



# Anémie de Blackfan-Diamond

## Actualités

**AFMBD**

*Réunion du 22 octobre 2011*

[thierry.leblanc@rdb.aphp.fr](mailto:thierry.leblanc@rdb.aphp.fr)

# Revue de la littérature

Oct. 2010    Oct. 2011:    41 articles publiés

## **Articles cliniques:**

- Etude clinique : 9 (5 CR)
- Etude biologie clinique/génétique : 2
- Corrélations phénotype/génotype : 1

## **Articles « basic science »**

- Ribosomes & ribogénèse : 11
- Modèles animaux/autres : 1/1

**Revue (ABD, Anémies rares, IBMF) : 16**

# **Pas de nouveau gène cette année**

**Gènes actuellement identifiés: 50-55% des patients**

**Autres gènes RP? A priori NON**

**→ autres gènes à identifier... : protéines également impliquées dans la biosynthèse des ribosomes?**

# Enfin un modèle animal!

blood

Prepublished online October 11, 2011;  
doi:10.1182/blood-2011-08-371963

## **Mice with ribosomal protein S19 deficiency develop bone marrow failure and symptoms like patients with Diamond-Blackfan anemia**

Pekka Jaako, Johan Flygare, Karin Olsson, Ronan Quere, Mats Ehinger, Adrianna Henson, Steven Ellis, Axel Schambach, Christopher Baum, Johan Richter, Jonas Larsson, David Bryder and Stefan Karlsson

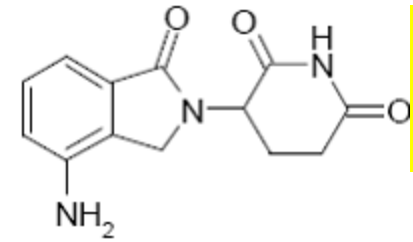
**Rps19-deficient mice develop a macrocytic anemia together with leukocytopenia and variable platelet count that with time leads to the exhaustion of hematopoietic stem cells and bone marrow failure.**

# **Actualités thérapeutiques**

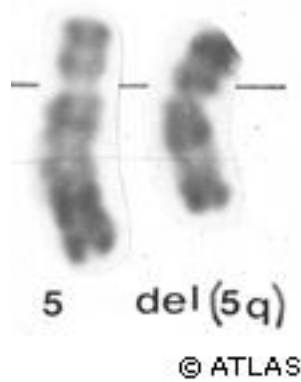
## **29 essais cliniques en cours pour l'ABD...**

- **Lenalidomide: pilot study – recruiting**
- **Leucine: not yet recruiting**
- **CSA + SAL (1998-2005...)**
- **Rituximab (AA, PRCA, DBA) – completed**
- **Greffe: 15**
- **Deferasirox et hémochromatose: 8**
- **Registres: 2**

# Lenalidomide



Analogie entre l'ABD et une MDS du sujet âgé: le syndrome 5q(-) ; gène *RPS14*



Lénalidomide (REVLIMID®)

► Indications actuelles: MDS, MMO



**Blood.** 2011 Aug 25;118(8):2296-304. **Dexamethasone and lenalidomide have distinct functional effects on erythropoiesis.** [Narla A](#), [Dutt S](#), [McAuley JR](#), [Al-Shahrour F](#), [Hurst S](#), [McConkey M](#), [Neuberg D](#), [Ebert BL](#).

Corticosteroids and lenalidomide decrease red blood cell transfusion dependence in patients with Diamond-Blackfan anemia (DBA) and myelodysplastic syndrome (MDS), respectively. We explored the effects of dexamethasone and lenalidomide, individually and in combination, on the differentiation of primary human bone marrow progenitor cells in vitro.

**Both agents promote erythropoiesis**, increasing the absolute number of erythroid cells produced from normal CD34(+) cells and from CD34(+) cells with the types of ribosome dysfunction found in DBA and del(5q) MDS. However, the drugs had distinct effects on the production of erythroid progenitor colonies; **dexamethasone selectively increased the number of burst-forming units-erythroid (BFU-E)**, whereas **lenalidomide specifically increased colony-forming unit-erythroid (CFU-E)**. Use of the drugs in combination demonstrated that their effects are not redundant.

Our findings indicate that dexamethasone and lenalidomide promote different stages of erythropoiesis and support the potential clinical utility of combination therapy for patients with bone marrow failure.



# Lénalidomide (suite)

Etude pilote USA (Nov. 2009-Nov. 2013)

Patients DBA adultes, dépendant des transfusions

Posologie: 2,5 mg/sem. à 5 mg x 3/sem.

