres réarrangements de <i>MECOM</i> LAM avec fusion de <i>BCR::ABL1</i>* LAM muté NPM1 LAM avec mutation de CEBPA (bZIP) LAM avec d'autres translocations récurrentes
LAM mutés TP 53 (VAF > 10%)
LAM non spécifié par ailleurs, sous-typage optionnel*
LAM avec différenciation minimale LAM sans maturation LAM avec maturation Leucémie aiguë à basophiles Leucémie aiguë myélomonocytaire Leucémie aiguë monoblastique Erythroleucémie pure Leucémie aiguë mégacaryocytaire

* Le diagnostic de LAM requiert un pourcentage de blastes supérieur ou égal à 20% des cellules nucléées

Table 3 : Classification de l'ICC(11)

c. European Leukemia Net (ELN)

Outre les classifications pour le diagnostic de ces pathologies, il existe une classification à visée pronostique de l'ELN. Elle distingue trois catégories en fonction du risque génétique associé : favorable, intermédiaire et défavorable (Table 4)(13).

Risque	Anomalies génétiques
Favorable	t(8 ;21) (q22 ;q22.1)/RUNX1 ::RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) ou t(16 ;16)(p131 ;q22)/CBFB ::MYH11 Mutation NPM1 sans FLT3-ITD* CEBPA (bZIP)
Intermédiaire	Mutation NPM1 avec FLT3-ITD NPM1 sauvage avec FLT3-ITD* t(9;11)(p21.3;q23.3)/MLLT3::KMT2A Anomalies cytogénétiques non classées dans les autres groupes
Défavorable	t(6 ;9)(p23.3 ;q34.1)/DEK ::NUP214 t(v ;11q23.3)/réarrangement de KMT2A t(9 ;22)(q34.1 ;q11.2)/BCR ::ABL1 t(8 ;16)(p11.2 ;p13.3)/KAT6A ::CREBBP inv(3)(q21.3q26.2) ou t(3 ;3)(q21.3 ;q26.2)/GATA2, MECOM (EVI1) t(3q26.2 ;v)/ Réarrangement de MECOM(EVI1) -5 ou del(5q) ; -7 ; -17/ anomalie 17p Caryotype complexe, caryotype monosomal Mutation ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1 et/ou ZRSR2** Mutation TP53

Table 4 : Risques génétiques selon l'ELN 2022 (13)

* sans facteurs de risques défavorables associés

** pronostic non défavorable si anomalie favorable associée

La présence d'une mutation de *RUNX1* au diagnostic est donc un marqueur de mauvais pronostic.

III. Cellules dendritiques plasmocytoïdes (pDC)

A. Description

a. Cytologie

Décrites pour la première fois dans les années 1958 par Lennert et Remmele, les pDC ont porté plusieurs noms : « plasmocytes associées aux cellules T », puis « lymphocytes T plasmocytoïdes » (14) de par leur morphologie de plasmocytes associée à une absence d'expression des marqueurs B et leur abondance dans les organes lymphoïdes T, ou encore monocytes plasmocytoïdes (15) du fait de l'expression de marqueurs monocytaires. C'est à partir de l'année 1999 qu'elles seront dénommées pDC, identifiées comme faisant partie du groupe des cellules dendritiques (DC) (16,17).

Les pDC sont des cellules de taille moyenne, avec une chromatine peu mature, un cytoplasme basophile, et une élongation cytoplasmique, se rapprochant morphologiquement des plasmocytes (Figure 1).

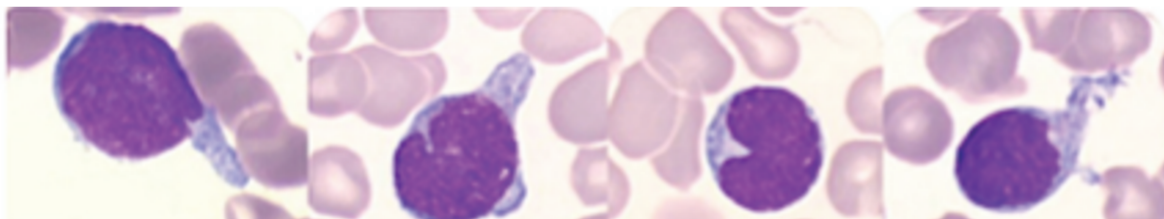


Figure 1 : Cellules dendritiques plasmocytoïdes, d'après Zalmai et al, 2021, Haematologica (18).

Dans le sang et la moelle, elles représentent physiologiquement moins de 1% des leucocytes (2,19).

b. Fonction

Les pDC sont des cellules faisant le lien entre l'immunité innée et adaptative (19,20).

Physiologiquement, les pDC sont principalement connues pour leur production d'interférons de type 1 (IFN-1). En effet, après stimulation par un agent pathogène ou le CD40L, les pDC sécrètent en 1 à 3 heures 200 à 1000 fois plus d'IFN-1 que d'autres

cellules du sang (21,22). Ces cytokines permettent de moduler la réponse pro-inflammatoire et la présentation d'antigènes.

Les pDC jouent le rôle de cellule présentatrice d'antigènes (CPA), via l'expression du Complexe d'histocompatibilité de classe 2 (CMH II) et de molécules co-stimulatrices.

De plus, elles permettent l'activation des cellules NK via la production d'IFN-1, d'interleukine 12 (IL12) et 18 (IL18).

Elles sont aussi impliquées dans le recrutement de cellules du système immunitaire via la sécrétion de différentes cytokines et dans la régulation des lymphocytes T régulateurs (Figure 2).

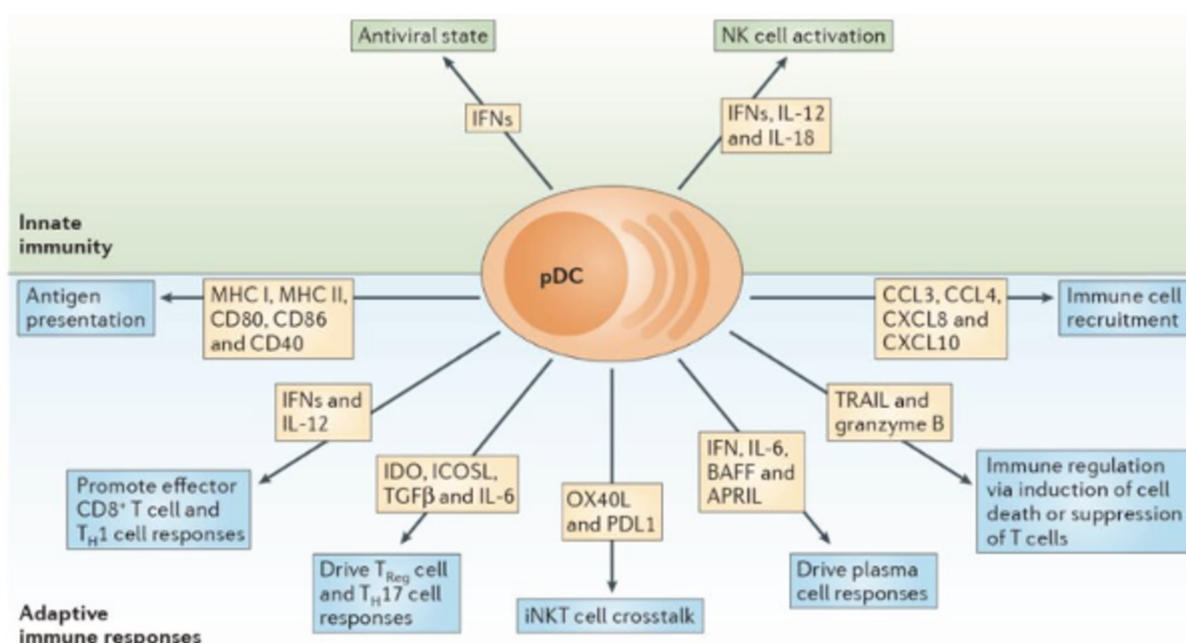


Figure 2 : Fonctions immunitaires des pDCs d'après Swiecki et Colonna, 2015, Nat Rev Immunol (20).

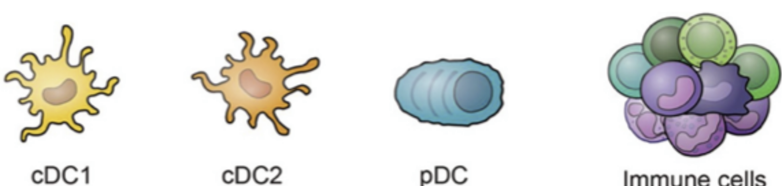
Cependant, la production d'IFN-1 peut se retrouver dans différents contextes pathologiques, notamment dans les réactions immunitaires du greffon contre l'hôte (GvH). Les pDC peuvent avoir une action pro-tumoral par activation des lymphocytes T régulateurs et ainsi induire une tolérance vis-à-vis des cellules cancéreuses (20).

B. Origine

Les pDC sont des cellules appartenant au grand groupe des cellules dendritiques. Les différentes populations de cellules dendritiques se distinguent par leurs localisations histologiques, leurs origines cellulaires, leurs capacités de migration et leurs fonctions spécifiques.

Dans un premier temps, les cellules dendritiques ont été séparées selon leur origine présumée avec d'un côté les mDC (myéloïde DC) qui auraient une origine myéloïde et de l'autre les pDC avec une origine lymphoïde (19).

Par la suite, il a été mis en évidence que l'origine lymphoïde des pDC n'était pas aussi simple et que ces cellules auraient également une origine myéloïde. En effet, les pDC présentent des marqueurs immunophénotypiques exclusifs des lignées lymphoïdes mais également des lignées myéloïdes (Figure 3).



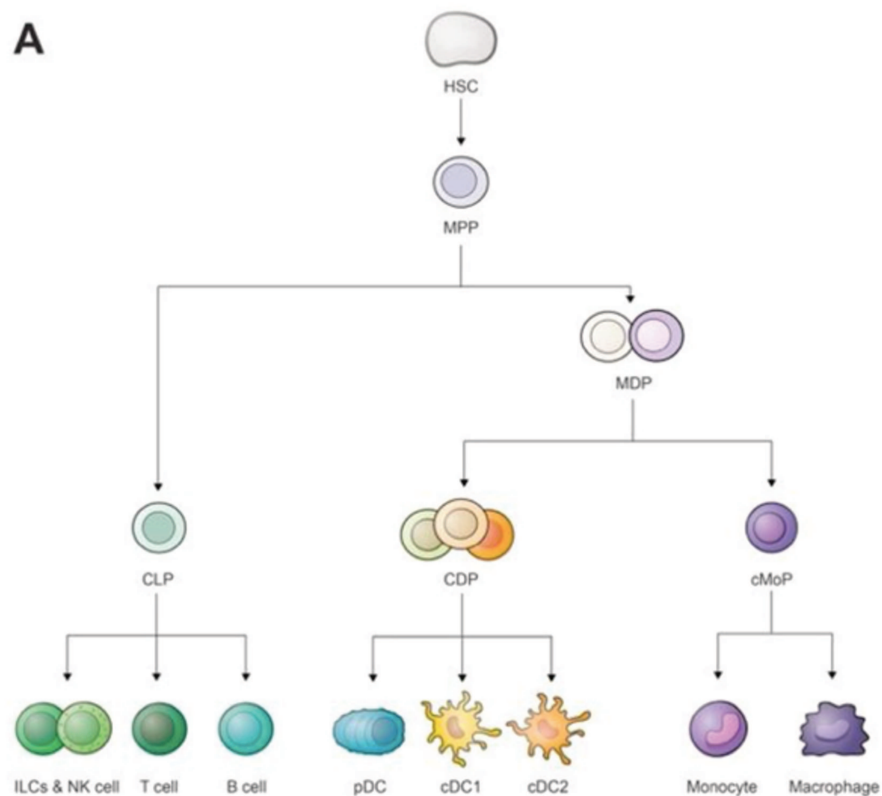
	cDC1	cDC2	pDC	Immune cells
Myeloid markers	CD11c	positive	positive	positive
	MHC-II	positive	positive	positive
	Zbtb46	positive	positive	-
	XCR1	positive	-	-
	Clec9a	positive	-	(20%) positive
	CD68	positive	-	positive
	Sirpa	-	positive	positive
	CD11b	-	positive	-
Lymphoid markers	TdT	-	-	positive
	Rag1/2	-	-	positive
	IL-7R	-	-	positive
	Ly6D	-	-	positive
	Ly6A/E	-	-	positive
	B220	-	-	positive
	CD45RA	-	-	positive

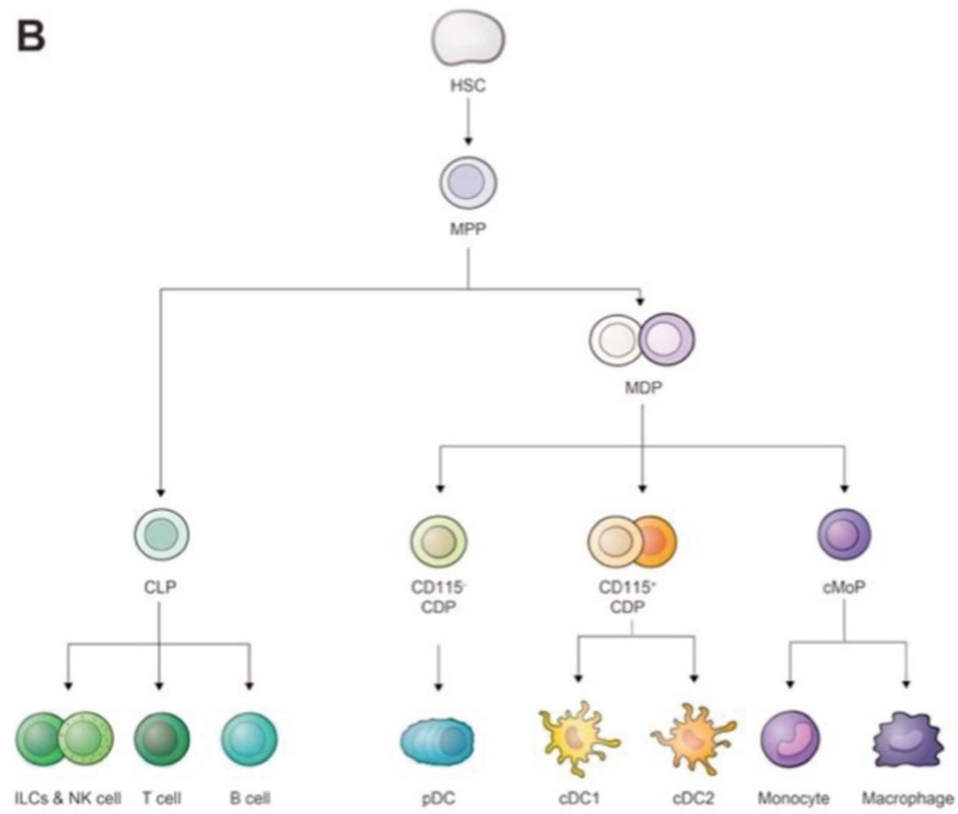
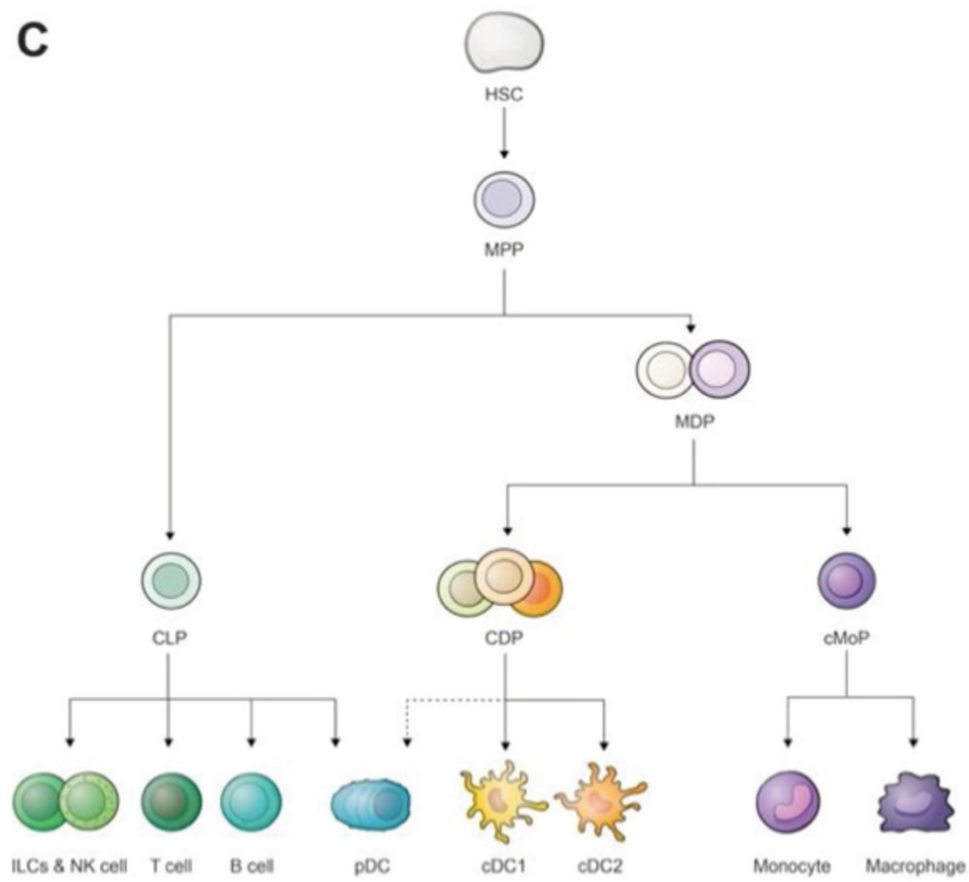
Figure 3 : Marqueurs génétiques myéloïdes et lymphoïdes des cDC et pDC d'après Rodrigues et Tussiwand, 2020, Mol Immunol (23).

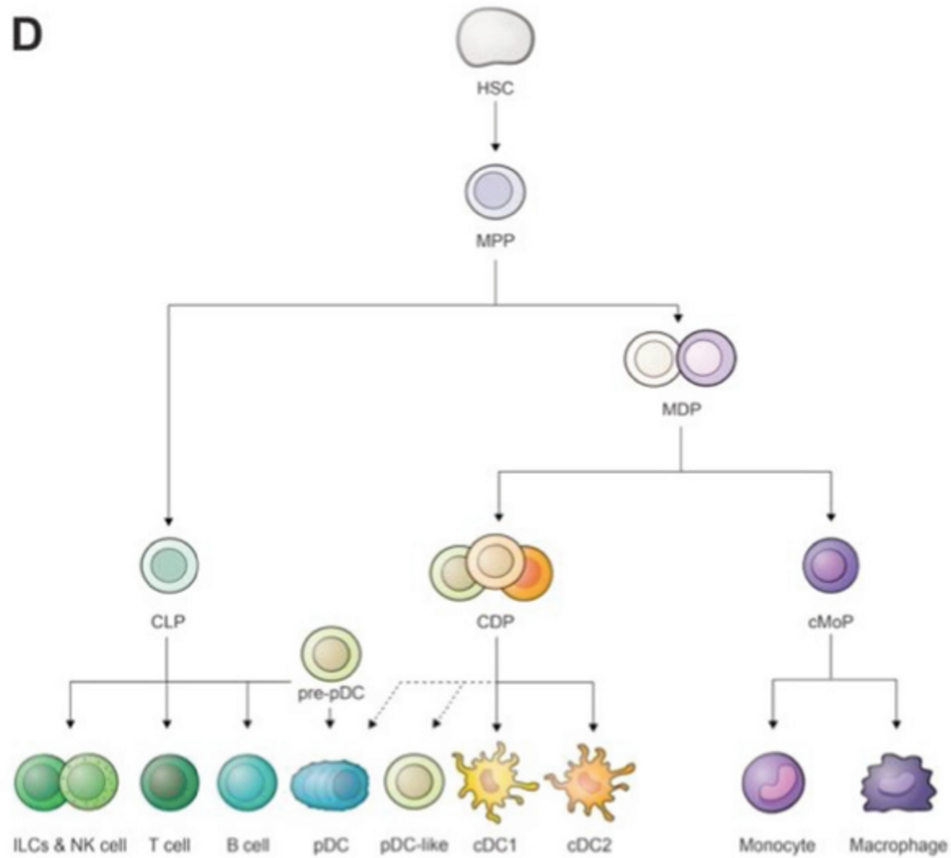
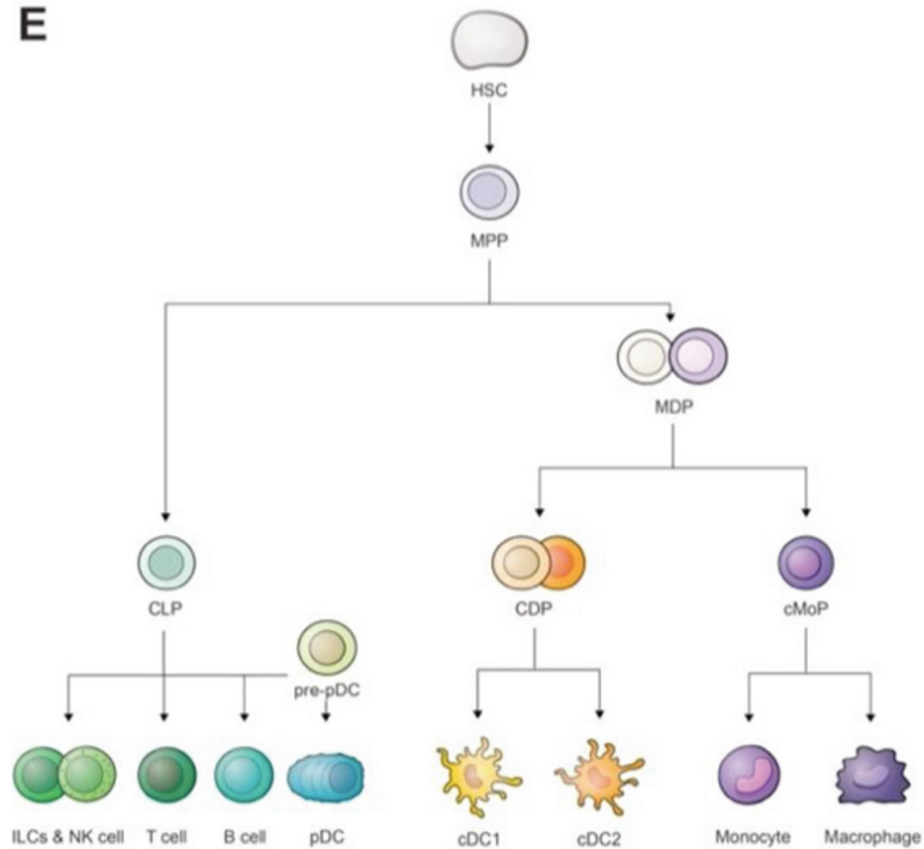
De ce fait, aujourd'hui, les mDC sont plus couramment appelés cDC pour cellules dendritiques « classiques ».

