

# Leucémogénèse des leucémies aiguës lymphoblastiques B

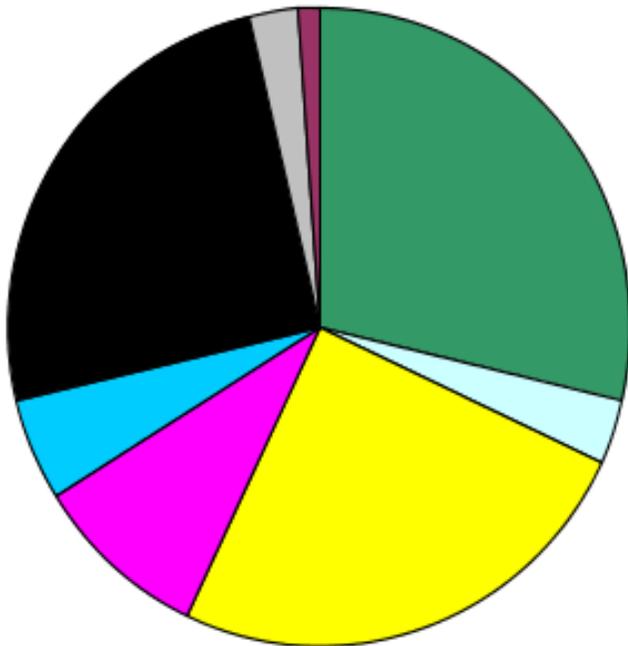
Willems L.  
Le 21 mars 2008

# Généralités

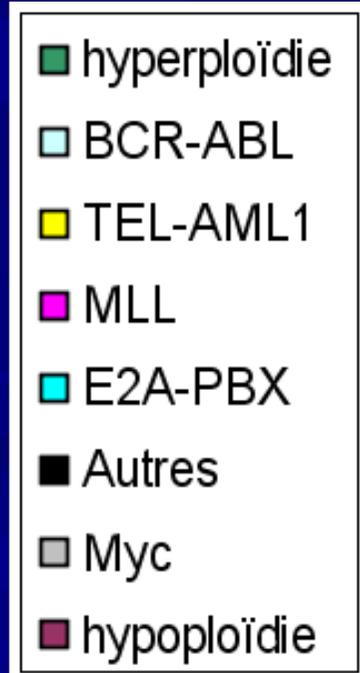
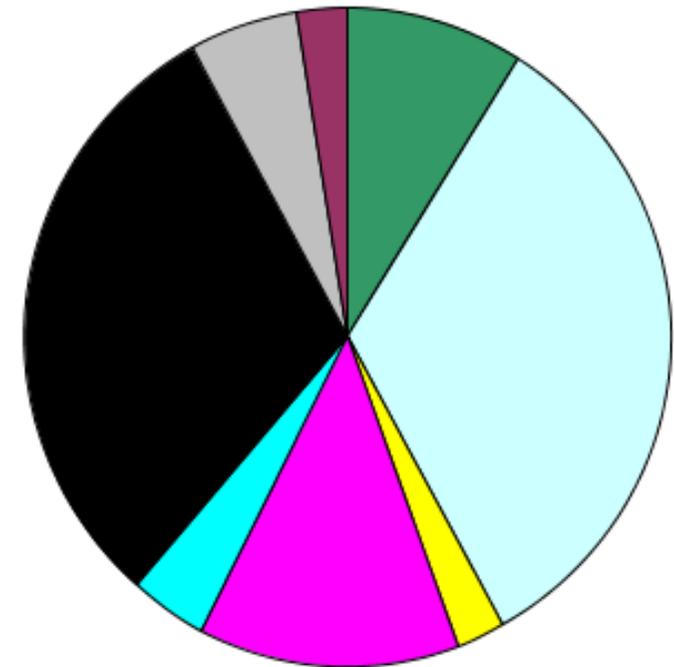
- Ensemble hétérogène
- Origine multifactorielle
- Mécanismes de leucémogenèse multiples
- LAL commune de l'enfant, modèle multi-étape:
  - Blocage de la différenciation : dérégulation de facteur transcriptionnel
  - Avantage prolifératif et/ou de survie
- Différencier LAL du nourrisson avec réarrangement MLL, des LAL pré-B commune de l'enfant et des LAL de l'adulte.