En phase de recrutement

## Improved Efficacy and Tolerability of Oral Deferasirox by Twice-Daily Dosing for Patients With Transfusion-Dependent $\beta$ -Thalassemia

Hsiu-Hao Chang, MD,<sup>1,2</sup> Meng-Yao Lu, MD,<sup>1</sup> Yu-Mei Liao, MD,<sup>3</sup> Pei-Chin Lin, MD,<sup>3</sup> Yung-Li Yang, MD,<sup>1,2,4</sup>  
Dong-Tsamn Lin, MD,<sup>1,4</sup> Shyh-Shin Chiou, MD,<sup>3,5</sup> Shiann-Tarng Jou, MD, PhD,<sup>1</sup> Kai-Hsin Lin, MD,<sup>1</sup> and  
Tai-Tsung Chang, MD,<sup>3,5\*</sup>

**Background.** Deferasirox is an oral iron-chelating agent taken once-daily by patients with transfusion-dependent iron overload. However, some patients are unresponsive or unable to tolerate once-daily deferasirox. The current study evaluated whether twice-daily deferasirox treatment showed increased efficacy or tolerability in unresponsive or intolerant patients. **Procedure.** Patients from two Taiwanese hospitals with transfusion-dependent  $\beta$ -thalassemia, including those who showed increasing serum ferritin levels for six consecutive months, with at least one level  $>2,500$  ng/dl, while treated with  $>30$  mg/kg/day of once-daily deferasirox (unresponsive) or developed deferasirox-related adverse events (AEs) at the dosage required to maintain the iron burden balance (intolerant) and were treated twice-daily with the same total daily dose of deferasirox since 2008, were enrolled in the study and evaluated retrospectively by medical record

review. **Results.** Eighteen patients were included for analysis. A statistically significant median decrease in serum ferritin levels was detected in the 11 unresponsive patients after 6 months of continuous twice-daily deferasirox treatment. Five out of the seven intolerant patients experienced either no deferasirox-related AEs or less severe AEs. The 12 patients from both groups (11 unresponsive, 1 intolerant) who received continuous twice-daily deferasirox for 6 months showed a mild but significant median increase in serum creatinine levels.

**Conclusions.** Twice-daily deferasirox dosing is effective in iron chelation and improves tolerability in transfusion-dependent  $\beta$ -thalassemia patients who are unresponsive to or intolerant of once-daily deferasirox. Future studies with greater patient numbers will be required to confirm the results reported herein. *Pediatr Blood Cancer* 2011;56:420–424 © 2010 Wiley-Liss, Inc.

**Key words:** deferasirox; iron overload; thalassemia; twice-daily dosing

Successful chelation therapy with the combination of deferasirox and deferiprone in a patient with thalassaemia major and persisting severe iron overload after single-agent chelation therapies

*Juste un cas...*

## Outcomes after related and unrelated umbilical cord blood transplantation for hereditary bone marrow failure syndromes other than Fanconi anemia

Renata Bizzetto,<sup>1,2</sup> Carmen Bonfim,<sup>3</sup> Vanderson Rocha,<sup>1,4</sup> Gérard Socié,<sup>4</sup> Franco Locatelli,<sup>5</sup> KaWah Chan,<sup>6</sup> Oscar Ramirez,<sup>7</sup> Joel Stein,<sup>8</sup> Samir Nabhan,<sup>3</sup> Eliana Miranda,<sup>2</sup> Jakob Passweg,<sup>9</sup> Carmino Antonio de Souza CA,<sup>2</sup> Eliane Gluckman<sup>1</sup> on behalf of Eurocord and SAA-WP from EBMT\*

*(Haematologica, 2011)*

**64 patients avec IBMF dont 21 patients avec ABD**

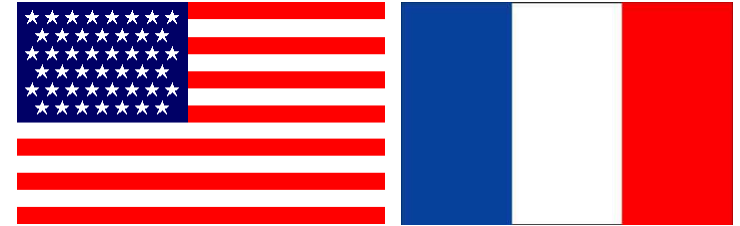
**▶ 13 ont reçu une greffe de cordon familial**

