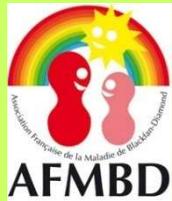




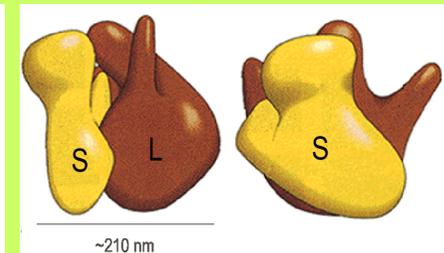
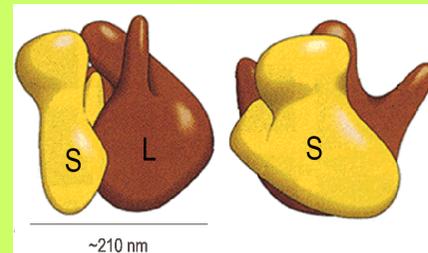
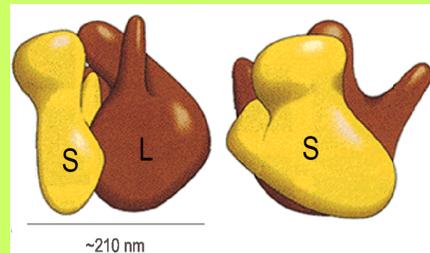
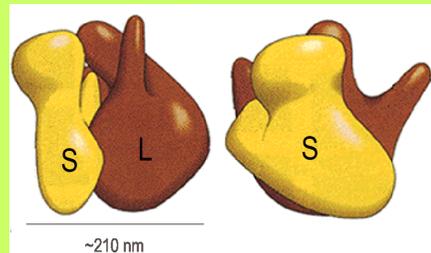
Anémie de Blackfan-Diamond

Actualités



Réunion de l'AFMBD. Lyon, 21 octobre 2018

T. Leblanc



ABD: structuration des filières de soin & de la recherche

OFABD

CRMR Aplasies médullaires & filière MaRIH

EURO-DBA

OFABD



Pour mémoire: cohorte mise en place par Gil Tchernia en 1996

OFBAD: observatoire agréé par la CNIL

323 patients enregistrés

NB: 166 patients de plus de 18 ans

Nombre d'ADN reçus par an : \pm 20-25

Corrélation phénotype/génotype: analyses en cours avec l'équipe du Pr. Corinne Alberti

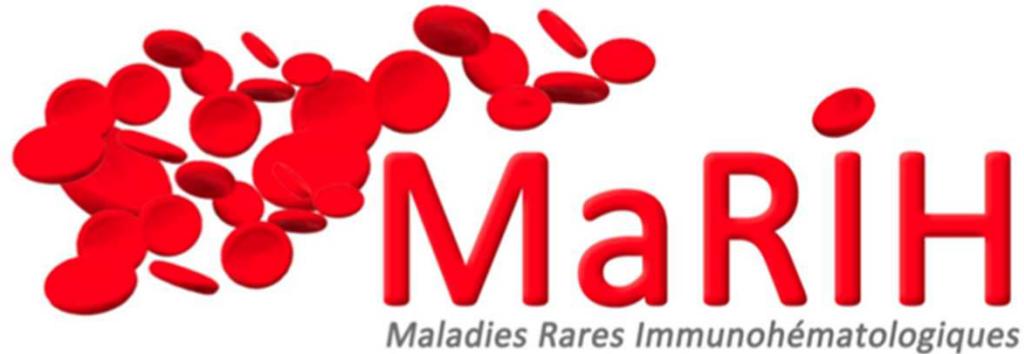


2017:

767.000

naissances par an

\Rightarrow < 10 pts ABD?



Aplasies médullaires constitutionnelles et acquises dont

Anémie de Blackfan-Diamond (ABD) (AM)

Cytopénies auto-immunes (CAI) : anémies hémolytiques auto-immunes (AHA), purpura thrombopénique immunologique (PTI), syndrome d' Evans (SE)

Neutropénies chroniques de l' enfant et de l' adulte (NC)

Micro-angiopathies thrombotiques (MAT)

Histiocytose langerhansienne, Erdheim-Chester, Rosai Dorfman (HL)

Déficit immunitaire humoraux de l' adulte (DEFI), proliférations rares (maladie de Castelman, proliférations LGL)

Nouveau registre: RIME

Doublon...

Mais:

- 1) Moyens financiers +++**
- 2) OFABD conçu uniquement pour un objectif précis: étude de corrélation génotype/phénotype**
- 3) Intérêt pour les aspects transversaux et les études communes**

Revue de la littérature

Oct. 2017 ▶ Oct. 2018:  41 articles publiés

Revue/hypothèses : 4 + 10

Articles cliniques:

- Séries de pts ABD dont 1 registre, études : 4
- Cas cliniques : 1
- ABD parmi d'autres : 1

Article génétiques

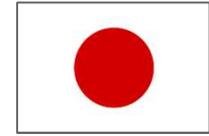
- Case cliniques génétiques : 6
- Nouveaux gènes : 3

