



syndromes myélodysplasiques et méthylation

sfh

Marie-Anne Couturier
Interne DES onco-hématologie
CHRU Tours

18 mars 2010



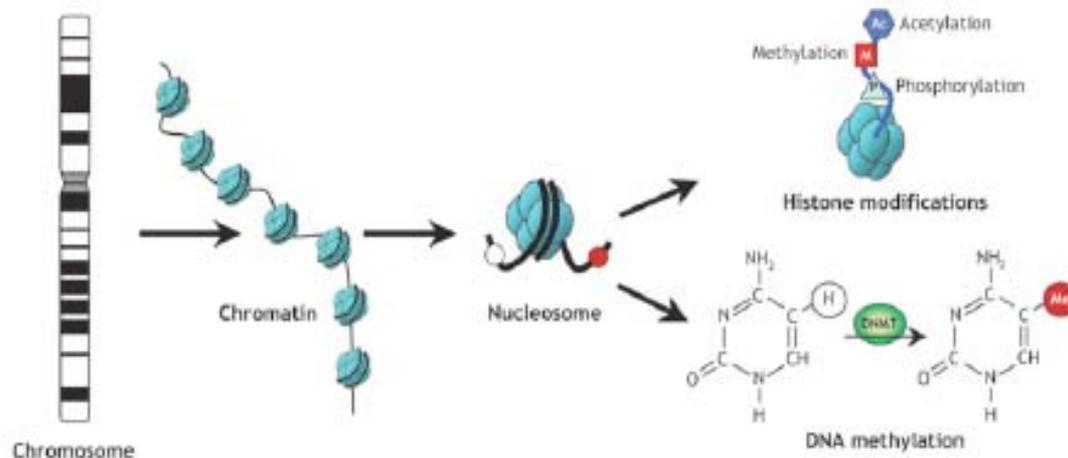
Modifications épigénétiques de l'ADN

Gestion de l'information génétique dans le noyau cellulaire :

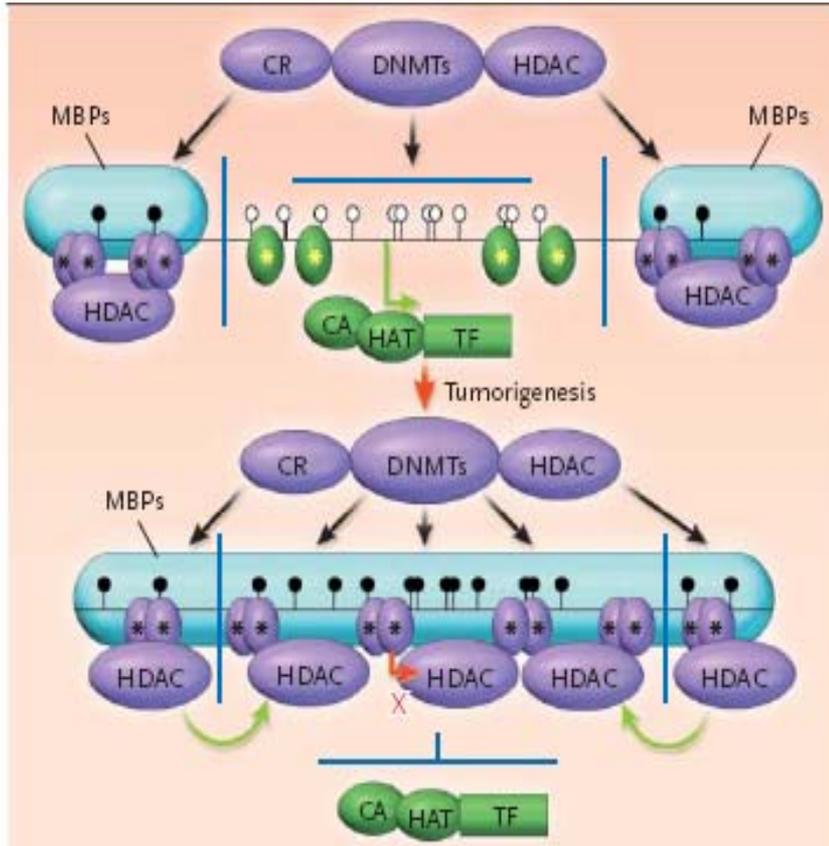
- organisation spatiale : chromatine
- moindre accessibilité à certains gènes d'intérêt et leur activation

Etiquetage biochimique :

- désacétylation des histones (HDAC, HAC) : leucémies/lymphome/cancer de prostate/rein/colon
- méthylation des séquences d'ADN régulatrices des gènes d'intérêt (DNMT), méthylation des histones (HMT)
- phosphorylation
- ubiquitinylation de la chromatine
- modifications post-transcriptionnelles



Modifications épigénétiques au cours du cancer



Cellule normale :

