

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2020

THESE 2020/TOU3/2015

THÈSE

**POUR LE DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
SPÉCIALITÉ BIOLOGIE MÉDICALE**

Présentée et soutenue publiquement
par

SCHAVGOULIDZE Anaïs

**ÉVALUATION DU SCORE R-ISS (REVISED INTERNATIONAL STAGING
SYSTEM) SUR DES PATIENTS INCLUS DANS DES ESSAIS CLINIQUES DE
L'INTERGROUPE FRANCOPHONE DU MYÉLOME**

Le 9 Juillet 2020

Directrice de thèse : Docteur CORRE Jill

JURY

Président :	Pr DE MAS Véronique
1er assesseur :	Pr AVET-LOISEAU Hervé
2ème assesseur :	Dr RIEU Jean-Baptiste
3ème assesseur :	Dr CORRE Jill

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 2 mars 2020

Professeurs Emérites

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
M. GAIRIN J.E.	Pharmacologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SIE P.	Hématologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BARRE A.	Biologie
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. CESTAC P. (*)	Pharmacie Clinique
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C.	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme DERA EVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. Olichon A.	Biochimie
M. Sainte-Marie Y.	Physiologie
M. Stigliani J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme LARGEAUD L.	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S	Biophysique

Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
--------------	--------------------

Remerciements

À ma présidente de thèse,

Madame le Professeur Véronique DE MAS,

Je vous remercie d'avoir accepté de présider ce jury et de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à mon travail. Je vous remercie pour vos enseignements durant mes années de faculté et de m'avoir fait découvrir le passionnant domaine de l'hématologie. Merci pour votre disponibilité et vos conseils durant mon internat.

À ma directrice de thèse,

Madame le Docteur Jill CORRE,

Je vous remercie pour la confiance que vous m'avez accordée en me proposant ce travail. Merci pour votre soutien, votre rigueur, votre disponibilité, et vos précieux conseils. Merci de m'avoir ouvert les portes de la recherche sur ce sujet vaste qu'est le Myélome Multiple à travers ce travail de thèse. C'est avec un grand plaisir que je le poursuivrai au sein de votre équipe de l'Unité Génomique du Myélome dans le cadre de mon année recherche.

Aux membres du jury,

Monsieur le Professeur Hervé AVET-LOISEAU,

Je vous remercie de me faire l'honneur de siéger au sein de ce jury et de juger mon travail. Merci de nous faire bénéficier de votre expertise sur le sujet. Je vous prie d'accepter l'expression de toute ma considération et de ma plus profonde estime.

Monsieur le Docteur Jean-Baptiste RIEU,

Merci d'avoir accepté de juger mon travail, c'est pour moi un grand honneur de te compter parmi les membres de mon jury. Merci d'être toujours présent pour nous partager tes connaissances tant en cytologie avec ton œil expert qu'en CMF, toujours dans la bonne humeur.

Je remercie le **Docteur Valérie LAUWERS-CANCES** sans qui ce travail n'aurait pas été possible. Merci de m'avoir fait profiter de votre grande expertise statistique et méthodologique.

Je remercie l'**Intergroupe Francophone du Myélome** pour avoir fourni les données cliniques et biologiques.

Merci à **Sandrine ROLLET** pour tous les documents mis à disposition. Merci de m'avoir accompagnée pour récupérer les valeurs normales de LDH auprès des 81 centres concernés.

Merci également à **Laura Do Souto Ferreira** pour son aide dans l'analyse des t(14;16).

Merci aux biochimistes des 81 laboratoires français, belges et suisses d'avoir accepté de fournir leurs valeurs de références des LDH des dix dernières années.

Merci à tous les biologistes qui m'ont encadrée et formée pendant mes années d'internat.

Merci à **Frédérique, Sophie, François** et **Vincent** pour votre disponibilité et pour tous vos enseignements passés et à venir.

Merci au **Professeur Eric Delabesse** d'avoir accepté de m'ouvrir les portes de l'hématologie spécialisée. Je vous en suis très reconnaissante.

Merci à **Lucie** de m'avoir accordé de ton temps pour me faire découvrir la cytogénétique.

Merci à **Laëtitia** de m'avoir initiée à la biologie moléculaire, j'ai encore tout à apprendre et je serais heureuse de pouvoir le faire à tes côtés. Merci pour tous tes conseils, pour ces mercredis après-midis de myélos où on avait parfois du mal à en voir le bout, tes anecdotes sur tes souris, et plus encore.

Merci à **Agnès** pour ta bienveillance et ta disponibilité à toute heure du jour et de la nuit.

Merci au Professeur **Peggy Gandia**. Je vous assure de toute ma reconnaissance pour votre soutien, votre rigueur et votre disponibilité sans limite. Merci pour la confiance que vous m'avez accordée lors de mon stage dans votre service.

Merci à **Thomas**. Je t'ai écouté avec attention aux conférences tutorat quand tu étais encore interne et que je me préparais au concours. C'est simple, je ne sélectionnais que les confs faites par toi et ton binôme Louis-Tho. Merci pour tes conseils et ta gentillesse, ça a été un plaisir de travailler avec toi par la suite en pharmaco. Je te pardonne d'avoir soutenu et ri aux blagues de David ;)

Merci à **David** et tous tes enseignements prodigués en pharmacologie, toujours dans la bonne humeur, même ceux du vendredi soir jusqu'à 20 heures ^^.

Merci à tous les techniciens rencontrés pendant cet internat, merci de me permettre de travailler dans une bonne ambiance, que ce soit de jour comme de nuit, ou pendant les longues gardes de week-end. Spécial remerciement à **Chloé**, la plus fofolle, la plus bruyante mais surtout la plus belle personnalité qui soit, à **Damien** (mon chouchou), **Nico** (l'expert en cyto), **Servann** (surtout pour ton caramel au beurre salé), **Jennifer** (que j'espère voir bientôt au labo de l'IUC), **Lucie** (parce qu'on se marre toujours avec toi), la douce **Lauriana**, **Mélanie V.** (pour nos conversations secrètes), **Anne-Sophie et Julien C.** (vous avez égayé mes gardes avec vos karaokés !), **Julien B.** (mon pref' de biochimie) et **Alex** (j'attends toujours tes cookies !).

Merci à **Nicolas**, déjà 10 ans que nous évoluons ensemble et que d'étapes traversées ! Le bac, la PACES, la médecine pour toi. Merci d'être un ami aussi fidèle. J'espère qu'on continuera à vivre plein d'étapes de nos vies ensemble.

Merci à **Margaux**. A toutes nos longues conversations, ces moments de craquage, ces heures passées sur les bancs gelés de l'amphi 2. Je me rappelle la veille du concours de l'internat à l'hôtel où tu as su me rassurer alors que je paniquais complètement. Merci d'avoir été là.

To **Isabel**, my friend across the English Channel. Thanks to you, I have spent wonderful time during my 2 months in Newcastle. It's always a pleasure to see you in unexpected places (London, Sevilla). You are a very good friend and I hope we will be able to see us again who knows where next time.

À **Noémie**, une amie exceptionnelle. A toutes nos pauses à midi à l'internat, aux soirées folles qu'on a passées, aux longues conversations téléphoniques à se raconter nos vies. Malgré ton exil à Clermont, il y a de ces amitiés qui durent et je crois que la nôtre en fera partie.

À **Maximin**, mon premier co-interne. Merci de toujours me faire rire même dans les mauvais moments (même si tu es un peu lourd parfois ^^). Merci également pour ta patience à toute épreuve, je sais que je ne suis pas toujours facile à supporter !

À **Hugo** pour cette année de stage passée ensemble, un vrai diable derrière ce visage d'ange, à **Marie** pour ta gentillesse et ta bienveillance, à **Amina**, merci pour ta douceur, ton humour, j'ai été chanceuse de commencer l'internat avec toi, à **Imane** (même si tu ne me crois pas ^^), à la très organisée et hyperactive **Aude**, à **Emeline** pour ta motivation et ta détermination quand il s'agit de nous faire sortir et à ce rire unique, à **Sabine** avec qui j'aurais partagé une grande partie de l'internat, j'aimerais que tu me révèles le secret de ton éternel flegme qui te permet de rester calme en toutes circonstances !

À **Ali**. Que dire... après de longues tergiversations, j'ai décidé tout simplement de te citer. Un jour tu as dit : « Anaïs et moi, on est comme les 2 faces d'une même pièce, on est complètement opposés, mais on est inséparables ». Alors malgré nos chamailleries incessantes, nos points de vue différents, nos caractères explosifs, ta grande capacité à me rendre folle, je crois que c'est ça qui nous définit le mieux au final. Merci pour ton soutien et de répondre toujours présent quand j'en ai besoin.

À **Pauline**. Merci pour ta gentillesse, ton sourire et ta douceur. J'ai rencontré une amie, une véritable confidente, merci pour tes conseils avisés, et surtout pour m'avoir toujours accompagnée sur le dancefloor ;) J'espère avoir encore l'occasion de travailler avec toi et de surtout continuer nos sorties en ville.

À **Xav'**, l'infiltré ;) Merci pour ton énergie, ta modestie malgré tes brillantes connaissances, mais surtout ton humour sans limites (avec toi on peut rire de tout et avec n'importe qui). Nos gamineries m'auront permis de traverser ce stage de bactério et bien plus.

À **Théo**, le meilleur des collègues (et oui, je le dis, ne vas pas faire le coq après). J'ai trouvé un challenger parfait et notre petite compéte' m'a poussée à toujours donner le meilleur de moi-même. C'était agréable de pouvoir travailler avec quelqu'un qui partageait la passion de l'hémato mais aussi de pouvoir relâcher la pression en chantant au grand dam de nos co-internes. Merci aussi pour tes conseils de grand frère sur le plan personnel.

À **Karen** pour ce stage d'hémato passé ensemble (on aura réussi à passer des bons moments malgré tout le stress ambiant).

À **Elodie**, merci de m'avoir initiée à l'hématologie et de m'avoir appris à faire la différence entre un blaste lymphoïde et myéloïde (j'ai encore le tableau !). J'espère que tes entraînements pour *N'oubliez pas les paroles* porteront un jour leurs fruits ;)

À **Alban**, au début le Monsieur Parfait qui assortissait ses chaussettes à ses pulls (j'étais obligée de le mentionner, j'ai quand même été la première à le remarquer !), tu es devenu mon complice avec nos petits points potins, au PTA et surtout à la biblio du 1er. J'espère qu'on pourra partager un stage ensemble pour ma dernière année !

Merci aussi dans le désordre :

aux plus "anciens" : Claudia, Isabelle, Audrey, Ayman, Tom, Bastien, Céline D et à la pétillante et énergique Léa,

et aux plus jeunes : Caroline (pour avoir souffert avec moi pendant ce stage d'été), Dorian (et tes T-shirts engagés), Pierre-Luc (prêt à risquer ta vie en scooter pour ne pas arriver en retard à notre mini-stage hygiène), Orancie (avec toutes nos gardes partagées à se torturer les méninges pour les pools !), Delphine, Benjamin (et ton enthousiasme débordant au babyfoot), Yasmine, Elie, et enfin, au toujours très positif Germain (mais arrête d'essayer de me flatter en m'appelant chef).

Enfin, je remercie ma famille à qui je dédie cette thèse. Vous savez mon amour et ma reconnaissance alors je vais essayer par ces quelques mots de vous l'exprimer en tâchant de rester sobre.

À ma mamie, partie trop tôt, et à mon **papy**, j'espère te rendre fier en devenant le premier docteur de la famille.

À ma petite sœur Marion. Merci d'avoir supporté mon stress et ma personnalité parfois envahissante toutes ces années. Pardon pour la pression que je t'ai mise, souvent malgré moi. Sache que je serai toujours fière de toi, quoi qu'il arrive et que je t'aime.

À mon père et à ma mère, que j'aime tant.

Merci est un mot bien insuffisant pour vous exprimer mon amour et ma gratitude. Merci pour l'énergie que vous avez mise pour me soutenir depuis toujours, pour votre patience durant toutes ces années, et vos innombrables encouragements.

Papa, tu m'as transmis cette curiosité qui me pousse à toujours vouloir apprendre, découvrir de nouvelles choses. Merci d'avoir été là pour m'aider à réviser tout au long de mes études, même quand tu ne comprenais rien à ce que je racontais. Merci de m'avoir aidée à relativiser quand la pression me submergeait.