Articles basic science

- Dont modèles animaux & in vitro : 9

Aspects thérapeutiques : 0

De novo mutation activating germline TP53 in an inherited BMF syndrome



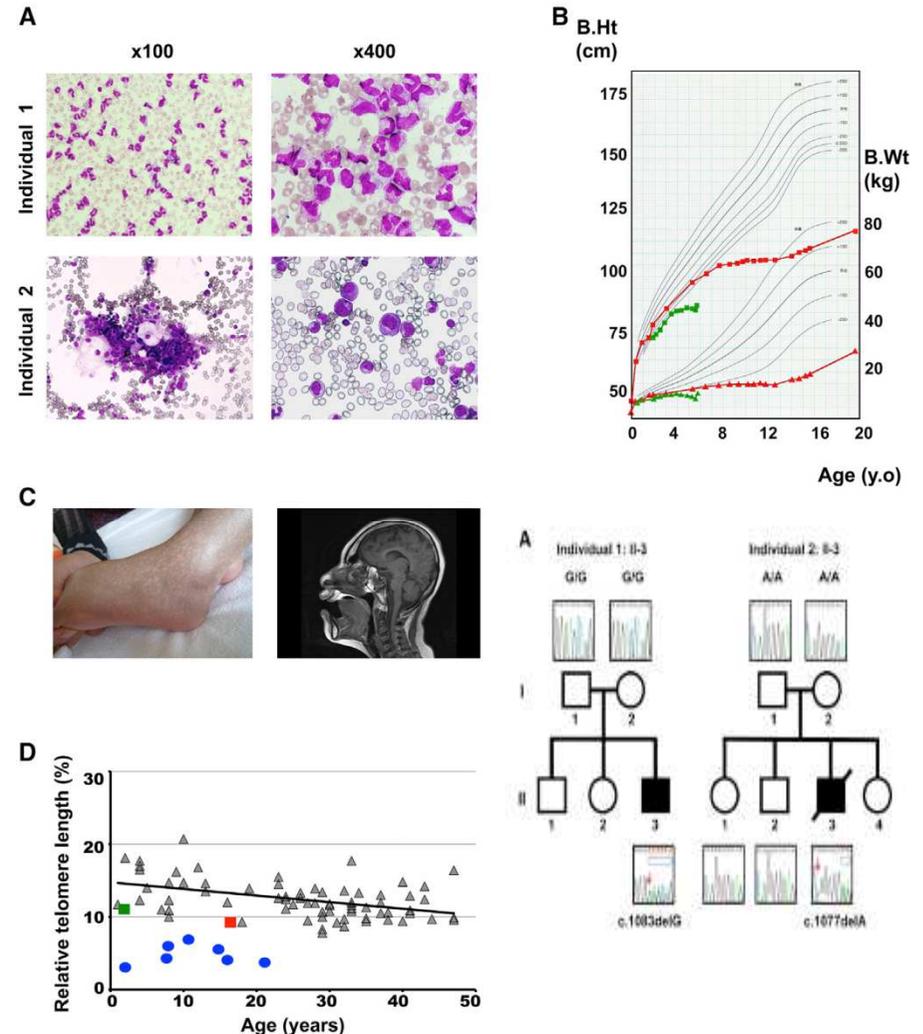
N = 2

Erythroblastopénie (CR)
+ phéno. extra-hématologique
sévère: RSP, microcéphalie,
hypo- γ -globulinémie
 \pm DC features

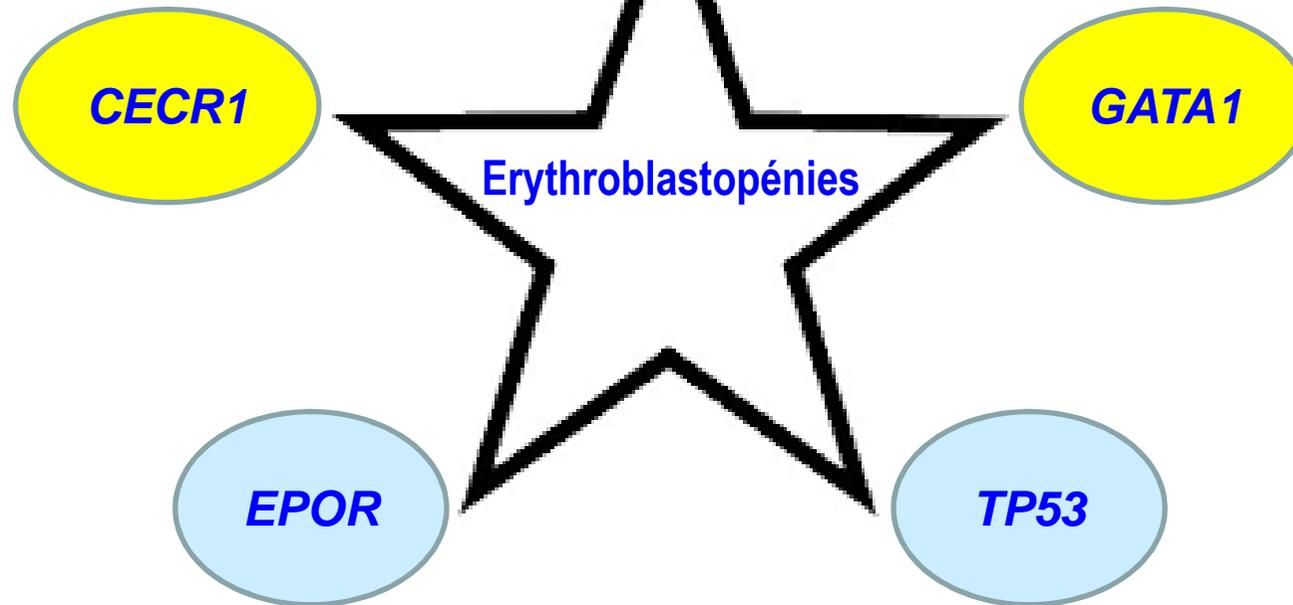
TP53: mutations **activatrices**

(de novo; exon 10; framshift \Rightarrow
même C-ter truncation)

(Toki & al, Am J Human Genet, 2018)



ABD
Gènes RP



*NB: 2 cas connus
(même famille)*

*NB: 2 cas connus
(non apparentés)*

Somatic reversion events point towards RPL4 as a novel gene in a condition resembling DBA

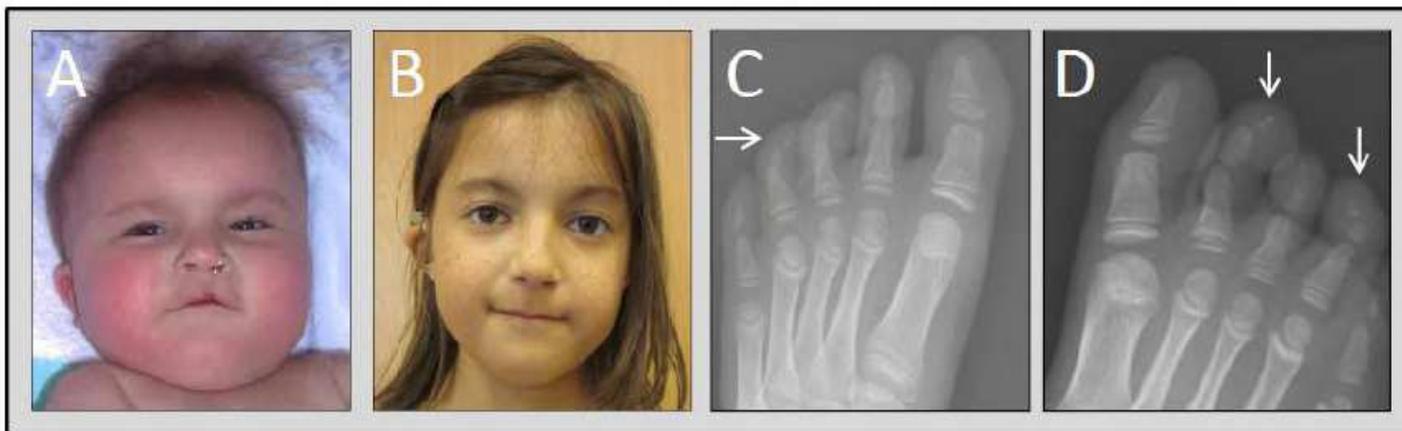


RCIU, fente LP, oreilles basses implantées, malformation des orteils, hypotonie, RDD

Anémie modérée notée à 11 mois; pas de suivi hémato.