L'origine des pDC est donc très discutée (19,20,24). Différents modèles sont proposés (Figure 4) :

- Origine myéloïde exclusive avec un progéniteur commun entre pDC et cDC, plus ou moins précoce dans leurs différenciations. Ce dernier, appelé CDP, exprime différents clusters de différenciation (CD) dont le CD135 (FLT3), le CD115 (M-CSFR) et le CD117 (C-Kit). La différenciation entre cDC et pDC serait dépendante des facteurs transcriptionnels *ID2* pour les cDC et *TCF4* (*E2-2*) pour les pDC.
- Une partie des pDC serait d'origine myéloïde et l'autre lymphoïde. En effet, les pDC peuvent activer des programmes génétiques spécifiques aux cellules lymphoïdes tels que des réarrangements non productifs des gènes de l'immunoglobuline ou du TCR, ou encore l'expression du récepteur alpha des cellules pré-T (25).
- Origine lymphoïde exclusive.



B**C**

D**E**

A (Naik et al, 2007) et B (Onai et al, 2013) : origine myéloïde

C (Herman et al, 2018) et D (Rodrigues et al, 2018) : origine myéloïde et lymphoïde

E (Dress, 2019) : origine lymphoïde.

Figure 4 : Différents modèles de différenciation des pDC, d'après Rodrigues et Tussiwand, 2020, Mol Immunol (23)

C. Marqueurs immunophénotypiques

Les DC constituent un groupe de cellules très hétérogènes. Leur caractérisation est très complexe : les DC retrouvées notamment chez le modèle murin n'expriment pas les mêmes marqueurs immunophénotypiques que celles retrouvées chez l'homme.

Chez l'homme, nous savons que ces cellules n'expriment pas les marqueurs forts des lignées myéloïdes et lymphoïdes comme la myéloperoxydase (MPO), le CD19, le CD3, le CD14 et le CD16 : elles sont caractérisées comme Lin-, bien qu'une expression faible de certains marqueurs soit possible, comme pour le CD33. Les pDC sont réputées pour exprimer le HLA DR, le CD4, et notamment le CD123 avec une intensité bien plus importante que les monocytes « immatures », permettant ainsi une première identification (19).

Des marqueurs immunophénotypiques particuliers, les « Blood Dendritic Cell Antigen » (BDCA), permettent de distinguer les pDC des cDC1 et cDC2. Pour les pDC, on retrouve l'expression de BDCA2 (CD303) correspondant à une lectine C codée par le gène *CLEC4C*, et l'expression de BDCA4 (CD304) correspondant à une neuropiline 1 codée par le gène *NRP1* (26).

En plus de ces marqueurs permettant l'identification des pDC, on peut retrouver d'autres marqueurs en fonction de leurs maturités et de leurs conditions d'activation, comme le CD33 par exemple. De plus, Matsui et al. décrivent une sous-population de pDC exprimant fortement le CD2 et qui, pour une partie d'entre eux, expriment le CD56, associé normalement aux pDC retrouvées dans les leucémies à pDC (27,28). Cependant, de nouvelles données remettent en question la dénomination de pDC concernant cette population CD2+.

D. Découverte des AS-DC (AXL+SIGLEC6+) : vers une nouvelle classification des cellules dendritiques

Bien que clairement démontrées comme étant deux entités distinctes, il existerait une certaine plasticité entre les cDC et les pDC (17,27,28). Pourtant, de récentes études remettent en cause ce postulat.

En effet, en 2017, Villani et al., mettent en évidence par séquençage ARN haut débit de cellules uniques (single cell RNA-seq) une nouvelle catégorie de DC, les AS-DC, qui présentent des marqueurs de pDC mais également de cDC (29). D'un point de vue immunophénotypique, elles expriment notamment le CD123 et le CD11c.

Cette nouvelle distinction est à prendre en compte dans les études concernant l'origine des pDC et les pathologies dans lesquelles elles sont associées. En effet, les AS-DC semblent être une catégorie de DC à part. Bien que présentant des caractéristiques immunophénotypiques de pDC, les AS-DC ne secrètent pas d'IFN-1, principale fonction des pDC, mais permettent l'activation des lymphocytes T. Morphologiquement, elles se rapprochent plus des cDC : noyau cérébriforme, expansions cytoplasmiques (29).

Les AS-DC seraient les pDC CD2+ identifiées comme pouvant donner des cDC. Ainsi, il est important aujourd'hui de les distinguer des pDC CD2- dits canoniques (28,29).

Ainsi, on distingue aujourd'hui 6 types de DC (Table 5).

Ancienne classification	cDC		pDC
			
	cDC CD141+	cDC CD1c+	



(par sc-RNAseq)

Nouvelle classification	cDC				AS-DC pDC non canoniques DC 5	pDC canoniques DC 6
	DC 1	DC 2	DC 3	DC 4		
Marqueurs immuno-phénotypiques principaux	CD141+	CD1c+	CD1c+	CD16+	CD123+ CD303+ AXL+SIGLEC6+ CD2+ CD1c +/-	CD123+ CD303+ CD304+ CD2-
Fonctions			Transcriptionnellement associés aux monocytes		Activation des lymphocytes T	Producteur d'interféron de type 1
Localisation	Rate Sang Ganglion				Sang Amygdale	Sang Moelle Amygdale Ganglions

Table 5 : Classification des principales cellules dendritiques d'après Villani et al, 2017(29) Science et Renosi et al, 2021 (19).

E. Facteurs transcriptionnels

Comme développé précédemment, les cellules dendritiques forment un groupe très hétérogène de cellules. Lors de leur développement, les pDC et les cDC partagent un programme transcriptionnel commun notamment via l'expression de facteur transcriptionnel comme *PU.1* et *IRF8* (Figure 5) (19,30). Cependant, ces cellules se distinguent par l'expression de facteurs de transcription comme *E2-2*, appelé également *TCF4*, et *ID2* (31). Le développement des pDC dépend de l'expression de *TCF4*, agissant avec *BCL11A*, facteur de transcription, et *MTG16* et *ZEB2*, répresseurs transcriptionnels, qui répriment *ID2*, inhibiteur de liaison à l'ADN. À l'inverse, les cDC expriment *ID2* qui répriment l'expression de *TCF4* (32–36). Les AS-DC, quant à eux, expriment *ID2* et *TCF4* (37).

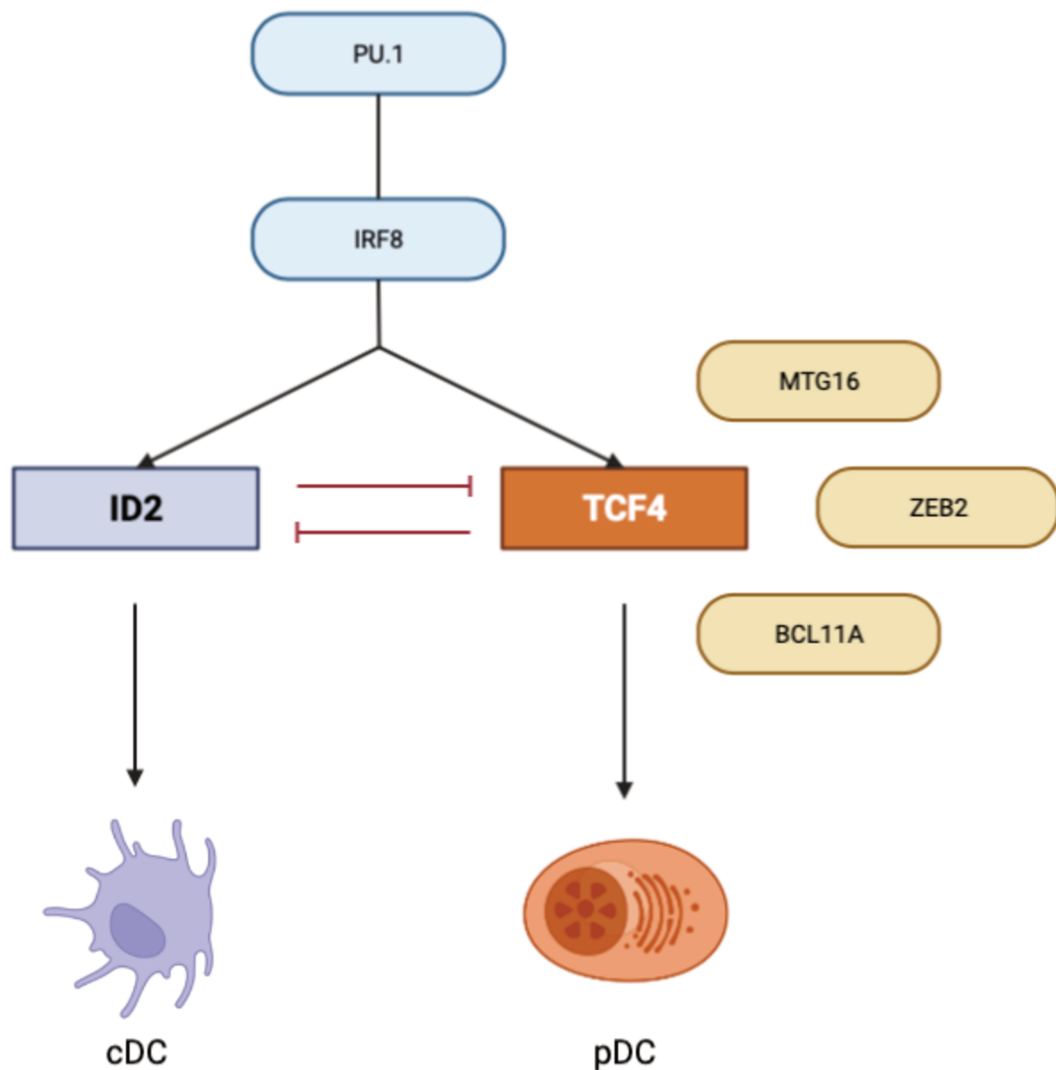


Figure 5 : Différenciation schématisée entre pDC et cDC, d'après Reizis et al. 2019, Immunity (32) et Renosi et al. 2021 (19)

Le développement des pDC nécessite un certain nombre de protéines et de facteurs transcriptionnels. Il dépend principalement de la voie de signalisation FLT3-FLT3L-STAT3 (Figure 6). Cette stimulation est nécessaire et suffisante au développement des pDC (27). La quantité du récepteur à tyrosine kinase FLT3 exprimé sur les progéniteurs multipotents est elle-même dépendante de l'expression de *PU.1* (30).

L'activation de cette voie de signalisation permet l'activation du facteur de transcription *E2-2* ou *TCF4* qui joue un rôle majeur dans le développement et la différenciation des pDC (31,38). Il fait partie de la superfamille des « basic helix-loop-helix transcriptor factor » (bHLH). *TCF4* permet l'activation de diverses protéines comme

- *Spi-B* et *IRF7*, acteurs indispensables à la différenciation des pDC, permettant la synthèse de l'IFN de type 1 (39,40). *Spi-B* joue également un rôle important dans l'activation de *RUNX2*.
- *RUNX2* permet, via la synthèse de CCR5, de CCR2 et l'inhibition de CXCR4, la sortie des pDC matures de la moelle. Une perte de *RUNX2* entraîne une accumulation des pDC matures au niveau médullaire (37,38,41). De plus, *RUNX2* active directement *IRF7* (37).

Cependant, l'activation d'*E2-2* n'est pas suffisante au développement des pDC. En effet, il est nécessaire d'avoir une action combinée d'*E2-2* et de *Spi-B*. *Spi-B* permet, tout comme *MTG16* et *ZEB2*, une inhibition d'*ID2* (31,39,42).

D'autres facteurs transcriptionnels semblent primordiaux au développement des pDC comme *IKZF1*. Une étude menée par Cytlak et al. a démontré qu'une mutation de ce gène, appartenant à la famille Ikaros, entraîne une diminution du nombre de pDC au profit de cDC (43).

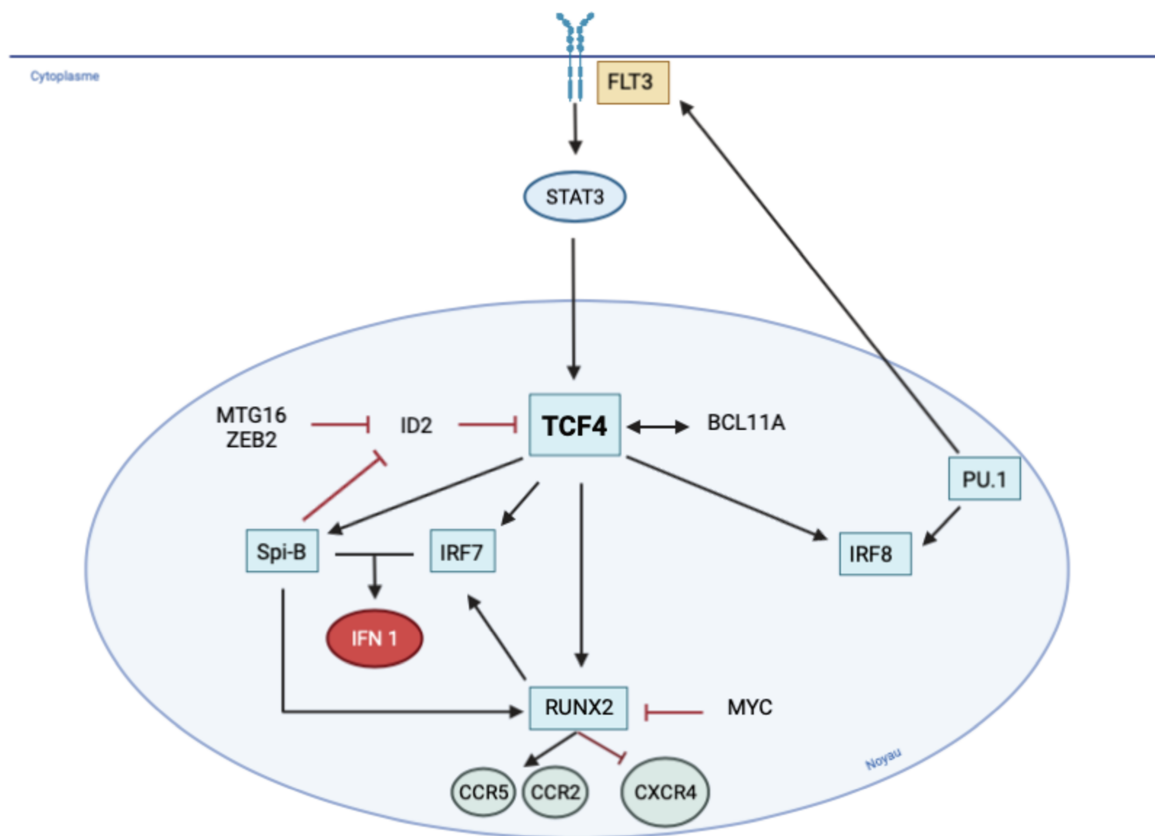


Figure 6 : Développement et différenciation des pDC, d'après Roussel et al. 2022, Cancer (37)

Outre la voie de signalisation FLT3L-FLT3-STAT3, les pDC peuvent se développer en présence de M-CSF (macrophage colony stimulating factor) (44).

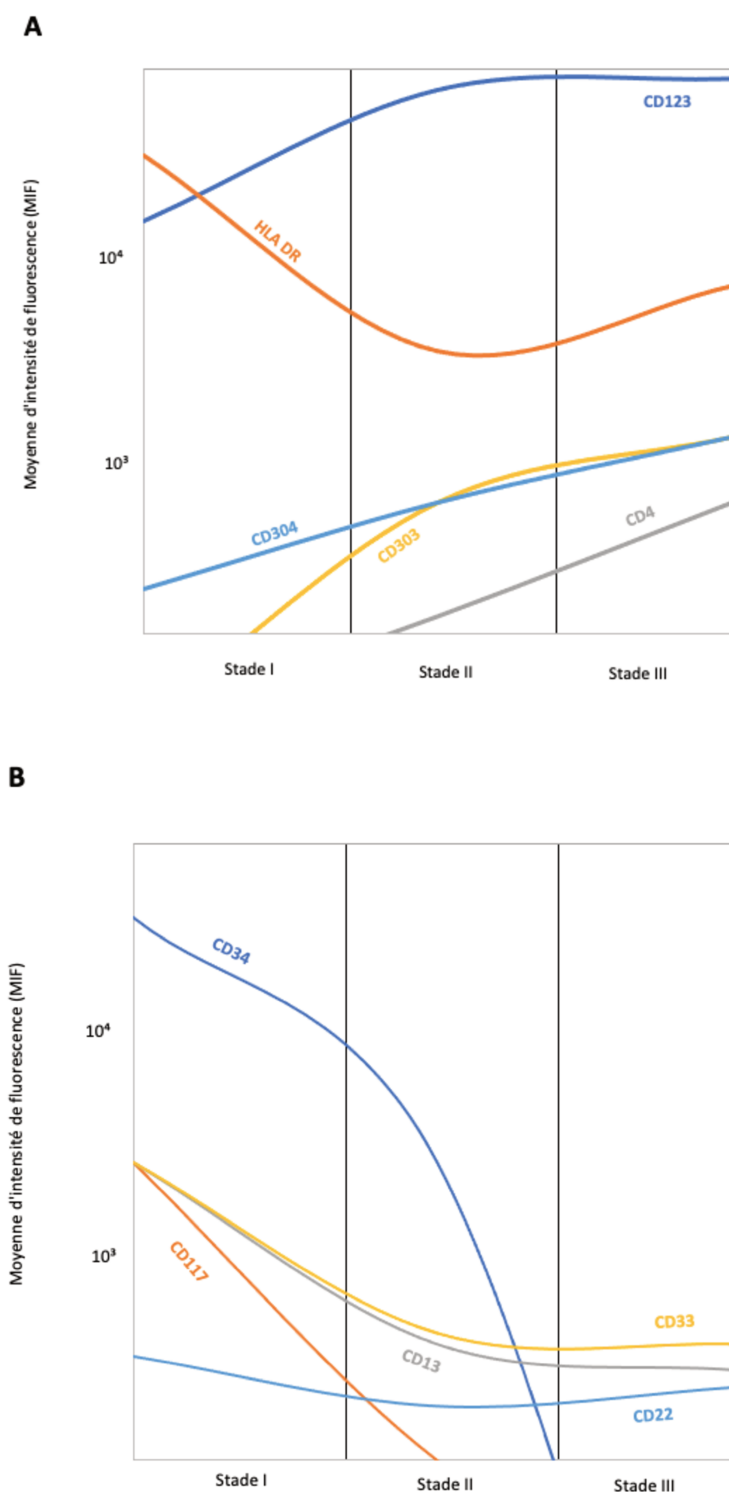
F. Maturation

Comme expliqué précédemment, l'origine des pDC n'est pas encore élucidée. Mais à l'heure actuelle, on sait qu'elles se différencient totalement dans la moelle contrairement aux cDC (45).

En 2008, Martín-Martín et al. mettent en évidence différents stades de maturation des pDC. Ils les classent donc en 3 groupes distincts : le stade I immature, le stade II intermédiaire et le stade III mature (24).

Au cours de la maturation des pDC, on observe une diminution du niveau d'expression du CD34 avec, à l'inverse, une augmentation de l'expression du CD123, CD45, CD36,

CD303 et CD304 (24,46). L'expression du CD304 semble plus précoce que celle du CD303. En effet, le CD304 est exprimé dès le stade I alors que le CD303 n'apparaît qu'au stade II. Les cellules les plus immatures peuvent exprimer des marqueurs tels que le CD116, CD117, CD33, CD13 ou le CD126 (Figure 7).



Marqueurs regroupés par : A = marqueurs pDC, B = marqueurs myéloïdes et lymphoïdes.

Figure 7 : Maturation des pDC dans la moelle, d'après Martin-Martin et al. 2009(24) et Renosi et al. 2021 (19)

Concernant le CD56, ce dernier reste négatif tout au long de la maturation. Cependant, une faible population des pDC peut l'exprimer.

Lors de cette étude, il a été montré qu'au stade I les cellules exprimaient le CD11c. Au cours de leur maturation, on observe l'apparition de deux populations dont l'une conserve l'expression du CD11c tandis que l'autre la perd. Concernant l'expression du CD303 et du CD304, marqueurs spécifiques des pDC, leur niveau d'expression reste plus faible dans la population CD11c+ par rapport à la population CD11c-.

Enfin, une partie des cellules exprimerait le CD2. Ces résultats devraient être reconsidérés suite à l'identification de nouvelles populations comme les AS-DC, détaillée précédemment.

La sécrétion d'IFN-1 ne se retrouve que dans les populations les plus matures (24).

IV. Hémopathies à pDC

La meilleure compréhension de la physiologie des pDC permet d'appréhender de mieux en mieux son versant pathologique. Depuis 2016, les Leucémies à pDC (LpDC ou BPDCN) ont leur propre catégorie dans la classification OMS. Évoquée de premier abord comme diagnostic différentiel, il faudra attendre la classification OMS de 2022 pour retrouver les Hémopathies associées à un excès de pDC (MPDCP) comprenant la Leucémie Myélo-Monocytaire Chronique (LMMC), les Syndromes Myéloprolifératifs (SMP), les Syndromes Myélodysplasiques (SMD) et les LAM (4,5).

A. Leucémies à pDC (LpDC)

a. Épidémiologie

Initialement connue sous le nom de lymphomes/leucémies NK CD4+ agranulaires ou tumeurs hémato-dermiques à cellules NK CD4+ CD56+, c'est à partir de 2008 que l'on retrouvera le terme LpDC dans la classification OMS. Elles sont, au départ, affiliées aux LAM (47,48). Il faudra attendre 2016 pour que cette hémopathie obtienne sa propre entité (5).