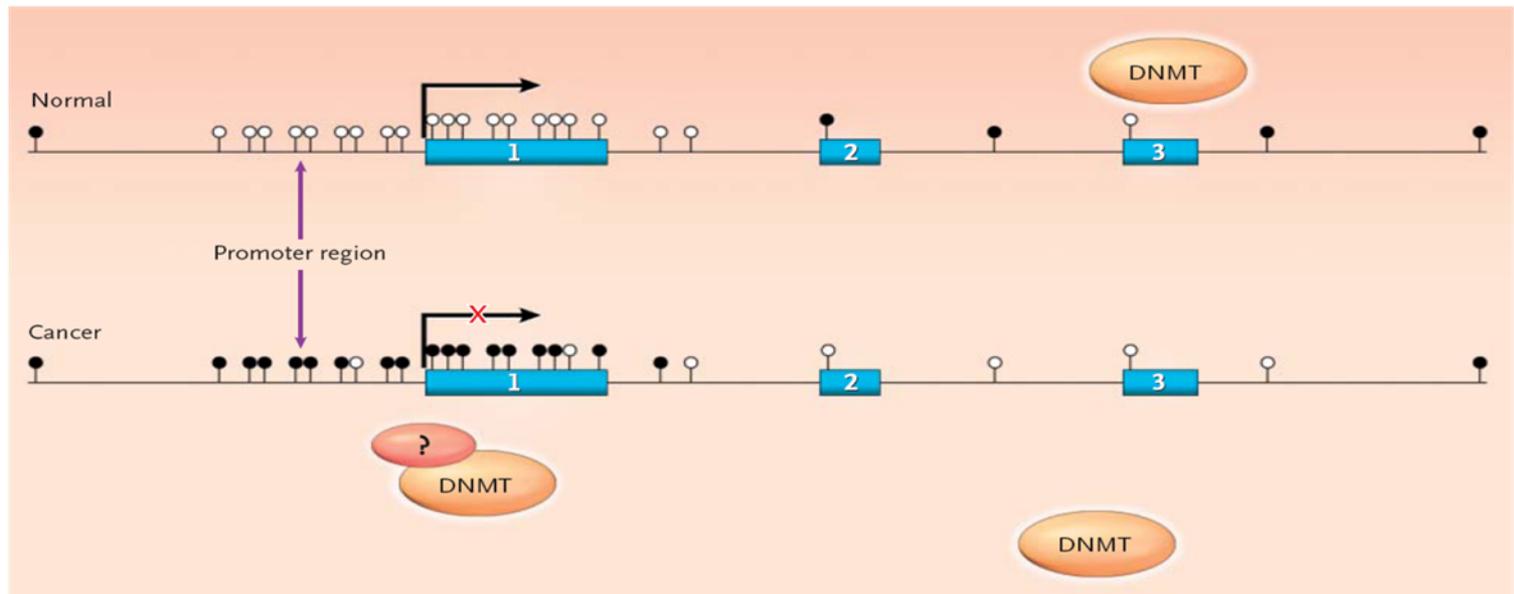
- histones acétylées en H3
- nucléosomes espacés
- chromatine accessible
- ⇔ gène actif non-méthylé,
- ⇔ accessible aux FT

Cellule tumorale :

- histones déacétylées et méthylées en H3K9
- CpGs méthylés
- nucléosomes rapprochés
- ⇔ chromatine en configuration de répression transcriptionnelle
- ⇔ régions promotrices inaccessibles aux protéines de transcription

Evolution de l'oncogénèse

- **Hypométhylation globale** => DYSPLASIE
 - activation d'oncogènes
 - activation de gènes anti-apoptotiques (Bcl2)
- **Hyperméthylation des îlots CpG des régions promotrices de gènes**
=> CANCER
 - inactivation de gènes régulateurs du cycle cellulaire (p15, p16)
 - inactivation de gènes suppresseurs de tumeur (HIC1)
 - inactivation de gènes pro-apoptotiques
 - inactivation de gènes de réparation de l'ADN (MLH1)



Exemple de p15INK4b

Rôle de la méthylation de p15INK4b dans la progression des SMD

Methylation of the p15INK4b gene in MDS is frequent acquired during disease progression

Quesnel et al. Blood, 1998; 91 : 2985-2990

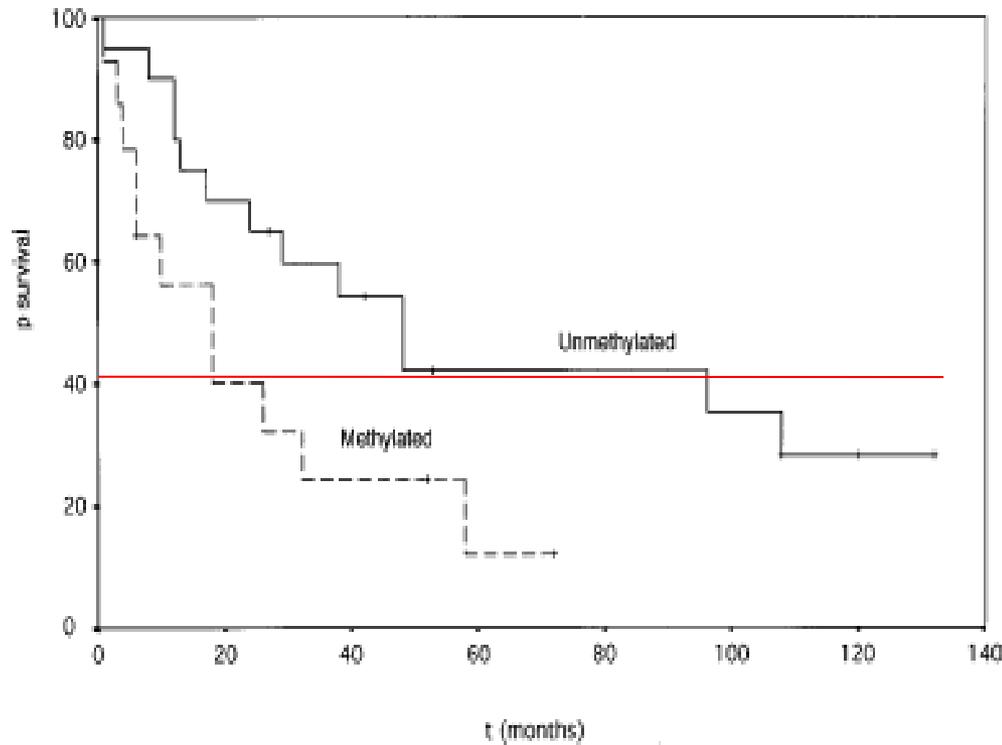
p15INK4b (9p21) : inhibiteur CDK 4/6 $\xrightarrow{\text{TGF}\beta}$ inhibition progression cellulaire en ψ G1

	p15 méthylé	p15 non-méthylé	
total (n = 53)	20 (38%)	33 (62%)	
BM \geq 10%	20 (83%)	4 (7%)	p < 0.001
dont 15 MDS \Leftrightarrow	11 (73%)	4 (27%)	
dont 9 progression to AML	9 (100%)	0	p = 0.6
BM < 10%	0	29 (100%)	
OS (months)	18	48	p = 0.049

- statut de méthylation **corrélé à la blastose médullaire** (\neq cytogénétique)
- acquisition méthylation p15 = **progression tumorale (LAM)**

Exemple de p15INK4b

méthylation p15 : mauvais pronostic sur la survie globale



Méthylation p15INK4b

- mauvais pronostic
- associé à la progression des SMD

Profil de méthylation dans les SMD

- Etude de la méthylation de l'ADN des gènes suppresseurs de tumeurs au cours de la progression de la maladie

Jiang, Maciejewski J.P. et al.