**- 13/13 sont vivants avec un suivi médian de 65 mois [12-186]**

**▶ 8 ont reçu une USP non apparentée:**

**- 3/8 sont vivants avec un suivi médian de 31 mois [28-57]**

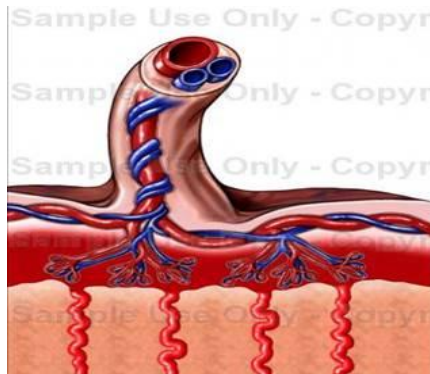
# 1<sup>ère</sup> greffe de sang de cordon



Hôpital Saint-Louis, 1989

Patient atteint d'anémie de Fanconi

- 👉 stade d'aplasie médullaire sévère
- 👉 mère enceinte: enfant non atteint & HLA identique



*(Gluckman E, Broxmeyer HA & al, N Engl J Med, 1989)*

# **Greffe d'USP intra-familiale** **cryopréservation d'un greffon**

**Demande des familles quand un des enfants PEUT avoir besoin d'une greffe dans l'avenir**

**Anticiper la procédure dès que la mère annonce sa grossesse**

**Bien comprendre:**

- qu'il n'y a qu'1 chance sur 4 d'avoir une USP HLA-id
- que la qualité de l'USP n'est pas « garantie »: contamination bactérienne, pauvreté en CD34,...



# Stratégie actuelle de recherche d'un greffon en Pédiatrie

Typage de la Fratrie



donneur +

*(idem si USP disponible)*

(-)



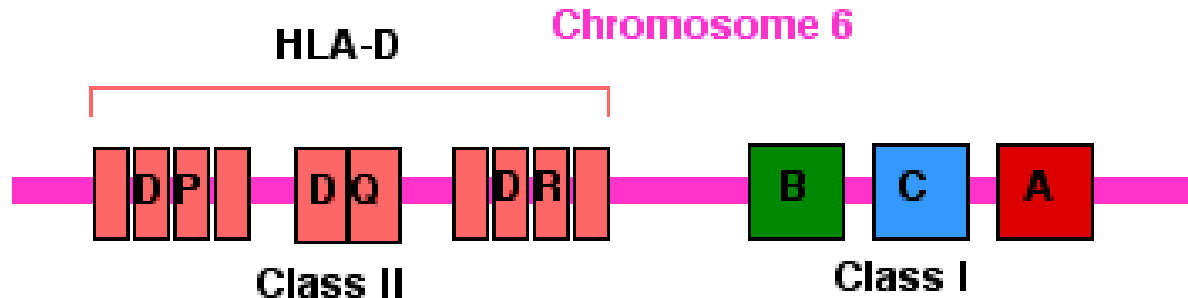
Interrogation des  
banques DVM & USP



choix de l'équipe  
de greffe selon:

- Si DVM 10/10 identifié: caractéristiques et disponibilité
- Si USP disponibles: richesse +++ et HLA

# Typage HLA



<u>Locus</u>	<u>Alleles</u>
A	309
C	167
B	563
DR	3 $\alpha$ and 439 $\beta$
DQ	25 $\alpha$ and 56 $\beta$
DP	20 $\alpha$ and 107 $\beta$