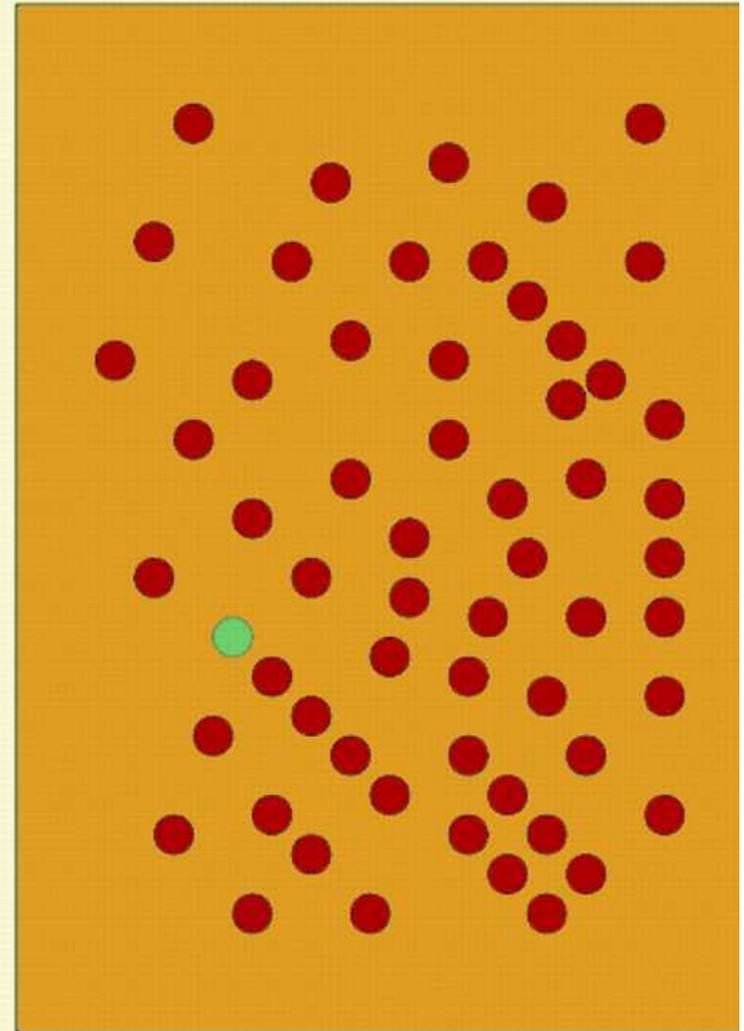
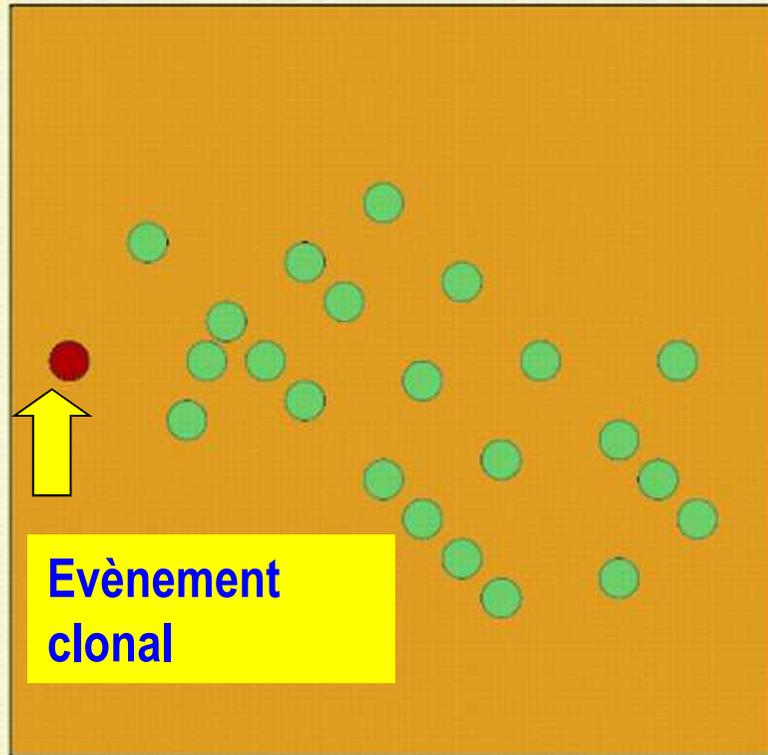
☞ Whole genome: UPD15qter acquise dans les cellules sanguines (mosaïcisme)

☞ Parmi les gènes candidats: *RPL4*



(Jongmans & al, Haematologica, 2018)

Mise en place d'un Mosaïcisme somatique



Suppose un avantage prolifératif pour la cellule corrigée

Recurring mutations in RPL15 are linked to hydrops fetalis and treatment indépendance in DBA



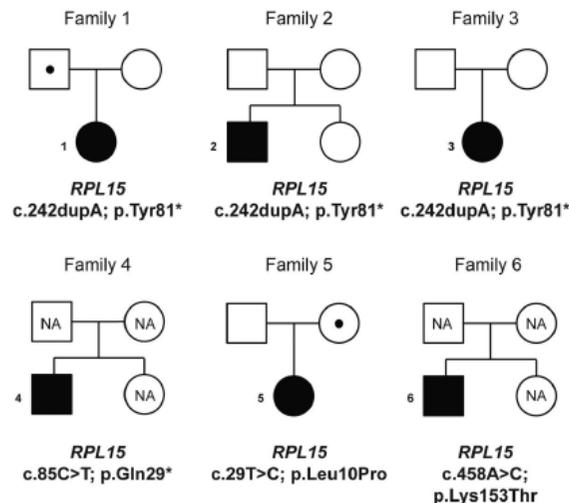
N = 6

Mutations ponctuelles dont p.Tyr81* pour 3 pts

Pour ces 3 patients:

- **hydrops fetalis & transfusions *in utero***
- **rémission spontanée précoce (entre M4 & M16)**

NB: pas de réversion somatique



(Wlodarski & al, Haematologica 2018)