Aberrant DNA methylation is a dominant mechanism in MDS progression to AML,

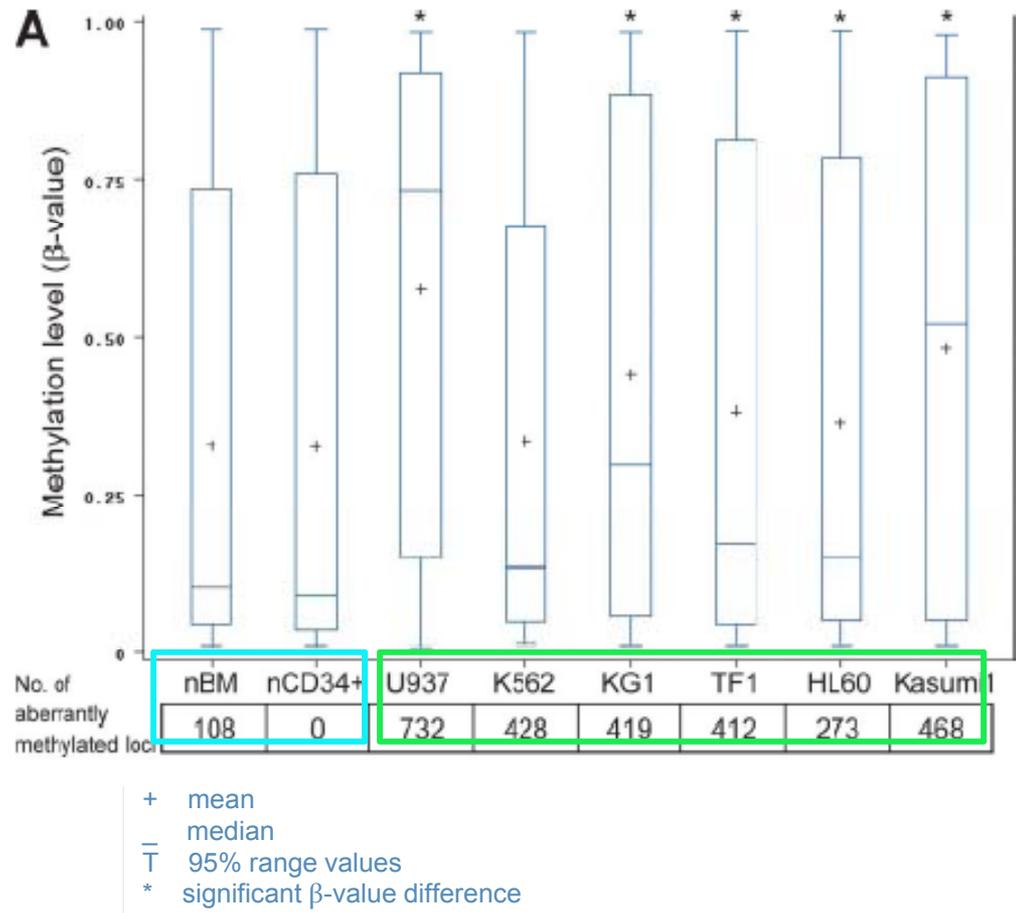
Blood 2009; 113 (6) : 1315-1325

- Approche pangénomique
- Techniques haut débit :
 - methylation micro-array
 - SNP-A karyotyping
- 6 lignées de cellules leucémiques étudiées

Profil de méthylation dans les SMD

Hyperméthylation globale

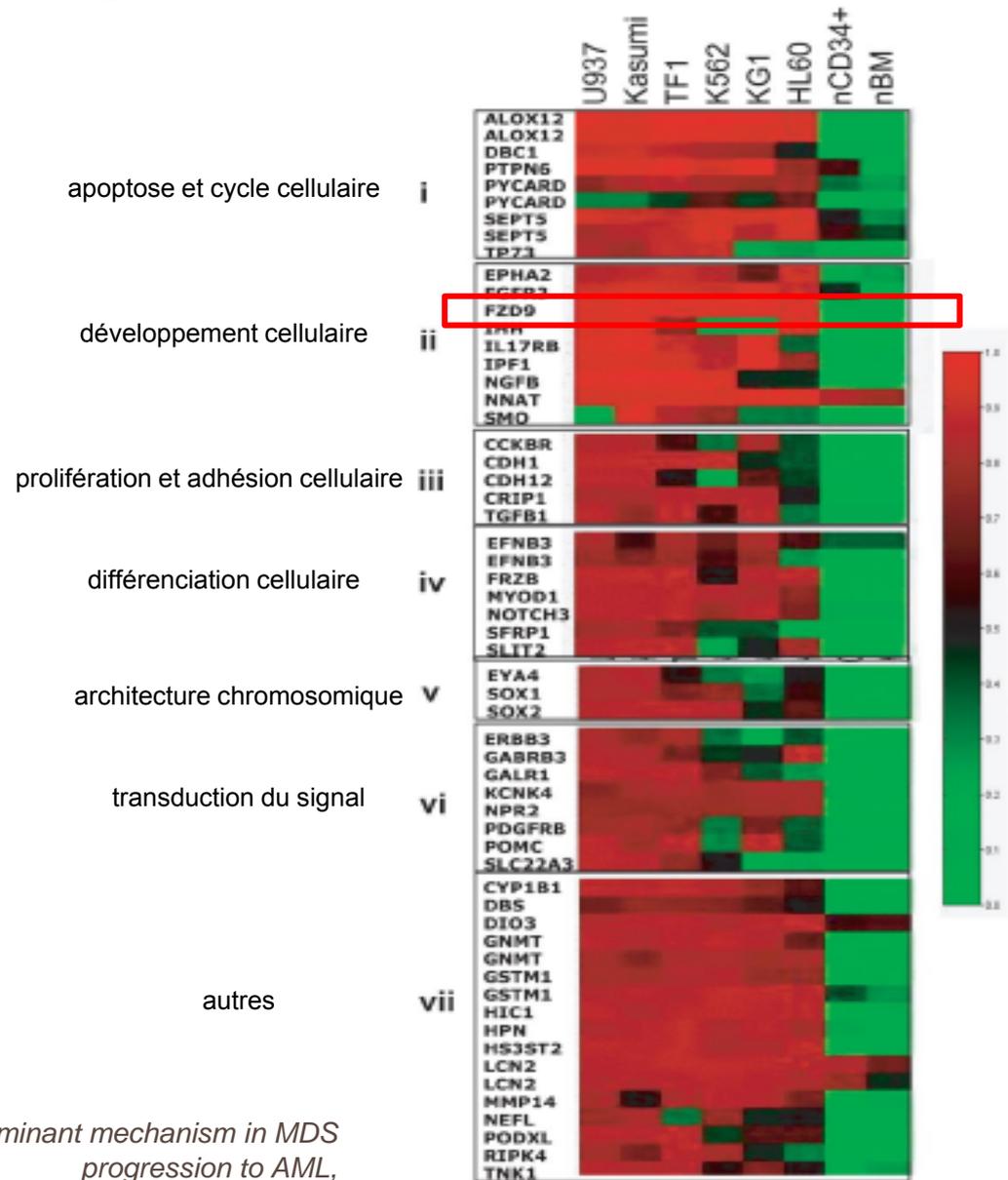
Nombre de loci hyperméthylés significativement + élevé dans les 6 lignées de cellules leucémiques, vs CSH CD34+ normales contrôles