Maman, merci pour absolument tout. Merci d'avoir toujours cru en moi, de m'avoir poussée à me dépasser et à ne jamais abandonner. Ton courage et ta force sont une inspiration pour moi. Tu trouves toujours les mots pour me remotiver. Il n'y a pas de plus grande récompense pour moi que de te rendre heureuse et fière.

Table des matières

Remerciements	4
Table des matières	9
Liste des abréviations	11
Table des illustrations.....	14
Table des tableaux.....	15
Introduction.....	17
Partie I : Généralités sur le myélome multiple.....	19
I. Myélome multiple	19
1. Définition	19
2. Epidémiologie.....	19
3. Physiopathologie	20
4. Diagnostic clinico-biologique.....	26
II. Suivi biologique et critères de réponse au traitement.....	35
III. Traitements	38
1. Historique	38
2. Arsenal thérapeutique de première intention	39
3. Thérapies ciblées	40
4. Stratégies thérapeutiques	42
Partie II : Le point sur les facteurs et scores pronostiques	45
I. Facteurs pronostiques	45
1. Paramètres intrinsèques au patient.....	45
2. Marqueurs biochimiques	45
3. Index de prolifération plasmocytaire	46
4. Anomalies cytogénétiques et moléculaires	47
5. Réponse au traitement.....	55
II. Scores pronostiques	56
1. International Staging System (ISS).....	56
2. Revised International Staging System (R-ISS).....	56
3. Classification mSMART	57
4. Score LP	59
Partie III : Evaluation du score pronostique R-ISS	62
I. Introduction.....	62

II.	Matériels et méthodes	62
1.	Patients.....	62
2.	Analyses statistiques	63
III.	Résultats	64
1.	Description globale.....	64
2.	Comparaison des caractéristiques des patients en fonction du R-ISS	67
3.	Etude comparative de la PFS et l'OS	70
4.	Etude du stade R-ISS II.....	75
5.	Capacité discriminante des différents modèles ajustés sur l'âge et le sexe	78
IV.	Discussion	79
Partie IV : Etude descriptive de la translocation t(14;16)		82
I.	Introduction.....	82
II.	Matériels et méthodes	82
1.	Patients et méthodes	82
2.	Analyses statistiques	83
III.	Résultats	84
IV.	Discussion	89
Conclusion et perspectives.....		92
Bibliographie.....		94
Annexes		100
Serment de Galien.....		105

Liste des abréviations

ACSH	Autogreffe de cellules souches hématopoïétiques
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ATU	Autorisation temporaire d'utilisation
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
BCMA	B-cell Maturation Antigen
BCR	B cell-receptor
BrdU	5-bromo-2'-deoxyuridine
CAR	Chimeric Antigen Receptor
CCF	Cancer clonal fraction
CD	Clusters de différenciation
CI	Confidence interval ou intervalle de confiance
CLL	Chaînes légères libres
c-MAF	c-musculoaponeurotic fibrosarcoma
CMF	Cytométrie en flux
CRAB	hyperCalcémie, insuffisance Rénale, Anémie, lésions osseuses (Bone lesion)
CSH	Cellules souches hématopoïétiques
CSM	Cellules souches mésenchymateuses
CT	Computed tomography
DKK-1	Facteur Dickkopf-1
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Groupe
EMA	European Medicines Agency
EPS	Electrophorèse des protéines sériques
EPU	Electrophorèse des protéines urinaires
ESMO	European Society for Medical Oncology
ET	Ecart-type
FGFR3	Fibroblast growth factor receptor 3
FISH	Fluorescence in situ hybridization ou hybridation par fluorescence in situ
GSK3β	Glycogen synthase kinase 3 β

HDAC	Histone désacétylase
HR	Hazard ratio
IFM	Intergroupe Francophone du Myélome
IFX	Immunofixation
Ig	Immunoglobuline
IgA	Immunoglobuline A
IgG	Immunoglobuline G
IL-6	Interleukine 6
IMC	Indice de masse corporelle
IMiDS	Médicaments immunomodulateurs de type imides
IMWG	International Myeloma Working Group
IP	Inhibiteurs du protéasome
IQR	Interquartile range ou écart interquartile
IRF4	Interferon regulatory factor 4
IRM	Imagerie par résonance magnétique
LB	Lymphocyte B
LT	Lymphocyte T
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
MGUS	Monoclonal gammopathy of undetermined significance
MM	Myélome multiple
MMSET	Histone méthyl-transférase (Multiple Myeloma SET domain)
MO	Moelle osseuse
MRD	Minimal Residual Disease
mSMART	Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NDMM	Newly Diagnosed Multiple Myeloma
NFκB	Nuclear factor-kappa B
NGF	Cytométrie en flux de nouvelle génération
NGS	Next generation sequencing
NK	Natural Killer

NR	Not reached ou non atteint
OS	Overall survival ou survie globale
P	p-value
PCLI	Plasma Cell Labeling Index
PET-CT	positron emission tomography-computed tomography
PFS	Progression free survival ou survie sans progression
PI	Prognostic Index
RANK ligand	Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
R-ISS	Revised International Staging System
Sβ2M	β2-microglobuline sérique
sFLC	serum free light chain
SLiM CRAB	Soixante % au moins de plasmocytes, Light chains ou rapport κ/λ > 100, plus d'une lésion focale à l'IRM
SMM	Smoldering Multiple Myeloma
SNP	Single nucleotid polymorphism
TEP-scan	Tomographie par émission de positron
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha
UGM	Unité Génomique du Myélome
VS	Vitesse de sédimentation

Table des illustrations

Figure 1 : Progrès thérapeutiques dans le MM et évolution de la survie globale de 1960 à 2010.....	20
Figure 2 : Evolution clonale dans le myélome multiple, modèle proposé par Manier et al.[13].....	24
Figure 3 : Initiation et progression du MM.	26
Figure 4 : Hématies en rouleaux.....	28
Figure 5 : Electrophorèse des protéines sériques : profil normal et profil avec pic monoclonal en zone gamma[19].	29
Figure 6 : Photos de plasmocytes dystrophiques dans la MO (x63).	31
Figure 7 : Taux de réponses du myélome multiple aux traitements : représentation de l'iceberg.	37
Figure 8 : Exemple d'image de plasmocytes par immunofluorescence pour la mesure du PLCl.....	46
Figure 9 : Répartition des mutations de TP53 dans le MM. Chiffres repris de l'article de Walker et al., Leukemia 2019[56].	47
Figure 10 : Courbes de Kaplan-Meier représentant la survie globale (OS ou overall survival) (figure A) et la PFS (figure B) pour les patients de la cohorte Discovery de l'IFM stratifiés en fonction du seuil de CCF à 0,55.	48
Figure 11 : Courbes de Kaplan-Meier représentant la survie globale (OS) en fonction du temps (mois)[55].	49
Figure 12 : Survie sans évènement (EFS, Event-free survival) (A) et survie globale (OS, overall survival) chez les patients atteints de t(4;14) avec une induction par bortézomib/dexaméthasone (Vel/Dex) (n = 106) ou vincristine, doxorubicine et dexaméthasone (VAD) (n = 98). D'après Avet-Loiseau et al. [62].	51
Figure 13 : MRD et PFS ou OS chez les patients atteints de MM.....	55
Figure 14 : Courbes de survie de Kaplan-Meier selon les 3 catégories de risque du LP-score. (A) Cohorte de construction (n = 647). (B) Cohorte de validation interne (n = 234). (C) Cohorte de validation externe 1 (n = 359). (D) Cohorte de validation externe 2 (n = 322). D'après Perrot et al.[79].	60
Figure 15 : Flow-chart des patients.	64
Figure 16 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant la PFS (figure A) et l'OS (figure B) en fonction du stade ISS.	71
Figure 17 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant la PFS (figure A) et l'OS (figure B) en fonction du stade R-ISS.	73
Figure 18 : Répartition des patients selon les scores ISS et R-ISS.	73
Figure 19 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant la PFS (figure A) et l'OS (figure B) en fonction du couple ISS/R-ISS.	74
Figure 20 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant la PFS en fonction du risque cytogénétique (Risque standard vs Haut risque) (figure A), de la t(4;14) (figure B), de la del(17p) (figure C) et du taux de LDH (figure D).	77
Figure 21 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant l'OS en fonction du risque cytogénétique (Risque standard vs Haut risque) (figure A), de la t(4;14) (figure B), de la del(17p) (figure C) et du taux de LDH (figure D).	78
Figure 22 : Répartitions du score ISS entre les patients contrôles (sans t(14;16)) et les patients atteints de t(14;16) (tous diagnostics confondus).....	85
Figure 24 : Représentation graphique des anomalies de nombre (tous diagnostics confondus).....	87
Figure 25 : Représentation graphique des principales mutations (tous diagnostics confondus).....	88

Table des tableaux

Tableau 1 : Phénotype des plasmocytes normaux et tumoraux.....	21
Tableau 2 : Classification de Durie et Salmon (1975).....	32
Tableau 3 : Critères diagnostiques des gammopathies monoclonales.....	33
Tableau 4 : Critères diagnostiques du Myélome Multiple.....	34
Tableau 5 : Critères de réponse au traitement (d'après l'IMWG)[18].....	36
Tableau 6 : Statuts cliniques de progression [26].....	36
Tableau 7 : Critères de réponse de MRD (d'après l'IMWG)[18].....	38
Tableau 8 : Principales associations thérapeutiques de première intention et leurs abréviations.....	42
Tableau 9 : Principales associations thérapeutiques de seconde intention et leurs abréviations.....	44
Tableau 10 : Classification International Staging System. D'après Greipp et al. (2005)[76].....	56
Tableau 11 : Classification R-ISS. D'après Palumbo et al. (2015)[51].....	56
Tableau 12 : Taux de survie globale à 5 ans et pourcentage de patients par stade R-ISS.....	57
Tableau 13 : Classification mSMART 2013.....	58
Tableau 14 : Classification mSMART actualisée en août 2019[78].....	58
Tableau 15 : LP score : facteurs pronostiques et formule. D'après Perrot et al.[79].....	59
Tableau 16 : LP score : catégories.....	59
Tableau 17 : C-index pour la survie spécifique au Myélome en fonction des différents modèles pronostiques.....	61
Tableau 18 : Description brève des études IFM utilisées pour notre étude.....	63
Tableau 19 : Caractéristiques des patients.....	66
Tableau 20 : Comparaison des caractéristiques des patients en fonction de leur stade R-ISS.....	69
Tableau 21 : Description globale de la PFS et de l'OS dans la population étudiée.....	70
Tableau 22 : Temps de survie selon l'ISS.....	70
Tableau 23 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction de l'ISS selon un modèle de Cox multivarié.....	71
Tableau 24 : Temps de survie selon le R-ISS.....	72
Tableau 25 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction du R-ISS selon un modèle de Cox multivarié.....	72
Tableau 26 : Reclassification des patients en fonction de la révision de l'ISS.....	73
Tableau 27 : Temps de survie selon les couples ISS/R-ISS.....	74
Tableau 28 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction du couple ISS/R-ISS selon un modèle de Cox multivarié.....	74
Tableau 29 : Temps de survie en fonction du risque (standard ou haut risque), de la t(4;14), de la del(17p) et du taux de LDH.....	75
Tableau 30 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction des anomalies cytogénétiques selon un modèle de Cox multivarié.....	76
Tableau 31 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction de la t(4;14) selon un modèle de Cox multivarié.....	76
Tableau 32 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction de la del(17p) selon un modèle de Cox multivarié.....	76
Tableau 33 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction du taux de LDH selon un modèle de Cox multivarié.....	77
Tableau 34 : C-index pour la PFS ou l'OS en fonction des différents modèles pronostiques.....	78

Tableau 35 : Classes de risque du modèle ISS + cytogénétique + LDH.	79
Tableau 36 : Distribution des statuts dans la cohorte de patients.	83
Tableau 37 : Caractéristiques des patients (tous diagnostics confondus).	84
Tableau 38 : Translocations du locus 14q32.	85
Tableau 39 : Pourcentages d'anomalies de nombre : comparaison des patients t(14;16) aux patients contrôles (tous diagnostics confondus).	86
Tableau 40 : Pourcentages des 15 principales mutations : comparaison des patients t(14;16) aux patients contrôles (tous diagnostics confondus).	88

Introduction

Le myélome multiple (MM) est une hémopathie maligne caractérisée par l'accumulation de plasmocytes tumoraux. Le clone tumoral sécrète une immunoglobuline monoclonale ; son accumulation dans le sang, les urines et au niveau de certains organes tels que les reins est responsable de la pathogénicité de la maladie. C'est la seconde hémopathie maligne en termes d'incidence dans le monde occidental (15 % des diagnostics d'hémopathies malignes par an) et elle représente environ 1 % de l'ensemble des cancers. Le MM est une pathologie du sujet âgé avec une médiane d'âge au diagnostic de l'ordre de 70 ans.