# Répartition des anomalies cytogénétiques selon l'âge

Enfants >1 an



Adultes



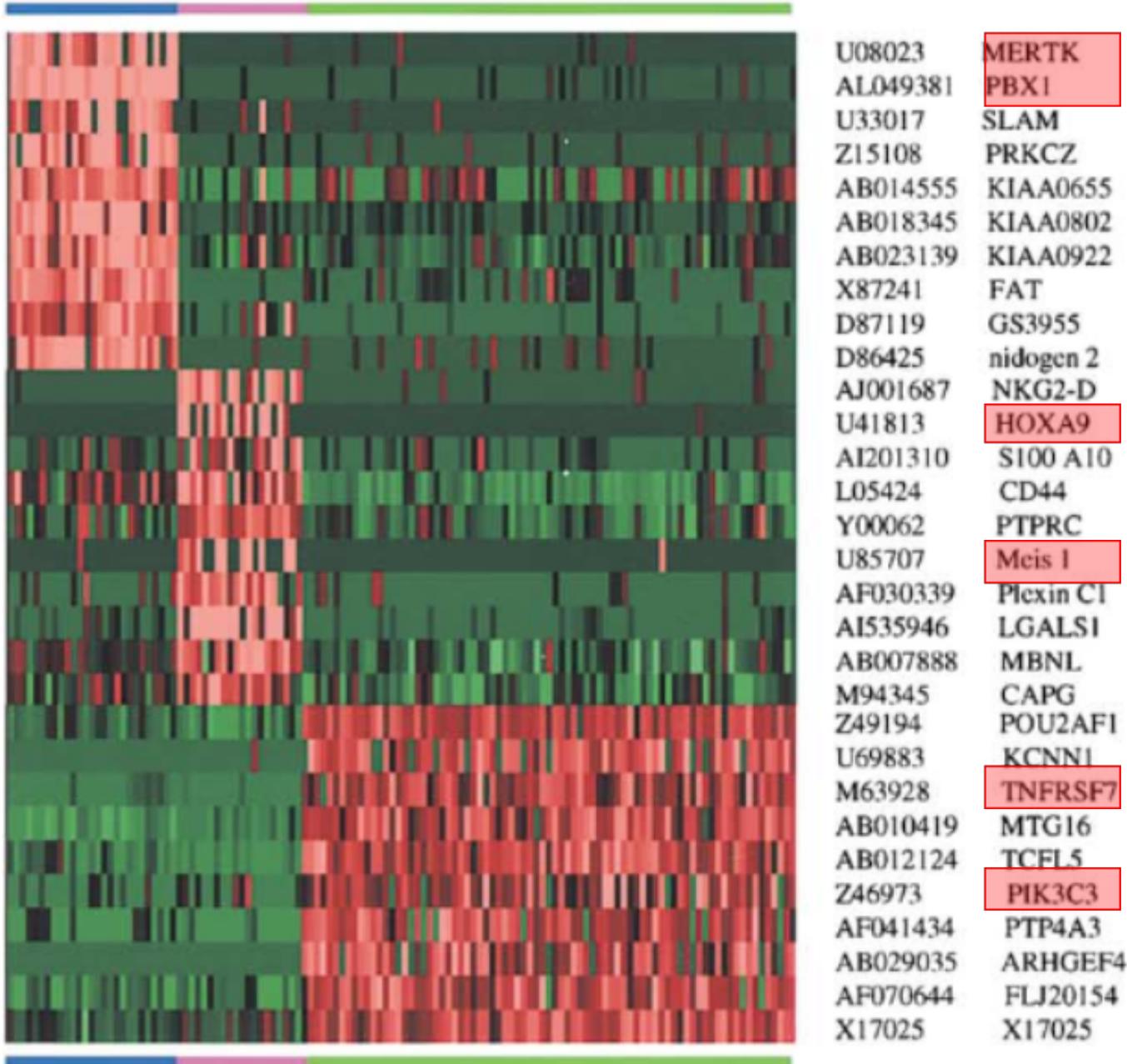
# Modifications chromosomiques

- Anomalies de nombre
- Anomalie de structure : translocations stables, peu d'anomalies génétiques associées
- Oncogène sous contrôle d'un élément régulateur puissant, constitutivement activé
- Protéine chimérique à activité kinase constitutive ou transcriptionnelle dérégulée
- Rôle de la délétion d'un allèle normal ?
- Microarray : 80% des LAL de l'enfant =
- 5 groupes 5 anomalies cytogénétiques connues
- 1 autre groupe délétion partielle de ERG

E2A-  
PBX1

MLL

TEL-AML1



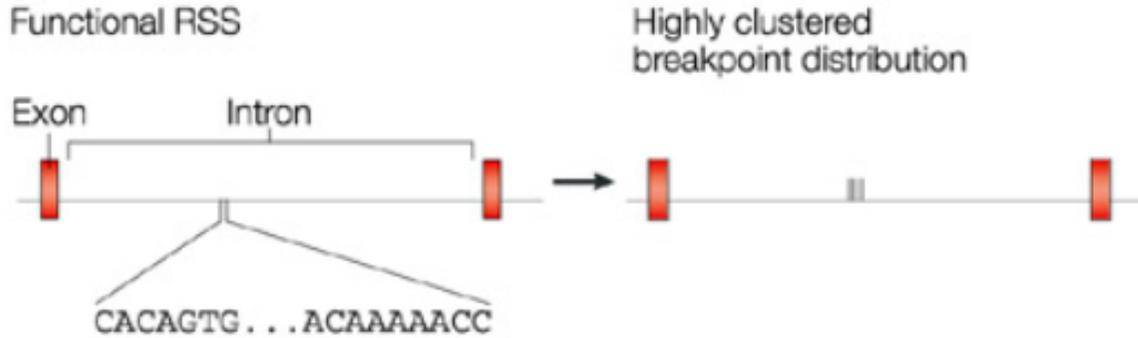
Mertk non exprimé dans  
les lymphocytes  
Souris transgénique →  
LAL-T