Jiang et al. Aberrant DNA methylation is a dominant mechanism in MDS progression to AML, *Blood* 2009; 113 (6) : 1315-1325

Profil de méthylation dans les SMD

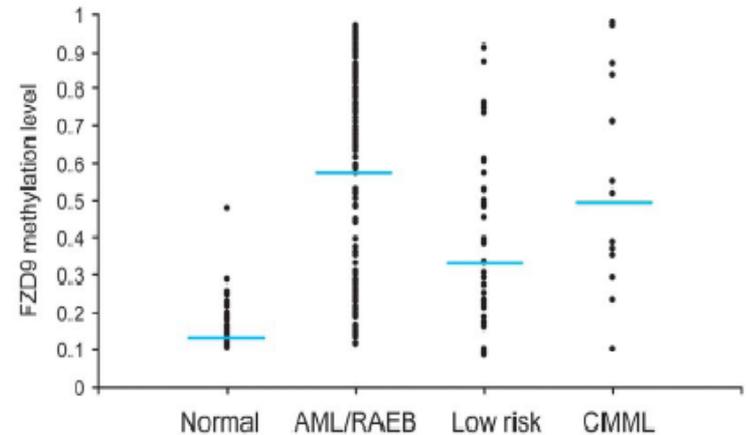
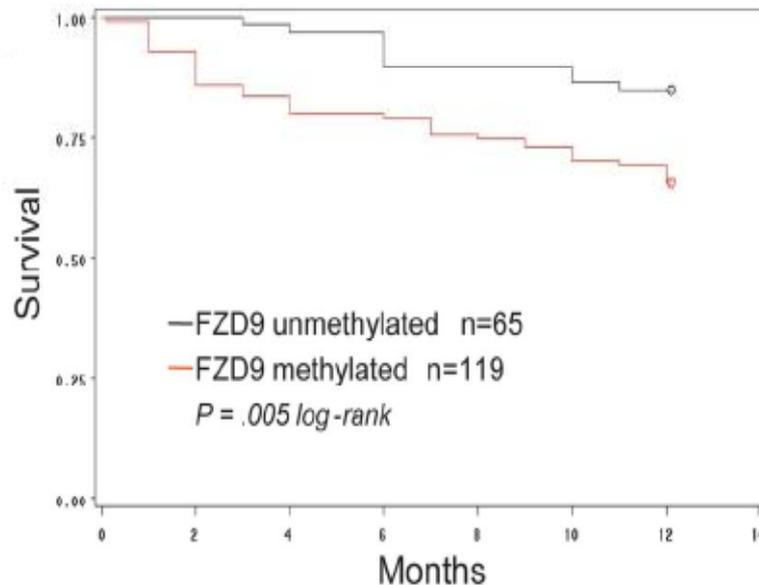
Un profil de méthylation distinct pour chaque lignée leucémique



Aspects pronostiques

Etude d'un gène spécifique FZD9, (7q11), TSG R-Wnt

- Hyperméthylation du site CpG de FZD9 : prédictif d'une diminution de survie à 12 mois
- Méthylation CpG au niveau locus FZD9 :
 - AREB/LAM : 72%
 - low-risk SMD : 48%
 - contrôles : 2%



- Mécanismes de progression vers LAM
- Facteur de mauvais pronostic

Aspects physiopathologiques

- n = 184 MDS + AML
- 1505 loci analysés (CpG des régions 5' régulatrices de 807 gènes, dont TSG et oncogènes)
- résultats :
 - MO contrôles : aucun gène méthylé
 - low-risk MDS : 91 / 1505 CpG méthylés
 - After blast transformation (AREB / AML) : 179 / 1505 CpG méthylés

Hyperméthylation CpGs associée à la progression de la maladie

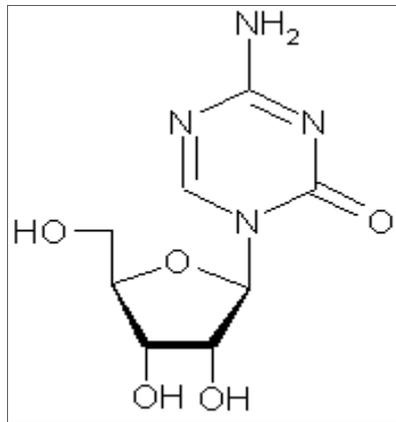
Traitement

développement des nouveaux agents thérapeutiques

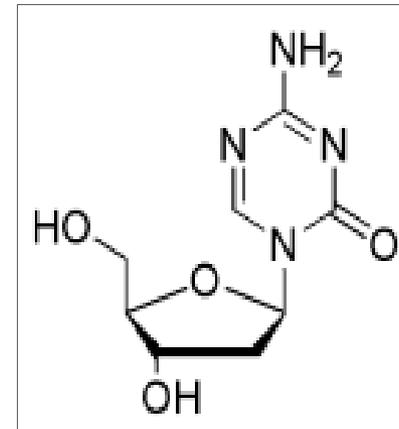
- SMD Int-2 et high-risk : mauvais pronostic (critères IPSS)
- Chimiothérapie intensive décevante
 - CR = 50-60%
 - durée CR courte :
 - Toxicité
 - Facteur pronostique essentiel : **caryotype**
- **Allogreffe** : seul traitement curatif, hauts risques

Agents hypométhylants

- Analogues nucléosidiques
- A faibles doses
 - Phase S : phosphorylation (5-aza-dCTP), incorporation à l'ADN / ARN
 - Liaison covalentes avec DNMT = inhibition irréversible de leurs fonctions enzymatiques



5-azacytidine (VIDAZA®)



5-aza 2'-déoxycytidine
décitabine (DACOGEN®)

AZACYTIDINE

Autorisation de la FDA dans les SMD

Randomized controlled trial of azacytidine in patients with myelodysplastic syndrom :

A study of the cancer and leukemia group B.