**Fratrie** : simple : vérifier identité  
(parents = contrôles)

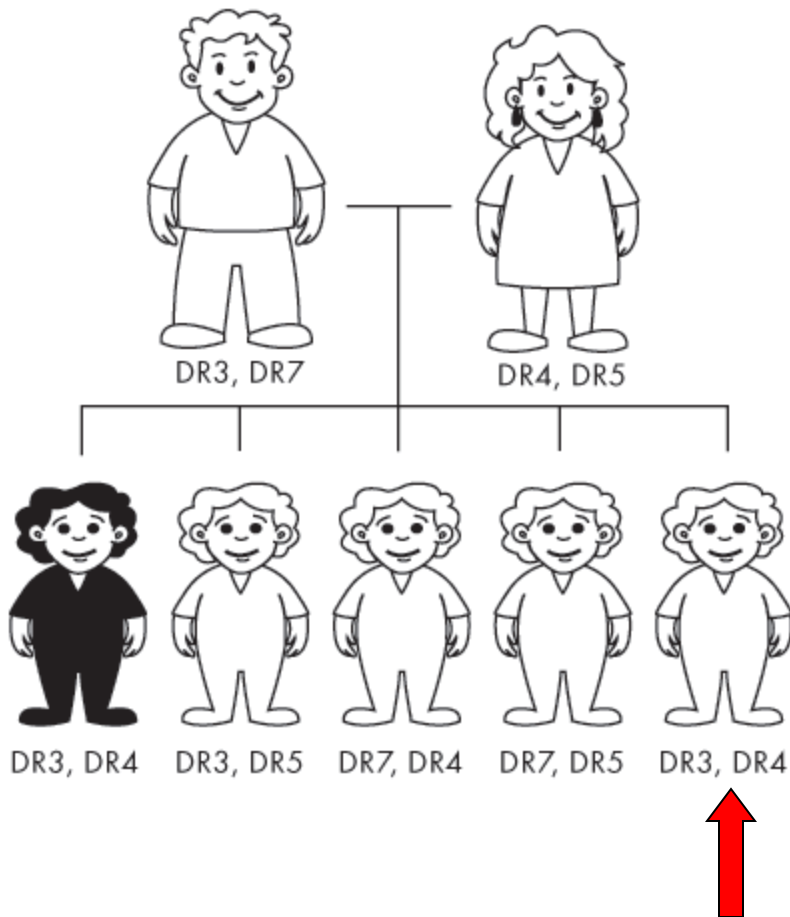
**MUD** : recherche un donneur 10/10<sup>ème</sup>  
 - identique pour les Ag HLA: A, B, C, DR, DQ  
 - typage moléculaire de haute résolution

**USP** : on ne considère que A, B et DR: greffe possible à partir de 4 identités/6

☞ chances de succès: liées +++ à l'origine ethnique



# Donneurs de la fratrie



## Probabilités:

- statistiques: 25%  
(tirages indépendants)
- en pratique: en France:  
1 patient sur 5 va avoir un  
donneur dans sa fratrie

**ABD: risque d'atteinte  
+ phénotype silencieux**

# 👉 Développement de banques de sang placentaires au niveau mondial



95% de chances  
de trouver une USP  
4, 5 ou 6/6ème

👉 225.000 USP stockées dans 38 banques publiques dans 25 pays dont l'interrogation se fait parallèlement à celles des banques de MUD

# ABD: indications de greffe

## Enfant dépendant des transfusions:

- corticorésistants
- corticodépendants à posologie élevée

## Greffes intrafamiliales uniquement

## Autres types de greffe: indications exceptionnelles

## **Proof of principle for transfusion of *in vitro* generated red blood cells**

Marie-Catherine Giarratana, Hélène Rouard, Agnès Dumont, Laurent Kiger, Innocent Safeukui, Pierre-Yves Le Pennec, Sabine François, Germain Trugnan, Thierry Peyrard, Tiffany Marie, Séverine Jolly, Nicolas Hebert, Christelle Mazurier, Nathalie Mario, Laurence Harmand, Hélène Lapillonne, Jean-Yves Devaux and Luc Douay

**These data provided the rationale for injecting into one human a homogeneous sample of  $10^{10}$  cRBC generated under GMP conditions and labeled with  $^{51}\text{Cr}$ .**

**The level of these cells in the circulation 26 days after injection lies between 41 and 63 % which compares favorably to the reported half-life of  $28 \pm 2$  days for native RBC**