Coopération LAM chez  
la souris

# Origine des translocations : cassure d'ADN double brin

## V(D)J recombination

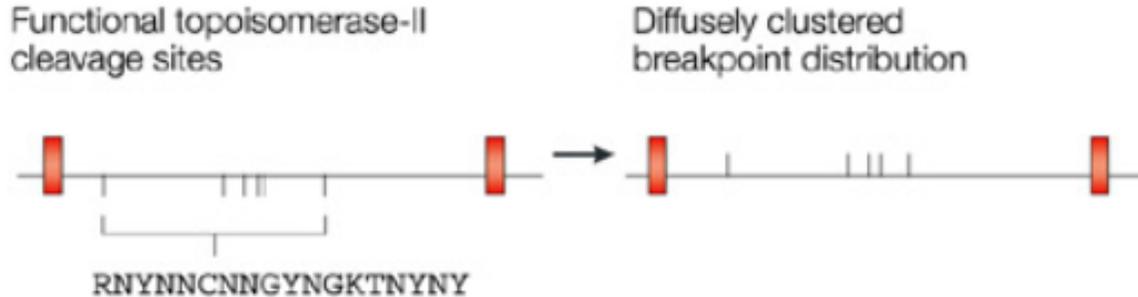
- *TAL1* deletion
- *MTS1* deletion
- *LMO2-TCR*
- *E2A* fusion?



Mécanisme fréquent dans les LAL-T

## Topoisomerase II

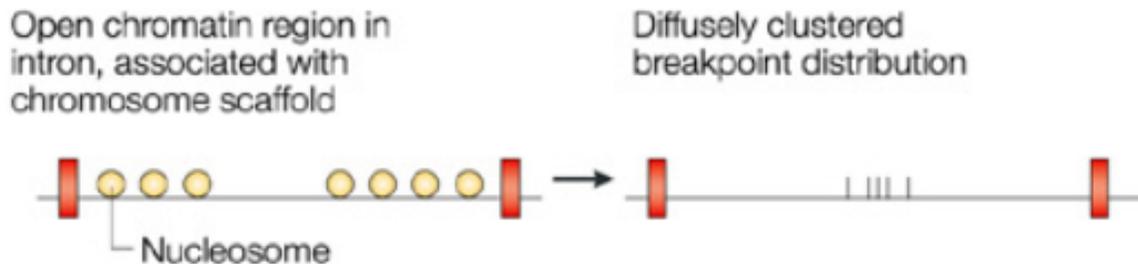
- *MLL* fusions
- *NUP98-TOP1*



Rôle étiologique d'inhibiteurs 'naturels' de topoisomérase ?

## Apoptotic endonucleases

- *MLL* fusions
- *TEL-AML1*
- *AML1-ETO*



Hypersensibilité aux DNase I.

# LAL de l'enfant: 1<sup>er</sup> évènement in utéro (1)

- Anomalies de MLL et TEL-AML1 au cours du **développement foetal** (pas E2A-PBX1)
- Etude de jumeaux : mêmes réarrangements IGH et translocations
- Analyse rétrospective des tests de Guthrie : translocations +
- Large screening de sang de cordon : fréquence Tel-Aml1 x100 incidence LAL
  
- **Evènements génétiques additionnels ?**
- Taux de concordance ~ 5% chez les jumeaux homozygotes
- Latence longue
- Modèles transgéniques

# LAL de l'enfant: 1er évènement in utéro (2)

Anomalie génétique	Guthrie %	Taux de concordance des jumeaux
MLL-AF4	~100%	>50% ~100% si placenta commun
TEL-AML1	~75%	~5-10%
E2A-PBX1	~10%	
Hyperdiploïdie	La plupart ?	

# Rôle oncogénique des translocations

- TEL-AML1:

- Modèle murin : Pas ou peu (2/9) de LAL ; délai latence élevé

Blocage de différenciation B partiel et variable

Expansion de progéniteurs B : état pré-leucémique

- Jumeau sain : population pré-leucémique CD34<sup>+</sup> CD38<sup>-/low</sup> CD19<sup>+</sup>

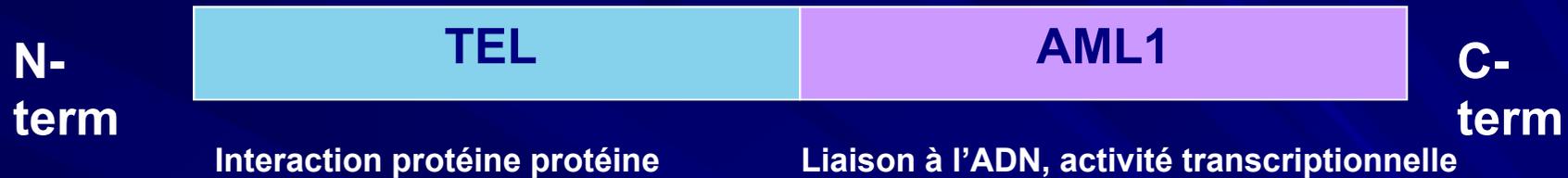
- MLL :