Increased risk of colon cancer and osteogenic sarcoma in DBA running head: neoplasia in DBA

DBAR: N = 702

Même analyse qu'en 2012 avec 94 pts en plus et un suivi augmenté de 2198 pts/années

34 cancers chez pts non greffés

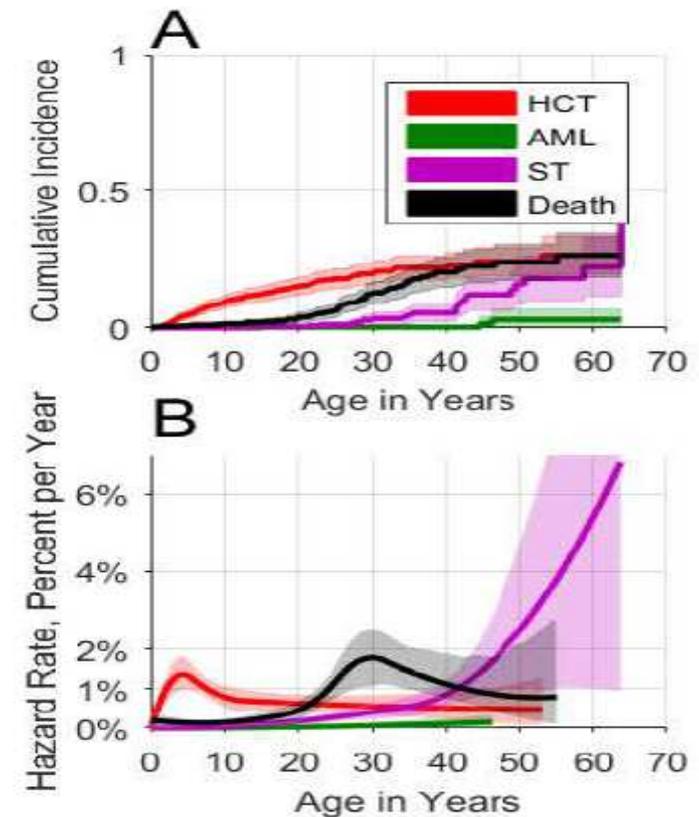
Age médian au 1^{er} cancer:

👉 **35 ans [11-70]**

Incidence cumulée à 45 ans:

👉 **13,7%**

(Vlachos & al, Blood 2018)



Cancer Diagnosis	No.	O/E ratio (95% CI)	Mutated gene	Median Age at first cancer dx, years (range)
All cancer	28	4.8 (3.2-6.9)	-	35 (11-70)
<i>Gastrointestinal Cancer</i>				
Colon carcinoma	7	44.7 (18.0-92.1)*	RPS19 (2; 5 unknown)	41 (28-51) (also one of the genetically unknown patients had breast cancer)
Gastro-esophageal cancer	1	28.2 (0.7-157.0)	RPS17	28
Esophageal cancer	1	64.6 (1.6-359.7)	RPL5	69 (patient previously had melanoma)
<i>Sarcoma</i>				
Osteogenic sarcoma	4	42.4 (11.6-108.7)	All unknown	18 (11-34)
Soft tissue sarcoma	1	6.6 (0.2-36.9)	Unknown	30
<i>Genitourinary Cancer</i>				
Testicular cancer	1	4.0 (0.1-22.2)	RPL35A	42
Uterine cancer	1	0 (0-24.1)	RPS19	64
Cervical cancer	1	7.1 (0.2-39.3)	RPS19	27
Squamous cell carcinoma (vaginal)	1	172.4 (4.4-960.3)	RPL11	41
<i>Skin Cancer</i>				
Melanoma	1	2.0 (0.1-11.0)	RPL5	50 (patient later had esophageal cancer)
Squamous cell carcinoma (oral)	1	9.1 (0.2-50.7)	RPL11	59
<i>Other Cancer</i>				
Breast cancer	2	2.1 (0.3-7.6)	RPS19 (1; 1 unknown)	34, 43 (patient later had colon cancer)
Lung cancer	1	9.4 (1.1-33.8)	RPS19	49
Choroid meningioma of the lung	1	Included in lung cancer above	RPS19	21
<i>Hematologic Cancer</i>				
Non-Hodgkin lymphoma	1	3.3 (0.1-19.0)	RPL5	41
AML	3	28.8 (5.9-84.0)	RPL35A (2; 1 unknown)	44 (15-46)
<i>Myelodysplastic syndrome</i>				
MDS	8	352.1 (152.0-693.8)	RPL35A(2), GATA1 (1) (5 unknown)	26 (2-53)
<i>Skin Cancer excluded from analysis</i>				
Basal cell carcinoma	3	Not available	All unknown	54 (29-54)
Squamous cell carcinoma	3	Not available	RPL11 (1; 2 unknown)	54 (50-54)
<i>Post-Transplant Cancer excluded from analysis</i>				
Colorectal Carcinoma	2	346.9 (42.0-1253.0)	Both unknown	19, 29
Osteosarcoma	1	257.8 (6.5-1436.2)	Unknown	4
Lung cancer	1	468.3 (11.9-2609.4)	RPL11 (also heavy smoker)	43
Wilms tumor	1	228.6 (5.8-1273.4)	RPL35A (gene in unrelated duplicated area [8q24.1] is a putative Wilms tumor-associated proto-oncogene [NOV])	8

Commentaires (1)

2^{ème} étude qui va dans le même sens mais même cohorte et mêmes auteurs

Pas de recommandation particulière de suivi

Suivre +++ les recommandations faites à la population générale

Ex: colon: fibres, peu de viande, Hémocult

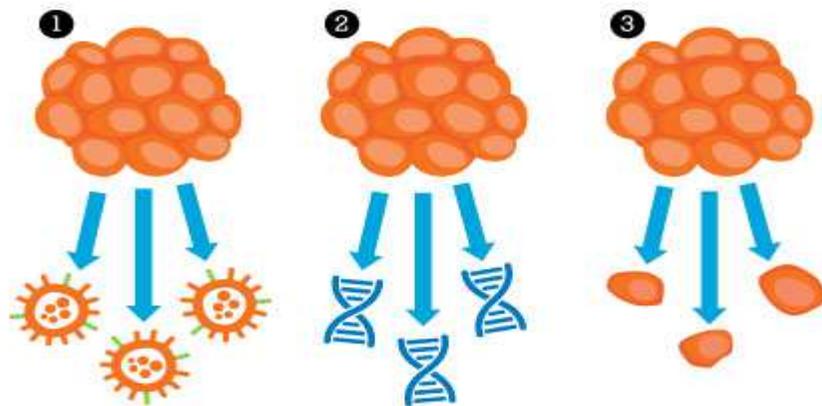


Commentaires (2)

A ce jour: pas de dépistage validé donc pas de dépistage systématique recommandé

Exception: SMD/LAM & myélogrammes séquentiels?