Silverman LR. et al. JCO, 2002 ; pp 2429-2440

SMD tout risque



Azacytidine SC 75 mg/m²/j, 7j/28j (4 cycles)

BSC (> ou = 4 mois)

	OS (mois)	Temps jusqu'à progression vers LAM /décès (mois)	CR	PR	HI	EFS (months)
AZACYTIDINE	18	19	7%	16%	37%	21
BSC	11	8	0	0	5%	12
			10%	4%	33%	
p	0.03	0.007			< 0.001	0.007

EFS : AZA ralentit l'évolution vers LAM

mais - faibles taux de réponse

- pas d'avantage sur la survie (sauf analyse de sous-groupes)

AZACYTIDINE

Efficacy of azacytidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes : a randomised, open-label, phase III study

Fenaux P. et al, the Lancet oncology, 2009

SMD hauts risques (Int-2 / High), nombre de cycles reçus : 9



Azacytidine SC 75 mg/m²/j, 7j / 28j

Traitements conventionnels

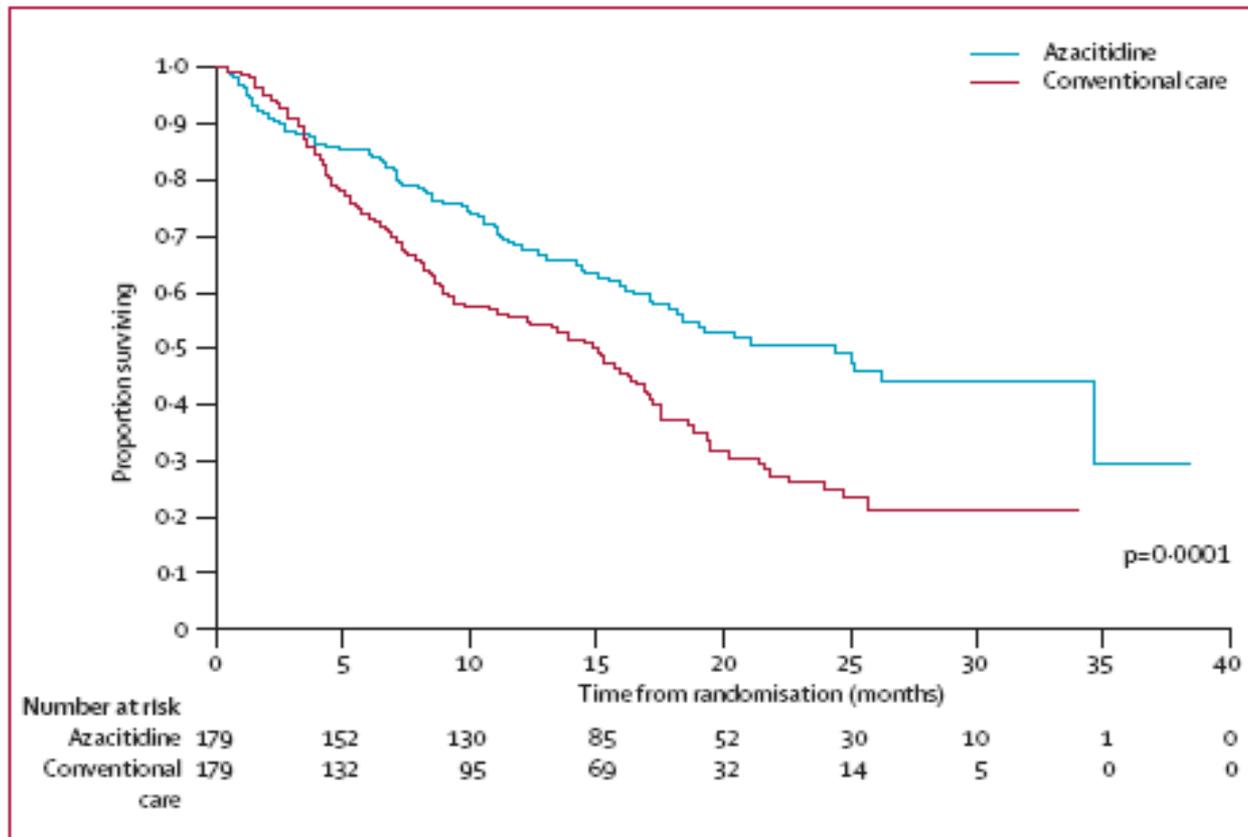
- soins de support
- Aracytine faibles doses (20 m/m²/j SC 14j / 28j)
- chimiothérapie intensive (anthracyclines/aracytine 3+7)

	OS (mois)	Survie à 2 ans	Temps jusqu'à progression vers AML (mois)	CR	PR	Maladies table	HI		
							E-HI	pl-HI	PNN-HI
azacytidine	24.5	50.8%	17.8	17%	12%	42%	40%	33%	19%
Traitements conventionnels	15	26.2%	11.5	8%	4%	36%	11%	14%	18%
p	0.0001	< 0.0001	<0.0001	0.015	.0094	0.33	< .0001	0.0003	0.87

AZACYTIDINE

Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes : a randomised, open-label, phase III study