- Modèles murins récents : incidence LAL élevée ; délai court

- LAL du nourrisson : événement précoce, taux de concordance élevé chez les jumeaux, nb de délétion d'ADN faible par cas ~1

→ Rôle initiateur important  
→ Nécessité +/- d'un 2ème évènement

# TEL-AML1



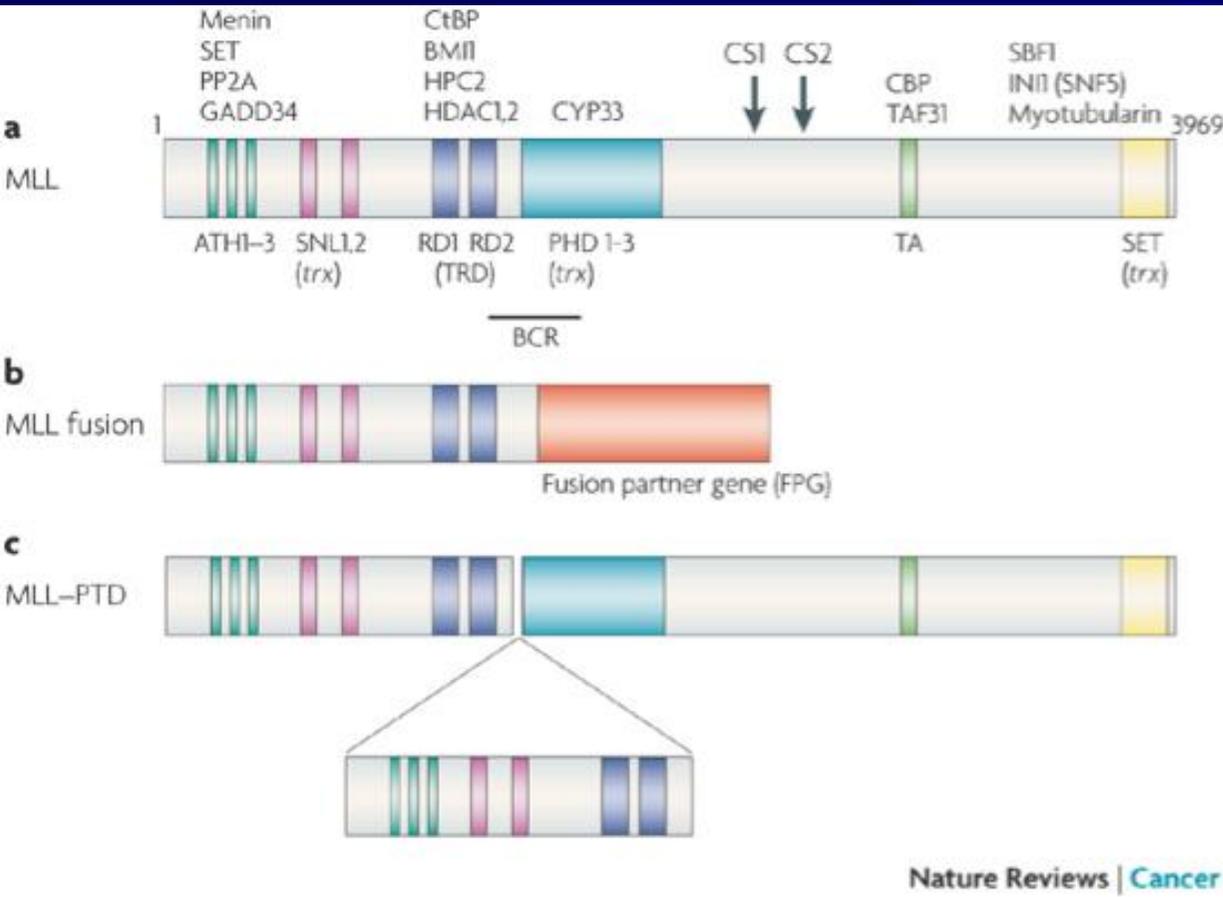
Effet **répresseur transcriptionnel** : recrutement de N-Cor, Sin3A, HDAC  
- Expression de  $\lambda 5$  et IL7-R inhibée chez la souris (cibles de AML1)  
- Domaines de TEL (HLH et CR) et AML1 (RHD) nécessaires à la transformation in vitro

- Evènements secondaires :
- Délétion de l'allèle TEL normal 70% (rôle anti-prolifératif de Tel)
- Délétion ou mutation Pax5 ~28%
- Coopération avec délétion p16<sup>INK4a</sup>/p19<sup>ARF</sup> chez la souris