Ces vingt dernières années, le pronostic a été considérablement amélioré grâce à l'évolution des traitements proposés. Le taux de survie relative à 5 ans atteint désormais 50 % dans la population générale et dépasse les 60 % pour les patients diagnostiqués avant l'âge de 65 ans. Toutefois, le myélome multiple (MM) reste une pathologie incurable dont la présentation et l'évolution peuvent être extrêmement différentes d'un patient à l'autre.

De nombreux facteurs jouent un rôle sur le pronostic du patient. Ces facteurs peuvent être liés à la condition physique du patient, comme les comorbidités et l'âge qui conditionnent encore le choix du traitement, mais sont surtout influencés par les anomalies cytogénétiques des plasmocytes tumoraux. La grande hétérogénéité moléculaire qui les caractérise explique en partie les disparités entre les patients avec la persistance d'un sous-groupe qui ne bénéficie pas des avancées thérapeutiques. C'est le cas des patients atteints d'anomalies cytogénétiques de haut risque telles que la del(17p), ou les patients double-hit.

A ce jour, plusieurs scores pronostiques ont été développés pour stratifier le risque dans le MM parmi lesquels le score international R-ISS (Revised International Staging System). Les groupes d'experts internationaux ont intégré au score ISS un nouveau critère biochimique (taux de LDH) et des critères cytogénétiques (del(17p), t(4;14), t(14;16)). Cependant, avec l'avènement des techniques de biologie moléculaire et l'accès à un profil cytogénétique et moléculaire plus complet des plasmocytes tumoraux, le choix de ces trois anomalies semble aujourd'hui limité. De surcroît, une anomalie défavorable dans le passé peut se révéler de meilleur pronostic aujourd'hui avec l'évolution des traitements ; c'est le cas de la t(4;14) et du bortézomib. Enfin, bien que la t(14;16) ait été classée dans les anomalies de haut risque, aucune étude n'a démontré sa valeur pronostique indépendante sur la survie dans le MM.

A notre connaissance, le score R-ISS n'a pas encore été évalué sur une cohorte de patients français. L'objectif de ce travail de thèse est d'évaluer la capacité discriminante du score R-ISS par rapport aux données de cohortes d'essais cliniques réalisés par l'Intergroupe Francophone du Myélome (IFM). Un second travail consistera à décrire le paysage génétique d'une entité peu connue, le myélome avec t(14;16). Son étude pronostique ne sera pas réalisée, le nombre de patients atteints de t(14;16) recrutés dans les essais cliniques étant insuffisant.

La première partie de ce manuscrit sera consacrée à la physiopathologie du myélome multiple, aux critères diagnostiques et aux traitements de cette maladie. Dans un second temps, nous nous

intéresserons aux facteurs qui affectent le pronostic du MM et nous ferons le point sur les différents scores pronostiques développés.

La troisième partie sera dédiée à l'évaluation du score pronostique R-ISS. Nous le comparerons à l'ancien score ISS. Nous évaluerons également les facteurs influençant le pronostic des patients classés dans le stade R-ISS II.

Enfin, dans une quatrième et dernière partie, nous détaillerons les résultats de l'étude descriptive de la translocation $t(14;16)$ réalisée d'après les données de la base de l'Unité de Génomique du Myélome du CHU de Toulouse.

Partie I : Généralités sur le myélome multiple

I. MYELOME MULTIPLE

1. Définition

Le myélome multiple (MM) est une hémopathie maligne caractérisée par l'accumulation de plasmocytes tumoraux, initialement dans la moelle osseuse hématopoïétique mais également dans les sites extra-médullaires. Le clone tumoral sécrète une immunoglobuline monoclonale ; son accumulation dans le sang, les urines et au niveau de certains organes tels que les reins est responsable de la pathogénicité de la maladie. Cette pathologie est toujours précédée par une gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS pour monoclonal gammopathy of undetermined significance) ou par un SMM (smoldering multiple myeloma ou myélome indolent)[1]. Le MGUS est l'un des états pré-malins le plus commun dans la population caucasienne puisqu'il affecte 3,5 % des plus de 50 ans ; chez les sujets d'origine africaine, cette prévalence double. Le MGUS et le SMM sont asymptomatiques, leur diagnostic est uniquement biologique. Alors que le risque de progression en MM pour le MGUS n'est que de 1 % par an, celui pour le SMM est bien plus élevé avec 10 % de risque d'évolution en MM. Leur suivi est essentiel afin de diagnostiquer le plus précocement possible les malades qui évolueront en MM. En pratique, il est recommandé de suivre les patients atteints de MGUS 6 mois après leur diagnostic puis tous les ans.

2. Epidémiologie

Le MM est la seconde hémopathie maligne en termes d'incidence dans le monde occidental (15 % des diagnostics d'hémopathies malignes par an) et représente environ 1 % de l'ensemble des cancers[2]. C'est une pathologie du sujet âgé avec une médiane d'âge au diagnostic de l'ordre de 70 ans.

Les facteurs de risque de développer un MM sont assez controversés, l'incidence est plus élevée chez les hommes que chez les femmes et pour le même sexe, plus élevée chez les personnes d'origine africaine que chez les caucasiens. Des études ont montré une association entre l'exposition aux pesticides et le développement des cancers hématopoïétiques, dont le MM[1], [2]. L'exposition aux radiations ionisantes est également incriminée. Les familles dont deux membres ou plus ont eu un myélome suggèrent une prédisposition génétique. L'étude génétique de ces familles a permis d'identifier des variants génétiques pour 24 *loci* qui seraient des facteurs de susceptibilité à développer un MGUS ou un MM[3].

Ces vingt dernières années, le pronostic s'est considérablement amélioré grâce à l'évolution des traitements proposés mais la survie globale (OS pour overall-survival) reste très hétérogène. Le taux de survie relative à 5 ans atteint désormais 50 % dans la population générale et dépasse les 60 % pour les patients diagnostiqués avant l'âge de 66 ans.

Une étude réalisée à partir des registres européens montre que la survie relative à 5 ans est passée de 29,8 % pour les patients diagnostiqués en 1997-1999 à 39,6 % pour les patients diagnostiqués en 2006-2008[4]. Cependant, cette amélioration est plus prononcée chez les jeunes patients et n'était pas significative pour les patients de 75 ans et plus. Cette hétérogénéité peut être expliquée par l'accès à l'autogreffe pour les plus jeunes.

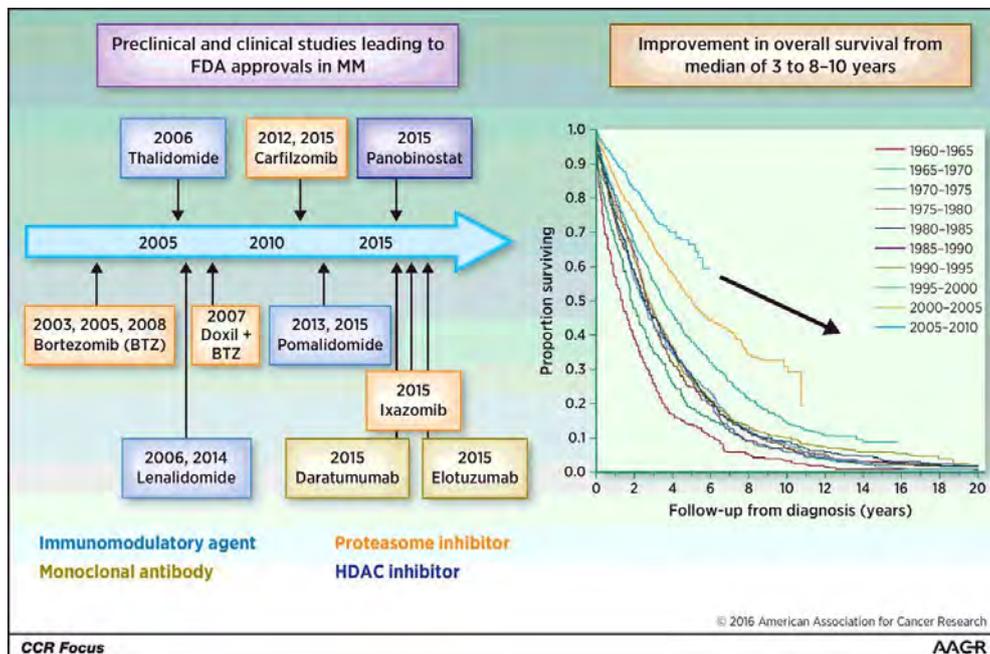


Figure 1 : Progrès thérapeutiques dans le MM et évolution de la survie globale de 1960 à 2010. D'après Anderson[5]

3. Physiopathologie

Bien que les causes exactes du MM restent incertaines, les événements conduisant à la sélection et au développement d'une population clonale sont de plus en plus décrits, notamment grâce au développement de techniques de plus en plus sensibles, telles que la FISH (fluorescence in situ hybridization), la cytométrie de flux mais surtout l'accès au séquençage de nouvelle génération (NGS pour Next Generation Sequencing).

a) Origine de la cellule tumorale

L'origine cellulaire des clones qui s'accumulent dans le MM est difficile à déterminer. Morphologiquement, les cellules tumorales ont un aspect plus ou moins typique de plasmocyte physiologique (noyau régulier, excentré, mature, un cytoplasme hyperbasophile et un archoplasme). Il arrive que les plasmocytes malins soient dystrophiques (chromatine décondensée, perte de l'archoplasme, aspect plasmoblastique). Les plasmocytes sont des cellules retrouvées dans tous les tissus hormis le sang. Ils représentent le stade final de différenciation des lymphocytes B et produisent

des anticorps solubles. Le marqueur de surface caractéristique des plasmocytes est le CD138 (ou syndecan-1), un récepteur de la matrice extra-cellulaire. Celui-ci est également spécifiquement exprimé sur les cellules clonales du MM, tout comme le CD38. Cependant, les cellules clonales peuvent exprimer des marqueurs présents à la surface des lymphocytes B dans un stade précédant la différenciation en plasmocytes. Les cellules malignes n'expriment peu voire pas le CD19 (pourtant exprimé dans la lignée B), le CD20, le CD22 et le CD24 ; cela suggère une origine cellulaire encore plus précoce que la lignée lymphoïde B. De plus, alors que les plasmocytes normaux sont CD19+CD56-, aucun clone ne présente ce phénotype [1].

Le clone tumoral exprime également une chaîne légère d'immunoglobuline (Ig) cytoplasmique. Cette expression suggère que le processus d'oncogenèse a lieu lors de la phase tardive de la différenciation de la lignée B.

Marqueurs	Plasmocytes normaux	Plasmocytes MM
CD38	++	+ Faible
CD138	++	+
CD19	+	- (96 %)
CD45	+	- (73 %)
CD20	-	+ (17-30%)
CD27	+	-/faible (40-68 %)
CD28	-	+ (15-45 %)
CD56	-	+ (60-75 %)
CD81	+	-/faible (55 %)
CD117	-	+ (30-32 %)
CD200	+/-	++ (≥ 70 %)
Chaînes légères κ/λ	polyclonal	monoclonal

Tableau 1 : Phénotype des plasmocytes normaux et tumoraux.