Avenir: biopsies liquides



Que recherche-t-on lors d'une biopsie liquide?

1. Des cellules cancéreuses qui se détachent des tumeurs et se retrouvent dans le sang (**cellules tumorales circulantes**).
2. Des fragments de matériel génétique cancéreux qui se détachent des tumeurs et se retrouvent dans le sang (**ADN tumoral circulant**).
3. Des portions de cellules cancéreuses qui s'échappent et circulent dans le sang (**exosomes**).

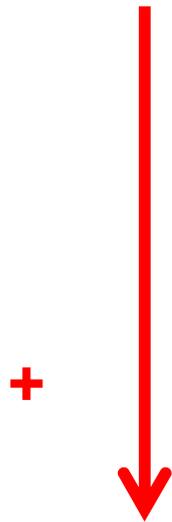
(<http://www.cancer.ca/>)

Molecular analysis and genotype-phenotype correlations of DBA



Malformations

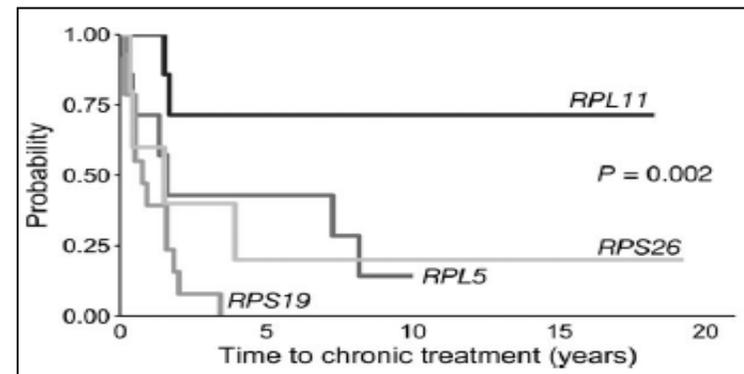
RPS19



RPL5

Traitement-dépendance

RPS19: vite et souvent traité;
réponse à long terme aux
corticoïdes



Rémissions: 9 pts(13%);
âge médian: 4,6 ans [1,2-36,6]

NB: 71 patients

(Arbiv & al, Clin Genet 2018)

Traitement de l'ABD

Transfusions & corticoïdes

Greffe de CSH

Nouvelles approches:

- **Leucine**
- **Screening systématique de petites molécules**
- **Thérapie génique**



Conférence de consensus Atlanta ; 10 mars 2018



Couplé au 15^{ème} DBA-ICC meeting

Objectif: écriture de nouveaux guidelines

Quelques exemples de modifications des pratiques:

- ***Seuil transfusionnel minimal de 9 g/dL quel que soit l'âge*** **NB: tenir compte du degré de surcharge en fer**
- ***Objectifs de chélation: ferritine entre 300 et 500 µg/L & IRM normales (foie, cœur)***
- ***Age recommandé pour la 1^{ère} IRM: 5 à 6 ans (sans AG)***
- ***OK pour l'indication des greffes phéno-identiques***

Allogreffe de moelle: expérience Française

N = 28 (29 greffes)

Période de greffe: < 2000: 6

: 2000 à 2010: 12

: ≥ 2010: 11

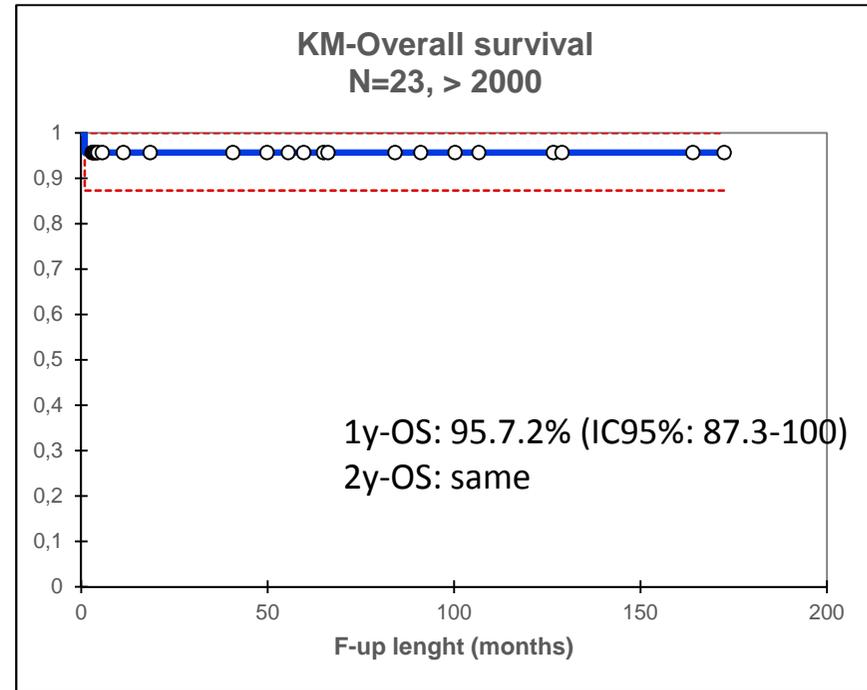
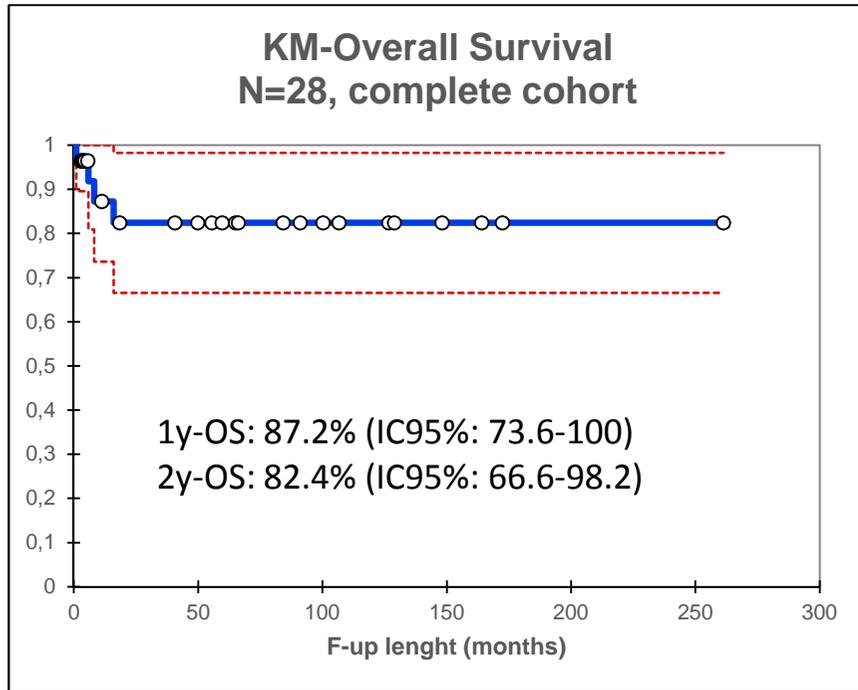
Age médian à la greffe: 6,8 ans [1-32]