# C'est une première !

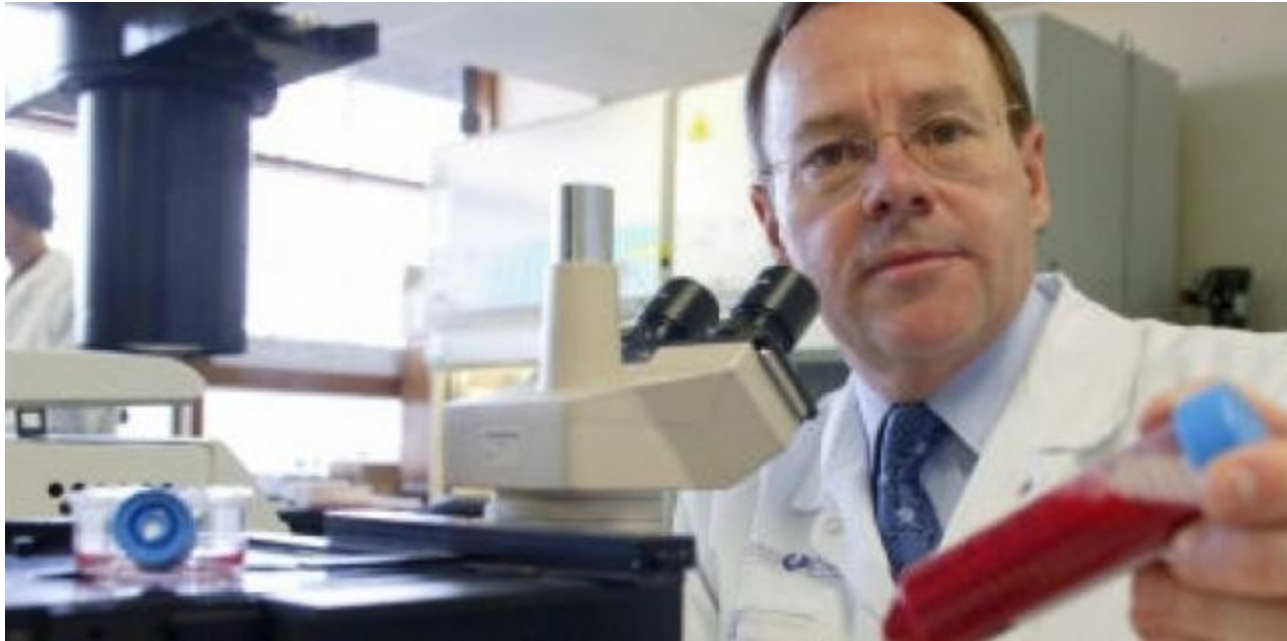
*A partir de CSH (CD34+) une équipe de chercheurs français vient de réussir à fabriquer en grande quantité des globules rouges fonctionnels.*

*Les cellules ont ensuite été mises en culture et les chercheurs ont pu les «obliger» à se différencier en globules rouges.*

*La difficulté résidait dans la structure particulière des hématies. En effet, au cours de sa phase de maturation, le globule rouge expulse son noyau, c'est la seule cellule du corps qui présente cette particularité. Le challenge était de réussir à reproduire ce phénomène, spécifique, en laboratoire. C'est grâce à « la mise au point d'un système qui essaye de reconstituer in vitro le micro-environnement de la moelle osseuse » qu'ils ont put obtenir cette expulsion, rendant le globule rouge fonctionnel.*

*Ainsi, à partir d'une seule cellule souche on peut fabriquer entre 100.000 et deux millions d'hématies. La prochaine étape est la production en très grande quantité de globules rouges.*

## **Sang fabriqué : «Avec trois lignées différentes on peut couvrir 99% des besoins»**



**Le professeur Luc Douay, hématologue à l'hôpital Armand-Trousseau de Paris, dont les travaux ont aboutit à la transfusion d'un patient avec des globules rouges fabriqués à partir de ses propres cellules souches**

*(Interview de Science & Avenir)*

**Depuis plusieurs années, le Pr. Luc Douay et son équipe travaillent sur la production de globules rouges cultivés (GRc) à partir de cellules souches du sang.**

**Les premières cellules ont été produites il y a cinq ans et depuis les chercheurs affinent leur technique afin d'augmenter la quantité de cellules fabriquées.**

**Cette année, ils franchissent une nouvelle étape décisive en prouvant que leurs GRc peuvent être transfusés à un patient en toute sécurité et efficacité.**

## **Quel est le principal résultat de vos travaux ?**

**Pr Luc Douay : Nous travaillons depuis plusieurs années sur la production en laboratoire de globules rouges cultivés (GRc) à partir de cellules souches adultes.**

**Nous avons déjà montré en laboratoire et sur un modèle animal que ces globules pouvaient remplir leur rôle : le transport d'oxygène.**

**Nous prouvons maintenant qu'ils sont efficaces chez l'Homme, c'est-à-dire qu'ils sont tolérés par l'organisme et ont une durée de vie similaire aux globules rouges naturels.**

**Pour connaître leur efficacité transfusionnelle réelle, il faudra un peu plus de temps et transfuser à des patients des quantités plus importantes de GRc.**