Lors du processus normal de différenciation, le lymphocyte B (LB) réarrange dans la moelle osseuse les gènes codant pour les parties variables (gènes V) des chaînes légères et lourdes des immunoglobulines de façon aléatoire (recombinaison VDJ). Ce processus, indépendant de la rencontre avec un antigène étranger, permet aux cellules B d'élargir leur spectre de reconnaissance et de diversifier leur répertoire. Puis, le lymphocyte B naïf migre de la moelle osseuse vers les organes lymphoïdes périphériques. Dans les centres germinatifs des organes lymphoïdes secondaires, les cellules B naïves s'activent suite à un contact via leur récepteur BCR (B-cell receptor) avec un antigène spécifique[6]. Cela induit la différenciation des LB en cellules effectrices et cellules mémoires. La spécificité de la reconnaissance avec l'antigène dépend des immunoglobulines à la surface des LB. Au niveau de ces organes lymphoïdes secondaires, le phénomène d'hypermutation somatique permet d'améliorer la spécificité de reconnaissance et l'affinité pour l'antigène[7]. Les LB sont ensuite soumis au phénomène de comutation isotypique qui remplace le gène codant pour la région constante de l'IgM par un gène codant pour une autre région constante G, A ou E. Les cellules B du centre germinatif qui n'acquièrent pas les mutations favorables des gènes V sont normalement vouées à l'apoptose. Seules sont sélectionnées les cellules ayant une haute affinité pour l'antigène. Les LB sélectionnés vont proliférer puis migrer vers la pulpe rouge de la rate, la médullaire du ganglion ou la moelle osseuse et

se transformer en plasmocytes producteurs d'anticorps ou se transformer en lymphocytes mémoires qui circulent indéfiniment dans l'organisme.

L'analyse des séquences variables des chaînes des immunoglobulines a permis de révéler que les cellules clonales possèdent des mutations postérieures aux événements d'hypermutation somatique, de sélection et de comutation isotypique. Cette découverte oriente vers une origine post-folliculaire des cellules cancéreuses du myélome multiple.

Ce postulat doit être nuancé. En effet, la multitude d'anomalies génétiques et la disparité entre plusieurs clones tumoraux rend difficile la compréhension de l'étape clef qui mène à la transformation en MM. L'analyse des plasmocytes dans le MGUS a contribué à identifier les événements initiateurs de l'oncogenèse. En effet, on retrouve soit une hyperdiploïdie soit une translocation dans la zone VDJ du chromosome 14 pour 100 % des cellules plasmocytaires (avec une répartition des anomalies à 55/45)[8]. Toutefois, tous les MGUS n'évolueront pas en cancer. Au final, il semblerait que les mutations soient acquises à la fois dès le début de la lymphopoïèse B mais aussi au stade folliculaire dans les processus d'hypermutation somatique.

b) Cytogénétique et altérations moléculaires

Le MM est caractérisé par une grande hétérogénéité moléculaire, entre les différents patients mais également au sein du même patient avec différents sous-clones qui prolifèrent et évoluent de manière différentielle. L'aspect pronostique des anomalies ne sera pas abordé ici, mais dans la partie II de ce manuscrit (page 45).

Les deux grandes entités dans le MM qui peuvent être distinguées sont d'une part la translocation du locus IGH en 14q32 et d'autre part l'hyperdiploïdie[9].

L'hyperdiploïdie, caractérisée par la présence de multiples trisomies des chromosomes impairs (3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 et 21), est présente chez 55 % des patients. Cela conduit à une augmentation de l'expression de certaines cyclines, de *c-Myc*, de *MAPK* (Mitogen Activated Protein Kinase) et de facteurs de croissance. Le mécanisme entraînant un gain de chromosome préférentiellement sur les chromosomes impairs n'est pas encore élucidé.

La translocation en 14q32 représente la seconde anomalie en matière de fréquence (45 à 50 % des patients). Les translocations du locus IGH sont des translocations *a priori* précoces dans le processus d'oncogenèse du MM[10].

La translocation la plus fréquente (20 % des patients au diagnostic) concernant ce locus est la t(11;14)(q13;q32) conduisant à une hyperexpression de la cycline D1, protéine impliquée dans le déroulement de la phase G1 du cycle cellulaire. La t(4;14)(p16;q32), spécifique du MM, est la seconde translocation la plus fréquente (12-15 % des patients au diagnostic). Elle dérégule deux gènes : *FGFR3* (une tyrosine kinase) qui est hyperexprimé et *MMSET* (histone méthyl-transférase) qui fusionne avec l'enhancer du gène IGH conduisant à la formation de transcrits de fusion *IGH-MMSET*.

Nous ne citerons pas toutes les anomalies récurrentes retrouvées mais la t(14;16)(q32;q23), impliquant le gène *MAF*, est importante à mentionner car elle entre dans le score pronostique ISS

révisé, bien que son poids pronostique n'ait pas encore été évalué de manière fiable, ceci étant rendu difficile par sa faible fréquence (3,5 % des patients au diagnostic).

L'avènement du séquençage NGS a permis d'enrichir notre connaissance sur le MM, et notamment de découvrir des mutations. Contrairement à la leucémie à tricholeucocytes ou à la maladie de Waldenström pour lesquelles, schématiquement, une seule mutation est à l'origine de la pathologie (respectivement *BRAF* V600E et *MYD88* L265P), aucune mutation unique n'a été trouvée dans le MM[11]. Parmi les gènes fréquemment impliqués dans le processus d'oncogenèse, on retrouve la perte d'expression des gènes suppresseurs de tumeurs comme *TP53* ou encore l'activation d'oncogènes de la famille *KRAS* et *NRAS*[12]. *DIS3*, *FAM46C* et *BRAF* sont également souvent mutés dans le MM ; tous les autres gènes (y compris *TP53*) sont mutés chez moins de 10 % des patients. Les mutations seraient secondaires et arriveraient plus tardivement, après les phénomènes d'hyperdiploïdie ou de translocation du chromosome 14 (voir Figure 2). Elles pourraient être responsables de la progression de la maladie. Il est possible que plusieurs gènes soient mutés comme *KRAS* et *NRAS* alors qu'ils participent à la même voie de signalisation[13]. Ceci est assez inhabituel car non reporté dans les autres processus malins mais l'impact des mutations redondantes est encore non élucidé. En réalité, lorsque l'on analyse les plasmocytes en technique single-cell, il semblerait que les mutations de la même voie ne soient pas retrouvées dans la même cellule mais plutôt dans des cellules différentes. Ceci s'explique par la coexistence de plusieurs clones tumoraux dans le MM.

Les mutations sont définies comme clonales lorsqu'elles sont portées par toutes les cellules mutées et sous-clonales lorsqu'elles apparaissent seulement dans une sous-population de cellules. Dans le MM, on détecte environ 5 sous-clones chez un même patient lorsque l'on pratique le séquençage de tout le génome ce qui confirme le caractère « multiple » du myélome[13]. L'analyse du génome du patient au diagnostic puis à la rechute permet de voir différents types d'évolution clonale[9]. Pour certains patients, les clones sont stables et on retrouve les mêmes anomalies génétiques avant et après traitement. L'évolution différentielle correspond à la présence des mêmes sous-clones mais dans des proportions différentes. Chez d'autres patients, l'évolution est linéaire, de nouvelles mutations apparaissent ce qui indique soit la survenue d'un nouveau sous-clone, soit l'émergence d'un clone préexistant au diagnostic mais en proportion trop faible pour être détecté par les techniques actuelles. Enfin, le dernier type décrit est l'évolution branchée qui consiste en l'émergence d'un ou plusieurs sous-clones alors que le clone de départ disparaît ou devient minoritaire.

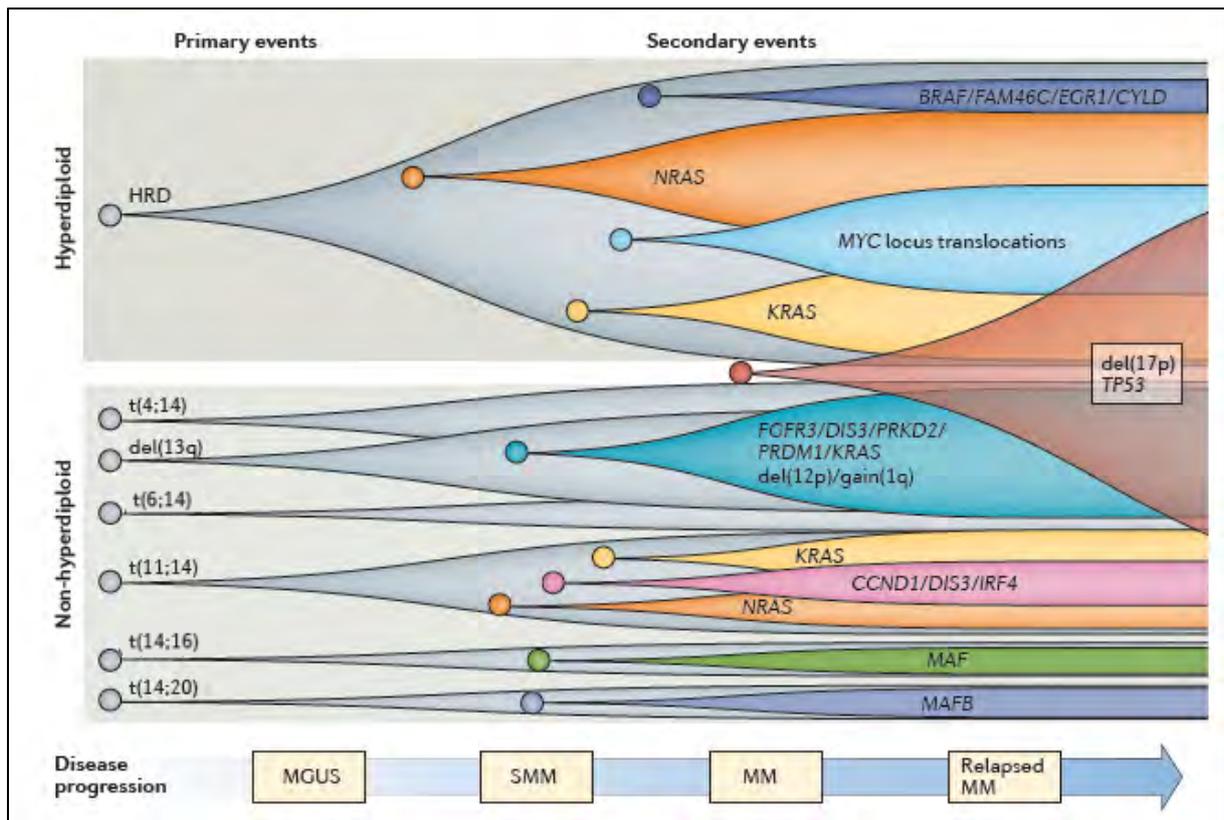


Figure 2 : Evolution clonale dans le myélome multiple, modèle proposé par Manier et al.[13].

Nous retiendrons que le MM n'est pas une maladie unique et que plusieurs évènements sont à l'origine de la pathogénicité. La cartographie des anomalies moléculaires pour chaque patient est essentielle car à l'heure de la thérapie ciblée, chaque anomalie moléculaire représente une cible thérapeutique potentielle. Enfin, le MM est une pathologie qui évolue dans le temps : l'apparition d'anomalies péjoratives peut transformer un pronostic plutôt favorable en un pronostic sombre. L'évaluation pronostique du patient n'est donc pas un examen réservé au diagnostic mais doit être réitéré lorsque la maladie rechute.

c) Influence du microenvironnement médullaire

Les cellules tumorales ont besoin d'un environnement favorable pour se multiplier. Le microenvironnement médullaire a donc un rôle primordial dans le phénomène d'oncogenèse.

De façon physiologique, les différentes cellules du microenvironnement médullaire telles que les cellules endothéliales, les adipocytes, ou les macrophages, ainsi que les protéines de la matrice extra-cellulaire servent de support à la croissance et au développement de toutes les cellules souches hématopoïétiques (CSH). Elles forment ce que l'on appelle des « niches », qui sont difficiles à caractériser anatomiquement[12]. L'existence de ces « niches » permettrait aux plasmocytes tumoraux d'avoir des conditions idéales pour leur prolifération. Les plasmocytes clonaux communiquent de façon étroite avec les cellules de leur environnement, via des cytokines et des facteurs de croissance notamment. Au sein de la MO, on retrouve aussi les cellules souches

mésenchymateuses (CSM), précurseurs des fibroblastes, ostéoblastes et adipocytes en particulier. Il semblerait que dans le MM, ces CSM se comportent différemment : par exemple, leur expression d'**interleukine 6** (IL-6) est augmentée. L'IL-6 est une cytokine sécrétée par les plasmocytes eux-mêmes, les ostéoblastes et ostéoclastes, et les cellules stromales. Elle joue un rôle dans la prolifération des LB et la différenciation des LB en plasmocytes[14]. De plus elle stimule la résorption osseuse en activant les ostéoclastes. L'hypersécrétion d'IL-6 dans le myélome multiple contribue à son expansion et à la progression de la maladie.