# MLL (mixed lineage leukemia) (1)

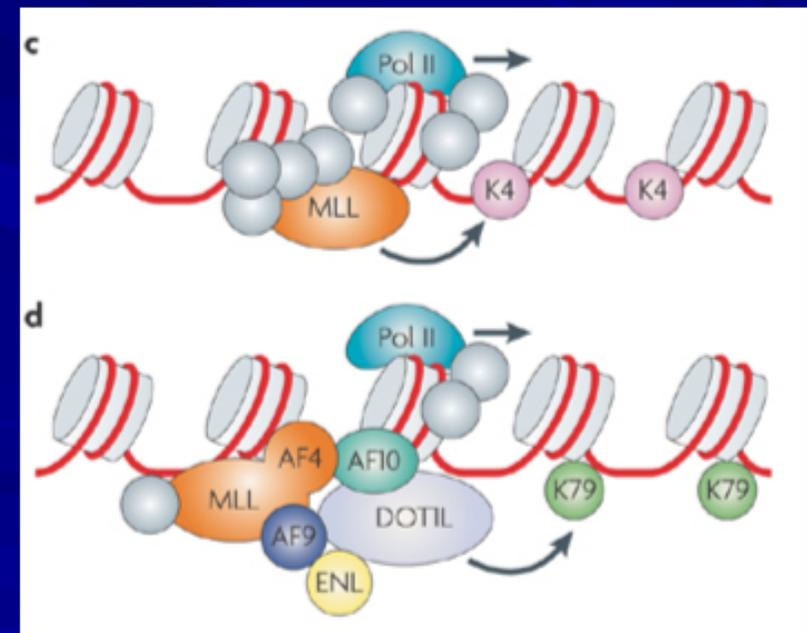
- DNA-binding protein, activité **Histone méthyltransférase** (H3K4), régulateur transcriptionnel positif de l'expression des gènes Hox
- KO létal embryonnaire (souris) : défaut de maintenance de l'expression des gènes hox
- Réarrangement MLL : **dysrégulation des gènes HOX** constante ; surexpression de HOXA9 et MEIS1
- Modèle murin : MLL-ENL (transfection de CS et progéniteurs de sang de cordon humain) greffe chez NOD/SCID : LAL pro-B (26/29) ; MLL-AF9 8/16 LAL pré-B, 2LAM, 1 LA biphénotypique
- **Single hit ?**