Les LpDC sont des pathologies rares. Elles ne représentent que 10 à 15 nouveaux cas par an en France (49). Elles touchent principalement les hommes (3:1) entre 60 et 70 ans. Cependant, toutes les catégories d'âges peuvent être concernées, même celle des enfants (48,50).

b. Clinique

Les LpDC sont des pathologies agressives avec une dissémination systémique rapide (37). Cliniquement, on retrouve principalement des lésions cutanées qui peuvent être localisées ou étendues. Souvent asymptomatiques, ces lésions peuvent apparaître sous la forme d'un « bleu », des plaques ou des nodules (48). De plus, il n'est pas rare de retrouver des lymphadénopathies associées. Certains patients présentent également des signes neurologiques : il est donc important de rechercher les blastes dans le liquide cébrospinal (LCS) au diagnostic mais également en cas de rechute (48).

c. Biologie

1. Cytologie

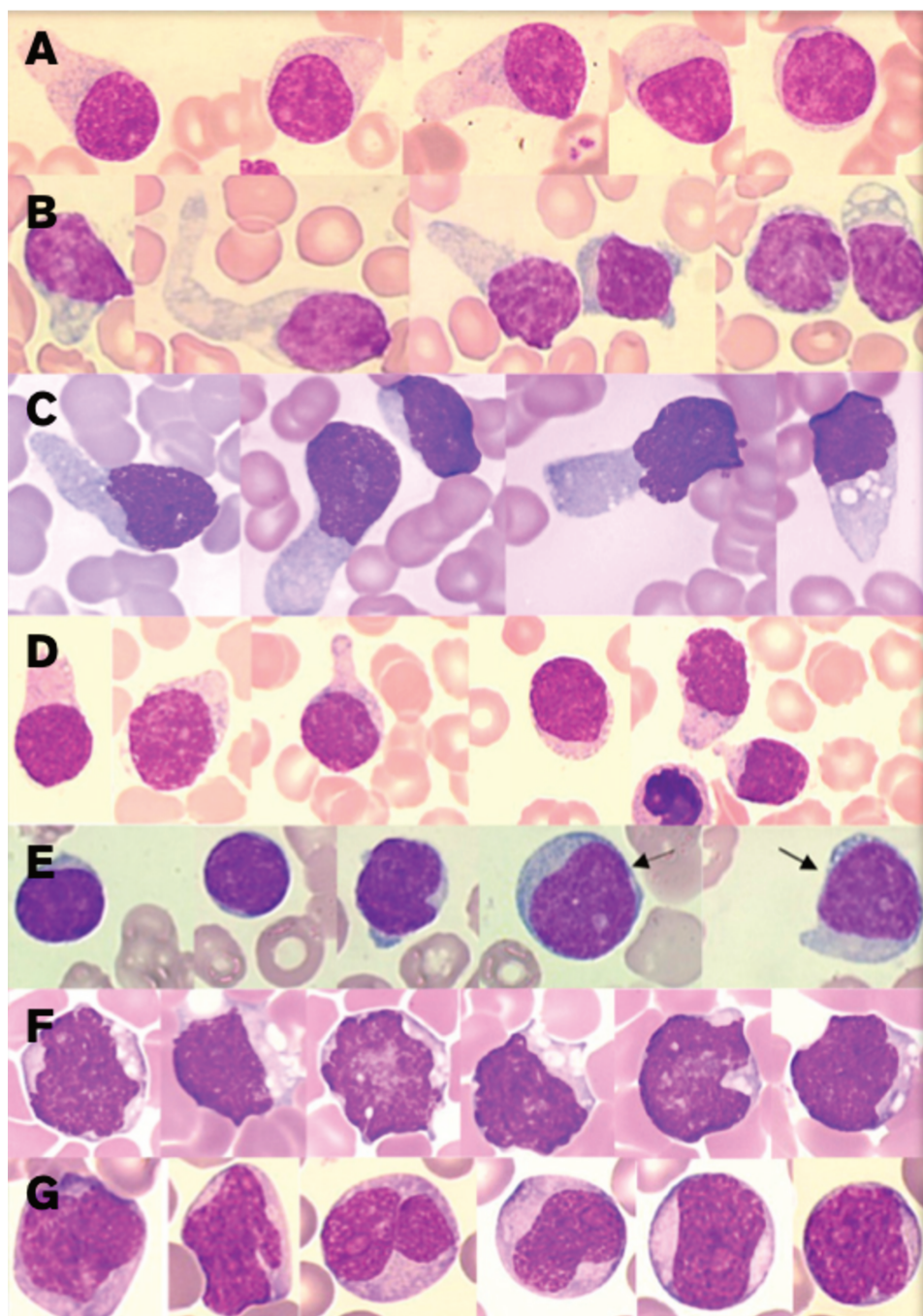
La majorité des patients présente une anémie et/ou une thrombopénie. Seulement 13% d'entre eux n'ont pas de cytopénies. Il est possible de retrouver une hyperleucocytose mais dans seulement 30% des cas. La blastose sanguine est fréquente, dans environ 2/3 des cas. Elle peut être associée à une myélémie, plus ou moins importante (49).

Au niveau de la moelle, on retrouve quasiment systématiquement un envahissement (96% des cas). Cet excès peut être associé à au moins une dysplasie de lignée, préférentiellement de lignée granulocytaire (49).

Les blastes sont des cellules de morphologie très hétérogène. Dans la majorité des cas, ils sont de taille moyenne avec un noyau plutôt rond, périphérique, qui peut parfois être irrégulier. La chromatine est généralement fine et comporte un ou plusieurs nucléoles. On retrouve un cytoplasme basophile avec souvent quelques zones grises

et de petites vacuoles. Sur certaines cellules, il est possible de constater la présence d'un pseudopode (37).

Ces cellules peuvent également présenter un aspect plus lymphoïde, avec des cellules de petites tailles et un rapport N/C élevé, ou même monocytique (Figure 8) (49).



A-D : Morphologie typique avec pseudopodes, noyau périphérique, cytoplasme basophile avec quelques zones grisées et petites vacuoles.

E : Morphologie lymphoïde.

F-G : Morphologie monocytoïde.

Figure 8 : Morphologies des blastes de LpDC, d'après Garnache-Ottou et al, 2019, Blood (49).

2. Immunophénotypage

Tout comme les pDC physiologiques, les blastes de LpDC expriment le CD4, le CD123, avec forte intensité, l'HLADR, TCL1 en intracytoplasmique, le CD304, le CD303 et le CD45RA. Cependant, leurs intensités d'expression peuvent différer.

A l'origine, les blastes de LpDC sont décrits comme CD4+, CD56+, CD123+ et Lin-. Pourtant, l'utilisation de ces marqueurs ne semble pas suffisante pour établir le diagnostic de LpDC (51).

En effet, le CD56 n'est pas un marqueur fiable. Il est décrit, dans la littérature, plusieurs cas de LpDC CD56-. L'absence de CD56 ne permet donc pas d'exclure le diagnostic de LpDC (18).

Le CD123, exprimé fortement par les pDC physiologiques mais également par les pDC des LpDC, n'est pas un marqueur spécifique. On le retrouve notamment fortement exprimé par les basophiles, dans certaines pathologies comme les LAM, les leucémies à tricholeucocytes, les mastocytoses (19,52,53).

Enfin, l'association de ces marqueurs peut être retrouvée dans d'autres LAM (54,55). Cette difficulté diagnostique ne se pose pas pour les LAM exprimant d'autres marqueurs forts de la lignée myéloïde mais plutôt dans les cas de LAM très indifférenciées ou dans les LAM monoblastiques indifférenciées. En effet, dans ces deux cas, les marqueurs de lignées sont faiblement exprimés. Il devient donc nécessaire, dans ce type de pathologie, d'utiliser des marqueurs plus spécifiques de pDC (56).

En résumé, dans la majorité des cas, les pDC des LpDC expriment le CD4, HLADR et le CD123. Le CD123 est fortement exprimé, avec une intensité plus importante que le CD123 que l'on peut retrouver dans les autres LAM (51). Le CD56 est un marqueur très fréquemment retrouvé dans les LpDC, même si son absence ne permet pas d'exclure le diagnostic. Physiologiquement, il peut être présent mais dans une très faible minorité des pDC (57).

On note une absence des marqueurs de lignées tels que le CD3 intracytoplasmique (cCD3), le CD3, le CD19, le cCD22, MPO, le CD14, le CD11c, le CD64. Cependant, il est possible de retrouver une expression de marqueurs myéloïdes comme le CD33 (le plus fréquent), le CD117, le CD13 et le CD15 et/ou lymphoïdes comme le CD7, le CD2, le CD22 (en surface mais pas en intracytoplasmique), et le cCD79a (49). Généralement, les blastes de LpDC sont CD34- (37).

Se pose donc la question de l'utilisation de marqueurs plus spécifiques des pDC. Les marqueurs BDCA-2 et BDCA-4, aussi dénommés CD303 et CD304, peuvent être utilisés pour affirmer le diagnostic. Cependant, le CD303 semble être un marqueur plus pertinent. Bien que son expression soit moins précoce et de plus faible intensité que le CD304 dans la différenciation des pDC, il a été démontré que le CD304 pouvait être retrouvé sur d'autres blastes notamment sur des monoblastes de LAM ou dans certaines LAL-B (19). Son association avec d'autres marqueurs précédemment cités en fait cependant un bon marqueur diagnostique.

Ainsi, le CD303 semble être le marqueur avec le plus fort poids diagnostique. Mais, il existe dans la littérature des cas de LpDC CD303-. Ainsi, sa négativité n'est pas un marqueur d'exclusion (51).

Avec toutes ces données, en 2009, Garnache-Ottou et al. propose un score diagnostique (Table 6).

Marqueurs	Points
CD4+, CD56+/-, CD11c-, MPO-, cCD79a-, cCD3-	1
CD123+	1
CD303+	2
CD304+	1

Table 6 : Score diagnostique de LpDC d'après Garnache-Ottou et al. 2009, Br J Haematologica (51)

Un score strictement supérieur à 2 est en faveur du diagnostic de LpDC.

À ces clusters de différenciation se rajoute l'expression de TCL1 en intracytoplasmique. L'expression de cTCL1 n'est pas un marqueur spécifique de LpDC. En effet, il peut être retrouvé de façon physiologique chez les pDC et les lymphocytes B mais également dans certaines LAM. Cependant, il est fortement exprimé dans les cas de LpDC (18,58).

Récemment, l'OMS 2022 a proposé des critères de diagnostics immunophénotypiques pour les LpDC : l'expression du CD123 et d'un autre marqueur de pDC (TCF4, cTCL1, CD303, CD304) en plus de CD4 et/ou CD56 ou l'expression de trois marqueurs de

pDC quelconques en l'absence d'expression des marqueurs CD3, CD14, CD19, CD34, Lysozyme, MPO (4).

Le diagnostic de LpDC par cytométrie en flux se fait donc en plusieurs étapes : devant l'expression des marqueurs CD4, CD56 et CD123, plus ou moins associés, avec absence des marqueurs forts des autres lignées, il est nécessaire de confirmer l'origine pDC des blastes par des marqueurs comme le CD303, le CD304, TCF4 et cTCL1.

3. Anatomopathologie

L'infiltrat cutané retrouvé dans les cas de LpDC se caractérise par une atteinte du derme et de la graisse cutanée. Typiquement, l'épiderme est épargné (48).

D'un point de vue cytologique, la morphologie des pDC peut être très variable, comme dans le sang ou la moelle. On retrouve généralement une population monotone pouvant présenter un aspect blastoïde (noyau rond, chromatine fine, nucléole proéminent) ou lymphoïde (petite taille, chromatine condensée avec un rapport nucléocytoplasmique élevé).

En immunohistochimie, on retient la nécessité d'au moins 5 marqueurs positifs parmi le CD4, CD56, TCL1, CD303, CD123, et BCL11A pour affirmer le diagnostic (19,59,60). Il est possible de mettre en évidence d'autres marqueurs comme CD2AP, SPIB, TCF4, et MX1. De plus, l'hyper-expression de BCL2 est un marqueur significatif du caractère tumoral des pDC (49).

4. Caryotype

Pour la partie cytogénétique, il n'existe pas d'anomalies spécifiques des LpDC (48). Dans plus de la moitié des cas, on retrouve cependant plus de trois anomalies au caryotype, qui sont généralement des délétions. Elles concernent principalement les chromosomes 5, 6, 9, 12,13 et 15 (49,56).

5. Biologie moléculaire

Bien qu'il soit possible de retrouver plusieurs anomalies récurrentes dans les LpDC, il n'existe à l'heure actuelle pas d'anomalie spécifique de cette pathologie (Figure 9).

Cependant, quatre gènes sont particulièrement délétés ou mutés : *IKZF1*, *RB1*, *ETV6*, et *NR3C1* (19).

On rapporte, dans 30% des cas, un réarrangement du gène *MYC*, notamment avec *RUNX2*, entraînant une surexpression de *MYC*. Cependant, cette anomalie n'est pas spécifique : elle est également retrouvée dans d'autres hémopathies comme le lymphome folliculaire (61).

Il est également possible de retrouver des réarrangements de *MYB*. Ces mutations seraient plus fréquentes chez les patients jeunes atteints de LpDC (61,62).

On retrouve assez fréquemment des altérations épigénétiques touchant les gènes impliqués dans la déméthylation de l'ADN comme *TET2*, les régulateurs épigénétiques *IDH1* et *IDH2*, ceux jouant sur l'intégrité de la chromatine par méthylation des histones (*ASXL1* et *EZH2*). Les acteurs de l'épissage comme *ZRSR2*, *SF3B1*, *SRSF2* peuvent également être mutés (19).

Enfin, les protéines de la voie RAS (*NRAS*, *KRAS*), *FLT3*, *NF-kB* et *BCL2* sont généralement surexprimées (61).

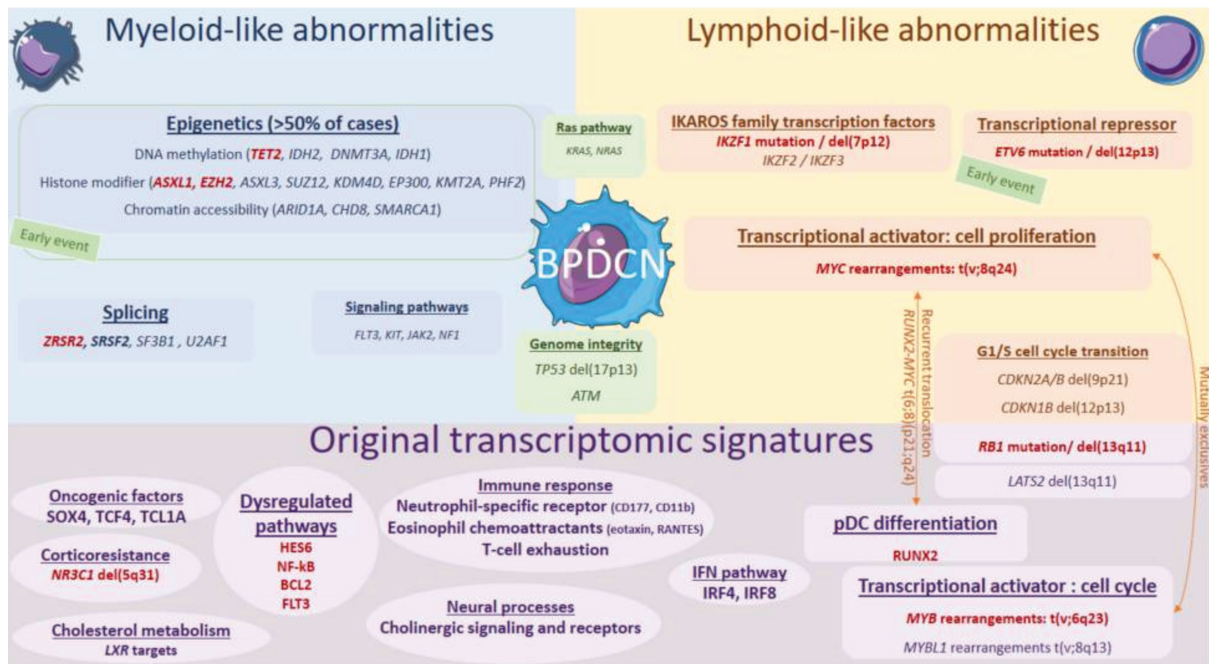


Figure 9 : Mutations retrouvées dans les LpDC, d'après Renosi et al, 2022, Cancers(61).

d. Traitements

1. Chimiothérapies

Les LpDC sont des pathologies rares, rendant la réalisation d'études thérapeutiques complexes. Actuellement, il n'existe pas de traitement standard. Il repose sur l'utilisation de chimiothérapies pour les lymphomes non hodgkiniens (LNH), les LAL ou LAM (63). Une étude française a démontré une rémission plus rapide avec les chimiothérapies de type LA (lymphoïde ou myéloïde) que celles de type LNH. De plus, il semblerait que les thérapeutiques de type LAL permettent une meilleure survie sans progression, comparées aux thérapeutiques myéloïdes (64). Une étude de phase II est en cours pour l'utilisation d'asparaginase associée au méthotrexate et à une dose d'idarubicine. En effet, l'association asparaginase/méthotrexate, mieux tolérée par les patients, ne semble pas montrer de différence significative de temps de rémission avec les traitements de type LA (49).

2. Greffe de cellules souches hématopoïétiques

Le seul traitement curatif reste la greffe allogénique de moelle osseuse. Cependant, face à des patients âgés de 60 et 70 ans, la greffe allogénique n'est parfois pas envisageable (48). De plus, il est nécessaire d'obtenir une rémission complète à la fin de la première ligne de traitement avant de pouvoir greffer le patient. Dans le cas contraire, la réponse aux deuxième lignes de traitements, même si cette dernière est associée à une greffe, est très faible. Dans cette cohorte française, 33% des patients allogreffés ont rechuté et sont finalement décédés de la progression de la LpDC (49). Pour les cas de patients non éligibles à l'allogreffe, la greffe de CSH autologues associée à une chimiothérapie intensive peut s'avérer être une solution seulement, d'après la même étude, les 4 patients ayant reçu une autogreffe ont rechuté (48,49).

3. Thérapies ciblées

Ces dernières années, des thérapies ciblées sont arrivées sur le marché.

On retrouve notamment une protéine de fusion, le tagraxofusp, ciblant le CD123. Ce dernier se lie à la sous-unité alpha du récepteur de l'IL3, internalisé, et inhibe la synthèse de protéine (48). Des études semblent montrer une rémission complète dans 80% des cas avec une toxicité acceptable malgré un syndrome de fuite capillaire qui demande un monitoring des patients (65). Cependant, malgré ces résultats prometteurs, la période de rémission serait inférieure à 6 mois, surtout chez les enfants (49). D'autres thérapeutiques ciblant le CD123 sont étudiées, comme l'utilisation de cellules chimériques dirigées contre le CD123 (CART cells anti CD123), un anticorps bispécifique anti-CD123/CD3 (XmAb14045), un anticorps humanisé anti-CD123 couplé à un agent alkylant de l'ADN (IMGN632) (63,66,67).

Le venetoclax, en association, notamment avec le tagraxofusp et l'azacytidine, pourrait se révéler prometteur. En effet, le venetoclax est un inhibiteur de BCL2, hautement exprimé au niveau des blastes de LpDC (63).

e. Survie

Les LpDC sont des pathologies agressives, avec un fort risque de rechute (37). En règle générale, la survie à long terme des patients n'est obtenue que lorsque ceux-ci ont eu une rémission complète après la première ligne de traitement, associée à une greffe allogénique. En absence de greffe ou de réponse à la première ligne de traitements, la survie moyenne des patients est plus faible. En effet, d'après l'étude menée par Garnache-Ottou et al. les patients ayant reçu une greffe (autologue ou allogénique) obtiennent une médiane de survie estimée à 49 mois contre 8 mois pour les patients non greffés. (49).

B. LAM-pDC

a. Épidémiologie

D'après une étude menée par l'équipe de Xiao et al. les LAM-pDC représenteraient 5% des LAM. L'excès de pDC serait défini par une population représentant plus de 2% des cellules de la moelle, avec une médiane de 7,7% (2,18).

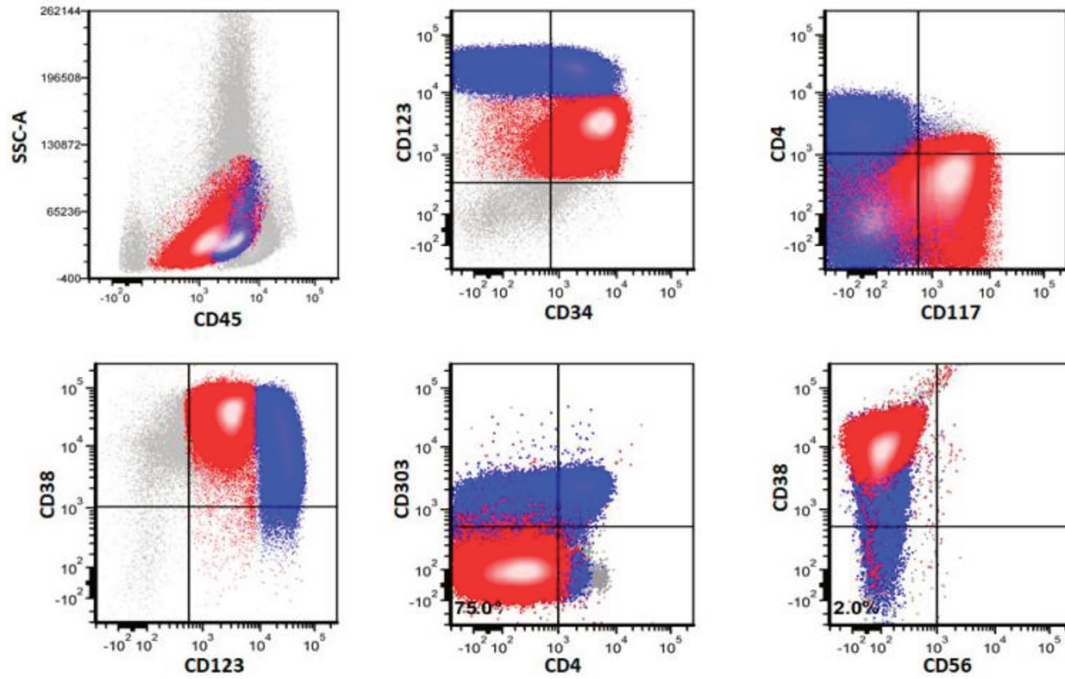
Différentes études mettent en évidence une association majeure entre la présence des pDC en excès, les mutations retrouvées et le type de LAM. En effet, dans environ 70% des cas, cet excès se retrouve associé à une mutation de *RUNX1* (78% d'après Xiao et al., 73% d'après Zalmai et al., 64% d'après Wang et al.) (2,18,68). Tous les cas de LAM-M0 associées avec un excès de pDC présentent une mutation de *RUNX1*. On retrouve également cet excès de pDC dans quelques cas de LAM myélomonocytaires (LAM M4/5 de la classification FAB) (18,58).

Tout comme les cas de LpDC, les hommes âgés sont les plus fréquemment touchés, avec un âge médian de 70 ans (18,68). L'atteinte cutanée est plus importante dans les cas de LAM-pDC que dans les autres types de LAM. Cependant, elle reste bien inférieure aux cas de LpDC (25% contre 90%) (2,18).