L'**adhésion** des plasmocytes et leur maintien au niveau de la MO ont un rôle essentiel. Les cellules endothéliales de la MO sécrètent une cytokine, CXCL12, qui se lie sur son récepteur CXCR4 situé à la surface des CSH. Ceci permet de maintenir ces cellules dans la MO à l'état quiescent. Les plasmocytes matures expriment également CXCR4. Par ailleurs, les cellules stromales des patients atteints de MM ont une expression de CXCL12 élevée[12]. Cette expression permettrait d'augmenter l'adhésion des plasmocytes au niveau des niches, et par voie de conséquence de diminuer leur accès et leur sensibilité aux traitements. L'ulocuplumab, un anticorps anti-CXCR4[15], est à l'étude en essai de phase II en combinaison avec le lénalidomide ou le bortézomib plus la dexaméthasone en traitement de rechute du MM. Les premiers résultats montrent une bonne efficacité ce qui prouve le rôle non négligeable de l'interaction CXCL12/CXCR4 dans la pathologie.

Dans le MM, la MO est hypervascularisée pour permettre d'apporter les facteurs nécessaires à la croissance des plasmocytes. Cette **vascularisation** est permise par la sécrétion aberrante des facteurs inductibles par l'hypoxie (Hypoxia-inductible factors) HIF1 et HIF2 α qui stimulent la néoangiogenèse. Les immunomodulateurs tels que le thalidomide ou le lénalidomide sont des molécules anti-angiogéniques qui limitent le développement tumoral.

En conclusion sur le microenvironnement médullaire, la compréhension de son interaction avec les cellules tumorales est majeure afin d'identifier des cibles prometteuses pour le développement de nouvelles molécules dans le traitement des MM.

La figure ci-contre (Figure 3 : Initiation et progression du MM.) illustre les différents acteurs et processus menant à la cancérisation des plasmocytes.

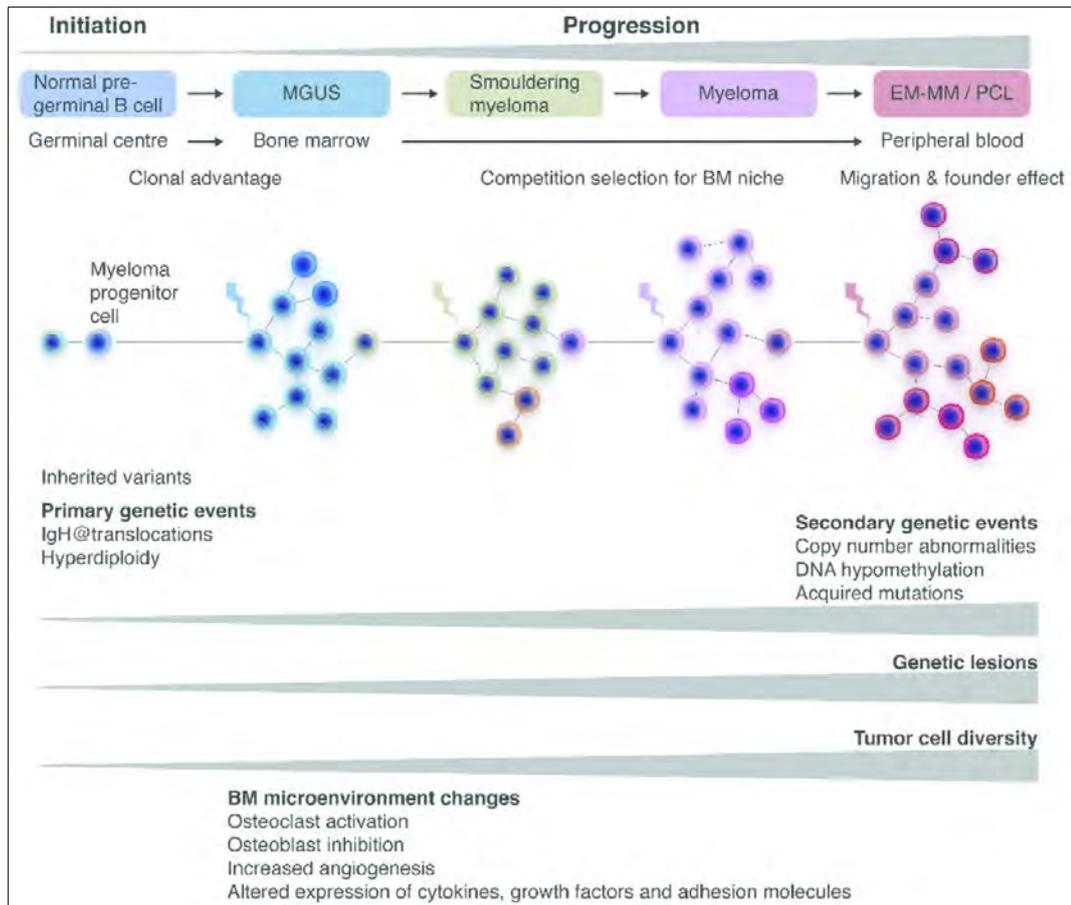


Figure 3 : Initiation et progression du MM.
 D'après Engelhardt et al. [16]

4. Diagnostic clinico-biologique

La découverte d'un MM est bien souvent fortuite après un examen de routine (anémie sur l'hémogramme, pic monoclonal à l'électrophorèse des protéines sériques, ...) ou un bilan suite à une altération de l'état général du patient. D'après une étude de Yong et al., près de 10 % des diagnostics sont posés lors d'un suivi de MGUS[17].

a) Signes cliniques

Les signes cliniques sont le retentissement direct de l'accumulation des plasmocytes clonaux et de leur production en grande quantité d'une immunoglobuline monoclonale.

- Syndrome anémique

L'anémie est souvent le premier signe d'appel dans le diagnostic du MM. Cliniquement, elle se manifeste par une altération de l'état général et une dyspnée d'effort. Ces symptômes amènent

souvent les patients à consulter. L'anémie peut parfois être très bien tolérée par le patient lorsqu'elle s'installe de façon chronique.

- Lésions osseuses (Bone lesion)

Les douleurs osseuses sont fréquentes et présentes chez plus de 60 % des patients au diagnostic[17]. Ces douleurs sont dues à des lésions osseuses lytiques, localisées principalement au niveau de la colonne vertébrale, du thorax, du bassin et des os longs. Les lésions ostéolytiques provoquent des tassements vertébraux et des fractures (spontanées ou non). Elles sont liées à un déséquilibre du rapport ostéoblastes/ostéoclastes entraînant une anomalie du remodelage osseux. En effet, les plasmocytes du MM sécrètent diverses cytokines telles que le RANK ligand (receptor activator for nuclear factor kappa b ligand), l'ostéoprotégérine, l'IL-6, le TNF- α qui stimulent l'activité des ostéoclastes. Ces ostéoclastes en retour vont sécréter des facteurs de croissances ou des cytokines essentiels à l'accumulation des cellules myélomateuses (IL-6 par exemple). Les ostéoclastes sont responsables de la résorption osseuse et donc de la fragilisation de la matrice osseuse. Les substances libérées lors de ce processus agissent comme facteurs de croissance pour les plasmocytes clonaux qui continuent de s'accumuler, augmentant ainsi la masse tumorale. En parallèle, les molécules produites par les clones tumoraux, comme l'IL-6 et le facteur Dickkopf-1 (*DKK-1*) entre autres, inhibent les ostéoblastes empêchant la synthèse d'une nouvelle matrice osseuse. Le facteur *DKK-1* inhibe la voie de signalisation Wnt impliquée dans la maturation des ostéoblastes dans la moelle osseuse.

- Atteinte rénale

L'atteinte rénale concerne 20 % des patients au diagnostic et représente une cause majeure de morbi-mortalité chez les patients. Celle-ci est liée à la sécrétion d'immunoglobuline (Ig) et plus particulièrement de chaînes légères libres (CLL). De façon physiologique, le plasmocyte produit un excès de chaînes légères par rapport aux chaînes lourdes pour permettre une conformation correcte de l'Ig. Les CLL sont filtrées au niveau du glomérule rénal, réabsorbées par le tubule proximal puis sécrétées par le tubule distal. Dans le cas du MM, la capacité de réabsorption du tubule proximal est dépassée par l'excès de CLL, celles-ci s'accumulent dans les tubules distaux et précipitent sous forme de cylindres hyalins. L'obstruction des tubules crée une néphropathie tubulo-interstitielle. Les CLL possèdent en outre une toxicité propre qui contribue à la tubulopathie et provoque rarement un syndrome de Fanconi. Enfin, les CLL ou les Ig peuvent précipiter au niveau glomérulaire, entraînant respectivement une amylose AL (qui peut toucher d'autres organes comme le cœur ou le système nerveux) et un syndrome de Randall (maladie systémique touchant de nombreux organes et évoluant en insuffisance rénale terminale).

- Infections à répétition

Les plasmocytes ont un rôle essentiel dans l'immunité humorale grâce à leur synthèse d'Ig solubles. L'envahissement par les plasmocytes tumoraux induit une diminution de la lymphopoïèse et donc une diminution de la production de plasmocytes dits « normaux ». Malgré le taux de protéines élevé dû à l'accumulation de l'Ig monoclonale, les patients souffrent d'hypogammaglobulinémie avec une diminution des Ig polyclonales. L'hôte est plus sensible aux infections, et plus particulièrement aux infections bactériennes à germes encapsulés.

- Syndrome d'hyperviscosité

Lorsqu'elle est très forte, l'accumulation des protéines monoclonales peut provoquer des signes cliniques liés à l'hyperviscosité tels que des céphalées, des épistaxis ou encore des troubles de la vision. Au contraire de la maladie de Waldenström, ces symptômes restent rares dans le MM.

b) Exploration biologique

i. Hémogramme

L'hémogramme est bien souvent normal à l'exception de l'anémie, fréquente au diagnostic (75 % des patients). Elle est classiquement normochrome, normocytaire et arégénérative. Les causes de l'anémie sont multiples. D'une part, le phénomène est central avec une hypoplasie de la lignée érythroblastique due à une diminution de la synthèse d'érythropoïétine à cause de l'insuffisance rénale. De plus, le syndrome inflammatoire et l'hémodilution engendrée par l'Ig monoclonale participent à l'installation de l'anémie. Rarement elle peut être due à un envahissement médullaire lorsque le taux de plasmocytes excède les 60 %.

La leucopénie et la thrombopénie restent exceptionnelles. Les conséquences cliniques se manifestent par une sensibilité accrue aux infections et un sur-risque hémorragique.

ii. Vitesse de sédimentation

La vitesse de sédimentation (VS) est augmentée sans pour autant observer de syndrome inflammatoire associé. Le phénomène est purement mécanique : normalement, les globules rouges sont chargés négativement à leur surface ce qui leur permet de se repousser entre eux, l'Ig monoclonale en grande quantité neutralise ces charges et les hématies forment des rouleaux (bien visibles sur un frottis sanguin). Ces rouleaux entraînent une sédimentation plus rapide, donc par définition une augmentation de la VS.

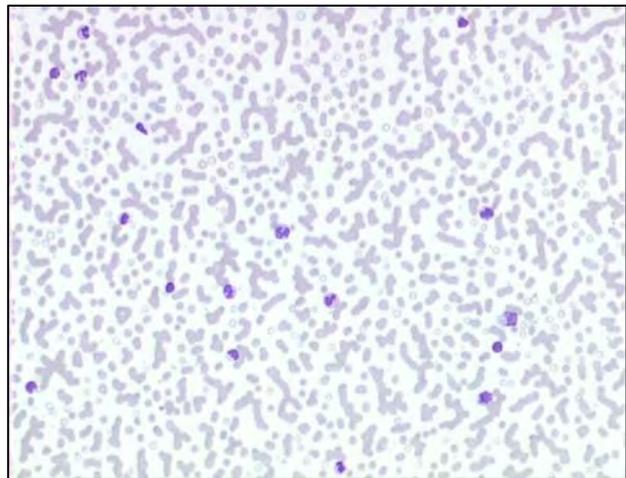


Figure 4 : Hématies en rouleaux.

iii. Bilan biochimique

- Hypercalcémie

Présente chez 13 % des patients au diagnostic[18], l'hypercalcémie peut avoir des conséquences cliniques gravissimes car l'homéostasie calcique est primordiale pour le bon fonctionnement de la plupart des cellules de l'organisme. L'hypercalcémie est due à l'augmentation du remodelage osseux et l'altération des fonctions rénales. Elle est responsable de troubles digestifs, de troubles cardiaques, de troubles neurologiques (confusion) et d'une déshydratation par syndrome polyuropolydipsique.