# MLL (mixed lineage leukemia) (2)



**AF4** : 34% LAL de l'enfant  
90% LAL de l'adulte

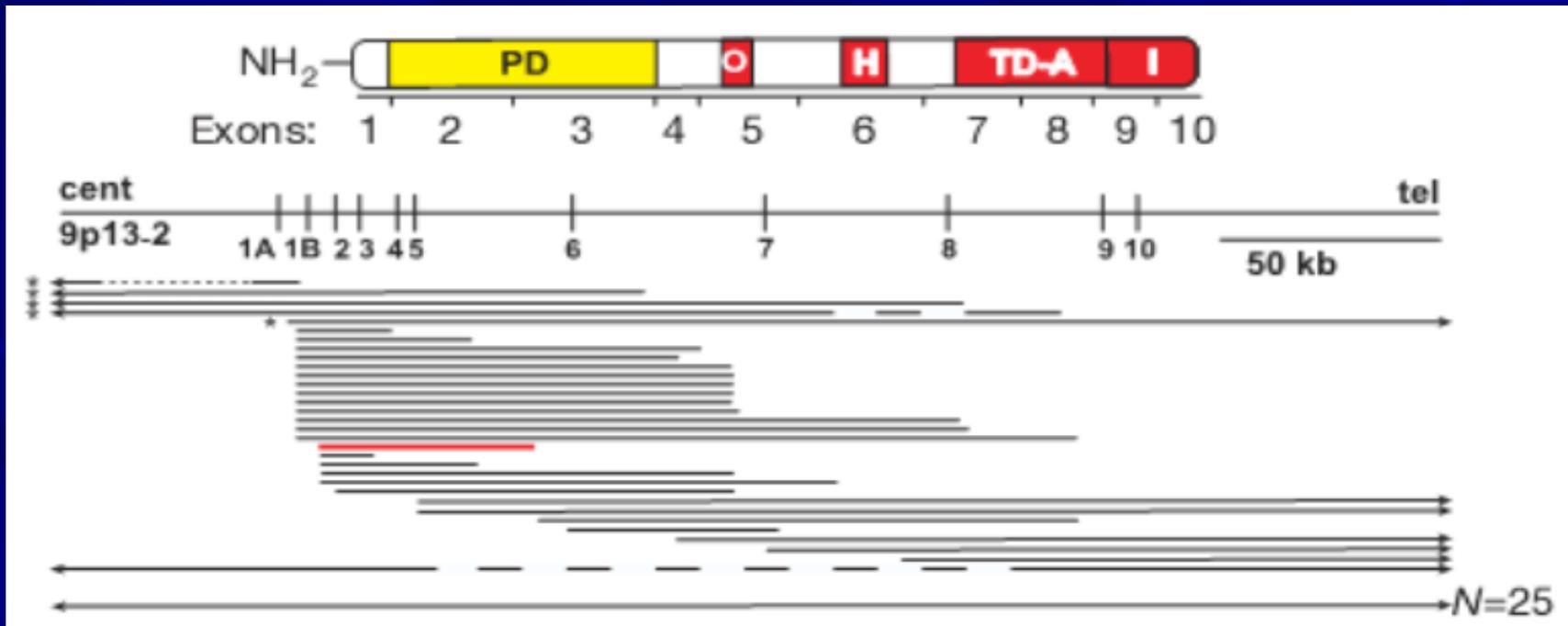
Rôle de la protéine partenaire ++



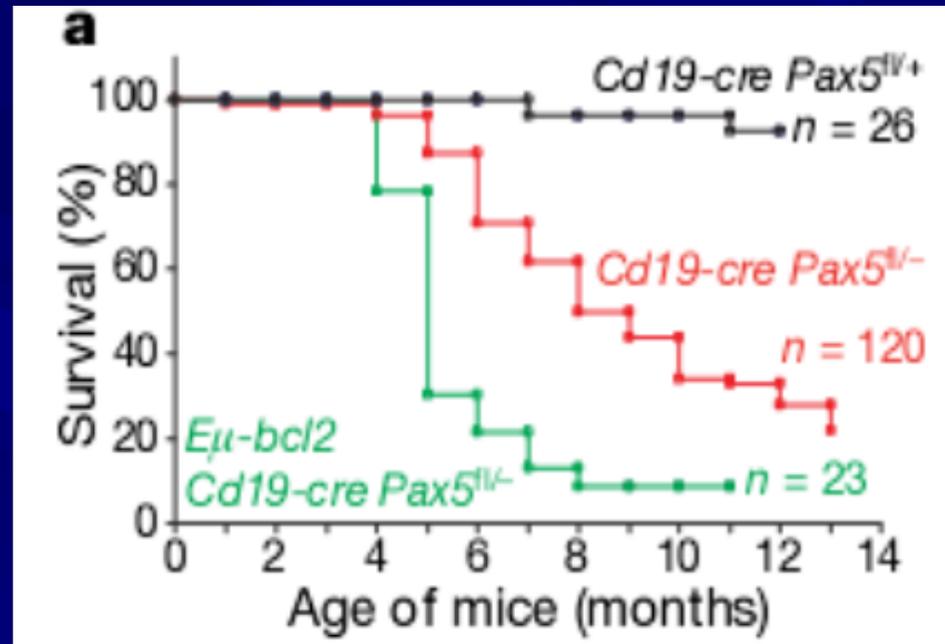
# Autres anomalies génétiques identifiées (1)

- Gènes impliqués dans la différenciation LB dans 40% des LAL B: (n=192)

**Délétion de PAX5 ~30% des LAL B** (rôle ++ dans la différenciation et la maintenance de la lignée B : cibles transcriptionnelles= CD19, CD79a, BLNK et CD72). Mutations et translocations + rares



- Modèle de souris Cd19-cre PAX5<sup>fl/-</sup> : 50% prolifération pro-B si délétion bi-allélique



- Plus rarement : délétion mono-allélique de EBF1 (early B factor ; n=8), IKAROS (n=17), AIOLOS, E2A, LEF1, BLNK...

# Autres anomalies génétiques identifiées (2)

- FLT3
- ITD mutations < 1% (LA biphénotypique ++)
- Mutations activatrices de FLT3 : 5-22% des LAL avec réarrangement MLL ou hyperploïdes
- Voie Ras/Mapk : 45% mutations dans cLAL Tel-Aml1 négative
- Mutation *PTPN11* (phosphatase SHP2) gain de fonction : 7.3%
- Mutation *NRAS* 9.6% et *KRAS* 14.5% des cLAL, exclusives
  
- Cycle cellulaire :
- Délétion, hyperméthylation ou mutation de *CDKN2A* (p16<sub>INK4a</sub>/p19<sub>ARF</sub>) + *CDKN2B* (p15<sub>INK4b</sub>) = 30 % délétions chez l'enfant
- Plus rarement : *CDKI* (p27, p21, P57), *FOXO3a*, *RB*, *HDM2*...