Fenaux P. et al, the Lancet oncology, 2009

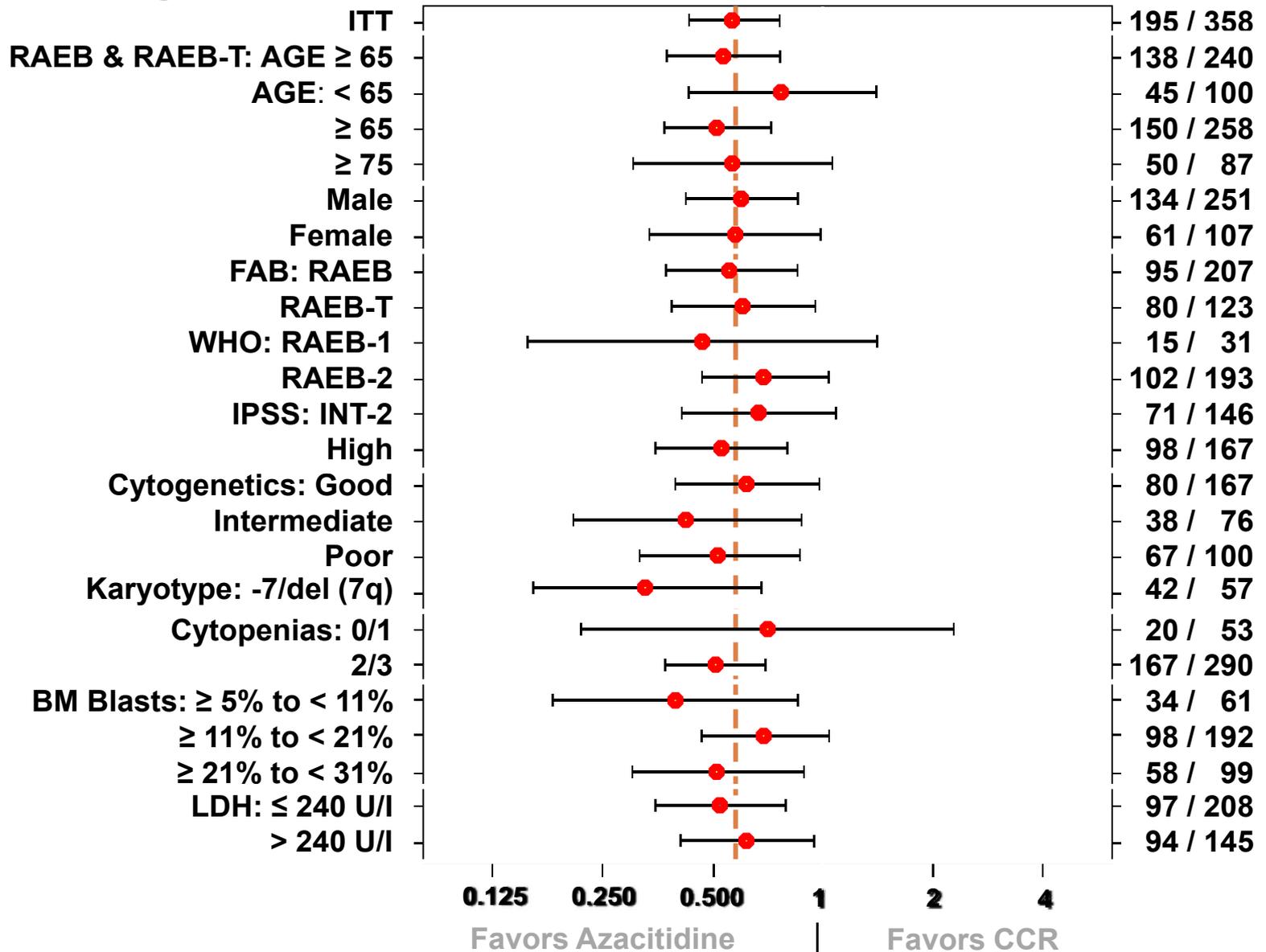


Facteur de réponse : survie
Indépendant du taux de RC

AZACYTIDINE

ITT Subgroups

Total - Event / N



AZACYTIDINE

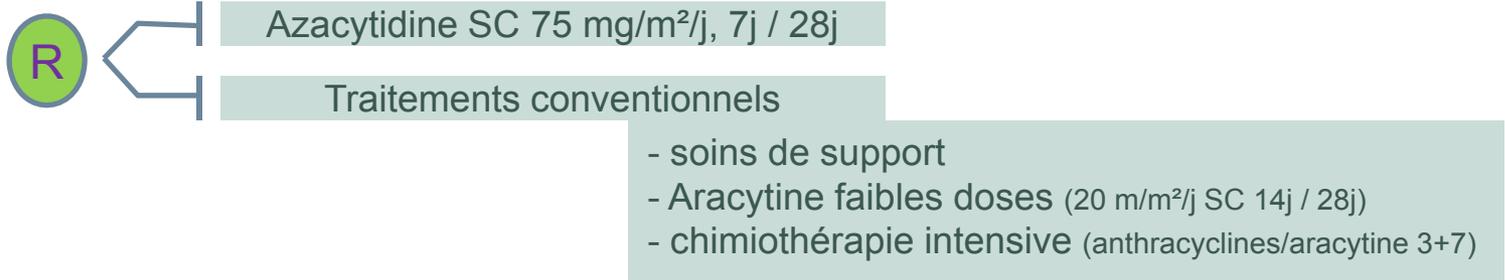
Azacytidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count AML

Fenaux P. et al, JCO 2009

Population : - âge médian = 70 ans, analyse sous-groupe AZA 001

- 86% CI à la chimiothérapie intensive

- AREBt (df° FAB), ou LAM (WHO), taux blastes médullaires bas 20-30%



	OS (mois)	Survie à 2 ans (mois)	CR
azacytidine	24.5	50.2%	18%
Traitements conventionnels	16	15.9%	16%
p	0.005	0.001	0.8

Amélioration significative de survie dans la bras azacytidine

AZACYTIDINE

Efficacy of azacytidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes : a randomised, open-label, phase III study

Fenaux P. et al, the Lancet oncology, 2009

1^{ère} étude : amélioration significative de survie aza vs CCR

AMM européenne : AZA chez les patients à SMD de risque Int-2 ou high

AZACYTIDINE : traitement de référence SMD hauts risques

DECITABINE

Low dose 5-aza2'-deoxycytidine, a DNA hypomethylating agent, for the treatment of high-risk myelodysplastic syndromes :A multicenter phase II study in elderly patients

Wijermans P., JCO, 2000 : pp. 956-962

- DAC 45 mg/m²/j , 3 jours / 6 semaines
- Age médian : 68 ans

	ORR	OS (months)	PF (weeks)	CR	PR	HI	stable disease	Disease progression	Median response duration
All patients	49%	15	25	20%	4%	24%	18%	26%	31 weeks

- Toxicité : 7% mortalité liée au traitement (infections, pancytopenie)