- Bilan rénal

Le dosage de la créatinine et la détermination de sa clairance permet d'évaluer les dommages rénaux de la maladie. Une altération de la fonction rénale avec une créatininémie supérieure à 173 μM classe directement la pathologie en MM d'après les critères CRAB.

- Hyperprotidémie et électrophorèse des protéines sériques (EPS)

L'accumulation de l'Ig monoclonale engendre logiquement une hyperprotidémie tandis que de façon contradictoire, il existe une hypogammaglobulinémie pour les Ig polyclonales. De même, le taux de protéines élevé peut masquer une hypoalbuminémie. Le taux d'albumine doit être systématiquement mesuré car il rentre dans l'évaluation du pronostic.

L'EPS permet de mettre en évidence le pic monoclonal d'Ig qui migre généralement entre les zones β et γ globulines. L'intégration du pic permet de le quantifier et de suivre sa diminution après initiation du traitement.

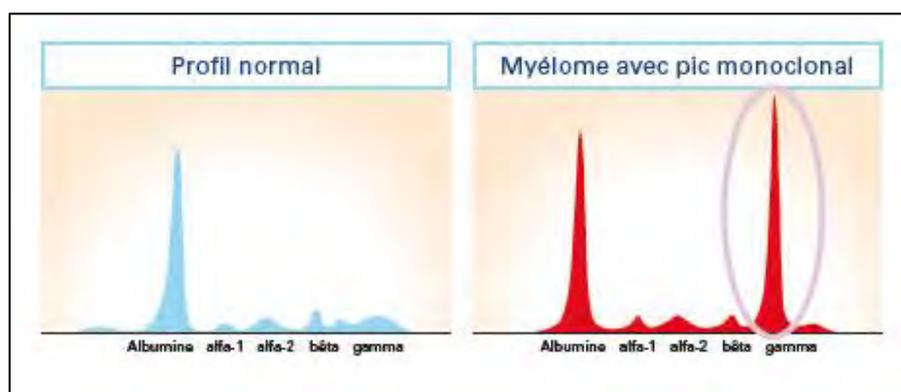


Figure 5 : Electrophorèse des protéines sériques : profil normal et profil avec pic monoclonal en zone gamma[19].

Il est à noter que ces analyses resteront strictement normales pour le MM non sécrétant ou oligo-sécrétant (5 % des MM).

- Immunofixation (IFX) du sérum

L'IFX permet de typer l'Ig monoclonale impliquée. Le dosage par immunonéphélométrie complète cette analyse. Dans plus de 50 % des MM, l'Ig monoclonale sécrétée est de type IgG, les IgA représentent 20 % des patients[18] et 20 % des MM sont à chaînes légères. La sécrétion d'IgD, IgE ou IgM est rare (1-2 %).

Cas particulier du MM à chaînes légères

L'EPS permet de mettre en évidence et de quantifier l'Ig monoclonale entière. Dans le cas du MM à chaînes légères, l'EPS montre une hypogammaglobulinémie polyclonale résiduelle et plus rarement un pic de chaînes légères. Cependant elle ne permet leur quantification. De même, l'IFX a un rôle uniquement qualitatif mais est essentielle pour mettre en évidence le caractère monoclonal des CLL.

- Dosage des chaînes légères libres

Le bilan doit être complété par le dosage des CLL par une méthode immunonéphélométrique (sFLC assay) qui identifie et dose les chaînes légères kappa κ et lambda λ libres. Normalement le rapport des CLL κ/λ est compris entre 0,26 et 1,65. Dans les gammopathies monoclonales, un seul clone est produit en grande quantité, le rapport est déséquilibré. Lorsqu'il dépasse le seuil de 100, le risque de développer un MM ou une amylose AL en 2 ans est supérieur à 70 %[20] ; ce critère a donc été intégré aux nouveaux critères du diagnostic du MM décrits dans la partie ii (SLiM CRAB : Soixante % au moins de plasmocytes, Light chains ou rapport $\kappa/\lambda > 100$, plus d'une lésion focale à l'IRM), détaillés page 34.

- Bilan urinaire

Au diagnostic, la protéinurie des 24 heures doit être réalisée suivie d'une électrophorèse des protéines urinaires (EPU) et immunofixation si une anomalie est identifiée.

- Autres anomalies biochimiques

Les LDH sont augmentées chez 20 % des patients au diagnostic. Cette élévation est le reflet du caractère « prolifératif » du MM et de la masse tumorale ; bien que non spécifique, le taux de LDH entre dans l'évaluation du score pronostique R-ISS (cf supra). De même, le dosage de la β 2-microglobuline est indispensable pour scorer la pathologie. Son augmentation, reflet de la masse tumorale, est de mauvais pronostic.

iv. Myélogramme

Le pourcentage de plasmocytes doit être évalué sur une ponction de moelle osseuse ou une biopsie. Si les deux ont été effectués, le pourcentage le plus élevé est retenu. La présence de plasmocytes dystrophiques doit faire évoquer une gammopathie même lorsque leur pourcentage est faible : multinucléarité, perte de l'archoplasme, noyau centré, cytoplasme flammé/spumeux.

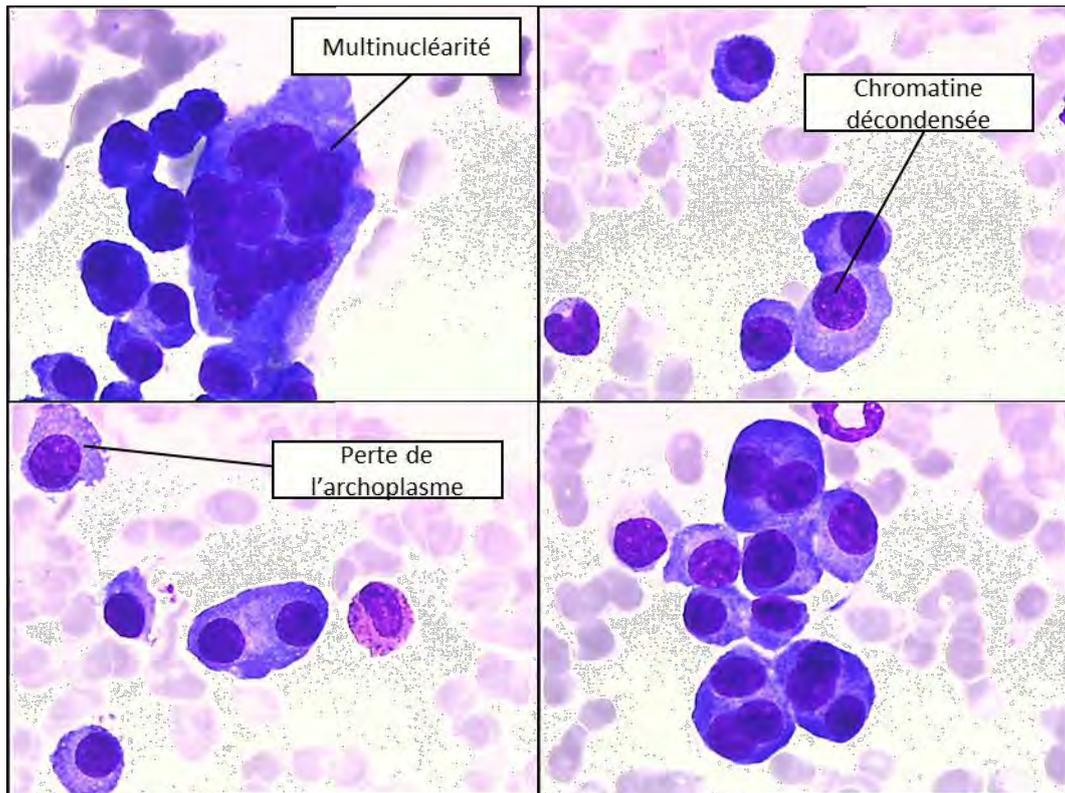


Figure 6 : Photos de plasmocytes dystrophiques dans la MO (x63).

c) Critères du diagnostic

i. Historique

Pendant de nombreuses années, le diagnostic du MM était principalement clinique et le traitement était uniquement initié lorsque la maladie avait déjà causé des lésions sur les organes cibles. La classification de Durie et Salmon a été développée il y a une quarantaine d'années afin d'évaluer et de classer les patients en fonction de la masse tumorale[21]. Cela permettait, avant l'introduction du score pronostique International Staging System (ISS), de décider si le patient devait ou non bénéficier d'un traitement. Les critères de classement étaient relativement similaires aux critères employés aujourd'hui pour diagnostiquer le MM (importance de l'anémie et de la calcémie, taux d'Ig monoclonale) (cf. Tableau 2 : Classification de Durie et Salmon (1975).).

Stades	Critères	Masse tumorale (cellules x 10 ¹² /m ²)
Stade I	Tous les critères suivants : 1) Hémoglobine > 10 g/dL 2) Calcémie ≤ 3 mM (≤ 11 mg/dL) 3) Absence de lésion osseuse ou un seul plasmocytome solitaire 4) Ig monoclonale sérique peu abondante - IgG < 5 g/dL - IgA < 3 g/dL - Protéinurie de Bence-Jones < 4 g/24h	Faible (< 0,6)
Stade II	Ni stade I ni stade III	Intermédiaire (0,6-1,2)
Stade III	Un ou plus des critères suivants : 1) Hémoglobine < 8,5 g/dL 2) Calcémie > 3 mM (> 12 mg/dL) 3) Lésions ostéolytiques diffuses et multiples 4) Ig monoclonale sérique abondante - IgG > 7 g/dL - IgA > 5 g/dL - Protéinurie de Bence-Jones > 12 g/24h	Elevée (> 1,2)
Sous-classification		
A	Fonction rénale normale (Créatinine sérique < 2 mg/dL)	
B	Fonction rénale altérée (Créatinine sérique ≥ 2 mg/dL)	

Tableau 2 : Classification de Durie et Salmon (1975).

Ces critères d'initiation de traitement étaient acceptables dans le passé lorsque l'arsenal thérapeutique était limité. Les définitions se sont affinées avec les progrès accomplis dans la connaissance de la physiopathologie et des facteurs pronostiques. De plus, le critère basé sur l'analyse radiographique était observateur-dépendant ce qui altérait l'objectivité du classement.

ii. Définition du diagnostic

Le MM est défini historiquement par la présence des critères CRAB :

- hyperCalcémie,
- insuffisance Rénale,
- Anémie,
- atteintes osseuses (Bone lesion).

Le MGUS et SMM sont définis par la présence d'une immunoglobuline monoclonale et la prolifération de plasmocytes dans la moelle osseuse mais sans expression clinique de cette prolifération (cf Tableau 3 : Critères diagnostiques des gammopathies monoclonales.).

Avec l'amélioration des connaissances de la maladie et de plus en plus de traitements disponibles, le diagnostic ne peut plus se limiter aux seuls critères cliniques CRAB, d'autant plus qu'il a

été prouvé que le pronostic pouvait être considérablement amélioré si la prise en charge était précoce. Récemment, trois biomarqueurs de malignité ont été introduits par l'International Myeloma Working Group (IMWG) pour le diagnostic du MM. Il a été démontré que les patients classés initialement en SMM et possédant au moins un des trois biomarqueurs avaient un pronostic défavorable et progressaient rapidement en myélome multiple[22]. Désormais, la présence d'au moins un de ces biomarqueurs classe directement la pathologie en MM quelques soient les taux d'immunoglobulines ou de plasmocytes intra-médullaires, même en l'absence de critères cliniques CRAB. Les critères de malignité sont :

- une plasmocytose médullaire supérieure ou égale à 60 %,
- et/ou un rapport de chaînes légères libres sériques sFLC (serum free light chain) supérieur ou égal à 100
- et/ou la détection à l'IRM (imagerie par résonance magnétique) de plus d'une lésion focale (cf Tableau 4 : Critères diagnostiques du Myélome Multiple.).