# Cellules souches leucémiques (1)

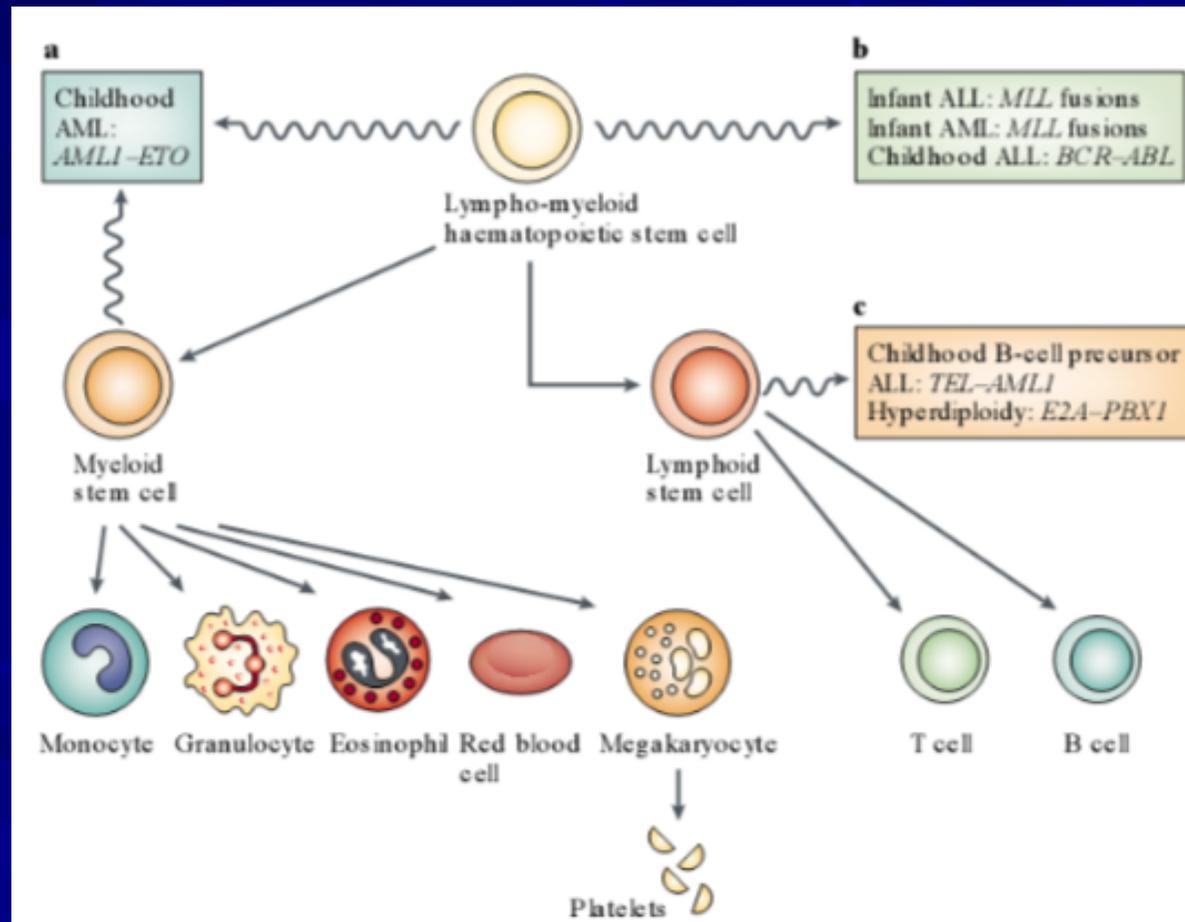
Greffe leucémique chez souris NOD-SCID  
Population minoritaire, responsable des rechutes.  
Caractéristiques communes entre HSC et LSC

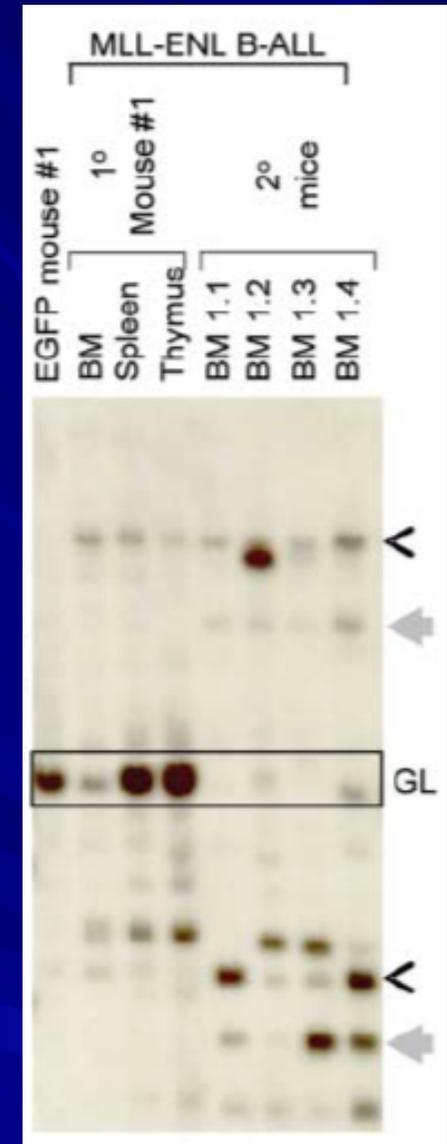
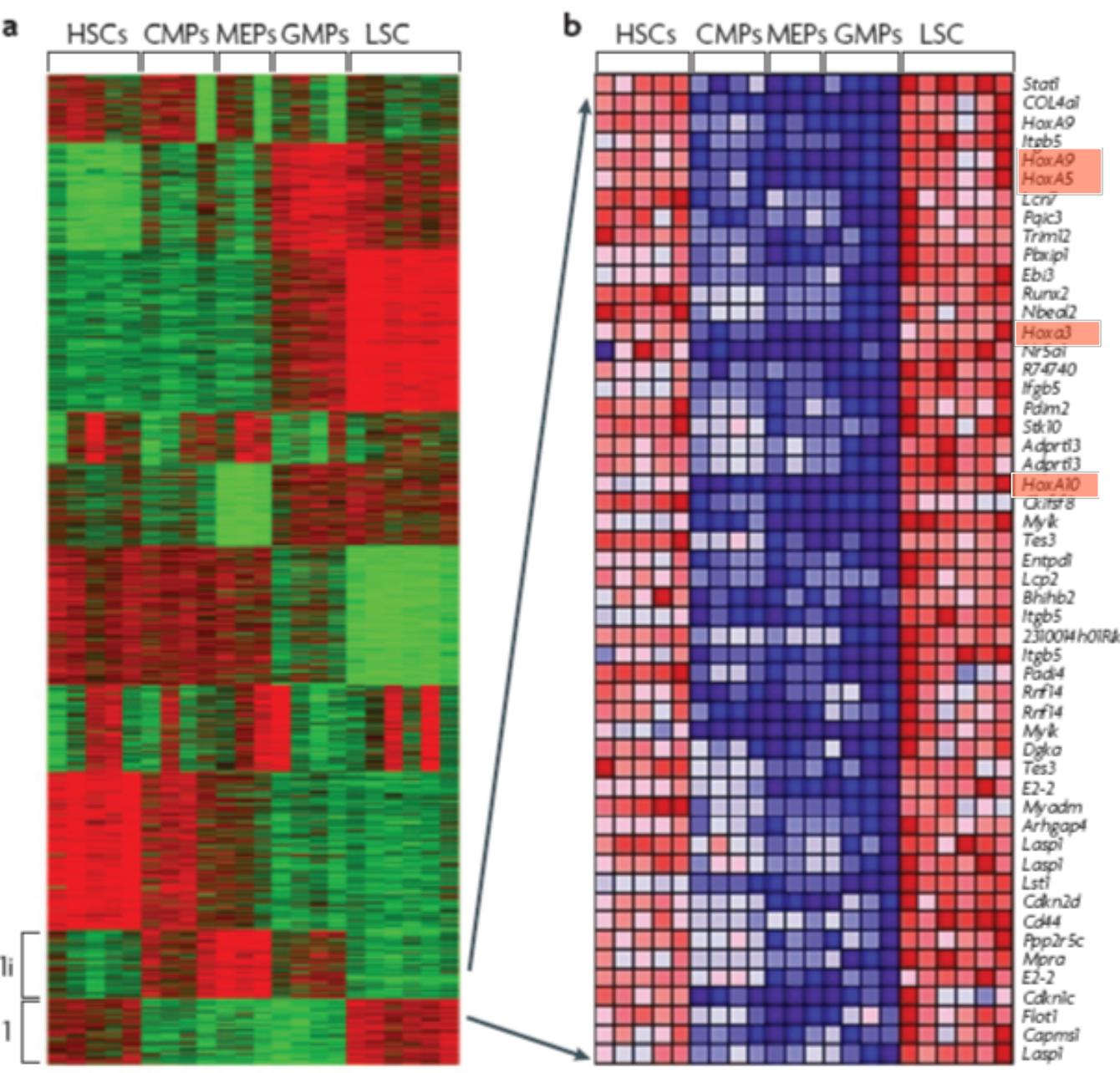
Origine de la transformation :