Type de donneur: moelle +++ : 21 MSD & 5 MUR

Modalités de greffe: classiques: moelle,
conditionnement chimioablatif (pas d'ICT)

(courtoisie Pr. Jean-Hugues DALLE)

Overall survival



👉 Progrès continus de la greffe de moelle:

- Meilleure sélection des donneurs +++: fratrie = donneurs 10/10
- Progrès des soins complémentaires (y compris pré-greffe)
- Receveurs moins avancés dans la maladie

Euro-DBA & & ICCA ATLANTA

Allogreffe dans l'ABD: take-home messages

Consensus actuel:

- **greffer « plus »: tout enfant dépendant des transfusions**
- **Greffer tôt: avant 5 ans**
- **Greffer avec un donneur de la fratrie ou un donneur du fichier 10/10 identique**

15^{ème} ICC: 11-12 mars 2018

42 communications

Physiopathologie, modèles animaux,
aspects génétiques, aspects cliniques
(dont données de registres), nouvelles
approches thérapeutiques.



**Help Find a Cure for
Diamond Blackfan Anemia**
www.dbafoundation.org

Leucine

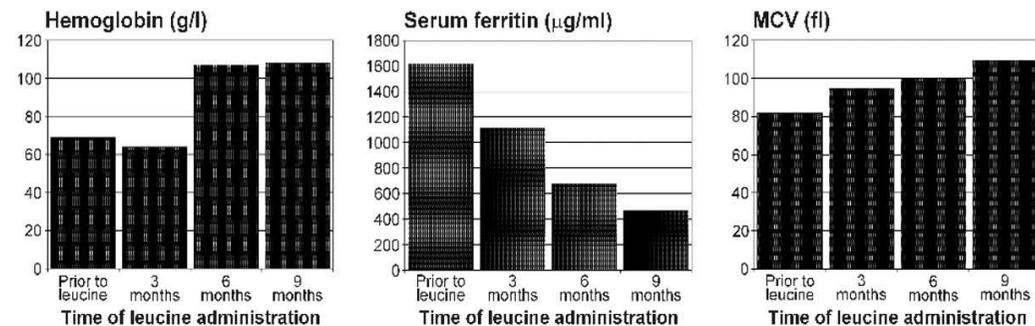
Rationnel:

- Il existe un défaut de traduction dans les cellules des patients ABD
- La leucine est un des 8 AA **essentiels** ; elle stimule la synthèse protéique ▶ AA dit *anabolisant*
- Données *in vitro* & modèles animaux (zebrafish, souris)

Données cliniques:

☞ expérience Tchèque:

Un seul pt sevré des Tf



Parametr	Prior to leucine	3 months	6 months	9 months
Hemoglobin (g/l)	69	64	107	108
MCV (fl)	82	94.8	100	109.6
Reticulocytes (%)	0.002	0.003		0.019
Leukocytes (x10 ⁹ /l)	4.2	4.89	3.71	4.9
Thrombocytes (x10 ⁹ /l)	84	72	89	105
Serum ferritin (µg/ml)	1619	1117	681	469
ALT (µkat/l)	1.6	0.9		0.38
EPO (U/l)	1160			296
HbF (%)	0.7			5.8
BFU-E (per 10 ⁶ BM cells)	33			79.3
Erythropoiesis in BM (%)	3.2			26

(Pospisilova, Haematologica, 2007)

Leucine

Données essai US (terminé):

Phase I/II

Critères d'inclusion: ABD, âge > 2 ans, pt transfusé, foie & rein OK

43 pts évaluable

CR définie par Hb > 9g sans transfusion

PR définie par ↗ des Rt ou ↘ intervalle transfusionnel

Posologie: 700 mg/m² x 3/j pour 9 mois (suffisant?)

Données préliminaires:

- 👉 Rares réponses hématologiques (< 10%) malgré critères peu drastiques
- 👉 Bénéfice sur la croissance des enfants

NB: pas d'effets secondaires notables

Faut-il traiter les patients par leucine?

Bénéfice potentiel > chez les enfants: appétit, état général, croissance,...

Peu de chance d'être sevré des transfusions: < 10%

Effet synergique avec corticoïdes? Traiter aussi les enfants non transfusés mais avec anémie résiduelle & doses élevées de corticoïdes?

Utilisation du FERRIPROX chez les pts ABD: expérience Française

N = 13 pts

Enfants adultes

Posologie standard

1 cas d'agranulocytose réversible

**Efficacité confirmée en association ou en
monothérapie**

DFP-induced agranulocytosis: 20 yrs of clinical observations

(clinical trials + post marketing)

Agranulocytosis (< 500/ μ L) : **N = 161** : **1.5% in CT**

(18 in 17 pts/1,127 \Rightarrow 1.1 per 100 patient-years)