Taux de réponse modestes

	ORR	OS (months)
High-risk	64%	14

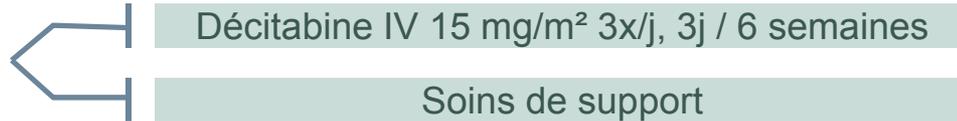
Décitabine actif sur les SMD de mauvais pronostic

DECITABINE

Autorisation de la FDA dans les SMD

Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes : results of a phase III randomized study

Kantarjian, 2006



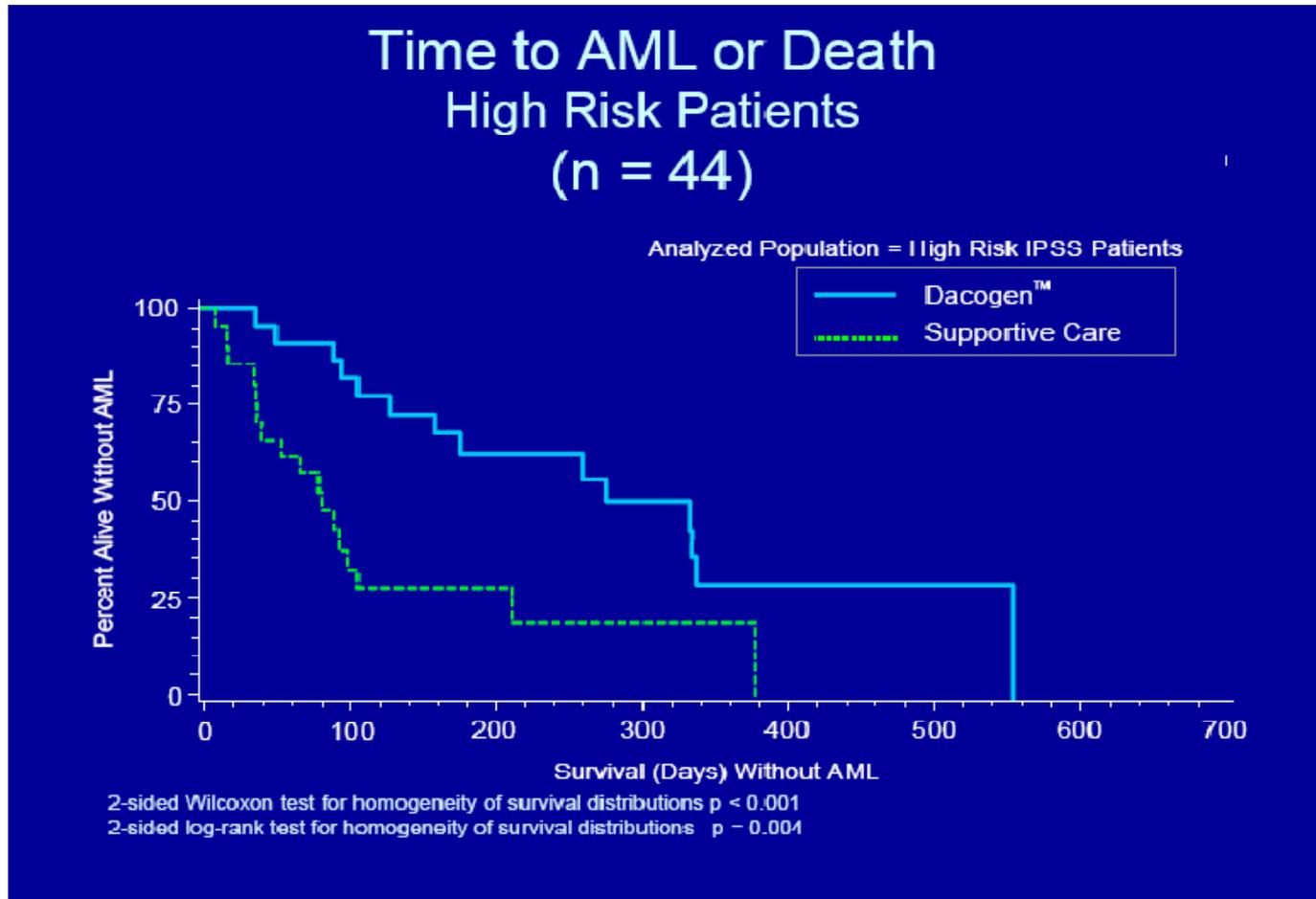
	Réponse globale	Temps jusqu'à progression en LAM/décès	CR	PR	HI	OS (months)	Response decitabine	OS (months)
DECITABINE	17%	12.1 months	9%	8%	13%	14	Response	23.5
BSC	0	7.8 months	0	0	7%	14.9	Non-response	13.7
p	< 0.001	< 0.16				0.636		0.007

- Pas de bénéfice de survie
- Analyses de sous-groupes : avantage de survie hauts risques

DECITABINE

- High risk: augmentation du temps jusqu'à progression/décès

Avantage significatif de survie globale



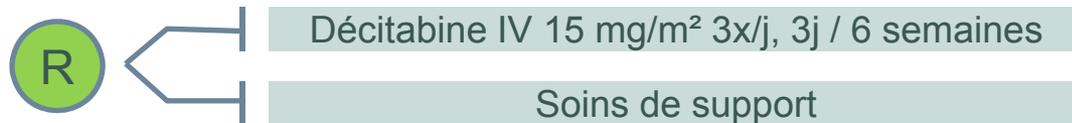
*Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes : results of a phase III randomized study.
Kandarjian, 2006*

DECITABINE

Low dose Decitabine versus BSC in elderly patients with int- or high-risk not eligible for intensive chemotherapy : final result of the randomized phase III study of the EORTC Leukemia and German MDS study groups.

Wijermans et al., 2008 , ASH Abstract

- n = 233
- IPSS Int-2 : 55%, IPSS High : 38%



- évaluation / 2 cycles
- cycles reçus : 4 (40% ≤ 2 cycles)

	CR	PR	HI	SD	progression	OS (months)	PFS (months)	Time to AML or death (months)
décitabine	13%	6%	15%	14%	29%	10	6.6	8.7
supportive care	0	0	2%	22%	68%	8.5	3	6.1

p = 0.38

p = 0.004

- Taux de réponse modestes : ORR = 34%
- **Amélioration significative de la PFS**, résultats modestes
- Mais **pas d'avantage de survie**, y compris chez les hauts risques

Nombre de cycles et réponse au traitement

Efficacy of azacytidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes : a randomised, open-label, phase III study

Fenaux P. et al, the Lancet oncology, 2009

- Taux de réponse : 29%
- Amélioration significative de OS : 15 → 24 mois, chez les hauts risques
- Nombre de cycles reçus : 9

exposition longue = meilleur bénéfice sur OS ?