Cellule souche hématopoïétique

OU

Progéniteur lymphoïde ?





Transfection de Mll-AF9 dans GMP : modèle LAM

Evolution du phénotype des LSC au cours du temps ?

# Cellules souches leucémiques (2)

- Origine à partir d'une HSC ?

Anomalies clonales (Ph1+ p190, réarrangement TCR...) présentes dans des cellules CD34+ CD38- ou CD34+ lin-

- Origine à partir d'une HSC ou d'un progéniteur lymphoïde :
- **Variable selon le type de LAL-B**
- TEL-AML1 et Bcr-Abl p190 : population aberrante CD34+CD38-CD19+ ; prise de greffe dans la souris NOD-SCID
- Bcr-Abl p210 présent dans CD34+CD38-CD19+ et CD19-, présent dans CD34+ CD33+ ; seule la fraction CD19+ greffe dans la souris NOD/SCID

# Transformation de LMC : Modèle LAL Ph1

Differentiation arrest	CEBP $\alpha$	-
	HNRNP2	+
	NUP98-HOXA9	
	AML1-EVI1	
Failures of genome surveillance	ATR	-
	BRCA1	-
Deficiencies of DNA repair	DNA-PKcs	-
	RAD51	+
	FANCD2	
	WRN	
	XPB	
Mutator phenotype	POLB (DNA polymerase $\beta$ )	+
	MLH1, PMS2	
Telomere shortening	TERT	
Loss of tumour-suppressor function	PP2A	
	TP53	
	CDKN2A	
	INK4A	
	ARF	
	RB1	
Unknown*	PIASy	-
	AML1, AF1Q, ETS2, LYL1, PLU1, IMPDH1, GBDR1, NME1, GRO2, CA4, SNC73, MSF, CREBBP	
Profil d'expression génique	PRAME, GLI2, SOCS2, WT1, GAS2, MDFI, WIT1, RRAS2, ITPR1, FOS, ARG	
	CD7, PR3, ELA2, BMI1	

- Rôle de Bcr-Abl ?
- Blocage de différenciation
- Activation d'un programme d'auto-renouvellement dans un progéniteur GMP (voie  $\beta$ -caténine)
- Instabilité génomique : anomalies secondaires (*t8, Ph1 additionnel, isochromosome 17, t9, delY, t21, del7*)

# Conclusions

- Potentiel oncogénique variable selon la lésion initiale
- Evènements secondaires mal connus : rôle de gènes impliqués dans la différenciation B
- Facteurs favorisant la survenue du 2ème évènement? Intérêt des études épidémiologiques