	MGUS	SMM	MM
Protéine monoclonale sérique ou urinaire	< 30 g/L ET	IgG ou IgA ≥ 30 g/L ou protéine monoclonale urinaire ≥ 500 mg/24h ET/OU	
Plasmocytes médullaires clonaux	< 10 % ET	≥ 10 % et < 60 % ET	≥ 10 % OU plasmocytome prouvé par la biopsie ET
Critères CRAB et/ou biomarqueurs de malignité	Absents	Absents	≥ 1 critère

Tableau 3 : Critères diagnostiques des gammopathies monoclonales.

(MGUS : monoclonal gammopathy of undetermined significance, SMM : smoldering Multiple myeloma, MM : myélome multiple, Ig : immunoglobuline). D'après l'ESMO [23].

Définition du myélome multiple		
Plasmocytes médullaires clonaux ≥ 10 % ET 1 ou plus des critères suivants		
Critères CRAB	HyperCalcémie	Calcium sérique > 2,5 mM (> 11 mg/dL) ou > 0,25 mM (> 1 mg/dL) au-dessus de la limite supérieure normale
	Insuffisance Rénale	Clairance de la créatinine < 40 mL/min ou créatinine sérique > 177 µM (> 2 mg/dL)
	Anémie	Hémoglobine < 10 g/dL ou > 2 g/dL sous la limite inférieure normale
	Lésions osseuses (Bone lesion)	Au moins une lésion ostéolytique à la radiographie du squelette, CT ou PET-CT
OU		
Biomarqueurs de malignité (SLiM)	Plasmocytes médullaires clonaux	≥ 60 %
	sFLC ratio	≥ 100 (avec une concentration de la chaîne libre concernée ≥ 100 mg/L)
	Lésions focales à l'IRM	> 1 (diamètre d'au moins 5 mm)

Tableau 4 : Critères diagnostiques du Myélome Multiple.

Enfin, une partie importante de l'étape diagnostique consiste à évaluer le pronostic, largement dépendant des anomalies cytogénétiques portées par les plasmocytes tumoraux. Nous entrerons plus en détail dans la Partie II : Le point sur les facteurs et scores pronostiques.

d) Diagnostics différentiels

i. Maladie de Waldenström

Au contraire du MM, la maladie de Waldenström (ou macroglobulinémie de Waldenström ou lymphome lymphoplasmocytaire) s'accompagne souvent d'un syndrome tumoral avec des adénopathies et une splénomégalie. A l'opposé, le patient ne présente pas de lésions osseuses. L'immunoglobuline monoclonale sécrétée est de type IgM. L'IgM étant une Ig de haut poids moléculaire pentamérique, le syndrome d'hyperviscosité est plus fréquent. Tout comme le MM, la maladie de Waldenström semble toujours être précédée d'un MGUS à IgM, asymptomatique[24].

La moelle osseuse est infiltrée par une population polymorphe de lymphocytes avec un mélange de lymphocytes, de lymphoplasmocytes et d'un petit contingent plasmocytaire.

Les examens complémentaires permettent de distinguer la maladie de Waldenström du MM à IgM. L'immunophénotypage permet d'exclure le MM car les cellules n'expriment pas le CD138 à l'opposé des plasmocytes du MM. De plus, les cellules lymphoplasmocytaires ne présentent jamais de translocation au niveau du locus 14q32.

ii. Plasmocytome solitaire

Le plasmocytome solitaire est caractérisé par une lésion isolée de l'os ou d'un tissu mou avec la mise en évidence de plasmocytes clonaux à la biopsie. Le diagnostic est surtout un diagnostic d'exclusion : absence de critères CRAB, absence d'infiltration plasmocytome médullaire, absence d'anomalie squelettique à l'exception de la tumeur primitive.

iii. Leucémie à plasmocytes

La leucémie à plasmocytes, comme son nom l'indique, se distingue du MM par une circulation sanguine de plasmocytes (> 2 G/L, ou > 20 % si leucocytes < 10 G/L). Elle peut être primitive (60 % des cas) ou secondaire à un MM. Cette pathologie a un pronostic sombre avec une médiane de survie au diagnostic de seulement 6 à 12 mois[8].

iv. Amylose AL systémique

L'amylose AL à chaîne légère d'Ig est due aux dépôts d'un fragment de chaîne légère d'Ig sécrété en excès sur différents organes tels que le rein, le cœur, etc. Elle peut évoluer en MM.

v. Syndrome POEMS

Ce syndrome, rare, est caractérisé par une multitude de symptômes (rarement tous présents simultanément) : neuropathie Périphérique, Organomégalie, Endocrinopathie, protéine Monoclonale, signes cutanés (Skin changes)[25]. Son étiologie est inconnue, mais elle serait due à la sécrétion inappropriée de cytokines dont le VEGF (vascular endothelial growth factor).

II. SUIVI BIOLOGIQUE ET CRITERES DE REPONSE AU TRAITEMENT

L'évaluation de la réponse au traitement est basée sur le suivi de la diminution de l'Ig monoclonale dans le sérum et les urines, ainsi que de l'évaluation de la moelle osseuse.

Après chaque cycle de traitement, une EPS, une EPU, une NFS (numération formule sanguine), la créatininémie et la calcémie doivent être prescrits. L'immunofixation et le sFLC assay ne sont indiqués que dans le cas où l'Ig monoclonale n'est pas mesurable par électrophorèse. En revanche, pour conclure à une réponse complète ou lorsqu'une progression est suspectée, l'immunofixation est obligatoire ainsi qu'un myélogramme.

Différents niveaux de réponse ont été définis par l'IMWG afin d'harmoniser les objectifs et les conclusions des essais cliniques. Ceux-ci sont résumés dans le Tableau 5 : Critères de réponse au traitement (d'après l'IMWG)[18].

Catégories	Définitions
Maladie progressive (MS)	Augmentation de 25 % de la valeur la plus basse mesurée de la protéine monoclonale sérique (valeur absolue doit être $\geq 0,5$ g/dL) et/ou urinaire (valeur absolue ≥ 200 mg/24h) ET/OU Développement de nouvelles lésions osseuses ou de plasmocytomes des tissus mous ou augmentation de taille des lésions osseuses ou plasmocytomes ET/OU Développement de l'hypercalcémie
Maladie stable	Aucun critère correspondant à MS, PR, VGPR, CR ou SCR
Réponse partielle (PR)	Diminution ≥ 50 % du pic + diminution de ≥ 90 % protéine monoclonale urinaire ou < 200 mg/24h
Très bonne réponse partielle (VGPR)	Ig monoclonale détectable par IFX mais pas en EPP ou diminution ≥ 90 % du pic
Réponse complète (CR)	EPS et IFX normales (sang et urines) ET myélogramme normal (plasmocytes < 5 %)
Réponse complète stringente (SCR)	RC + rapport κ/λ par SFLC assay normal + absence de plasmocytes clonaux (immunophénotypage 2-4 couleurs ou immunohistochimie)

Tableau 5 : Critères de réponse au traitement (d'après l'IMWG)[18].

Les différents statuts de maladie progressive sont définis dans le Tableau 6 : Statuts cliniques de progression [26].

Catégories	Définitions
MM en rechute	Nouvelle progression chez un patient qui était sans traitement depuis plus de 60 jours
MM réfractaire primaire	Patient n'ayant jamais obtenu de réponse, même minime, au cours d'un traitement
MM en rechute réfractaire	Patient ayant obtenu une réponse au moins minime et qui présente une progression secondaire sous traitement

Tableau 6 : Statuts cliniques de progression [26].

La maladie résiduelle minimale ou Minimal Residual Disease (MRD) est définie par la persistance dans le tissu examiné (en l'occurrence du sang ou de la moelle pour une hémopathie) de cellules malignes en dessous du seuil de détection par des techniques conventionnelles, au terme d'une séquence thérapeutique à visée éradicatrice. Elle permet d'évaluer l'efficacité du traitement, d'aider à la décision thérapeutique (interruption ou poursuite du traitement), et est un critère biologique intermédiaire plus précoce que la survie globale pour les essais cliniques. Dans les futurs essais, la MRD pourrait même devenir l'objectif principal car elle permet de conclure plus rapidement sur l'efficacité des nouveaux schémas thérapeutiques.

Dans le MM, la MRD est évaluée par méthodes immunophénotypique (en cytométrie en flux, CMF) et moléculaire (NGS). Au fur et à mesure que les techniques d'analyse se perfectionnent, le curseur de la MRD baisse avec des sensibilités de plus en plus fortes.

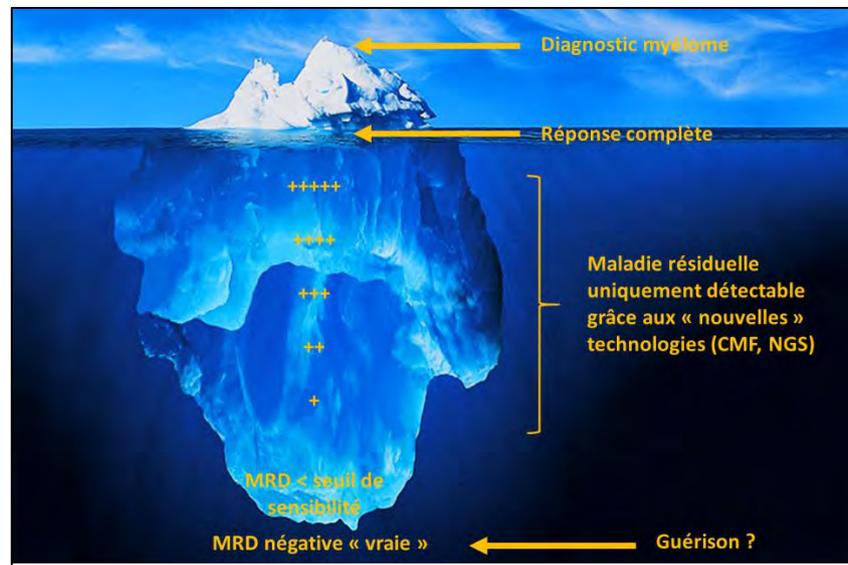


Figure 7 : Taux de réponses du myélome multiple aux traitements : représentation de l'iceberg.

Le séquençage de nouvelle génération (ou NGS) permet un séquençage massif de l'ADN en parallèle en utilisant de nombreux couples d'amorces. Cette technique à haut débit permet l'analyse en simultané d'un panel étendu de gènes en seulement quelques jours. Les plasmocytes tumoraux sont caractérisés par un réarrangement unique des gènes de l'immunoglobuline. Cette signature moléculaire permet de suivre l'évolution de la maladie. Le NGS est ultra-sensible, il permet une détection supérieure à 10^{-6} (une cellule tumorale détectée pour un million de cellules analysées). Cette analyse est possible uniquement si le NGS a au préalable été réalisé sur du matériel diagnostique indispensable à la calibration du patient, c'est-à-dire à l'identification du clonotype tumoral.

La CMF permet de caractériser le phénotype des plasmocytes, autrement dit de caractériser les protéines membranaires (exprimées à la surface de ces cellules) ou intracytoplasmique (chaîne κ ou λ intracytoplasmique) grâce à des anticorps fluorescents. En ce qui concerne les cellules hématopoïétiques, les protéines ciblées sont les clusters de différenciations (CD), qui permettent de distinguer les différentes lignées et le stade de maturation. Dans un premier temps, la population des plasmocytes est isolée des autres cellules grâce à l'expression spécifique des marqueurs CD38 et CD138 (double positivité CD38+CD138+). Les plasmocytes tumoraux sont ensuite différenciés des plasmocytes normaux grâce à l'étude de l'expression de marqueurs aberrants (par exemple le CD56 ou le CD117) ou au contraire de la perte d'expression d'antigène (comme le CD19). Le phénotype des plasmocytes tumoraux est variable d'un patient à l'autre mais stable au cours de l'évolution de la maladie. Les techniques de CMF diffèrent d'un laboratoire à l'autre, notamment les panels d'anticorps employés. Un suivi de MRD doit donc être réalisé sur le même site. La sensibilité de la CMF est supérieure à 10^{-5} . L'arrivée du NGF (cytométrie en flux de nouvelle génération) a permis d'améliorer

les performances en descendant la sensibilité au même niveau que le NGS, à condition d'analyser une très grande quantité de cellules, ce qui est difficile en routine.