Neutropenia (< 1,500/ μ L) : **N = 250** : **5.5% in CT**

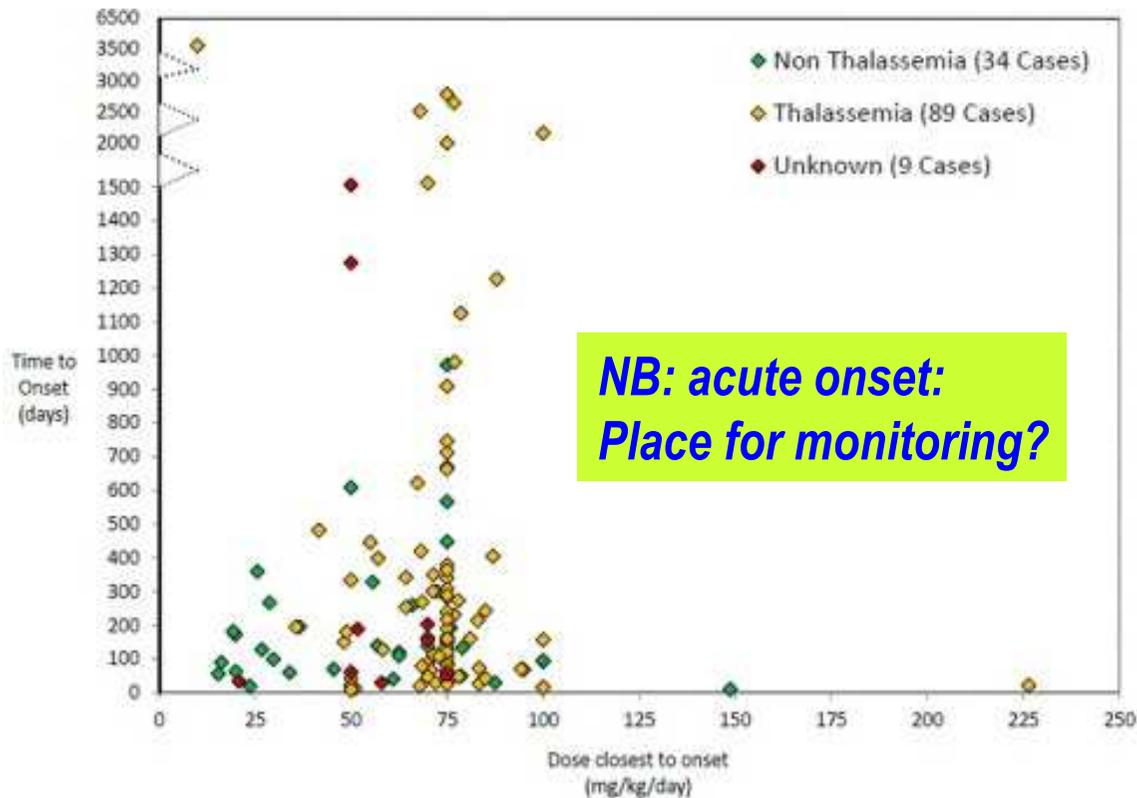
Fatality rate : **clinical trials** : **0%**

: **post marketing** : **11% (15/143)**

Rechallenge : **if previous agranulocytosis** : **75%**

: **if previous neutropenia** : **10%**

(Tricta & al, Am J Hematol 2016)

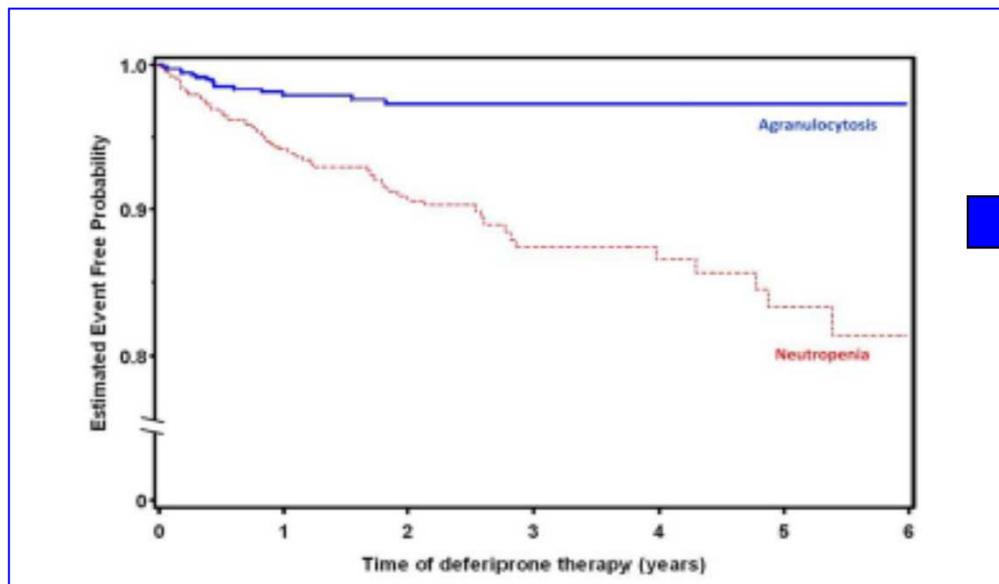


Time to onset:

- median: 5 months
- range: 9 d – 17 yr
- 61% within 6 months
- 78% within 12 months

Duration of event:

- Median : 11 d [2-244]



± plateau at 2 yrs?

(Tricta & al, Am J Hematol 2016)

Conclusion: DFP chez un pt ABD

Risque augmenté d'agranulocytose ++

Plus particulièrement chez les jeunes enfants ?

A utiliser:

- Uniquement en 3^{ème} ligne ou en association chez un pt avec une surcharge sévère en particulier si atteinte cardiaque
- De préférence chez des patients adultes (*à éviter +++ en dessous de... 6 ans?*)
- Rôle +++ de l'information du patients et du personnels soignant. Le pt doit avoir bien compris le risque d'agranulocytose, en connaitre les symptômes et avoir accès à des structures médicales d'urgence

Si tout OK: bénéfice chez 90% des patients...

15^{ème} DBA-ICC

Nouvelles pistes thérapeutiques?

Thérapie génique

- Stefan Karlsson: OK pour un modèle murin (gène testé: *RPS19*)

Screening systématique de molécules: 3 voies

- US : activateur de l'autophagie
: DBA-pipeline
- Australie: visent la voie *TP53*
- Suède: inhibiteurs de protéine impliquées dans la régulation du cycle cellulaire

Screening systématique

Enfin possible car il existe des modèles *in vitro* & animaux

Avantage: pas d'*a priori*

Inconvénients:

- Composé actif *in vitro*: quid *in vivo*?
- molécules testées peuvent être très loin des qualités d'un médicament: longue période de mise au point avant le stade des essais cliniques

Small molecule screens identify new compounds as candidate DBA drugs

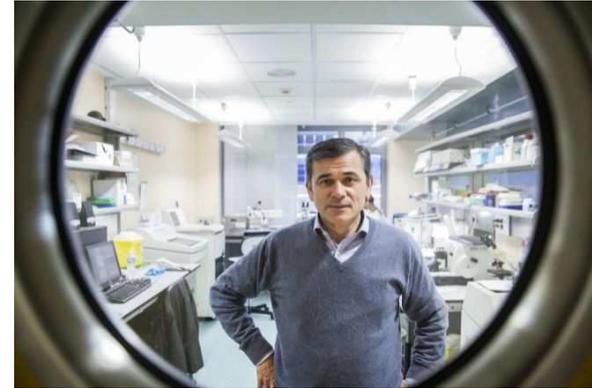
Screening sur cellules de foie fœtal *RPS19*-