D'un point de vue cytologique, les hémopathies associées à un excès de pDC se caractérisent par des pDC dits matures par leur morphologie non blastique. Sur les biopsies médullaires, cet excès se présente sous la forme d'agrégats (19).

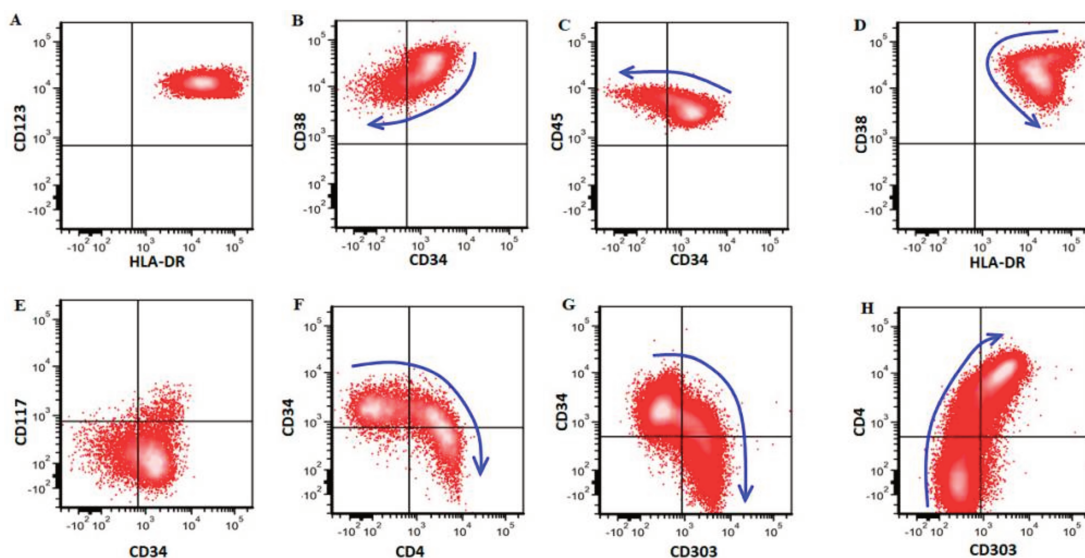
b. Immunophénotype

Dans les LAM-pDC, on retrouve une population blastique associée à un continuum de maturation des pDC (Figure 10). On peut, contrairement aux LpDC, observer les 3 stades de maturation décrits par Martín-Martín et al. (Figure 11) (19,24,68,69).



Population rouge : blastes
Population bleue : pDC

Figure 10 : Exemple de profil immunophénotypique retrouvé dans un cas de LAM-pDC, d'après Wang et al, Cancers, 2022(68).



Population rouge : pDC

Figure 11 : Schéma de maturation des pDC d'un cas de LAM-pDC, d'après Wang et al, Cancers, 2022(68).

Comme les pDC physiologiques, les pDC de LAM-pDC expriment fortement le CD123, HLA DR, le CD4, le CD36. L'expression du CD303 et du CD304 est plus variable (2,18).

Contrairement aux LpDC, les pDC des LAM-pDC n'expriment pas le CD56. Outre l'expression ou l'absence de certains marqueurs, les pDC de ces deux pathologies se distinguent par l'intensité d'expression du CD123, du CD303 et de cTCL1. En effet, dans les LpDC, le CD123 et le CD303 sont plus faiblement exprimés que dans les LAM-pDC. A contrario, cTCL1 est plus fortement exprimé (18).

Les études retrouvent différents pourcentages de LAM-pDC avec des pDC exprimant le CD34, allant de 30 à 60% (2,18). Ces différences pourraient s'expliquer par les divers stades de maturation de pDC présents dans les LAM-pDC. Les pDC les plus immatures peuvent également exprimer le CD117, le CD13 et CD33 et ont un niveau d'expression plus faible pour le CD303 (68). La présence de marqueurs lymphoïdes isolés comme le CD22, le CD7, et le CD5 suggèrent un stade pré-pDC (18).

Cet excès de pDC est plus généralement retrouvé dans les LAM immatures (LAM-M0 de la classification FAB) et myélomonocytaires (LAM M4/M5 de la classification FAB). Les blastes expriment fréquemment des marqueurs d'immaturités comme le CD34, HLADR et le CD117. On retrouve également une expression du CD123 plus importante pour les blastes de LAM-pDC que dans les autres LAM (68).

c. Biologie moléculaire

D'un point de vue cytogénétique, les anomalies retrouvées dans les LAM-pDC semblent similaires aux LAM « conventionnelles ». On note également la présence de monosomie 9, 13 ou 15. De plus, contrairement aux LpDC, les LAM-pDC ne présentent que rarement de caryotypes complexes (2).

D'un point de vue moléculaire, les deux études, françaises et américaines, mettent en évidence un lien entre LAM-pDC et mutations de *RUNX1* : dans plus de 70% des cas de LAM-pDC, on retrouve une mutation du gène *RUNX1*. Parmi ces différentes LAM, tous les cas de LAM immatures, LAM-M0, sont mutées *RUNX1*, laissant supposer un lien de causalité entre cette mutation et la pathologie. Les autres cas de LAM-pDC,

généralement des LAM myélomonocytaires, ne retrouvent pas systématiquement ces mutations, mêmes si quelques cas de LAM-M5 présentant des mutations de *RUNX1* et *FLT3-ITD* ont été décrits (2,19,70).

RUNX1, « Runt-related transcription factor 1 » ou encore appelé « acute myeloid Leukemia 1 protein » (*AML1*), est un facteur de transcription faisant partie de la famille des protéines RUNX, jouant un rôle étroit avec le core-binding factor (CBF). Il est considéré comme un élément clef de l'hématopoïèse, en permettant la régulation de la synthèse des différents gènes impliqués dans ce processus, notamment les gènes codant les récepteurs au G-CSF, IL3, MPO. Il est l'un des gènes les plus fréquemment mutés dans les pathologies hématologiques, dont les leucémies (71). En effet, il est retrouvé dans 5 à 15% des LAM, plus fréquemment chez les hommes âgés, et dans 20 à 30% des LAM-M0 (61,72). Les mutations somatiques de *RUNX1* ne font plus aujourd'hui partie de la classification OMS 2022 du fait de la trop grande hétérogénéité mutationnelle (4). Cependant, ces mutations restent, d'après la classification ELN 2022, un facteur pronostique péjoratif pour la survie des patients atteints de LAM (13).

Plusieurs mécanismes pourraient expliquer le rôle de *RUNX1* dans la prolifération des pDC des LAM-pDC :

- Xiao et al. mettent en évidence que les blastes mutés *RUNX1* favorisent un programme transcriptionnel de pDC médié par l'IFN, notamment via *IRF7*, *MX1* et *IFI35*. Ce phénomène ne concerne pas seulement les blastes de LAM-pDC mais tous les blastes de LAM mutés *RUNX1* (2).
- Les récepteurs à IL3 et au G-CSF sont les cibles transcriptionnelles de *RUNX1*, impliqués dans la différenciation des macrophages et cellules dendritiques (73).
- Enfin, l'inactivation de *RUNX1* pourrait entraîner une augmentation de l'expression des autres membres de la famille RUNX : *RUNX2* et *RUNX3*. En effet, le niveau d'expression de la famille de RUNX semble rester constant, grâce à un mécanisme compensatoire qui permet, lors de la diminution d'expression de l'un de ses membres, d'augmenter l'expression des autres (Figure 12) (71). Or, *RUNX2* est un acteur majeur de la différenciation des pDC, comme expliqué précédemment.

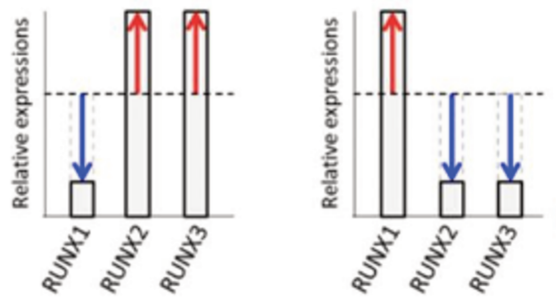


Figure 12 : Mécanismes compensatoires de la famille RUNX, d'après Kamikubo et al. Cancer Science, 2018 (71).

Les mutations de *RUNX1* retrouvées seraient principalement des mutations somatiques bialléliques. Elles s'accompagnent fréquemment d'autres mutations touchant les gènes *ASXL1* et *DNMT3A*. On peut également retrouver des mutations de *SRSF2* et *BCOR* (2,18,61).

Selon l'étude de Wang et al., la majorité des LAM-pDC non mutées *RUNX1* exprimeraient le CD2 (68). L'expression de ce marqueur immunophénotypique pourrait, à la vue des dernières découvertes sur la physiologie des pDC, supposer non pas un excès de pDC mais un excès d'AS-DC associé à la population blastique. Ainsi, l'excès d'AS-DC serait potentiellement lié à un autre mécanisme physiopathologique que la mutation du gène *RUNX1*.

d. Maturation des blastes en pDC

Lors de son étude sur les LAM-pDC, Xiao et al. constatent que les blastes et les pDC partagent les mêmes mutations. Cette découverte laisse supposer une origine commune de ces différentes cellules (2). Comme mentionné précédemment, les blastes des LAM-pDC auraient une propension intrinsèque à se différencier en pDC. En effet, après l'ajout de facteurs de croissance, les blastes de LAM-pDC mutés *RUNX1* sont capables de donner plus de pDC que les CSH de sang de cordon. De plus, les blastes mutés *RUNX1*, non associés à un excès de pDC peuvent également, dans ces conditions, donner des pDC, dans les mêmes proportions que les CSH du sang de cordon, contrairement aux LAM non mutés *RUNX1*.

Les pDC semblent ainsi faire partie du contingent leucémique, même si elles ne sont pas elles-mêmes leucémogènes, contrairement aux LpDC. Des études supplémentaires seraient nécessaires afin de déterminer l'origine précise de ces pDC : des cellules souches leucémiques, précurseur commun avec les blastes, ou directement d'une part des blastes gardant des capacités de différenciation en pDC (2,19).

e. Pronostic

La présence d'un excès de pDC dans les LAM semblerait entraîner un pronostic péjoratif pour le patient. En effet, on observerait une diminution des chances de survie au diagnostic et un risque de rechute après traitement plus important (2).

Le mécanisme physiopathologique expliquant cet impact péjoratif sur la survie et le succès de traitement n'a pas encore été élucidé. Cependant, plusieurs hypothèses ont été émises :

- Les pDC semblent participer au microenvironnement tumoral. En effet, les pDC ne sont pas seulement présentes en excès dans des contextes hématologiques : on peut retrouver un excès de pDC dans d'autres pathologies comme certains cancers solides (cancer du sein, ovarien, mélanomes). Différentes études montrent des résultats contradictoires : bien que les pDC soient décrites pour leur activité anti-tumorale, des études montrent une diminution de la survie chez les patients présentant un excès de pDC associé à une tumeur. Les pDC seraient notamment capables d'exprimer des molécules immunosuppressives de type PD-L1, ou présentent une sécrétion d'IFN altérée, favorisant le recrutement de LT régulateurs et participant à une action pro-tumorale (74). C'est notamment le cas dans le myélome multiple (75). Enfin, l'inflammation chronique entretenue par les pDC stimulerait la persistance des CSL, comme démontré dans les cas de leucémie myéloïde chronique (76).
- La présence de pDC serait le témoin de l'implication d'une cellule souche leucémique précoce ou un progéniteur multipotent comme cellule d'origine des néoplasmes myéloïdes, entraînant un pronostic plus péjoratif (77).

f. Traitements

L'étude des thérapeutiques à utiliser dans les cas de LAM-pDC est fastidieuse : les LAM-pDC sont des pathologies rares, connues depuis peu, ne permettant d'avoir que de faibles cohortes de patients. La majorité des études ne peuvent donc être que des études rétrospectives.

Comme expliqué précédemment, il paraît important de traiter les blastes mais également les pDC, faisant partie du contingent leucémique. Se pose donc la question de l'utilisation des thérapeutiques anti CD123 dans cette pathologie. Le Tagraxofusp, une protéine de fusion constituée d'IL3 couplée à une toxine diphtérique, a déjà montré son efficacité dans les cas de LpDC (48). L'utilisation de cette thérapeutique permettrait de réduire le nombre de pDC, comme démontré par Xiao et al., dans un modèle murin. De plus, les blastes des LAM-pDC expriment plus fortement le CD123. Ainsi, dans le même modèle murin, l'utilisation seule du Tagraxofusp a permis de diminuer la charge leucémique globale. Cependant, l'utilisation seule de cette thérapeutique n'est pas conseillée, ne permettant pas dans tous les cas l'obtention d'une rémission complète (2).

C. Comparaison immunophénotypique et mutationnel des entités pathologiques associées aux pDC

En résumé, d'un point de vue immunophénotypique, on retrouve dans les pDC de LpDC, de LAM-pDC et physiologiques, une expression commune des marqueurs de pDC comme l'expression forte du CD123, le HLADR, le CD4. On note cependant des variations d'intensité d'expression, notamment le CD123 et cTCL1. L'expression des marqueurs spécifiques de la lignée pDC, CD303 et CD304, peut être négative, notamment dans les LpDC. Dans la majorité des cas, on retrouve le CD56 dans les cas de LpDC, alors qu'il est exprimé par un très faible contingent des pDC physiologiques. L'expression du CD34 est possible dans les cas de LAM-pDC (Table 7).

Marqueurs	LpDC	LAM-pDC	pDC physiologiques
Lin (CD3, CD19, CD14, CD16, cMPO)	Négatif	Négatif	Négatif
CD45RA	Positif	Positif	Positif
CD123	Fort*	Fort	Fort
HLADR	Fort	Fort	Positif
CD4	Positif	Positif	Positif
CD303	Intermédiaire	Positif	Positif
CD304	Intermédiaire	Positif	Positif
CD11c	Négatif	Négatif	Négatif
CD56	Positif	Négatif	Négatif**
CD34	Négatif	Positif	Négatif
CD5	Positif/Négatif	Positif/Négatif	Négatif**
CD7	Positif/Négatif	Positif/Négatif	Négatif
CD22	Positif/Négatif	Positif/Négatif	Négatif
TdT	Positif/Négatif	Positif/Négatif	Positif
cTCL1	Fort	Intermédiaire	Négatif
nTCF4	Positif	Positif	Positif

*De plus faible intensité que les pDC de LAM-pDC et physiologiques

** Positif dans une très faible minorité de pDC

Table 7 : Comparaison immunophénotypique des entités pathologiques des pDC, d'après Roussel et al, Cancers, 2022 (37)

Concernant les marqueurs moléculaires, on retiendra la présence prédominante de mutations de *RUNX1* dans les cas de LAM-pDC, que l'on ne retrouve quasiment jamais dans les cas de LpDC. De plus, la présence de mutations pour les gènes *DNMT3A*, *BCOR*, et *FLT3*, est plus fréquente dans les LAM-pDC tandis que les mutations des gènes *TET2* et *ZRSR2* sont plutôt retrouvées dans les LpDC (Table 8) (68).

	pDC-AML	BPDCN	<i>p</i> Value
<i>RUNX1</i>	64% (34/53)	2% (1/50)	<0.0001
<i>ASXL1</i>	36% (19/53)	46% (23/50)	0.32
<i>DNMT3A</i>	32% (17/53)	10% (5/50)	0.0079
<i>SRSF2</i>	24% (12/51)	9% (3/32)	0.14
<i>BCOR</i>	24% (12/51)	0% (0/32)	0.0026
<i>NRAS</i>	23% (12/53)	10% (5/50)	0.11
<i>FLT3</i>	23% (12/53)	0% (0/50)	0.0003
<i>TET2</i>	21% (11/53)	56% (28/50)	0.0003
<i>ZRSR2</i>	2% (1/51)	16% (5/32)	0.030
<i>IKZF1</i>	2% (1/51)	9% (3/32)	0.29

Table 8 : Comparaison des profils mutationnels entre les LAM-pDC et les LpDC, d'après Wang et al, Cancers, 2022 (68)

V. Cytométrie en flux

A. Principe

La cytométrie en flux est une technique permettant la séparation des cellules ainsi que leurs analyses qualitatives et quantitatives via l'utilisation d'un flux et d'un marquage d'antigène par des anticorps couplés à des fluorochromes. Elle repose sur 3 systèmes : fluïdique, optique et électronique (Figure 13) (78).

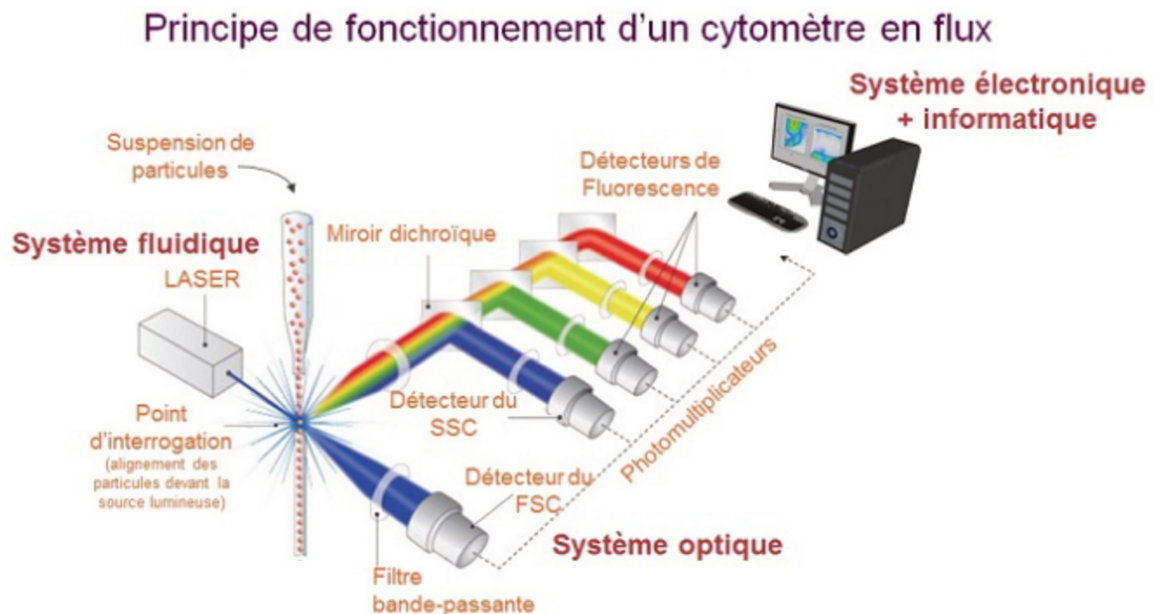


Figure 13 : Principe de fonctionnement d'un cytomètre en flux (79)

a. Fluidique

La première étape consiste à séparer les cellules afin de les faire passer une à une devant un laser. Basé sur le principe de la focalisation hydrodynamique, les cellules en suspension sont injectées dans une fine tubulure et subissent un flux laminaire, exercé par l'écoulement d'un liquide de gaine (Figure 14). Avec un diamètre de tubulure se rétrécissant, le liquide de gaine va s'accélérer, exerçant une pression qui permet d'étirer la suspension cellulaire. Ainsi, les cellules arrivent, dans la cellule d'analyse, individualisées.

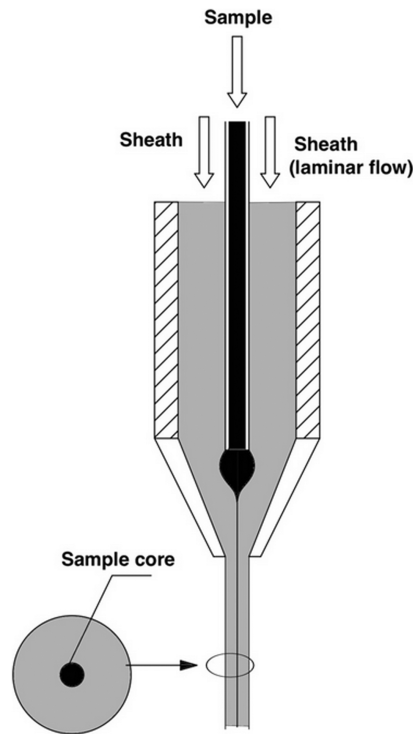


Figure 14 : Système fluide (78)

b. Optique

Une fois alignées, les cellules passent devant une source lumineuse, composée d'un ou plusieurs lasers. On retrouve des lasers violet (405 nm), bleu (488 nm) et rouge (633 nm). Un laser émet une lumière monochromatique pouvant exciter un ou plusieurs fluorochromes à une longueur d'onde donnée. En augmentant le nombre de lasers avec différentes longueurs d'ondes d'excitation, on augmente ainsi le nombre de fluorochromes excitables. Aujourd'hui, dans les laboratoires de biologie médicale, il est courant d'utiliser 8 à 13 fluorochromes en même temps, et donc d'étudier le même nombre d'antigènes.

À la suite de l'excitation du fluorochrome, en retournant à son état énergétique basal, un photon sera émis et pourra être détecté. La quantité de lumière émise est proportionnelle au nombre de fluorochromes excités et donc au nombre d'anticorps marquant les cellules.

Le laser n'a pas pour seule fonction d'exciter les différents fluorochromes. En passant devant cette source lumineuse, les cellules vont diffracter la lumière dans différentes directions. La mesure de cette diffraction en face de la source lumineuse permet de déterminer la taille de la cellule (FS = Forward Scatter), et celle réfléchie sur les côtés, sa structure (SS = Side Scatter).

Pour arriver jusqu'au système analytique, les différents rayonnements émis sont séparés par un système appelé « banc optique », constitué de filtres optiques et de miroirs dichroïques. Ainsi, un photodétecteur ou photomultiplicateur (PMT) recevra une longueur d'onde donnée, spécifique du fluorochrome utilisé et donc de l'antigène recherché.

c. Électronique

Les rayonnements émis sont détectés et amplifiés par des photomultiplicateurs. Ces derniers vont convertir la lumière en un signal électrique digital qui sera enregistré dans un fichier et qui pourra être analysé par un logiciel de cytométrie en flux. Les données ainsi recueillies pourront être retranscrites sous forme de graphiques mono ou bi-paramétriques (Figure 15).