# A partir de quels matériaux peut-on fabriquer ces globules rouges ? En combien de temps ?

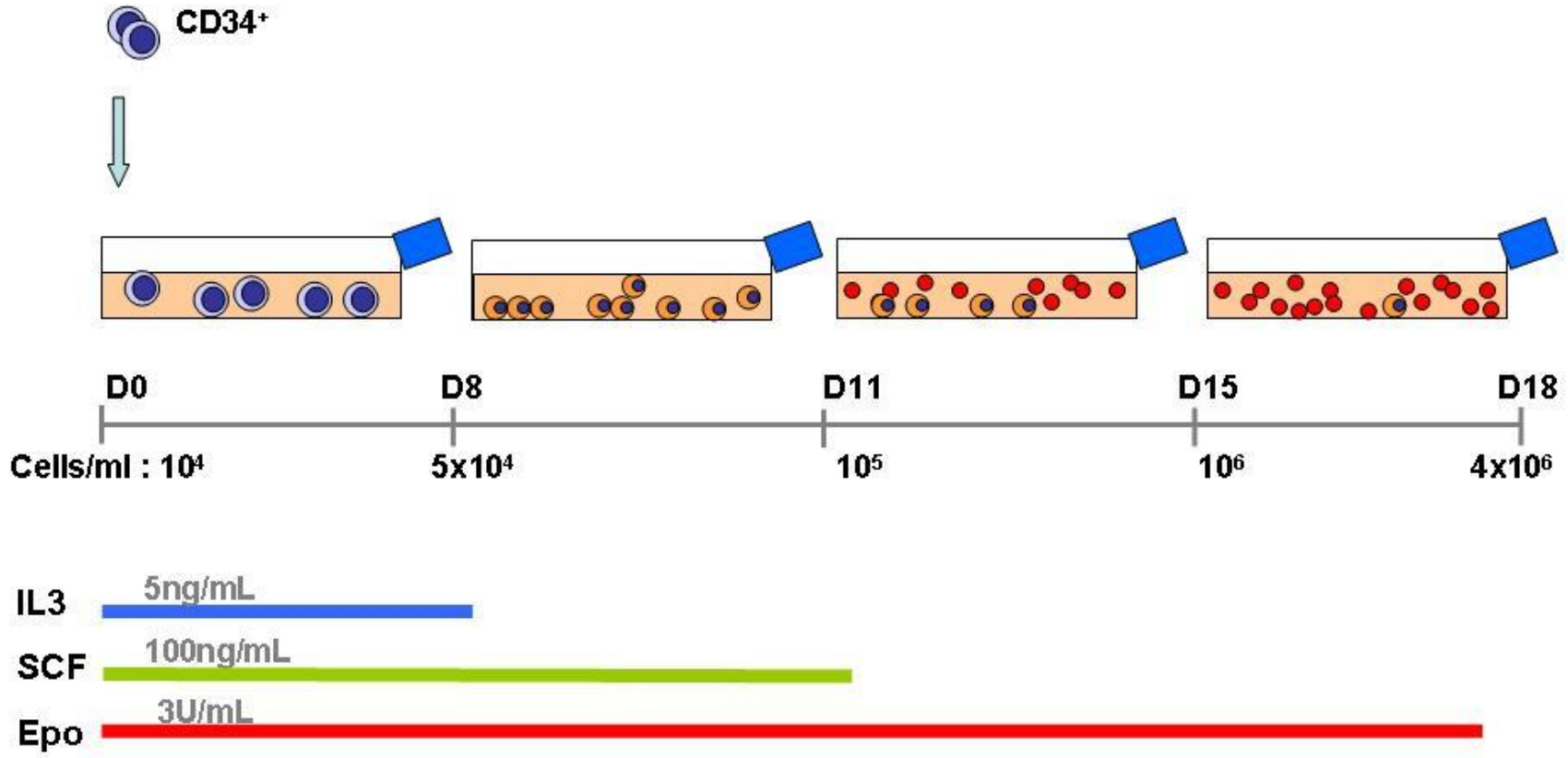
Principalement à partir de 2 sources:

- nous avons utilisé pour cet essai des **cellules souches hématopoïétiques**, qui sont à l'origine de la formation de tous les éléments sanguins, d'un patient adulte. A partir de ces cellules souches nous avons fabriqué des GRc qui ont ensuite été transfusés à ce même patient. Il s'agit donc d'une transfusion autologue ce qui était plus simple pour notre modèle immunologique.

- l'autre possibilité est **l'emploi du sang de cordon** qui contient aussi des cellules souches hématopoïétiques dont le potentiel de prolifération est dix fois plus important. Elles représentent l'avenir de cette technique, nous travaillons déjà dessus et espérons des résultats d'ici deux ans.

Il y a aussi la possibilité d'utiliser des **cellules souches pluripotentes induites** (Csi) qui sont des cellules somatiques reprogrammées pour redevenir pluripotentes (capables de se différencier en tous les types cellulaires). Elles ont un potentiel de prolifération pratiquement infini.