50 agents actifs sur 11.000 testés dont plus de 20 : prolifération x 4,8

- ⇒ en commun: même activité
- ⇒ synthèse de nouveaux composés analogues mais plus puissants
- ⇒ 468 protéines testées: ciblent toutes la même cible
- ⇒ synthèse de 3 nouveaux inhibiteurs sélectifs: activité confirmée et >
- ⇒ Efficacité confirmée dans un modèle murin

Thérapie génique

**Collaboration en cours avec
Juan A. Buren (Madrid)**



**A traité les premiers patients atteints
d'anémie de Fanconi par thérapie génique
(gène *FANCA*)**

Génétique de l'ABD

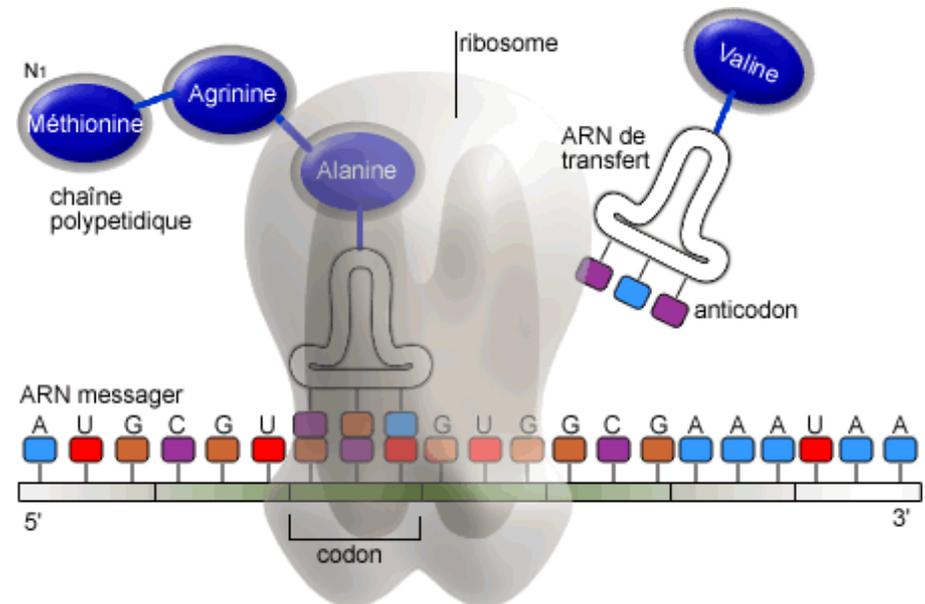
Maladie autosomique dominante

- ⇒ **cas lié au sexe**: mutations de *GATA-1* & de *TSR2*
- ⇒ pénétrance variable: phénotype silencieux (*porteur sain de la mutation*)
- ⇒ anticipation?

Gènes codant pour des PR

- ⇒ + *TSR2*
- ⇒ ± *GATA-1*
- ⇒ ± *CECR1*

Actuellement: 20 gènes



Génétique: progrès continus mais reste un processus multi-étapes

1. Sanger classique: pour *RPS19*

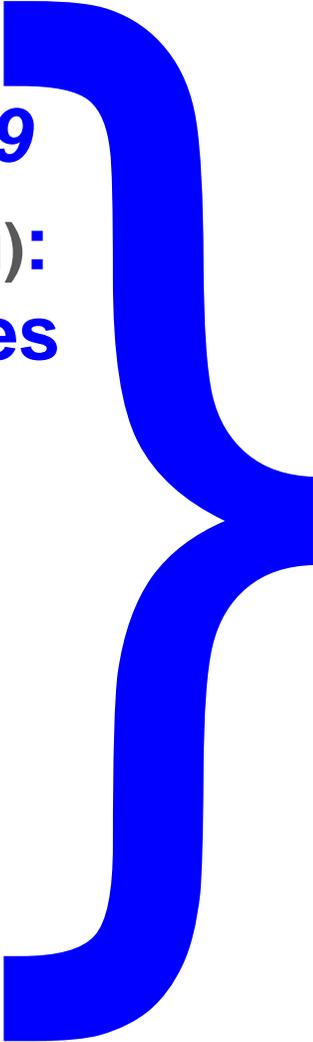
2. NGS (Next Generation Sequencing):
séquence en un temps de tous les
gènes ABD connus

"simple" & rapide

+ possibilité d'identifier des
mutations sur plus d'un gène

3. CGH-array: recherches de
délétions (10 à 20%)

4. Exome en trio



70% des pts

Sur la population enregistrée dans l'observatoire OFABD

N = 327

- Analyses génétiques finalisées: 190 (58%)
- Analyses en cours : 105 (32%)
- ADN épuisé : 11 (3%)
- Pas d'ADN en banque : 21 (7%)

(Courtoisie Lydie DA COSTA)

Genotypes identifiés

<i>RPS19</i>	: 42%	(27%)
<i>RPL5</i>	: 18%	(11%)
<i>RPS26</i>	: 15%	(10%)
<i>RPL11</i>	: 10%	(6%)
Délétions	: 6%	
<i>RPL35a</i>	: 3%	
Autres gènes RP	: 1 à 2%	
<i>(RPS24, RPS17, ...)</i>		

(Courtoisie Lydie DA COSTA)

Diagnostic génétique

Processus encore lourd & long: **être patient!**

Pour les parents & patients:

Bien comprendre que le diagnostic d'ABD N'EST PAS GENETIQUE

Connaître le gène ne va pas modifier la prise en charge de l'enfant

NB: exception: choix d'un donneur de CSH dans la fratrie

Connaître la mutation est en revanche indispensable pour les DPI
& DPN...

Conclusion (1)

De plus en plus de gènes (n = 20) soit classiques (codant pour des protéines ribosomales) soit non classiques

⇒ Reste une proportion de patients sans gène identifié y compris après WES: autres mécanismes d'inactivation que les mutations classiques (parties codantes)?

Nombreux travaux de recherche fondamentale qui ouvrent de nouvelles pistes pour la physiopathologie de l'ABD et donc pour de nouvelles approches thérapeutiques

Conclusion (2)

La thérapie génique: enfin?

Pas d'essais cliniques en cours; continuer à explorer la place de la leucine?

**Plus de moyens pour la recherche clinique:
OFABD, CRMR AM & RIME, MaRIH, Euro-DBA...**



Merci pour votre attention