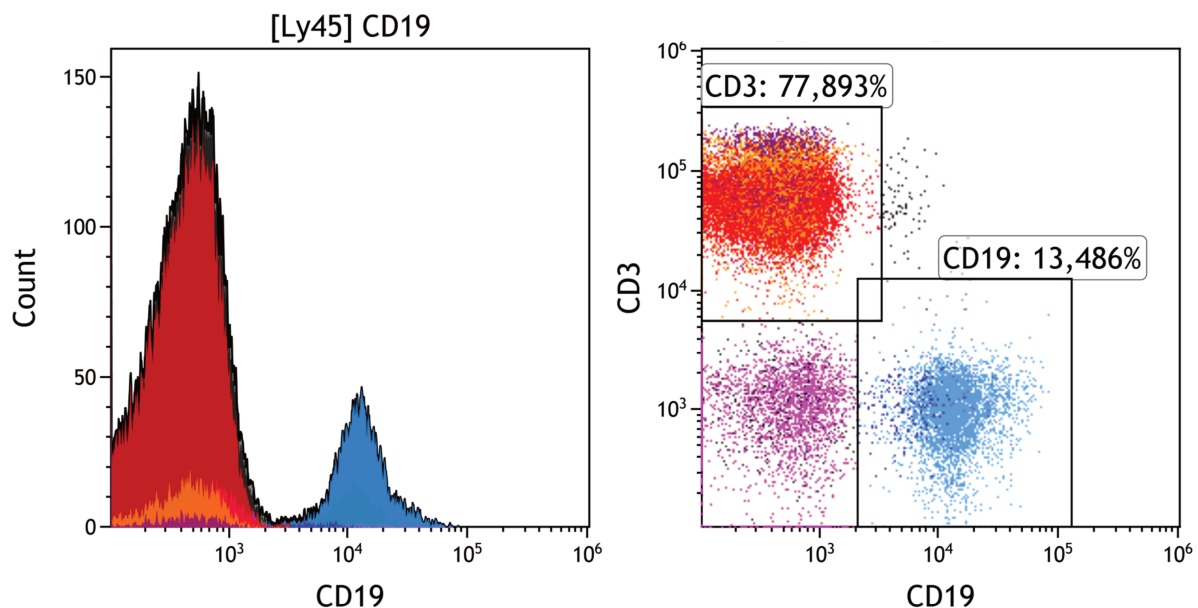


Figure 15 : Exemple de graphiques mono et bi-paramétriques, ciblé sur les lymphocytes.

B. Réglages

a. Contrôles

Avant de démarrer une série d'analyse, il est nécessaire de vérifier l'alignement des systèmes fluidiques et optiques, ainsi que la détection de la fluorescence. Ces contrôles permettent d'attester de la fiabilité technique des résultats rendus.

Pour ce faire, on utilise des billes de contrôle qualité :

- Les billes Flow-Check qui vont permettre d'ajuster et/ou de vérifier l'alignement des systèmes fluidiques et optiques.
- Les billes Flow-Set qui sont des billes avec une intensité de fluorescence connue. Elles permettent donc de vérifier quotidiennement le système de détection de la fluorescence et son intensité.

b. Compensation

Les fluorochromes utilisés en CMF ont des spectres d'émissions larges. En augmentant le nombre de paramètres à analyser et donc le nombre de fluorochromes, il est possible que leurs spectres d'émission se chevauchent, les rendant détectables par un autre photomultiplicateur et perturbant l'interprétation des résultats. Après l'acquisition des données, il est donc nécessaire de s'en affranchir.

Pour chaque fluorochrome, cette partie du spectre d'émission captée par un autre capteur est proportionnelle au pic principal du fluorochrome. Ainsi, le ratio de l'intensité de moyenne de fluorescence capté par un autre capteur sur l'intensité du pic du capteur dédié au fluorochrome est une constante qui est connue. On peut donc la soustraire mathématiquement des données récoltées. Cette soustraction sera réalisée par l'automate lui-même et/ou le logiciel d'analyse à l'aide d'une matrice de compensation.

Toutefois, il est possible que cette compensation ne soit pas systématiquement parfaite. Dans ce cas, via le logiciel d'analyse, on peut ajuster manuellement les compensations. Ces fuites de fluorescence ou imperfections de compensation seront détectées par l'apparition de flèches sur les graphiques (Figure 16).

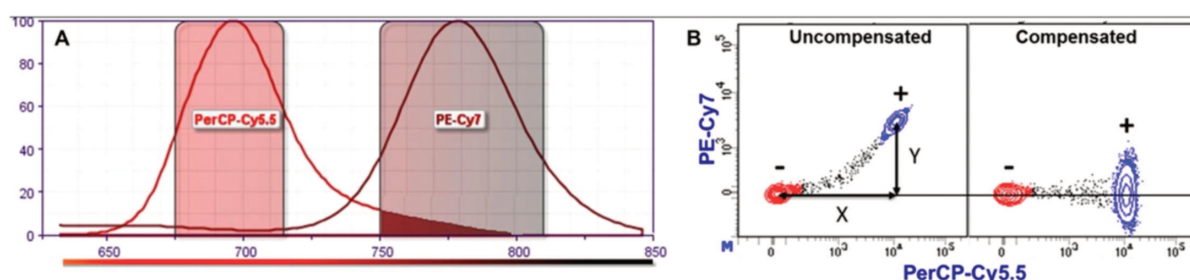


Figure 16 : Compensation (78)

VI. Objectifs

Les objectifs de ce travail de thèse ont été de déterminer la pertinence de notre protocole d'identification des pDC à partir des tubes utilisés pour le diagnostic des LAM ainsi que l'utilisation d'une méthode d'analyse assistée par ordinateur : le FLOW-SOM. De plus, nous avons cherché à confirmer, parmi la cohorte lilloise, la prévalence des LAM-pDC parmi les diagnostics de LAM, l'association à la mutation du gène RUNX1 et son caractère pronostic péjoratif.

VII. Matériels et méthodes

A. Cohorte

Rétrospectivement, 572 demandes d'immunophénotypage de leucémies aiguës myéloïdes ont été analysées, prescrites de janvier 2018 à décembre 2020 inclus. Parmi ces données patients, 17 prélèvements présentent un excès de pDC défini par une population de pDC supérieure à 2% des cellules de la moelle. Ces demandes viennent en majorité du Centre Hospitalier Universitaire de Lille, mais également d'autres centres de la région comme Lens, Dunkerque, Arras, etc. Parmi ces 572 demandes, 231 sont des diagnostics avérés de LAM. L'estimation de la proportion de pDC a pu être réalisée par méthode manuelle sur 509 prélèvements, dont 204 sont des diagnostics avérés de LAM incluant 11 cas de LAM-pDC. Les données cytogénétiques et de classification FAB étaient disponibles pour 50 prélèvements dont 9 cas de LAM-pDC.

B. Immunophénotype

Les échantillons de moelle osseuse, prélevés sur EDTA, ont été analysés, entre 2018 et 2020, par les cytomètres Navios, commercialisés par la société Beckmann Coulter. Au préalable, il fut nécessaire de réaliser une première étape de lyse cellulaire afin de s'affranchir des globules rouges. Puis, 10^6 leucocytes ont été mis en contact avec des anticorps, couplés à un fluorochrome, dirigés contre les antigènes que l'on cherche à mettre en évidence. Enfin, à la suite de cette étape de marquage, deux lavages, avec du PBS, ont été nécessaires afin d'éliminer l'excès d'anticorps, non fixé aux cellules.

Les données obtenues par les cytomètres seront converties en fichiers FCS 3.0, analysables via le logiciel Kaluza.

Les caractéristiques immunophénotypiques des pDC des LAM-pDC ont été étudiées sur les 17 prélèvements de LAM-pDC identifiés.

C. Choix du panel

Depuis 2017, les panels d'anticorps utilisés pour le diagnostic de LA ont été harmonisés au sein de l'ALFA French Group. Ainsi, dans le cadre des LAM, on retrouve un panel de tubes de combinaison antigénique permettant de détecter les antigènes retrouvés dans la majorité des LAM (Table 9). Dans certains cas de LAM, des marquages supplémentaires peuvent être réalisés.

Fluorochrome	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	AA700	AA750	Pacific blue	KO
Orientation	7	13	DR	33	38	34	56	19	117	45
Auto		2			64		10			45
CSH	90	MIX	19	123	38	34	36	45RA	117	45
Monocyte	65	4	DR	33	11b	34	36	14	117	45

MIX : CLL1, TIM3, CD97

Table 9 : Panel de diagnostic des LAM du CHU de Lille.

Dans le cadre de ce travail, il semble pertinent de détecter les pDC via l'expression du CD123, qui est forte et du CD45RA. Il a donc été choisi d'utiliser le tube CSH afin d'identifier les pDC de notre cohorte.

Une fois cette première identification faite, l'utilisation du tube monocyte permettra de confirmer la présence de marqueurs tels que HLADR et le CD4 et l'absence de marqueurs monocytaires comme le CD11b et le CD14.

D. Protocole

Après élimination des doublets et des débris, chaque population de cellules (granuleux, lymphocytes, monocytes et blastes) est identifiée par l'expression du CD45 et leur structure. Afin de s'affranchir au maximum des granuleux, le reste des conditionnements se fait seulement sur les cellules mononucléées (MNC). Notre population de pDC est premièrement identifiée en fonction de l'expression du CD45RA et du CD123. Puis, pour cette population CD123 forte, identifiée comme pDC, on regarde l'expression des autres marqueurs : CD34 et CD38, puis MIX et CD117, et enfin le CD90 et CD19. Le pourcentage de pDC est déterminé en fonction de l'expression de ces différents marqueurs (Voir le protocole d'analyse en annexe).

E. Analyse assistée par l'ordinateur : FLOW-SOM

L'algorithme FLOW-SOM est une méthode non supervisée de regroupement des cellules en fonction de leurs expressions antigéniques. Son utilisation permet la création de métaclusters avec attribution pour chacun d'entre eux de nouvelles données vectorielles. Par la suite, ces données, ajoutées à celles obtenues via l'automate, seront converties en fichier analysable par les logiciels de cytométrie en flux, permettant d'individualiser les cellules en différentes populations. Les populations produites par cette méthode d'analyse assistée par ordinateur sont ensuite identifiées par l'opérateur selon leur immunophénotype. L'apport du FLOW-SOM optimise, en théorie, la qualité de la répartition des cellules en différents groupes homogènes. Une séparation optimale des cellules permet donc, par la suite, une rapidité de réponse (absence ou présence) et une quantification plus fiable des différentes populations par rapport à une analyse manuelle.

Dans le cadre de ce travail, l'ordinateur via l'algorithme regroupe les cellules en 20 populations en fonction de l'expression des différents antigènes testés. Le même protocole d'identification des pDC que la méthode manuelle s'applique donc, bien que les populations aient été préalablement séparées en fonction de l'expression des marqueurs recherchés par l'algorithme.

F. Biologie moléculaire

Parmi les 509 dossiers où la quantification des pDC par méthode manuelle a été réalisable, nous retrouvons 204 diagnostics de LAM associés à une analyse de biologie moléculaire. Ainsi, nous notons 11 cas de LAM-pDC associés à des résultats de biologie moléculaire.

Les échantillons de biologie moléculaire ont été analysés par deux techniques de séquençage haut débit : par technique illumina (Ampliseq) et ou par pyroséquençage (Twist). Le panel de séquençage prend en compte les gènes suivants : *ASXL1* (exons 11–12), *BCOR* (exons 2–15), *BCORL1* (exons 1–12), *CALR* (exon 9), *CBL* (exons 8-9), *CSF3R* (exons 14-18), *DNMT3A* (exons 2–23), *ETV6* (exons 1–8), *EZH2* (exons 2–20), *FLT3* (exon 20), *GATA2* (exons 2–6), *IDH1* (exon 4), *IDH2* (exon 4), *JAK2* (exons 12, 14), *KIT* (exons 8–11, 17), *KRAS* (exons 2–3), *MPL* (exon 10), *NIPBL* (exons 2–47), *NPM1*, *NRAS* (exons 2–3), *PHF6* (exons 2–10), *PTPN11* (exons 3, 13), *RAD21* (exons 2–14), *RIT1* (exon 5), *RUNX1* (exons 1–6), *SF3B1* (exons 13–16), *SMC1A* (exons 1–25), *SMC3* (exons 1–29), *SRSF2* (exon 1), *STAG2* (exons 3–35), *SETBP1* (exon 4), *TET2* (exons 3–11), *TP53* (exons 3–11), *U2AF1* (exons 2, 6), *WT1* (exons 7, 9), *ZRSR2* (exons 1–11).

G. Analyse statistique

Les variables catégorielles ont été comparées les unes aux autres à l'aide du test exact de Fisher.

Un test t à deux échantillons non appariés a été appliqué afin de comparer les variables continues entre deux groupes. Lorsque les échantillons étaient de petites tailles ($n < 30$) et que les données ne suivaient pas une distribution normale, le test non paramétrique de Wilcoxon a été employé. L'évaluation de la normalité de la distribution a été effectuée à l'aide de méthodes graphiques.

Un test Z ou un test binomial exact a été utilisé pour comparer les proportions de l'échantillon à une proportion standard connue en fonction de la nature des données ($n > 30$ ou $n < 30$ respectivement).

L'OS a été calculée à partir de la date du diagnostic jusqu'à la date du décès ou du dernier suivi. L'OS a été censurée à la transplantation en RC et a été obtenue selon la méthode de Kaplan-Meier. L'hypothèse des risques proportionnels a été vérifiée à l'aide du test des résidus de Schoenfeld.

L'analyse statistique a été réalisée avec R (4.1.2). L'ensemble des tests étaient bilatéraux. La signification statistique a été définie pour une valeur de p inférieure à 0,05.

VIII. Résultats

A. Épidémiologie

Sur notre cohorte de 572 patients, nous retrouvons 17 cas de LAM-pDC comme défini par Xiao et al., avec un excès de pDC supérieur à 2%.

Sur ces 572 fichiers patients, 204 sont des diagnostics de LAM. Nous retrouvons 11 cas de LAM associées à un excès de pDC. Ainsi, sur la cohorte lilloise, les LAM-pDC représentent 5,4% des LAM.

Les hommes semblent préférentiellement touchés (7 hommes contre 4 femmes) avec un âge médian de 55 ans. Parmi les 17 cas de LAM-pDC, 4 d'entre eux ont moins de 18 ans.

En moyenne, l'excès de pDC représente 6.09% des cellules de la moelle (avec pour médiane 4.08), pouvant atteindre 15.3%.

Concernant la classification FAB des LAM associées à un excès de pDC, sur 9 prélèvements, nous retrouvons 2 cas de LAM-M0, 3 de LAM-M1 et 4 de LAM-M2.

B. Profils immunophénotypiques des pDC des LAM-pDC

Sur nos 17 prélèvements identifiés comme LAM-pDC, toutes les pDC expriment le CD123, le CD36, le CD38, le CD45RA et le Mix. 76% d'entre eux expriment le CD34 et 18% le CD117. A contrario, aucune n'exprime le CD90 ou le CD19. En plus des antigènes ciblés par le tube CSH, on retrouve une expression du HLADR et du CD4. 65% des pDC expriment le CD33, 29% le CD7 et 18% le CD13. Nous ne retrouvons pas d'expression du CD65, du CD14 et du CD11b. Pour certains prélèvements, la recherche de l'expression du CD56 a été réalisée. Ainsi, nous ne retrouvons pas d'expression du CD56 sur les pDC. Concernant les antigènes CD2, CD10 et CD64, détectés via l'utilisation du tube auto, leur expression n'a pu être déterminée pour tous les prélèvements. En effet, avec ce tube, le gating des pDC se base essentiellement sur l'expression du CD45 et de la structure, insuffisant dans certains cas pour permettre une identification optimale. Sur les prélèvements où l'analyse du tube auto a pu être réalisée, nous retrouvons une expression du CD2 dans 25% des cas et une absence d'expression du CD10 et du CD64 (Table 10).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
CD123																	
HLADR																	
CD4																	
CD45RA																	
CD45KO																	
CD36																	
CD34																	
CD38																	
CD117																	
CD90																	
MIX																	
CD19																	
CD65																	
CD33																	
CD11b																	
CD14																	
CD7																	
CD13																	
CD56																	
CD10																	
CD2																	
CD64																	

Rouge : Positif
Blanc : Négatif
Gris : Non renseigné

Table 10 : Profils immunophénotypiques des pDC des LAM-pDC

C. Comparaison des pourcentages de pDC par détermination manuelle vs supervisée (FLOW-SOM)

L'analyse des 572 fichiers de cytométrie en flux a été réalisée par deux méthodes : une méthode manuelle et une méthode assistée par ordinateur, dans le but de les comparer. Par méthode manuelle, 509 dossiers ont pu être analysés. Sur ces fichiers, nous en trouvons 21 présentant une population cellulaire estimée à plus de 2%. Sur ces 21 prélèvements, 18 ont également donné un résultat supérieur à 2% par méthode assistée par ordinateur.

Avec la méthode manuelle, nous trouvons 488 prélèvements négatifs soit 96% des cas. Par méthode assistée par ordinateur, nous notons 429 fichiers négatifs. Ainsi, 426 fichiers sont estimés comme étant négatif par les deux techniques, soit 84% des cas. Dans 12% des cas (62 fichiers), nous retrouvons une surestimation de l'estimation de la proportion de pDC. Sur ces 62 cas, 58 donnent une surestimation par contamination du métacluster par une autre population. Les 4 cas restants correspondent à des prélèvements où le taux de pDC était estimé, par méthode manuelle, entre 1,4 et 1,9%, soit proche de 2%. Sur ces 4 cas, un seul s'avère être des pDC, confirmé par la présence de marqueurs explorés dans les tubes monocyte et orientation.

Seulement 3 prélèvements présentent un excès de pDC par méthode manuelle mais non retrouvé par méthode assistée par ordinateur. 2 de ces prélèvements présentent un pourcentage de pDC proche de 2 en méthode manuelle, légèrement sous-estimé par méthode assistée par ordinateur. Le dernier fichier présente deux populations avec une différence d'intensité d'expression du CD36, classé en deux métaclusters différents (Table 11 et Figure 17).

		Méthode manuelle	
		O	N
Méthode assistée par ordinateur	O	18 (3,5%)	62 (12%)
	N	3 (0,5%)	426 (84%)

O : Présence d'un excès de pDC
N : Absence d'un excès de pDC

Table 11 : Comparaison de la présence ou non d'un excès de pDC par méthode manuelle et méthode assistée par ordinateur fonction des marqueurs du tube CSH.

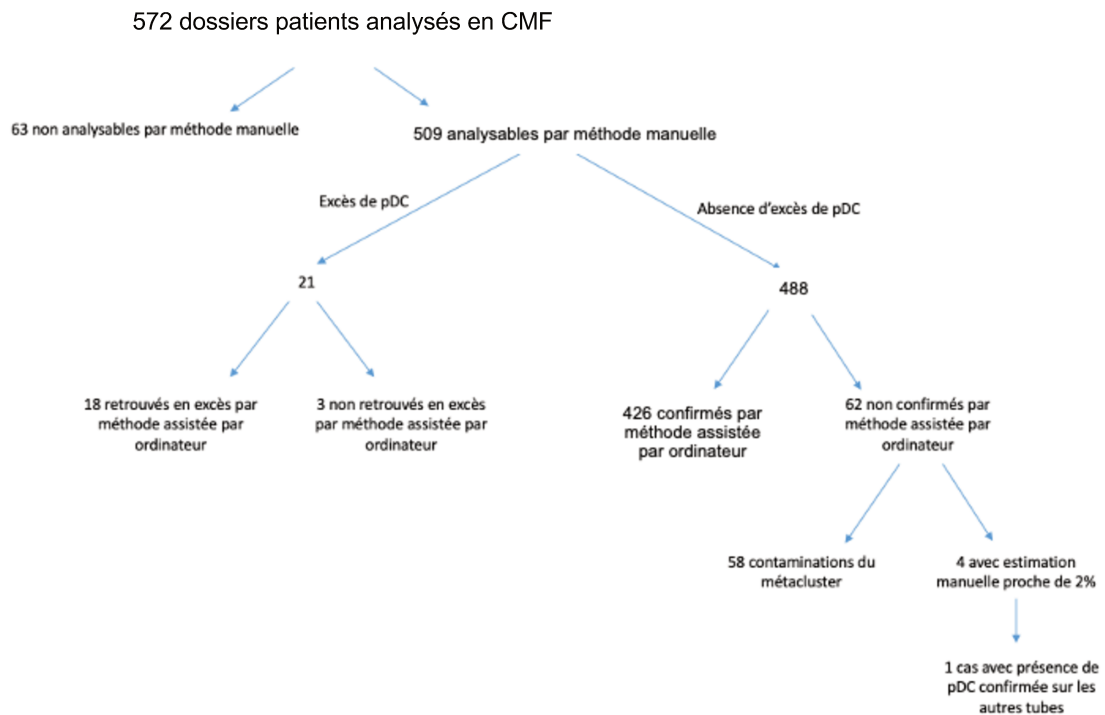


Figure 17 : Organigramme des différents fichiers analysés par méthode manuelle et assistée par ordinateur.

Ainsi, nous observons une discordance de réponse sur la présence ou non d'un excès de pDC pour 12,5% des fichiers analysés. En considérant la méthode manuelle comme la méthode de référence, la méthode assistée par ordinateur présente une valeur prédictive positive de 22,5% et une valeur prédictive négative de 99%.

Sur les 509 dossiers analysés par méthode manuelle, 21 présentent un excès de cellules exprimant les marqueurs de pDC explorés par le tube de CSH. Grâce à l'analyse des autres tubes, monocyttaire et d'orientation, 17 prélèvements ont été considérés comme LAM-pDC. Les estimations du pourcentage de pDC, lorsque ce dernier est supérieur à 2%, par ces deux méthodes d'analyse semblent corrélées ($R^2 = 0.7$, $p < 0,01$) (Figure 18).