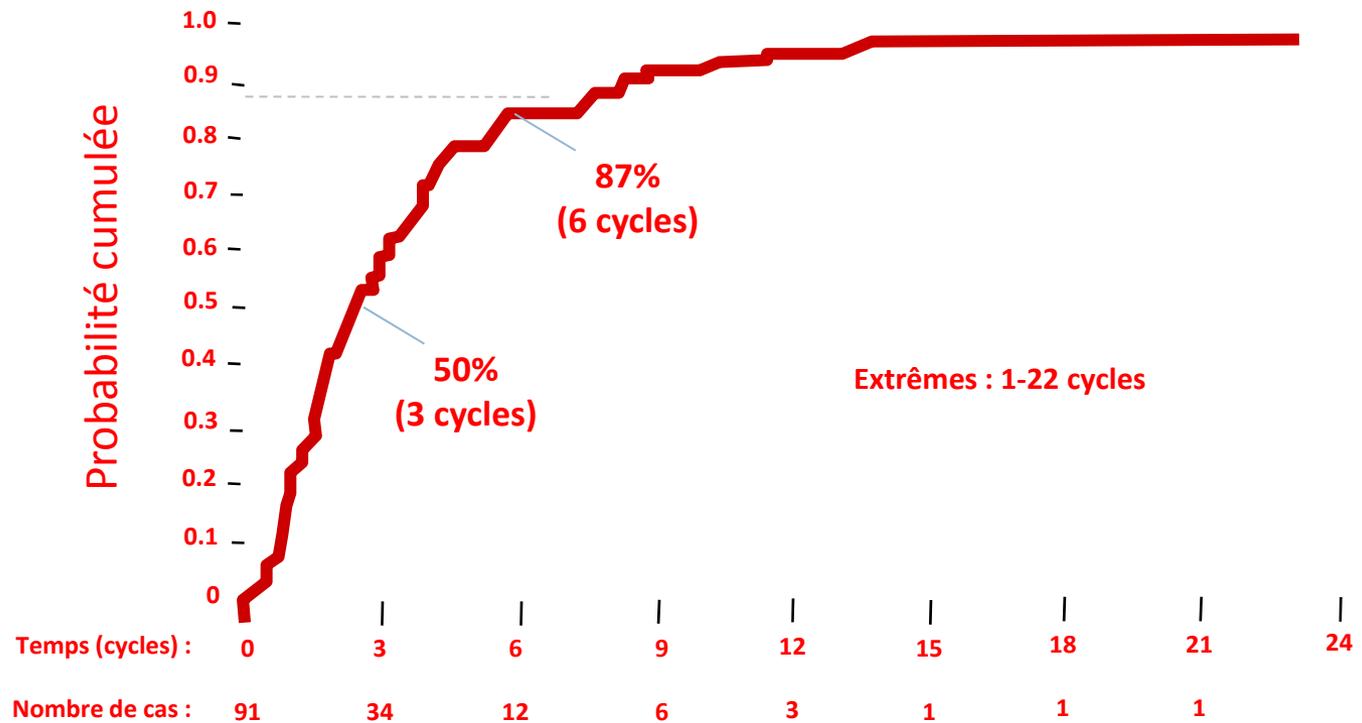
Low dose Decitabine versus BSC in elderly patients with int- or high-risk not eligible for intensive chemotherapy : final result of the randomized phase III study of the EORTC Leukemia and German MDS study groups.

Wijermans et al., 2008 , ASH Abstract

- Population hétérogène, pas de comparatif actif, CROSS-OVER
- Taux de réponses : 34%
- Pas d'avantage sur la survie globale
- Amélioration significative de la PFS, mais faibles résultats
- Nombre de cycles reçus : 4

Taux de réponse Δ nombre de cycles reçus ?

Traitement prolongé par azacytidine améliore les bénéfices de survie dans les SMD



Intérêt d'un traitement de maintenance

Nouvelles stratégies thérapeutiques

HDAC-inhibitors

- en combinaison avec agents déméthylants
 - action synergique +++
 - recrutement de co-activateurs transcriptionnels :
ATRA, analogues de Vit D, ...
- En monothérapie, chez patients MDS / AML
 - Phénulbutyrate
 - Acide valproïque
 - Depsipeptide
 - SAHA

Nouvelles stratégies thérapeutiques

A phase I/II study of vorinostat, an oral histone deacetylase inhibitor, in combinaison with azacytidine in patients with MDS and AML.

Silverman et al., JCO 26 : 2008 ASCO (Abstract 7000)

- 8 cohortes de combinaisons vorinostat-AZA, schéma d'escalades et désescalades de doses
- n = 20 (14 MDS, 6 AML)

Réponse globale : 9/11 (82%)
5 CR + 1 CRi (55%), 3 HI, 2 SD

MDS low-risk : 4/5
1 CR + 1 CRi, 2 HI

- Nombre cycles reçus : 4,7 cycles
- Pas d' EI non-hématologique de grade 3 / 4

Association **vorinostat-azacytidine** :

- bonne tolérance

- semble montrer une supériorité vs AZA en monothérapie :
- temps de réponse
- réponse globale
- RC

Questions : doses? Ordre stratégique d'administration des thérapeutiques?
Intérêt d'études de phases II et III, utilisant une dose optimale clinique et épigénétique, pour détermination du taux de réponse

CONCLUSIONS

- **Anomalies épigénétiques** :
 - Intérêt pronostique (OS, progression to AML)
 - Intérêt thérapeutique (traitements hypométhylants)
- **AZACYTIDINE**
1^{ere} amélioration significative de survie globale, hauts risques
- **DECITABINE**
Avantage significative de PFS chez Int-2 et high-risk
Diminution de progression vers LAM
- Réponse aux traitements : exposition suffisante aux hypométhylants
- Développement de **nouvelles stratégies thérapeutiques épigénétiques**
 - Molécules en développement en monothérapie
 - Associations synergiques