# Stroma free liquid defined culture system



Neildez et al, Nature Biotechnology 2002  
Giarratana et al, Nature Biotechnology, 2005  
Lapillonne et al, Haematologica 2010

# Quel est la prochaine étape ?

Nous avons cerné le facteur qualitatif, il reste maintenant à régler les **problèmes quantitatifs**. Il reste encore plusieurs obstacles à la production industrielle des globules rouges. Il faudra encore trois ou quatre ans pour en venir à bout mais on sait que l'on peut les produire en très grande quantité. A partir d'un cordon ombilical, on espère pouvoir fabriquer 50 à 100 culots globulaires, les poches de sang utilisées pour les transfusions.

En parallèle notre but est d'établir des **banques de cellules souches** afin de pouvoir produire des globules rouges adaptés au plus de patients possible. Mais avec trois lignées différentes on peut déjà **fournir 99% de la population**.

# Quels sont les patients qui bénéficieront de ces techniques ?

## Cette technique sera utile:

- aux patients qui ont des groupes sanguins rares et pour lesquels il est difficile d'avoir un sang compatible
- elle s'adresse aussi aux patients qui reçoivent des **transfusions régulières** comme les personnes atteintes de drépanocytose, de maladies de la moelle osseuse ou celles souffrant de maladies congénitales. Cela correspond à 3 ou 4% des personnes transfusées. A force de recevoir du sang différent, elles développent des phénomènes de poly-immunisation qui peuvent les empêcher de recevoir certains types de sang.



Industrialisation  
en 3 ans?

# L'ABD: réseau Français

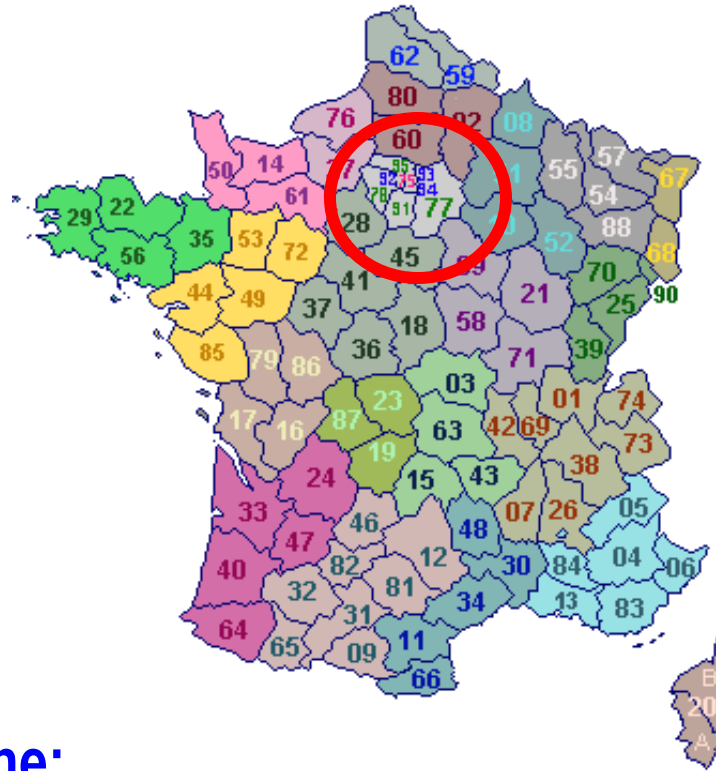
SHIP

« Centre de Référence »

SFH

Laboratoire de  
Génétique

OFABD



Registres  
Européens

Equipes de Recherche:

- Pierre Emmanuel GLEIZES
- Lydie DA COSTA & William VAINCHENKER
- Autres...

Daniela Arturi  
Foundation (USA)

# Activité clinique

## Maintien d'une consultation de référence

**Enfants**



**Patients Adultes**



**Où en est on quand à une nouvelle labellisation?**

# **Activité du laboratoire de génétique** **(Lydie DA COSTA)**

**RPS7, RPS10, RPS17, RPS19, RPS24 , RPS26**  
**RPL5, RPL11, RPL35A**

**PHRC: financement pour 3 ans: 2 objectifs:**

- Séquencer tous les gènes
- Rechercher corrélations  
génotype/phénotype

**9 gènes**  
**50 à 55%**  
**des patients**

**1 bénéfice: mise à jour du registre**

**+ reconstitution de la banque d'ADN**

# Registre Français de l'ABD

Observatoire: **OFABD**

Tenu par l'unité d'Epidémiologie Clinique de RD

*(Pr. Corinne ALBERTI)*

Comité de pilotage: LDC, IM, TL

Format:

- nouvelle base
- accès Internet



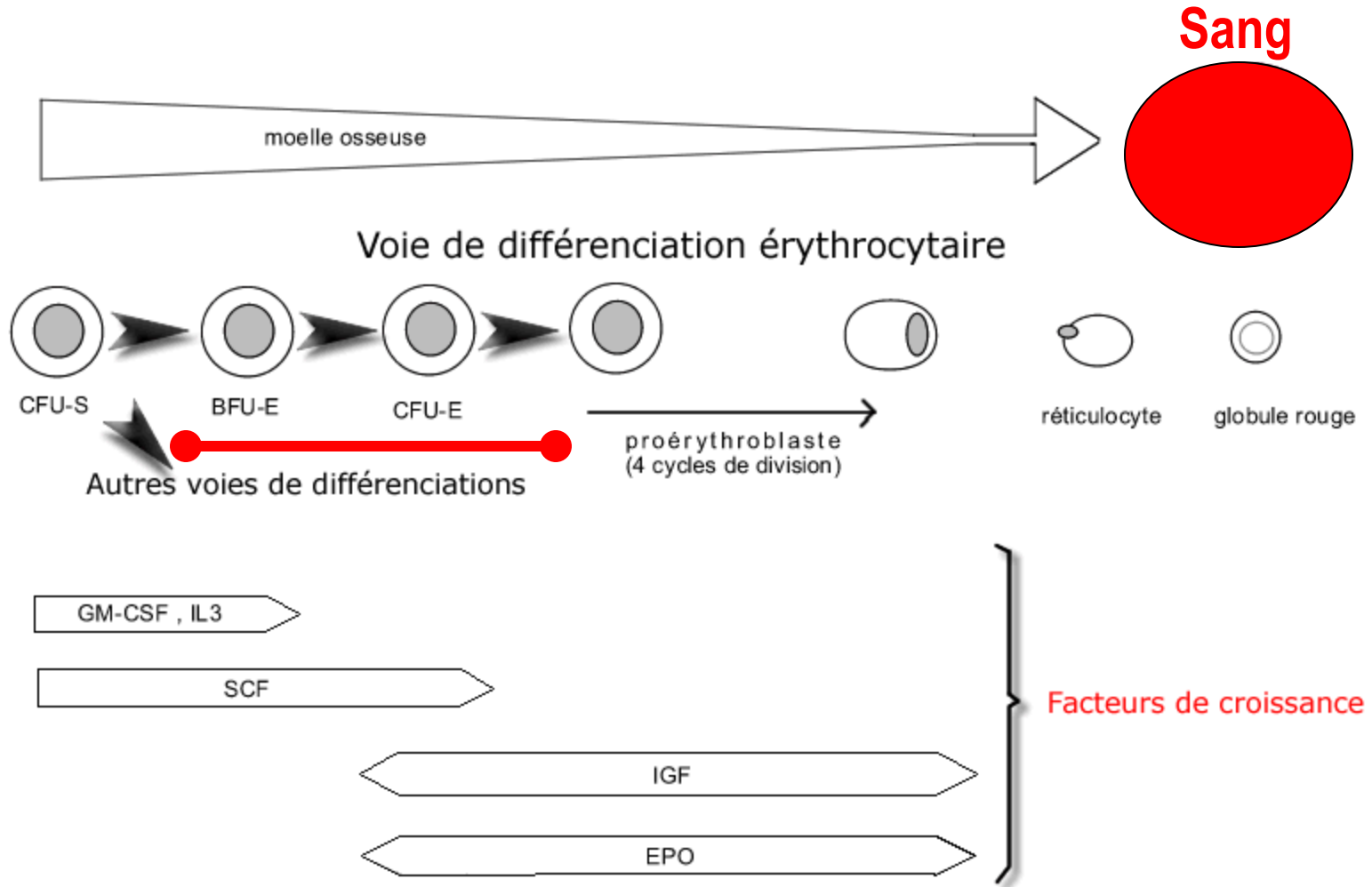


# Essai clinique à venir en France?

## **Nouvel** agent stimulant l'érythropoïèse

- Actuellement en cours de discussion
- Phases I & II en cours dans d'autres indications
- Essai chez des pts DBA?
  - Population cible: pts adultes dépendants des transfusions

# Erythropoïèse



# Etudes biologiques en cours

**ARNAB**

**Autre études...**

**- En particulier lien p53 et RP**

# Conclusions

**Pas de nouveaux gènes mais un modèle murin**

**Nouveau plan maladies rares?**

**Mise « à niveau » du laboratoire de génétique  
grâce à un PHRC**

**OFABD & liens avec autres registres**

**Pas de nouveauté thérapeutique mais essais en  
cours ou à venir**