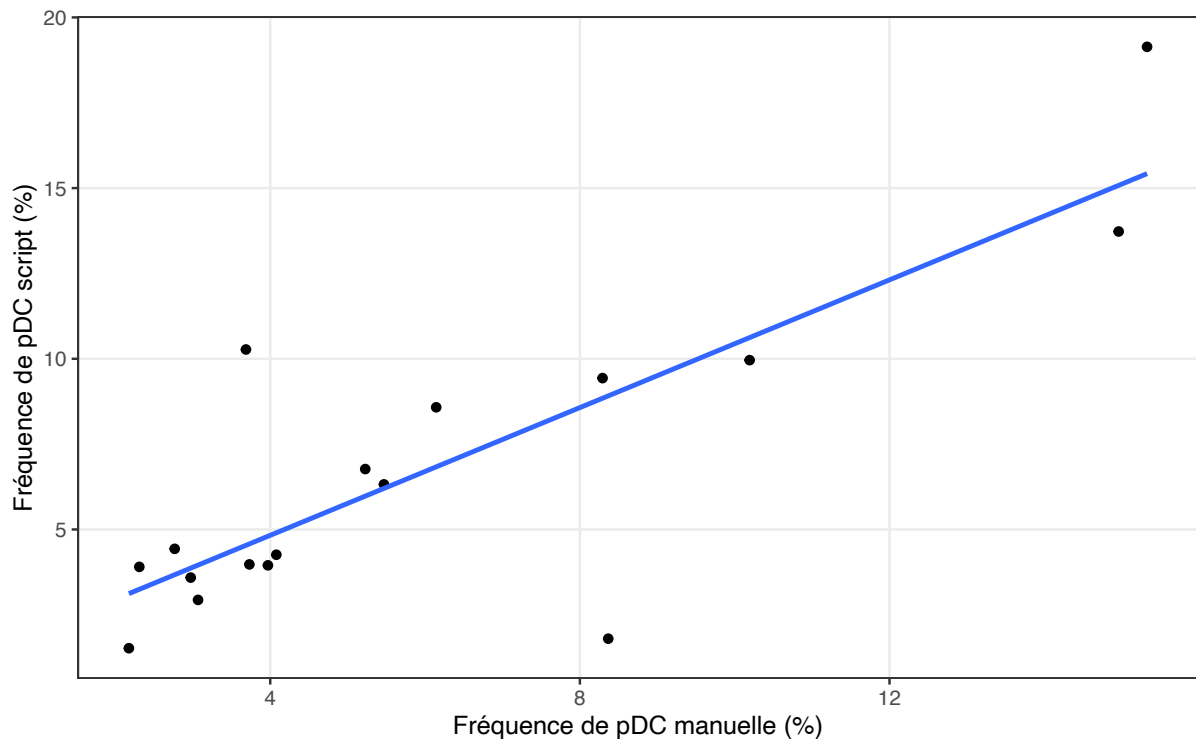


Figure 18 : Corrélation entre les pourcentages de pDC déterminés par méthode manuelle et par méthode assistée par ordinateur chez les patients LAM-pDC.

D. Profils cytogénétiques des LAM-pDC

D'un point de vue cytogénétique, sur les 9 patients atteints de LAM-pDC, nous retrouvons majoritairement une monosomie du chromosome 7 (33%). 2 patients présentent des caryotypes normaux. Nous retrouvons également une trisomie 13, 14 et une inversion du chromosome 16. Un seul patient présente un caryotype complexe.

E. Profils mutationnels des LAM-pDC

a. Description

Sur les 509 dossiers patients analysables par méthode manuelle, 204 prélèvements ont également été analysés en biologie moléculaire par séquençage haut débit, soit par technique Ampliseq et/ou Twist. Sur ces 204 diagnostics de LAM, on retrouve 11 cas de LAM-pDC (Table 12).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
RUNX1											
DNMT3A											
NRAS											
BCOR											
SRSF2											
ASXL1											
BCORL1											
CALR											
CBL											
CSF3R											
ETV6											
EZH2											
DUFLT3											
FLT3											
GATA2											
IDH1											
IDH2											
JAK2											
KIT											
KRAS											
MPL											
NIPBL											
NPM1											
PHF6											
PTPN11											
RAD21											
RIT1											
SF3B1											
SMC1A											
SMC3											
STAG2											
SETBP1											
TET2											
TP53											
U2AF1											
WT1											
ZRSR2											

Rouge : Positif
Blanc : Négatif
Gris : Non renseigné

Table 12 : Profils mutationnels des patients LAM-pDC de Lille (2018-2020)

Nous retrouvons dans 45% des cas de LAM-pDC une mutation de *RUNX1* associée. De plus, nous retrouvons des mutations de *DNMT3A* (27%), *BCOR* (27%), *NRAS* (27%), *SRSF2* (18%), *ASXL1* (18%), *BCORL1* (9%), *CBL* (18%), *U2AF1* (18%), *EZH2* (9%), *FLT3* (9%), *IDH2* (9%), *KIT* (9%), *KRAS* (9%), *MPL* (10%), *PHF6* (9%), *RAD21* (10%), *SMC1A* (9%), *SETBP1* (10%), et *TP53* (9%). Nous ne retrouvons aucune mutation pour les gènes *ETV6*, *FLT3-ITD*, *NPM1*, *TET2*, *CALR*, *CSF3R*, *GATA2*, *IDH1*, *JAK2*, *NIPBL*, *PTPN11*, *RIT1*, *SF3B1*, *SMC3*, *STAG2*, *WT1* et *ZRSR2*.

b. Comparaison des profils mutationnels des LAM-pDC vs LAM

Si l'on compare les profils mutationnels des LAM-pDC avec les LAM ne comportant pas d'excès de pDC, nous retrouvons une différence significative des mutations de *RUNX1* et *BCOR* ($p = 0,02$ et $p = 0,04$ respectivement). En effet, nous retrouvons une fréquence de mutation de 45,45% (5/11) de *RUNX1* pour les LAM-pDC contre 13,91% (27/194) pour les LAM et de 27,27% (3/11) contre 6,19% (12/194) pour *BCOR* (Figure 19).

Pour les autres mutations, nous observons une augmentation de mutations du gène *DNMT3A*, non significative, et une absence de mutation des gènes *TET2*, *ETV6*, *NPM1*, *SF3B1* et *ZRSR2*.

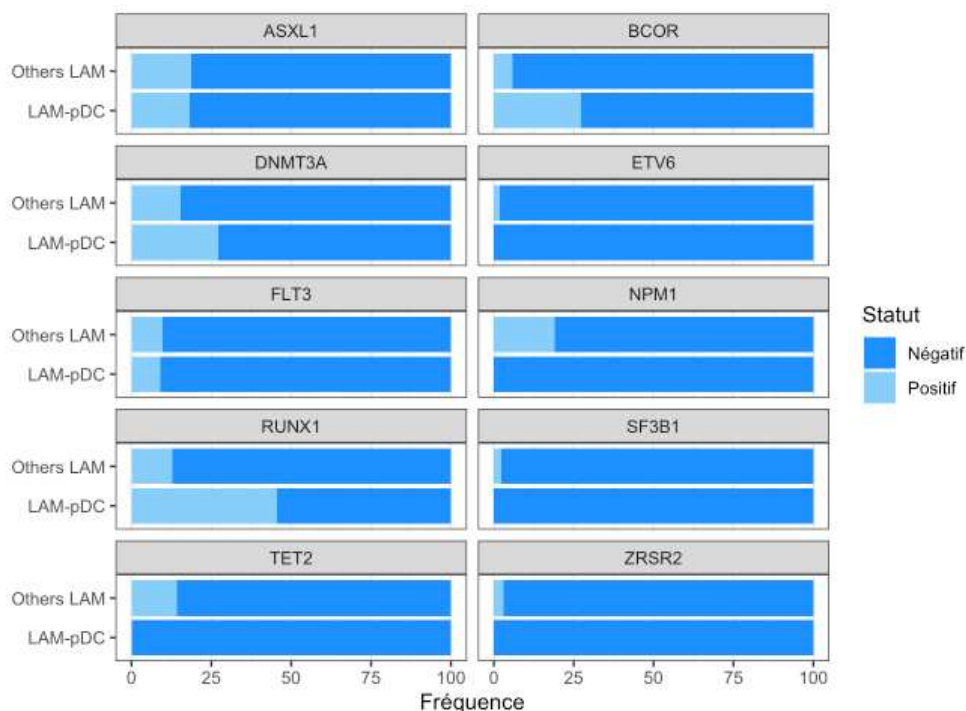


Figure 19 : Comparaison des mutations retrouvées dans les cas de LAM-pDC et les autres LAM.

c. Comparaison des profils mutationnels des LAM-pDC de notre cohorte avec la littérature

Pour les mutations de *RUNX1*, il n'existe pas de différence significative entre le pourcentage de LAM-pDC mutées *RUNX1* dans notre cohorte lilloise et celle de Wang et al. ou Zalmaï et al. (18,68). Cependant, nous observons moins de LAM-pDC mutées *RUNX1* dans notre cohorte que dans celle décrite par Xiao et al. (2).

Pour les mutations de *NPM1*, nous n'observons pas de différence significative de fréquence entre notre cohorte de LAM-pDC et de LAM. Cependant, la fréquence de LAM *NPM1* mutées représente 25 à 35% des LAM dans la littérature, différente de la fréquence retrouvée pour les LAM-pDC (80).

Concernant les mutations d'*ASXL1*, *BCOR*, *DNMT3*, *ETV6*, *FLT3*, *NPM1*, *SF3B1*, *TET2*, *ZRSR2*, nous retrouvons les mêmes fréquences de mutations que dans la cohorte de LAM-pDC de Wang et al. (68).

d. LAM-pDC mutés *RUNX1* : classification FAB et pourcentage de pDC

Parmi nos 9 patients présentant un excès de pDC, nous retrouvons 2 cas de LAM-M0, 3 de LAM-M1 et 4 de LAM-M2. Nous notons que 100% des LAM-M0, 67% des LAM-M1 et 25% des LAM-M2 sont mutées *RUNX1* (Table 13).

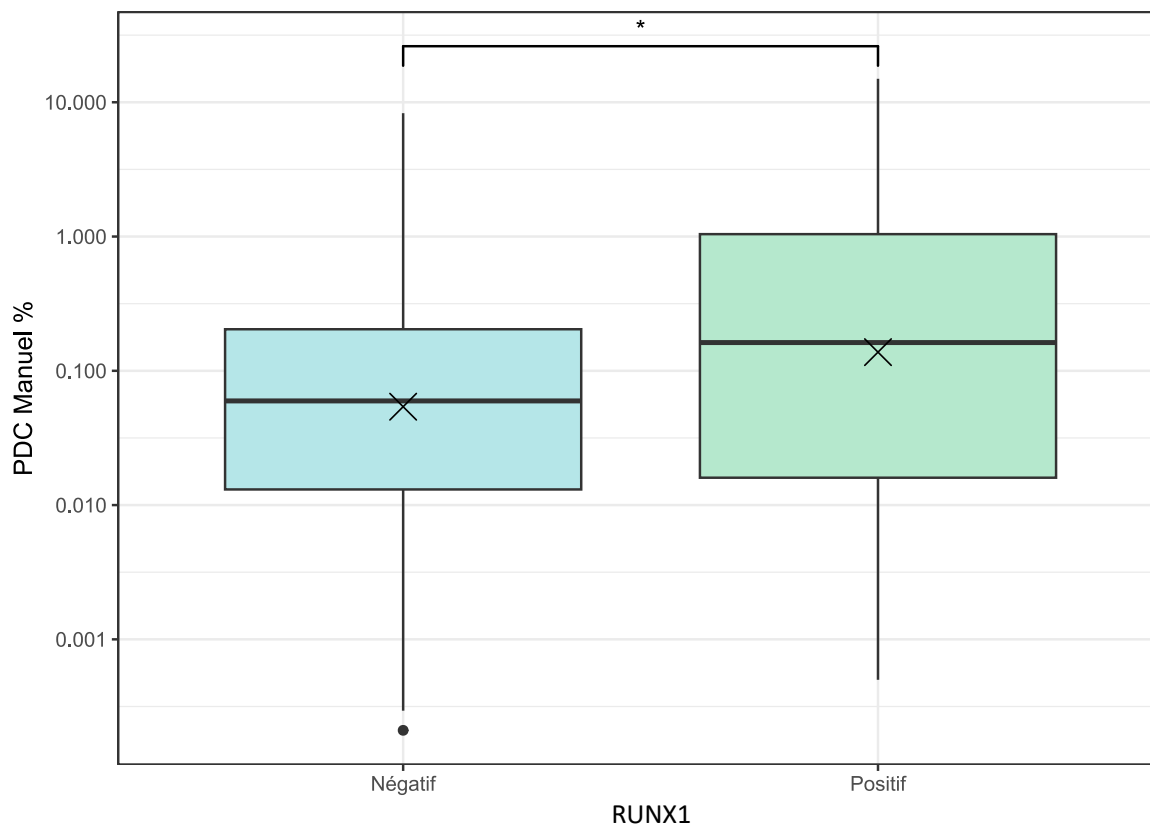
	RUNX1	FAB
1	Positif	LAM0
2	Positif	LAM0
3	Positif	LAM2
4	Positif	LAM1
5	Positif	LAM1
6	Négatif	LAM2
7	Négatif	LAM2
8	Négatif	LAM1
9	Négatif	LAM2

Table 13 : Classification FAB des LAM-pDC identifiées dans la cohorte lilloise et statut *RUNX1*.

Parmi les diagnostics de LAM, nous retrouvons 15% des LAM mutées *RUNX1* dont 16% d'entre elles présentent un excès de pDC. Ainsi, le risque d'avoir des pDC en excès lorsque les blastes sont mutés *RUNX1* est de 5,3 (OR = 5,3, IC à 95% [1,19-22,5], $p = 0,01$).

Parmi les LAM-pDC mutées *RUNX1*, le pourcentage de pDC varie de 2,8 à 15% avec une moyenne estimée à 8,1% et une médiane à 8,4%. Pour les LAM-pDC non mutées *RUNX1*, le pourcentage de pDC varie entre 2,2 et 8,3% avec une moyenne estimée à 4,4% et une médiane à 3,8%.

Pour les LAM mutées *RUNX1*, le pourcentage de pDC varie entre 0 et 15%, avec pour moyenne 1,6% (médiane 0,2%). Pour les LAM non mutées *RUNX1*, ce pourcentage varie de 0 à 8,3% avec pour moyenne 0,3% (médiane 0,06%). Ainsi, chez les patients présentant une mutation de *RUNX1*, le pourcentage moyen de pDC est plus élevé ($p = 0,0476$) (Figure 20).



* $p\text{-value} < 5\%$

Figure 20 : Pourcentage de pDC fonction du statut muté ou non de RUNX1 parmi les LAM.

e. LAM-pDC mutés BCOR : classification FAB et pourcentage de pDC

Cette fois-ci, concernant les mutations de *BCOR*, nous retrouvons 3 patients porteurs de cette mutation. Cette mutation touche les deux LAM-M0 et une LAM-M1. Ainsi, nous retrouvons cette mutation dans 100% de nos LAM-M0 et 33% des LAM-M1 (Table 14).

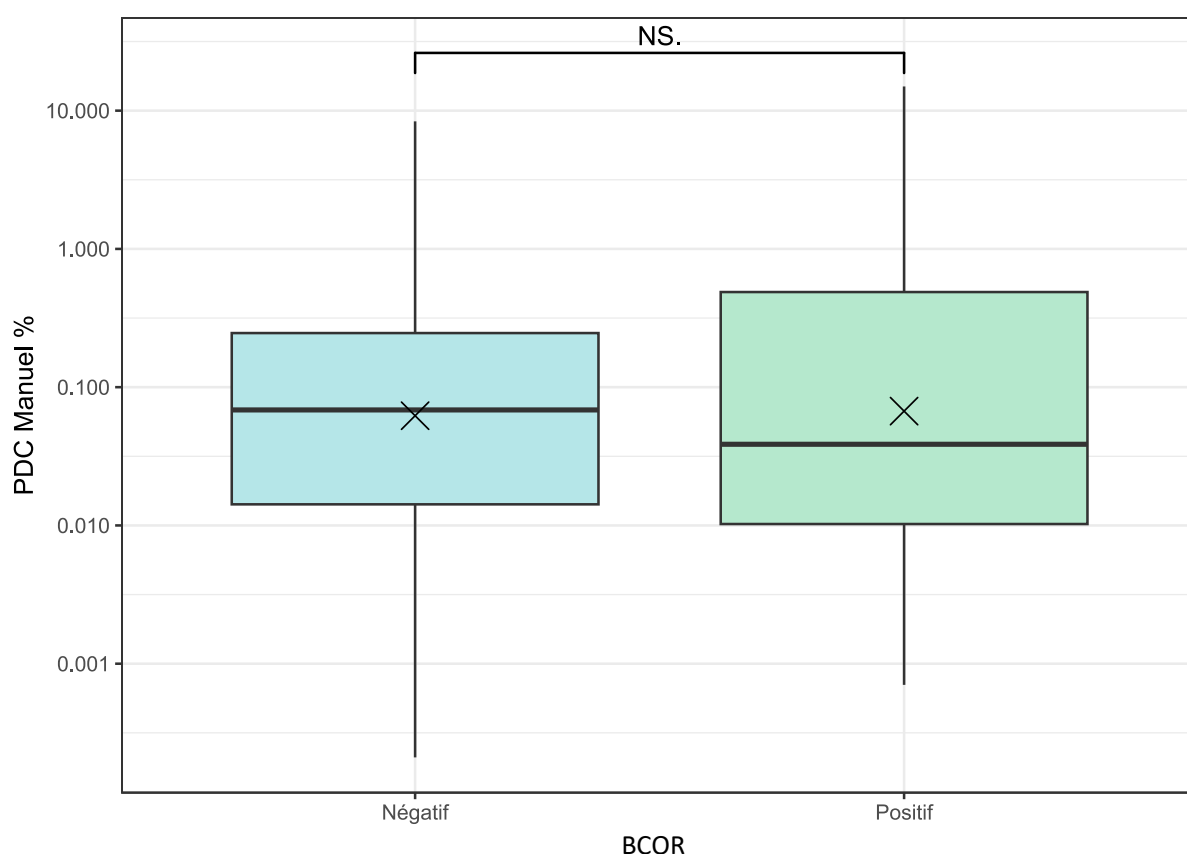
	BCOR	FAB
1	Positif	LAM0
2	Positif	LAM0
3	Positif	LAM1
4	Négatif	LAM1
5	Négatif	LAM1
6	Négatif	LAM2
7	Négatif	LAM2
8	Négatif	LAM2
9	Négatif	LAM2

Table 14 : Classification FAB des LAM-pDC identifiées dans la cohorte lilloise et statut BCOR.

Parmi les diagnostics de LAM, nous retrouvons 7,4% des LAM mutées *BCOR* dont 20% d'entre elles présentent un excès de pDC. Ainsi, le risque d'avoir des pDC en excès lorsque les blastes sont mutés *BCOR* est de 5,7 (OR = 5,7, IC à 95% [0,84-27,4], $p = 0,04$).

Parmi les LAM-pDC mutées *BCOR*, le pourcentage de pDC varie de 4 à 15% avec une moyenne estimée à 9,7% et une médiane à 10,2%. Pour les LAM-pDC non mutées *BCOR*, le pourcentage de pDC varie entre 2,2 et 8,4% avec une moyenne estimée à 4,7% et une médiane à 3,9%.

Parmi les LAM mutées *BCOR*, le pourcentage de pDC varie entre 0 et 15%, avec pour moyenne 2,03% (médiane 0,04%). Pour les LAM non mutées *BCOR*, ce pourcentage varie de 0 à 8,3% avec pour moyenne 0,4% (médiane 0,06%). Ainsi, chez les patients présentant une mutation de *BCOR*, le pourcentage moyen de pDC ne semble pas plus élevé ($p = 0,845$) (Figure 21).



NS : Non significatif

Figure 21 : Pourcentage de pDC fonction du statut muté ou non de *BCOR* parmi les patients avec un excès de pDC.

F. Pronostic

Sur les 9 patients avec une LAM associée à un excès de pDC, 5 patients ont obtenu une rémission complète à la fin de la première cure du traitement d'induction (56%). Parmi ces 5 patients, 2 d'entre eux ont été allogreffés. Sur les 3 patients non greffés, 2 ont rechuté et sont décédés. Concernant les patients greffés, un d'entre eux est décédé à la suite d'une rechute.

Sur les 4 patients n'ayant pas obtenu une rémission complète à la fin de leur premier cycle d'induction, 2 patients sont décédés, l'un a été perdu de vue et le dernier a reçu une allogreffe.

Au total, nous comptons donc 5 décès.

En comparant la probabilité de survie des patients atteints de LAM-pDC et de ceux atteints d'une LAM sans excès de pDC, nous n'observons pas de différence significative de survie (p -value = 0,7, IC à 95% [0,409-3,48]) (Figure 22).

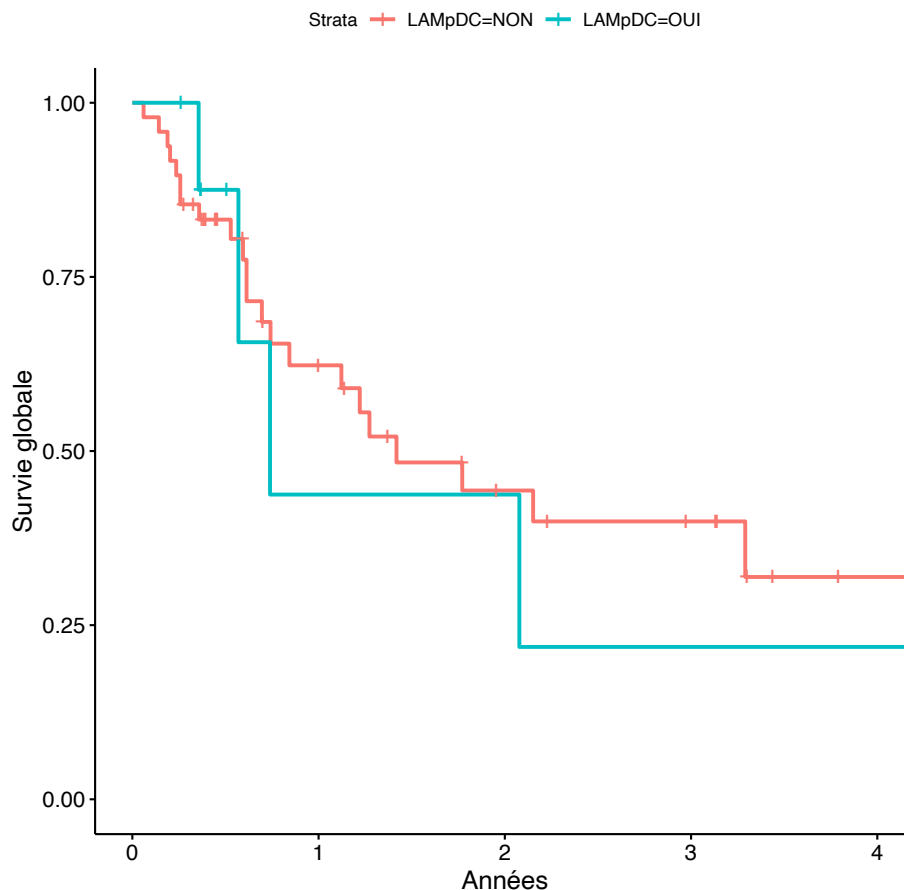


Figure 22 : Probabilité de survie des patients LAM-pDC vs LAM.

IX. Discussion

A. Épidémiologie des LAM-pDC

Notre étude a eu pour objectif de confirmer la pertinence de l'utilisation de notre protocole d'identification des LAM-pDC avec notamment la comparaison des résultats obtenus sur la cohorte lilloise de LAM-pDC avec ce qui avait été précédemment décrit dans la littérature. Ainsi, nous retrouvons, comme Xiao et al., une prévalence estimée à environ 5% des diagnostics de LAM (2).

Cette pathologie semble toucher préférentiellement les hommes. Nous observons une légère différence d'âge au diagnostic, bien que non significative, avec ce qui a pu être décrit au niveau des cohortes américaines et françaises (2,18). Cette différence pourrait s'expliquer par l'inclusion de patients âgés de moins de 18 ans dans notre étude.

B. Profils immunophénotypiques des pDC des LAM-pDC

Cette étude est une étude rétrospective. En l'absence de marqueurs spécifiques de pDC (CD303 et/ou CD304) pour les immunophénotypages de routine des LAM, l'identification de ces cellules s'est essentiellement basée sur l'expression forte du CD123 et celle du CD45RA. Nous retrouvons ainsi le profil immunophénotypique décrit par Roussel et al. ainsi que Wang et al. avec, en plus de l'expression forte du CD123 et l'expression du CD45RA, celle du CD38, du CD36, et notamment du CD34, marqueur positif pour les pDC des LAM-pDC, a contrario des pDC de LpDC ou des pDC physiologiques (37,68). L'analyse des tubes monocytaires, d'orientation et auto nous a permis de compléter le phénotype des pDC avec l'expression du HLADR, du CD4, des marqueurs myéloïdes CD33 et CD13 exprimés respectivement dans 65% et 18% des cas, du marqueur lymphocytaire T CD7 dans 29% des cas et l'absence d'expression des marqueurs monocytaires CD65, CD11b et CD14. Les antigènes CD2, CD10, CD64 et CD56, présents dans le tube auto n'ont pu être analysés pour tous les prélèvements comportant un excès de pDC, la sélection des pDC ne se faisant qu'à partir de l'expression du CD45 et de la structure dans ce tube. L'expression du CD2, quand celle-ci était analysable, pour 25% des cas, laisse supposer non pas la présence de pDC canoniques en excès mais de pDC non canoniques, les AS-DC. L'utilisation d'autres marqueurs tels que le CD11c et AXL-SIGLEC6 permettrait de confirmer ce propos.

Les similitudes de résultats retrouvées avec la littérature laissent suggérer que l'utilisation de notre protocole d'identification des pDC, basé sur l'utilisation du tube CSH, complété par les autres tubes notamment le tube monocyttaire, est suffisant pour l'identification des populations de pDC en excès. Cependant, 11% des fichiers n'a pu être analysée par méthode manuelle, en raison de l'expression notamment du CD123 par les blastes, entraînant un biais dans nos résultats à prendre en compte. Ainsi, il serait nécessaire, à l'avenir, de reprendre les échantillons identifiés comme LAM-pDC et ceux non analysables et les tester à l'aide d'anticorps dirigés contre le CD303, le CD304, cTCL1 (26).

C. Estimation de la population de pDC : méthode manuelle versus méthode assistée par ordinateur

Avec l'évolution de l'informatique, du machine learning et de l'intelligence artificielle, de nouveaux outils apparaissent aujourd'hui dans le monde de la santé et de la biologie. Le FLOW-SOM, une méthode de clustering non supervisée, permet d'individualiser les différentes populations cellulaires d'un échantillon, aidant ainsi à la détection et la recherche de populations d'intérêts (81). Cet algorithme permet, en théorie, via l'automatisation de la qualification des populations cellulaires, une meilleure qualité d'identification, de quantification et ainsi, un gain de temps pour l'utilisateur (82).

Avec nos conditions d'utilisation actuelles, un résultat négatif par FLOW-SOM est fiable (VPN = 99%) même si on retrouve quelques cas où le pourcentage de pDC a été sous-estimée par méthode automatisée par ordinateur. Ces cas s'expliquent par la présence, dans les LAM-pDC, d'un continuum de maturation de ces cellules (24,68). Ainsi, avec les différences d'expression des marqueurs, notamment le CD123, le CD34, le CD117 et le CD36, les pDC peuvent être séparés en plusieurs populations. Le FLOW-SOM, programmé ici pour séparer les cellules en 20 populations peut donc séparer en excès la population de pDC, et ceux d'autant plus que les moelles de LAM peuvent ne pas présenter une grande diversité immunophénotypique de cellules.

Dans le cas où l'on obtient un résultat positif par méthode assistée par ordinateur, il est nécessaire de le confirmer par méthode manuelle. En effet, dans certains cas, la méthode d'identification par FLOW-SOM surestime le pourcentage de pDC présent dans la moelle : lorsque la population de pDC est très faible, ceux-ci ont tendance à être regroupés avec d'autres populations cellulaires présentant une expression proche des différents marqueurs testés comme les blastes, les promonocytes ou les polynucléaires basophiles.

Dans 9% des cas, l'analyse manuelle et assistée par ordinateur ne permettent pas de quantifier précisément le pourcentage de pDC. En effet, sans présence de marqueurs spécifiques de pDC, il est parfois difficile de distinguer les pDC d'un contingent important de blastes exprimant le CD34 et le CD123.

Les LAM-pDC sont définies par un excès de pDC supérieur à 2% des cellules de la moelle. Dans ces cas, l'estimation du pourcentage de pDC est similaire, que ce soit par méthode manuelle ou assistée par ordinateur.

En conclusion, dans les conditions actuelles d'utilisation, le FLOW-SOM nous permet d'identifier les prélèvements sans excès de pDC. Cependant, la présence d'un résultat positif nécessite une analyse manuelle. Pour les quelques cas où le pourcentage de pDC n'a pu être estimé, il serait judicieux de compléter le marquage par la recherche d'antigènes plus spécifiques comme le CD303 et/ou CD304.

Bien que l'algorithme FLOW-SOM soit défini comme une méthode non supervisée, la sélection du métacluster comportant ou non les pDC reste dépendant de l'utilisateur. Ainsi, le choix du métacluster nécessite une connaissance des marqueurs immunophénotypiques des cellules d'intérêt. Il est donc important de considérer cet outil comme une aide à la séparation des différentes populations cellulaires nécessitant un travail d'analyse et non comme une réponse stricte à la présence ou non de pDC. Chaque métacluster avec l'expression des différents marqueurs des populations individualisées doivent être étudiés.

D. Profils mutationnels

De la même façon que ce qui a pu être décrit dans la littérature, nous retrouvons dans notre cohorte lilloise une association significative de mutation de *RUNX1* avec les diagnostics de LAM-pDC. Cependant, la fréquence de mutation de *RUNX1* diffère avec les résultats de l'équipe américaine. En effet, ces derniers constataient que 78% des LAM-pDC étaient associés à une mutation de *RUNX1* (2). Les autres études, menées par Zalmaï et al. et Wang et al., trouvaient également des fréquences d'association plus élevées, 73% et 64% respectivement (18,68). Cependant, cette différence n'est pas significative.

Cette sous-estimation des fréquences de LAM-pDC mutées *RUNX1* pourraient s'expliquer par plusieurs hypothèses. Premièrement, la cohorte lilloise, constituée de 9 patients dont nous avons les résultats de biologie moléculaire à disposition, est faible. Ainsi, il existe un biais de sélection des patients parmi les patients LAM-pDC. Deuxièmement, contrairement aux autres études, nous retrouvons une minorité de LAM immatures (LAM-M0 d'après la classification FAB). Or, ces LAM-M0 sont, d'après Zalmaï et al., associée à une mutation de *RUNX1* dans 100% des cas (18). Ici, nos deux cas de LAM-M0 sont mutés *RUNX1*. Cependant, nous retrouvons, dans notre cohorte, une majorité de LAM-M2, peu décrites dans les autres études. De plus, nous ne retrouvons aucune LAM-M4 ou LAM-M5, pourtant décrites comme associées à des excès de pDC (2).

Parmi les autres mutations retrouvées, nous notons la présence d'une plus grande fréquence de mutations du gène *BCOR*, co-represseur de *BCL6*, associées aux LAM-pDC par rapport aux autres LAM (83). Cependant, à la vue du faible nombre de patients dans notre étude, nous ne pouvons affirmer l'effet de la mutation sur la présence d'excès de pDC, et inversement.

Tout comme les mutations de *RUNX1*, les mutations de *BCOR* sont également retrouvées dans nos deux cas de LAM-M0. De plus, sur les 3 patients de LAM-pDC mutés *BCOR*, 2 présentent également une mutation de *RUNX1*. D'autres études, avec une cohorte plus importante, sont donc nécessaires afin de déterminer si la présence de mutations du gène *BCOR* sans mutation du gène *RUNX1* associé est lié à un excès de pDC dans les LAM.

Pour le reste des gènes comparés dans l'étude de Wang et al. (*ASXL1*, *DNMT3A*, *SRSF2*, *NRAS*, *FLT3*, *TET2*, *ZRSR2*), nous retrouvons des fréquences de mutation semblables à celles de leur étude (68).

La présence d'une mutation de *RUNX1* semble impacter le taux de pDC présent dans la moelle. Ces résultats concordent avec les résultats de Xiao et al. sur la capacité des blastes mutés *RUNX1* à se différencier en pDC en présence de facteurs de croissance adéquats (2).

E. Pronostic

La présence d'un excès de pDC associé aux LAM serait liée à un mauvais pronostic pour le patient (2). Dans cette étude, nous ne pouvons mettre en évidence cet effet parce qu'il n'existe pas de différence significative au niveau de la survie des patients atteints de LAM-pDC et les patients atteints d'une LAM sans excès de pDC. Cependant, il serait nécessaire de vérifier cette notion sur une cohorte plus importante.

Bien que la différence de survie entre les patients atteints de LAM-pDC et de LAM sans excès de pDC ne soit pas concordante avec la littérature, la présence d'anomalies tels que la monosomie 7, les mutations de *RUNX1* et de *BCOR* sont, d'après la classification ELN, associées à un mauvais pronostic. Ainsi, sur les 9 patients de notre cohorte, on retrouve 7 patients avec un pronostic défavorable, un avec un pronostic intermédiaire et le dernier avec un pronostic favorable (13). A noter que le patient présentant une inversion du chromosome 16 ne peut être considéré comme une entité provisoire de LAM-pDC, faisant partie de l'entité de LAM associée à une inversion du chromosome 16 définie par la classification OMS, bien que déjà décrit dans d'autres cas de LAM-pDC (4,84).

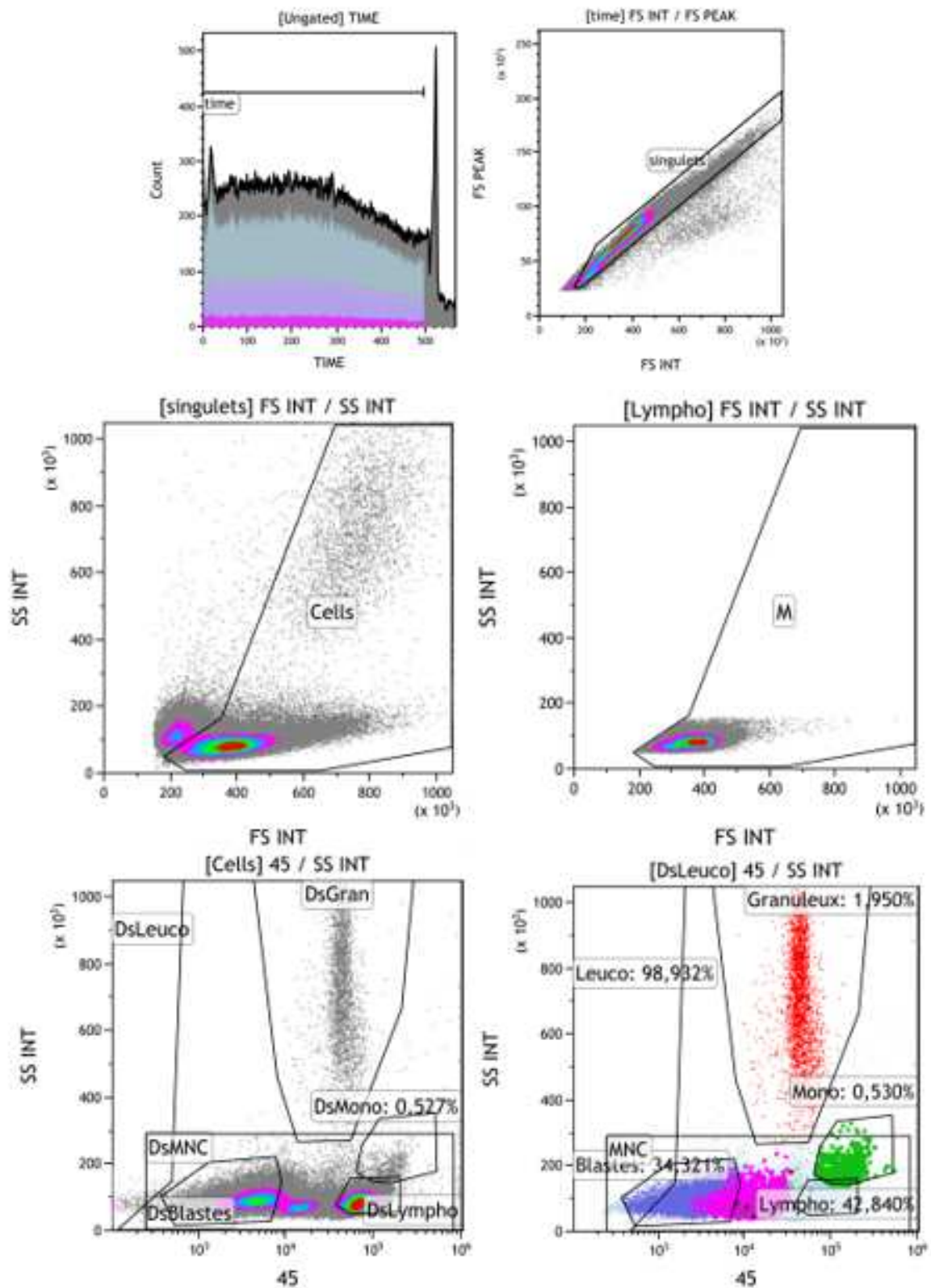
X. Conclusion

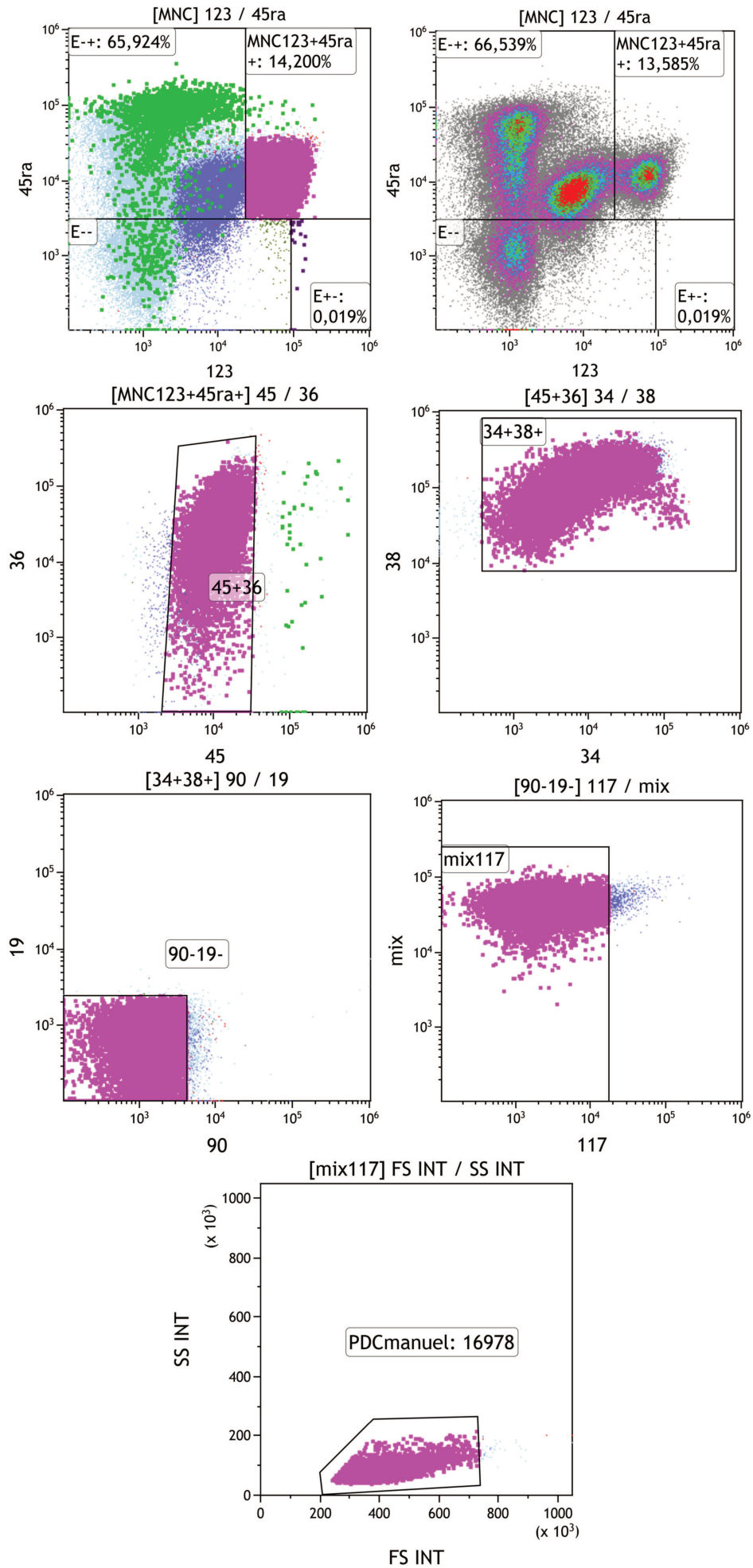
Les résultats obtenus à partir de notre cohorte nous permettent de confirmer les données retrouvées dans la littérature concernant la prévalence des LAM-pDC, leur caractéristiques immunophénotypiques et l'association entre la présence du gène *RUNX1* et l'excès de pDC. Cette concordance nous permet de confirmer la capacité de nos panels et de notre protocole à identifier, de façon rétrospective, la présence de pDC dans un prélèvement de moelle osseuse, bien qu'une confirmation par des marqueurs plus spécifiques de pDC soit nécessaire. L'utilisation d'une méthode assistée par ordinateur, basée sur l'algorithme FLOW-SOM, donne des résultats fiables lorsqu'il n'y a pas d'excès de pDC. En cas de résultat positif, la présence d'un excès de pDC doit être confirmé par méthode manuelle.

Aujourd'hui, dans la classification OMS 2022, on retrouve une dichotomie entre les BPDCN ou LpDC et les MPDCP (4). D'après El Hussein et Wang, cette dichotomie ne serait pas suffisante (46). En effet, dans les MPDCP, on retrouve un excès de pDC associé à différentes pathologies comme la LMMC, les LAM, certains SMP et SMD. Cependant, le stade de maturation des pDC retrouvé dans ces différentes pathologies n'est pas le même. En effet, dans les LMMC associées à des pDC, on retrouve des pDC de stade 3, les plus matures, d'après Martin-Martin et al (24). Dans les LAM-pDC, on observe non pas un excès de pDC matures mais un continuum de maturation reprenant les différents stades de maturation des pDC. Le terme « mature » des MPDCP comme décrit dans la classification OMS actuelle est donc impropre à cette description. De plus, ces pathologies semblent également se distinguer d'un point de vue moléculaire, notamment avec cette association LAM-pDC et mutation de *RUNX1*, non retrouvée dans les cas de LMMC associés à un excès de pDC. Ainsi se pose la question de la définition de nouvelles entités comprenant les LpDC, et distinguant les hémopathies associées à une prolifération de pDC matures et celles associées à une différenciation de pDC.

L'avancée des techniques d'identification cellulaire tel que la cytométrie en flux permet, encore aujourd'hui, de définir de nouvelles entités pathologiques. Ainsi, l'identification d'une population de pDC en excès dans le cadre des LAM et sa mention au clinicien prend toute son importance dans la prise en charge du patient et son devenir. Considérée comme une pathologie rare, d'autres études seront nécessaires pour en apprendre plus sur cette nouvelle entité.

ANNEXE – Protocole





Liste des tableaux

<i>Table 1 : Classification FAB (10).....</i>	<i>21</i>
<i>Table 2 : Classification OMS 2022 (4)</i>	<i>22</i>
<i>Table 3 : Classification de l'ICC(11).....</i>	<i>23</i>
<i>Table 4 : Risques génétiques selon l'ELN 2022 (13)</i>	<i>24</i>
<i>Table 5 : Classification des principales cellules dendritiques d'après Villani et al, 2017(29) Science et Renosi et al, 2021 (19).</i>	<i>33</i>
<i>Table 6 : Score diagnostic de LpDC d'après Garnache-Ottou et al. 2009, Br J Haematologica (51)...</i>	<i>42</i>
<i>Table 7 : Comparaison immunophénotypique des entités pathologiques des pDC, d'après Roussel et al, Cancers, 2022 (37)</i>	<i>54</i>
<i>Table 8 : Comparaison des profils mutationnels entre les LAM-pDC et les LpDC, d'après Wang et al, Cancers, 2022 (68)</i>	<i>55</i>
<i>Table 9 : Panel de diagnostic des LAM du CHU de Lille.....</i>	<i>61</i>
<i>Table 10 : Profils immunophénotypiques des pDC des LAM-pDC</i>	<i>66</i>
<i>Table 11 : Comparaison de la présence ou non d'un excès de pDC par méthode manuelle et méthode assistée par ordinateur fonction des marqueurs du tube CSH.....</i>	<i>67</i>
<i>Table 12 : Profils mutationnels des patients LAM-pDC de Lille (2018-2020)</i>	<i>70</i>
<i>Table 13 : Classification FAB des LAM-pDC identifiées dans la cohorte lilloise et statut RUNX1.....</i>	<i>73</i>
<i>Table 14 : Classification FAB des LAM-pDC identifiées dans la cohorte lilloise et statut BCOR.</i>	<i>74</i>

Table des illustrations

Figure 1 : Cellules dendritiques plasmocytoïdes, d'après Zalmai et al, 2021, <i>Haematologica</i> (18).	25
Figure 2 : Fonctions immunitaires des pDCs d'après Swiecki et Colonna, 2015, <i>Nat Rev Immunol</i> (20).	26
Figure 3 : Marqueurs génétiques myéloïdes et lymphoïdes des cDC et pDC d'après Rodrigues et Tussiwand, 2020, <i>Mol Immunol</i> (23).	27
Figure 4 : Différents modèles de différenciation des pDC, d'après Rodrigues et Tussiwand, 2020, <i>Mol Immunol</i> (23)	30
Figure 5 : Différenciation schématisée entre pDC et cDC, d'après Reizis et al. 2019, <i>Immunity</i> (32) et Renosi et al. 2021 (19)	34
Figure 6 : Développement et différenciation des pDC, d'après Roussel et al. 2022, <i>Cancer</i> (37).....	36
Figure 7 : Maturation des pDC dans la moelle, d'après Martin-Martin et al. 2009(24) et Renosi et al. 2021 (19).....	37
Figure 8 : Morphologies des blastes de LpDC, d'après Garnache-Ottou et al, 2019, <i>Blood</i> (49).	40
Figure 9 : Mutations retrouvées dans les LpDC, d'après Renosi et al, 2022, <i>Cancers</i> (61).....	45
Figure 10 : Exemple de profil immunophénotypique retrouvé dans un cas de LAM-pDC, d'après Wang et al, <i>Cancers</i> , 2022(68).	48
Figure 11 : Schéma de maturation des pDC d'un cas de LAM-pDC, d'après Wang et al, <i>Cancers</i> , 2022(68).	48
Figure 12 : Mécanismes compensatoires de la famille RUNX, d'après Kamikubo et al. <i>Cancer Science</i> , 2018 (71).....	51
Figure 13 : Principe de fonctionnement d'un cytomètre en flux (79).....	56
Figure 14 : Système fluide (78).....	57
Figure 15 : Exemple de graphiques mono et bi-paramétriques, ciblé sur les lymphocytes.....	58
Figure 16 : Compensation (78).....	59
Figure 17 : Organigramme des différents fichiers analysés par méthode manuelle et assistée par ordinateur.	68
Figure 18 : Corrélation entre les pourcentages de pDC déterminés par méthode manuelle et par méthode assistée par ordinateur chez les patients LAM-pDC.	69
Figure 19 : Comparaison des mutations retrouvées dans les cas de LAM-pDC et les autres LAM.	72
Figure 20 : Pourcentage de pDC fonction du statut muté ou non de RUNX1 parmi les LAM.....	74
Figure 21 : Pourcentage de pDC fonction du statut muté ou non de BCOR parmi les patients avec un excès de pDC.	75
Figure 22 : Probabilité de survie des patients LAM-pDC vs LAM.....	76

Bibliographie

1. Le Guyader-Peyrou S, Defossez G, Dantony E, Mounier M, Cornet E, Uhry Z, et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 - Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim [Internet]. [cité 4 nov 2022]. Disponible sur: www.santepubliquefrance.fr
2. Xiao W, Chan A, Waarts MR, Mishra T, Liu Y, Cai SF, et al. Plasmacytoid dendritic cell expansion defines a distinct subset of RUNX1-mutated acute myeloid leukemia. *Blood*. 11 mars 2021;137(10):1377-91.
3. Haferlach T, Schmidts I. The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. janv 2020;188(1):36-48.
4. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. juill 2022;36(7):1703-19.
5. 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*. 19 mai 2016;127(20):2391-405.
6. Bennett JM. Proposed Revised Criteria for the Classification of Acute Myeloid Leukemia: A Report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med*. 1 oct 1985;103(4):620.
7. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, et al. Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias French-American-British (FAB) Co-operative Group. *Br J Haematol*. août 1976;33(4):451-8.
8. Bennett JM. Criteria for the Diagnosis of Acute Leukemia of Megakaryocyte Lineage (M7): A Report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med*. 1 sept 1985;103(3):460.
9. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, et al. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-MO). *Br J Haematol*. juill 1991;78(3):325-9.
10. Hematocell [Internet]. Leucémies aiguës myéloïdes. Disponible sur: <https://hematocell.fr/leucemies-aigues-myeloides-et-syndromes-myelodysplasiques/leucemies-aigues-myeloides>
11. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnicka HM, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood*. 15 sept 2022;140(11):1200-28.
12. Chung-Che (Jeff) Chang, Amirah K. What's new in AML Classification (WHO 2022 vs International Consensus Classification). College of American Pathologists [Internet]. 29 mars 2023; Disponible sur: <https://www.cap.org/member-resources/articles/whats-new-in-aml-classification-who-2022-vs-international-consensus-classification>
13. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, Craddock C, DiNardo CD, Dombret H, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood*. 22 sept 2022;140(12):1345-77.
14. Feller AC, Lennert K, Stein H, Bruhn HD, Wuthe HH. Immunohistology and aetiology of histiocytic necrotizing lymphadenitis. Report of three instructive cases. *Histopathology*. nov 1983;7(6):825-39.
15. Facchetti F, de Wolf-Peeters C, Mason DY, Pulford K, van den Oord JJ, Desmet VJ. Plasmacytoid T cells. Immunohistochemical evidence for their monocyte/macrophage origin. *Am J Pathol*. oct 1988;133(1):15-21.
16. Rissoan MC, Soumelis V, Kadowaki N, Grouard G, Briere F, Malefyt R de W, et al. Reciprocal Control of T Helper Cell and Dendritic Cell Differentiation. *Science*. 19 févr 1999;283(5405):1183-6.
17. Colonna M, Trinchieri G, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat Immunol*. 1 déc 2004;5(12):1219-26.

18. Zalmai L, Viailly PJ, Biichle S, Cheok M, Soret L, Angelot-Delettre F, et al. Plasmacytoid dendritic cells proliferation associated with acute myeloid leukemia: phenotype profile and mutation landscape. *Haematologica*. 1 déc 2021;106(12):3056-66.
19. Renosi F. Etude génomique de la cohorte nationale de leucémies dérivées de cellules dendritiques plasmacytoïdes et hémopathies apparentées. 2021; Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-03532376/document>
20. Swiecki M, Colonna M. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells. *Nat Rev Immunol*. août 2015;15(8):471-85.
21. Cella M, Jarrossay D, Facchetti F, Alebardi O, Nakajima H, Lanzavecchia A, et al. Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and produce large amounts of type I interferon. *Nat Med*. août 1999;5(8):919-23.
22. Siegal FP, Kadowaki N, Shodell M, Fitzgerald-Bocarsly PA, Shah K, Ho S, et al. The Nature of the Principal Type 1 Interferon-Producing Cells in Human Blood. *Science*. 11 juin 1999;284(5421):1835-7.
23. Rodrigues PF, Tussiwand R. Novel concepts in plasmacytoid dendritic cell (pDC) development and differentiation. *Mol Immunol*. 1 oct 2020;126:25-30.
24. Martín-Martín L, Almeida J, Hernández-Campo PM, Sánchez ML, Lécresse Q, Orfao A. Immunophenotypical, morphologic, and functional characterization of maturation-associated plasmacytoid dendritic cell subsets in normal adult human bone marrow. *Transfusion (Paris)*. août 2009;49(8):1692-708.
25. Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, et al. Immunobiology of Dendritic Cells. *Annu Rev Immunol*. avr 2000;18(1):767-811.
26. Dzionek A, Fuchs A, Schmidt P, Cremer S, Zysk M, Miltenyi S, et al. BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: Three Markers for Distinct Subsets of Dendritic Cells in Human Peripheral Blood. *J Immunol*. 1 déc 2000;165(11):6037-46.
27. Wang M, Chen YJ, Wang LR, Wang YZ, Lu J. Plasmacytoid Dendritic Cells Proliferation Coexisted with Acute Myeloid Leukemia. *Chin Med J (Engl)*. 5 août 2018;131(15):1866-7.
28. Matsui T, Connolly JE, Michnevitz M, Chaussabel D, Yu CI, Glaser C, et al. CD2 Distinguishes Two Subsets of Human Plasmacytoid Dendritic Cells with Distinct Phenotype and Functions. *J Immunol*. 1 juin 2009;182(11):6815-23.
29. Villani AC, Satija R, Reynolds G, Sarkizova S, Shekhar K, Fletcher J, et al. Single-cell RNA-seq reveals new types of human blood dendritic cells, monocytes, and progenitors. *Science*. 21 avr 2017;356(6335):eaah4573.
30. Carotta S, Dakic A, D'Amico A, Pang SHM, Greig KT, Nutt SL, et al. The Transcription Factor PU.1 Controls Dendritic Cell Development and Flt3 Cytokine Receptor Expression in a Dose-Dependent Manner. *Immunity*. mai 2010;32(5):628-41.
31. Nagasawa M, Schmidlin H, Hazekamp MG, Schotte R, Blom B. Development of human plasmacytoid dendritic cells depends on the combined action of the basic helix-loop-helix factor E2-2 and the Ets factor Spi-B. *Eur J Immunol*. sept 2008;38(9):2389-400.
32. Reizis B. Plasmacytoid Dendritic Cells: Development, Regulation, and Function. *Immunity*. janv 2019;50(1):37-50.
33. Rodrigues PF, Alberti-Servera L, Eremin A, Grajales-Reyes GE, Ivanek R, Tussiwand R. Distinct progenitor lineages contribute to the heterogeneity of plasmacytoid dendritic cells. *Nat Immunol*. juill 2018;19(7):711-22.
34. Wu X, Briseño CG, Grajales-Reyes GE, Haldar M, Iwata A, Kretzer NM, et al. Transcription factor Zeb2 regulates commitment to plasmacytoid dendritic cell and monocyte fate. *Proc Natl Acad Sci*. 20 déc 2016;113(51):14775-80.
35. Satterwhite E, Sonoki T, Willis TG, Harder L, Nowak R, Arriola EL, et al. The BCL11 gene family: involvement of BCL11A in lymphoid malignancies. *Blood*. 1 déc 2001;98(12):3413-20.
36. Hara E, Yamaguchi T, Nojima H, Ide T, Campisi J, Okayama H, et al. Id-related genes encoding helix-loop-helix proteins are required for G1 progression and are repressed in

- senescent human fibroblasts. *J Biol Chem*. 21 janv 1994;269(3):2139-45.
37. Roussel X, Garnache Ottou F, Renosi F. Plasmacytoid Dendritic Cells, a Novel Target in Myeloid Neoplasms. *Cancers*. 21 juill 2022;14(14):3545.
 38. Sawai CM, Sisirak V, Ghosh HS, Hou EZ, Ceribelli M, Staudt LM, et al. Transcription factor Runx2 controls the development and migration of plasmacytoid dendritic cells. *J Exp Med*. 21 oct 2013;210(11):2151-9.
 39. Sasaki I, Hoshino K, Sugiyama T, Yamazaki C, Yano T, Iizuka A, et al. Spi-B is critical for plasmacytoid dendritic cell function and development. *Blood*. 6 déc 2012;120(24):4733-43.
 40. Dewald HK, Hurley HJ, Fitzgerald-Bocarsly P. Regulation of Transcription Factor E2-2 in Human Plasmacytoid Dendritic Cells by Monocyte-Derived TNF α . *Viruses*. 31 janv 2020;12(2):162.
 41. Chopin M, Preston SP, Lun ATL, Tellier J, Smyth GK, Pellegrini M, et al. RUNX2 Mediates Plasmacytoid Dendritic Cell Egress from the Bone Marrow and Controls Viral Immunity. *Cell Rep*. 26 avr 2016;15(4):866-78.
 42. Schotte R, Nagasawa M, Weijer K, Spits H, Blom B. The ETS Transcription Factor Spi-B Is Required for Human Plasmacytoid Dendritic Cell Development. *J Exp Med*. 6 déc 2004;200(11):1503-9.
 43. Cytlik U, Resteu A, Bogaert D, Kuehn HS, Altmann T, Gennery A, et al. Ikaros family zinc finger 1 regulates dendritic cell development and function in humans. *Nat Commun*. 27 mars 2018;9(1):1239.
 44. Fancke B, Suter M, Hochrein H, O'Keeffe M. M-CSF: a novel plasmacytoid and conventional dendritic cell poietin. *Blood*. 1 janv 2008;111(1):150-9.
 45. Schraml BU, Reis e Sousa C. Defining dendritic cells. *Curr Opin Immunol*. févr 2015;32:13-20.
 46. El Hussein S, Wang W. Plasmacytoid dendritic cells in the setting of myeloid neoplasms: Diagnostic guide to challenging pathologic presentations. *Br J Haematol*. mars 2023;200(5):545-55.
 47. 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*. 30 juill 2009;114(5):937-51.
 48. Sweet K. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: diagnosis, manifestations, and treatment. *Curr Opin Hematol*. mars 2020;27(2):103-7.
 49. Garnache-Ottou F, Vidal C, Biichlé S, Renosi F, Poret E, Pagadoy M, et al. How should we diagnose and treat blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm patients? *Blood Adv*. 23 déc 2019;3(24):4238-51.
 50. Kim MJM, Nasr A, Kabir B, de Nanassy J, Tang K, Menzies-Toman D, et al. Pediatric Blastic Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasm: A Systematic Literature Review. *J Pediatr Hematol Oncol*. oct 2017;39(7):528-37.
 51. Garnache-Ottou F, Feuillard J, Ferrand C, Biichle S, Trimoreau F, Seilles E, et al. Extended diagnostic criteria for plasmacytoid dendritic cell leukaemia. *Br J Haematol*. juin 2009;145(5):624-36.
 52. Varricchi G, Poto R, Marone G, Schroeder JT. IL-3 in the development and function of basophils. *Semin Immunol*. avr 2021;54:101510.
 53. Khoury JD. Blastic Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasm. *Curr Hematol Malig Rep*. déc 2018;13(6):477-83.
 54. Wang W, Thakral B. CD123+CD4+CD56+ neoplasm: blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm or acute myeloid leukemia? *Blood*. 24 sept 2020;136(13):1565-1565.
 55. Minetto P, Guolo F, Clavio M, Kunkl A, Colombo N, Carminati E, et al. A blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm-like phenotype identifies a subgroup of nrm1-mutated acute myeloid leukemia patients with worse prognosis. *Am J Hematol*. févr 2018;93(2):E33-5.
 56. Garnache Ottou F, Saas P, Feuillard J. Une nouvelle entité : les leucémies CD4+

CD56+ ou leucémies dérivées des cellules dendritiques plasmocytoïdes. Colloque du SNBH. 2004;49-58.

57. Julia F, Dalle S, Duru G, Balme B, Vergier B, Ortonne N, et al. Blastic Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasms: Clinico-immunohistochemical Correlations in a Series of 91 Patients. *Am J Surg Pathol.* mai 2014;38(5):673-80.
58. Hamadeh F, Awadallah A, Meyerson HJ, Beck RC. Flow Cytometry Identifies a Spectrum of Maturation in Myeloid Neoplasms Having Plasmacytoid Dendritic Cell Differentiation. *Cytometry B Clin Cytom.* janv 2020;98(1):43-51.
59. Pagano L, Valentini CG, Pulsoni A, Fisogni S, Carluccio P, Mannelli F, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm with leukemic presentation: an Italian multicenter study. *Haematologica.* 1 févr 2013;98(2):239-46.
60. Petrella T, Facchetti F. Tumoral aspects of plasmacytoid dendritic cells: What do we know in 2009? *Autoimmunity.* mai 2010;43(3):210-4.
61. Renosi F, Callanan M, Lefebvre C. Genetics and Epigenetics in Neoplasms with Plasmacytoid Dendritic Cells. *Cancers.* 26 août 2022;14(17):4132.
62. Suzuki K, Suzuki Y, Hama A, Muramatsu H, Nakatochi M, Gunji M, et al. Recurrent MYB rearrangement in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Leukemia.* juill 2017;31(7):1629-33.
63. Lee YJ, Kim Y, Park SH, Jo JC. Plasmacytoid dendritic cell neoplasms. *Blood Res.* 30 avr 2023;58(S1):S90-5.
64. Taylor J, Haddadin M, Upadhyay VA, Grussie E, Mehta-Shah N, Brunner AM, et al. Multicenter analysis of outcomes in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm offers a pretargeted therapy benchmark. *Blood.* 22 août 2019;134(8):678-87.
65. Pemmaraju N, Lane AA, Sweet KL, Stein AS, Vasu S, Blum W, et al. Tagraxofusp in Blastic Plasmacytoid Dendritic-Cell Neoplasm. *N Engl J Med.* 25 avr 2019;380(17):1628-37.
66. Wang Y, Xiao L, Yin L, Zhou L, Deng Y, Deng H. Diagnosis, treatment, and genetic characteristics of blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm: A review. *Medicine (Baltimore).* 17 févr 2023;102(7):e32904.
67. Bôle-Richard E, Fredon M, Biichlé S, Anna F, Certoux JM, Renosi F, et al. CD28/4-1BB CD123 CAR T cells in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Leukemia.* déc 2020;34(12):3228-41.
68. Wang W, Xu J, Khoury JD, Pemmaraju N, Fang H, Miranda RN, et al. Immunophenotypic and Molecular Features of Acute Myeloid Leukemia with Plasmacytoid Dendritic Cell Differentiation Are Distinct from Blastic Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasm. *Cancers.* 11 juill 2022;14(14):3375.
69. Huang Y, Wang Y, Chang Y, Yuan X, Hao L, Shi H, et al. Myeloid Neoplasms with Elevated Plasmacytoid Dendritic Cell Differentiation Reflect the Maturation Process of Dendritic Cells. *Cytom Part J Int Soc Anal Cytol.* janv 2020;97(1):61-9.
70. Gong X, Li C, Wang Y, Rao Q, Mi Y, Wang M, et al. Mature plasmacytoid dendritic cells associated with acute myeloid leukemia show similar genetic mutations and expression profiles to leukemia cells. *Blood Sci.* janv 2022;4(1):38-43.
71. Kamikubo Y. Genetic compensation of RUNX family transcription factors in leukemia. *Cancer Sci.* août 2018;109(8):2358-63.
72. Roumier C. M0 AML, clinical and biologic features of the disease, including AML1 gene mutations: a report of 59 cases by the Groupe Français d'Hématologie Cellulaire (GFHC) and the Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH). *Blood.* 15 févr 2003;101(4):1277-83.
73. Kurokawa M, Hirai H. Role of AML1/Runx1 in the pathogenesis of hematological malignancies. *Cancer Sci.* oct 2003;94(10):841-6.
74. Plesca I, Müller L, Böttcher JP, Medyouf H, Wehner R, Schmitz M. Tumor-associated human dendritic cell subsets: Phenotype, functional orientation, and clinical relevance. *Eur J Immunol.* nov 2022;52(11):1750-8.
75. Ray A, Das DS, Song Y, Richardson P, Munshi NC, Chauhan D, et al. Targeting

- PD1–PDL1 immune checkpoint in plasmacytoid dendritic cell interactions with T cells, natural killer cells and multiple myeloma cells. *Leukemia*. juin 2015;29(6):1441-4.
76. Inselmann S, Wang Y, Saussele S, Fritz L, Schütz C, Huber M, et al. Development, Function, and Clinical Significance of Plasmacytoid Dendritic Cells in Chronic Myeloid Leukemia. *Cancer Res*. 1 nov 2018;78(21):6223-34.
 77. Eppert K, Takenaka K, Lechman ER, Waldron L, Nilsson B, Van Galen P, et al. Stem cell gene expression programs influence clinical outcome in human leukemia. *Nat Med*. sept 2011;17(9):1086-93.
 78. Cossarizza A, Chang HD, Radbruch A, Akdis M, Andrä I, Annunziato F, et al. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies. *Eur J Immunol*. oct 2017;47(10):1584-797.
 79. Plateforme de cytométrie en flux [Internet]. Disponible sur: <https://www.univ-reims.fr/urcacyt/urcacyt-plateau-technique-de-cytometrie-en-%20flux,17140,31442.html>
 80. Génomique des leucémies aiguës myéloïdes de l'adulte. *Hématologie*. mai 2010;16(spec2):9-15.
 81. Montante S, Brinkman RR. Flow cytometry data analysis: Recent tools and algorithms. *Int J Lab Hematol*. mai 2019;41(S1):56-62.
 82. Lacombe F, Lechevalier N, Vial JP, Béné MC. An R-Derived FlowSOM Process to Analyze Unsupervised Clustering of Normal and Malignant Human Bone Marrow Classical Flow Cytometry Data. *Cytometry A*. nov 2019;95(11):1191-7.
 83. Huynh KD, Fischle W, Verdin E, Bardwell VJ. BCoR, a novel corepressor involved in BCL-6 repression. *Genes Dev*. 15 juill 2000;14(14):1810-23.
 84. Wang P, Feng Y, Deng X, Liu S, Qiang X, Gou Y, et al. Tumor-forming plasmacytoid dendritic cells in acute myelocytic leukemia: a report of three cases and literature review. *Int J Clin Exp Pathol*. 2017;10(7):7285-91.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2022/2023.

Nom : DESCHILDT
Prénom : Manon

Titre de la thèse : Caractérisations biologiques des leucémies aiguës myéloïdes associées à un excès de cellules dendritiques plasmocytoïdes (LAM-pDC) identifiées par cytométrie en flux sur une cohorte rétrospective de 2018 à 2020 au CHU de Lille.

Mots-clés : cellules dendritiques plasmocytoïdes, leucémies aiguës myéloïdes, cytométrie en flux, RUNX1, BCOR, FLOW-SOM

Résumé : Les cellules dendritiques plasmocytoïdes (pDC) sont les principales cellules productrices d'interféron de type 1. Elles jouent le rôle de cellule présentatrice d'antigène et modulent la réponse pro-inflammatoire. Par ailleurs, ces cellules sont impliquées dans différentes pathologies, notamment les leucémies aiguës myéloïdes (LAM), encore peu décrites dans la littérature. Ces LAM associées à un excès de pDC (LAM-pDC) sont définies par la présence de plus de 2% de pDC parmi les cellules de la moelle. Les LAM-pDC représenteraient 5% des diagnostics de LAM et seraient liées à un pronostic péjoratif pour le patient. Elles se distinguent des leucémies à pDC (LpDC) d'un point de vue immunophénotypique mais également mutationnel. Dans les LAM-pDC, nous observons un continuum de maturation de ces cellules associées à une population blastique et la présence de mutations du gène RUNX1 dans environ 70% des cas. Dans ce travail, nous confirmons notre capacité à identifier les LAM-pDC par cytométrie en flux dans la majorité des cas avec les combinaisons d'anticorps classiquement utilisés lors du diagnostic de LAM, que ce soit par méthode manuelle ou par méthode assistée par ordinateur (FLOW-SOM). Dans les cas complexes nous pourrions à l'avenir compléter le panel d'anticorps utilisés par des marqueurs plus spécifiques des pDC. Au niveau moléculaire, nous retrouvons, en plus de ces mutations de RUNX1, une fréquence plus élevée de mutations du gène BCOR dans les LAM-pDC. La présence d'une mutation de RUNX1 semble entraîner une proportion de pDC plus importante dans les différents cas de LAM.

Membres du jury :

Président : Madame le Professeur Stéphanie Poulain, PU-PH, CHU Lille, Faculté de Pharmacie

Directeur, conseiller de thèse : Monsieur le Docteur Florent Dumézy, PH, CHU Lille

Assesseur : Madame le Docteur Céline Berthon, PH, CHU Lille