Un des principaux écueils de ces analyses est l'hémodilution de la MO, celle-ci étant hypervascularisée dans le MM. De plus, il existe parfois une hétérogénéité spatiale du MM (localisations extra-médullaires, territoires osseux différemment envahis). Le risque est de conclure à tort à une rémission. Une MRD négative doit donc toujours être interprétée avec prudence et un examen complémentaire par imagerie (IRM, TEP-scan) est souhaitable en complément.

Les nouvelles catégories de réponse en fonction de la MRD sont récapitulées ci-après (Tableau 7 : Critères de réponse de MRD (d'après l'IMWG)[18].).

Catégories	Définitions
MRD négative en CMF	Absence du clone plasmocytaire dans la MO par NGF (par technique standardisée avec une sensibilité minimale de 10^{-5}).
MRD négative par séquençage	Absence du clone plasmocytaire, défini par au moins 2 lectures identiques de la séquence d'ADN dans la MO par NGS (par technique standardisée avec une sensibilité minimale de 10^{-6}).
Imagerie et MRD négatives	MRD négative (par NGS ou NGF) + disparition de toutes les zones qui accrochaient le traceur en TEP-scan
Maintien d'une MRD négative (sustained MRD)	MRD négative dans la MO (par NGS ou NGF ou les 2) et par imagerie, pendant au moins 1 an

Tableau 7 : Critères de réponse de MRD (d'après l'IMWG)[18].

III. TRAITEMENTS

1. Historique

La prise en charge des patients atteints de MM s'est considérablement améliorée ces 25 dernières années grâce aux progrès thérapeutiques. L'avancée majeure fut l'intensification thérapeutique (haute dose de Melphalan) avec support d'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (ACSH), développée dans les années 80. Il faudra attendre 10 ans pour montrer la supériorité du traitement intensif supporté par une ACSH chez les sujets de moins de 66 ans par rapport à une chimiothérapie conventionnelle, grâce à une étude multicentrique randomisée conduite par l'Intergroupe Francophone du Myélome (IFM)[27]. De fortes doses de chimiothérapies combinées à une ACSH améliorent le taux de réponse (81 % contre 57 % dans le schéma classique), la survie sans progression (PFS pour progression-free survival) à 5 ans (28 % pour les hautes doses contre 10 % pour les doses conventionnelles) et l'OS à 5 ans (52 % contre 12 %). Depuis, de nouvelles classes thérapeutiques ont été introduites, notamment les inhibiteurs du protéasome ou encore les immunomodulateurs de types « IMiDS » (1^{ère}, 2^{ème} et actuellement de 3^{ème} génération), élargissant l'arsenal thérapeutique.

2. Arsenal thérapeutique de première intention

a) *Les agents alkylants*

Le melphalan est une vieille molécule qui a fait ses preuves dans le MM. Elle reste utilisée de façon majeure pour les patients éligibles à l'intensification thérapeutique. Il est de moins en moins utilisé pour les patients non éligibles à l'ACSH depuis les derniers essais qui montrent la supériorité de l'association lénalidomide-dexaméthasone sur la PFS et l'OS[28] comparée à l'association melphalan-prednisone-thalidomide. C'est un cytotoxique du groupe des moutardes azotées qui agit en bloquant la séparation et la réplication de l'ADN.

Le cyclophosphamide peut parfois être employé dans les traitements d'induction et de consolidation.

b) *Les corticoïdes*

Les deux principales molécules utilisées sont la prednisone et la dexaméthasone. Les corticoïdes ont une cytotoxicité directe sur la lignée lymphoïde. De plus, ils possèdent une synergie d'action avec les IMiDS encore mal expliquée à ce jour et un effet positif anti-nauséeux non négligeable.

c) *Les inhibiteurs du protéasome (IP)*

Le protéasome est un complexe enzymatique dont le rôle est de dégrader les protéines dénaturées, mal conformées ou obsolètes. Il permet la régulation de l'expression des protéines du cycle cellulaire et de l'apoptose. Dans le MM et d'autres pathologies malignes, le protéasome est hyperactif et dégrade en excès les protéines nécessaires à l'apoptose. Cela contribue au processus d'oncogenèse via l'immortalisation des cellules cancéreuses[29].

Le bortézomib (Velcade®) est le premier inhibiteur du protéasome à avoir été commercialisé. *In vitro*, il induit l'apoptose des cellules tumorales. *In vivo*, il augmente la sensibilité des plasmocytes clonaux aux cytotoxiques grâce à son action pro-apoptotique. Le bortézomib bloque également l'activation du facteur NFκB ce qui conduit à une diminution de la production de facteurs anti-apoptotiques et pro-inflammatoires, une diminution de l'interaction entre les plasmocytes tumoraux et le microenvironnement et une diminution de la production des cytokines.

Le carfilzomib est une molécule de nouvelle génération très prometteuse, qui agit uniquement en inhibant le protéasome. Celui-ci présente moins de neurotoxicité que le bortézomib. L'ixazomib est également un inhibiteur hautement sélectif du protéasome, et qui présente l'avantage de s'administrer par voie orale.

d) Les « IMiDS »

Le thalidomide, le lénalidomide (Revlimid®) et le pomalidomide sont des principes actifs anti-angiogéniques et immunomodulateurs[30]. Leur action anti-tumorale est due à plusieurs mécanismes :

- effet pro-apoptotique (principalement)
- inhibition de l'angiogenèse (surtout pour le thalidomide)
- effet immunomodulateur : augmentation de la réponse immune contre les cellules tumorales via une augmentation de la prolifération et de l'activation des LT et lymphocytes NK
- diminution de l'adhésion des cellules myélomateuses aux cellules stromales du microenvironnement
- inhibition de la sécrétion des facteurs de croissance des cellules tumorales.

3. Thérapies ciblées

L'introduction des IP (1^{ère} et 2^{ème} génération) et des IMiDS a considérablement augmenté la survie globale (de 3 à 8-10 ans). Le développement des thérapies ciblées entame une nouvelle ère dans le traitement du MM. Ces traitements ciblent directement les cellules plasmocytaires, leurs voies de signalisation ou des molécules du microenvironnement participant à leur développement ou à leur survie.

a) Immunothérapie

Le **daratumumab** est un anticorps monoclonal dirigé contre la protéine de surface CD38, exprimée essentiellement sur les plasmocytes. Le CD38 intervient dans les interactions avec les lymphocytes B et T, participe à l'adhésion cellulaire et s'intègre dans des voies de signalisation régulant l'apoptose, la survie et la prolifération des plasmocytes. La fixation de l'anticorps sur le CD38 conduit à la destruction des plasmocytes à travers de multiples processus : induction directe de l'apoptose, activation du système immunitaire (cytotoxicité dépendante du complément, cytotoxicité dépendante de l'anticorps, phagocytose). Le daratumumab entre désormais dans de nombreuses associations dans le traitement de la rechute. De multiples essais cliniques actuellement en phase III évaluent l'efficacité du daratumumab associé aux triplets VTD, VCD ou VRd versus ces triplets seuls[31]. L'isatuximab est un anticorps de la même classe, disponible seulement en autorisation temporaire d'utilisation (ATU) nominative pour le moment. Ces anti-CD38 ont montré une bonne efficacité en monothérapie avec un taux de réponse avoisinant les 30 % chez les patients en rechute et réfractaires. Le daratumumab a déjà l'autorisation de mise sur le marché (AMM) en association avec un IP ou IMiD et la dexaméthasone en première intention pour les patients non éligibles à l'ACSH ou pour le traitement des MM traités antérieurement par une association « classique ». De plus, le daratumumab possède une AMM pour une utilisation en monothérapie pour les patients atteints d'un MM en rechute et réfractaire, dont la maladie a progressé sous traitement incluant un IP et un IMiD.

Connaissant le rôle de l'IL-6 pour la différenciation des plasmocytes et l'influence néfaste de son hyperexpression, l'antagonisation de cette interleukine pourrait être une approche dans le traitement du MM. Malheureusement, les études concernant le **siltuximab, un anti-IL-6**, n'obtiennent pour l'instant que des effets modestes[32], [33] : dans une étude de phase II comparant bortézomib versus bortézomib associé au siltuximab chez des patients en rechute et réfractaires, la PFS et l'OS (overall survival ou survie globale) n'étaient pas significativement augmentées (PFS : bortézomib 7,6 mois vs. bortézomib + siltuximab 8 mois, p-value ou $P = 0,345$; OS : bortézomib 36,8 mois vs. bortézomib + siltuximab 30,8 mois, $P = 0,103$).

D'autres molécules appartenant à la classe de l'immunothérapie peuvent être citées : l'élotuzumab, un anticorps dirigé contre SLAMF7 (signaling lymphocyte activation molecule family member 7) qui stimule l'activité anti-myélomateuse des cellules NK (natural killer)[34] indiqué en combinaison avec le Rd pour les patients qui ont reçu au moins une ligne de traitement antérieur mais ce médicament n'a pas été développé en France.

Le pembrolizumab (un anti-PD1) qui a fait ses preuves dans des cancers non hématologiques (mélanome, cancer bronchique non à petites cellules) ou hématologiques (lymphome de Hodgkin) n'a pas témoigné d'une balance bénéfico-risque acceptable dans le MM et tous les essais ont été interrompus du fait d'une trop grande toxicité.

Le développement des **CAR-T cells** (chimeric antigen receptor) constitue un espoir immense pour le traitement du MM qui reste encore une maladie incurable. Les premiers essais montrent de bons résultats avec une mise en rémission complète des patients réfractaires à toutes les thérapies disponibles actuellement. Les lymphocytes T (LT) du patient (autologues) sont reprogrammés *in vitro* par transduction grâce à un lentivirus d'un récepteur chimérique (CAR) qui va spécifiquement cibler les cellules tumorales. Ce système perfectionné permet d'utiliser la propriété de reconnaissance d'un anticorps avec les fonctions performantes de cytotoxicité et de mémoire des LT du patient. A l'heure actuelle, des CAR-T cells dirigées contre le BCMA (B cell maturation antigen) sont à l'étude dans le MM[35], [36]. De nombreuses recherches sont en cours pour permettre un effet persistant des CAR-T cells. Malgré des résultats prometteurs, la mise en place de cette technique reste compliquée d'une part à cause de la préparation des cellules qui se fait au cas par cas, et d'autre part à cause des effets indésirables sévères que peuvent engendrer les CAR-T cells, avec un syndrome de relargage cytokinique et des neuropathies, difficiles à maîtriser une fois que les LT sont réinjectés.

Enfin d'autres thérapeutiques innovantes sont en cours d'évaluation telles que des anticorps bispécifiques (ciblant par exemple CD3 et CD38, dans le but de rapprocher les lymphocytes T des plasmocytes afin d'activer leur action cytotoxique)[36].

b) Autres thérapies ciblées

Le **panobinostat**, un inhibiteur des histones désacétylases (HDAC), a obtenu l'AMM, en combinaison avec le bortézomib et la dexaméthasone, pour les patients atteints de MM en rechute et/ou réfractaire ayant déjà reçu au moins deux lignes de traitements antérieurs incluant du bortézomib et un IMiD[37]. En réalité, ces désacétylases n'agissent pas uniquement sur les histones mais sur environ 1750 protéines impliquées notamment dans la réplication et la réparation de l'ADN, la transcription de gènes, la progression dans le cycle cellulaire, la dégradation des protéines, etc. Ces

désacétylases sont surexprimées dans le MM et cette surexpression est associée à un moins bon pronostic. Le panobinostat altère l'expression des gènes via des mécanismes épigénétiques et agit en synergie avec les IP en inhibant la dégradation des protéines, ce qui conduit à la mort cellulaire.

D'autres stratégies sont employées comme les inhibiteurs spécifiques de protéines anti-apoptotiques. C'est le cas du **vénétoclax**, un inhibiteur de Bcl-2, une protéine anti-apoptotique souvent surexprimée dans le cancer. Ce traitement semble être plus efficace chez les patients porteurs de la t(11;14), bien que le rapport entre l'hyperexpression de la cycline D1 et l'inhibition de Bcl-2 reste inconnu[38].

Le sélinexor est un inhibiteur sélectif de l'exportine 1 (XPO1) indiqué en ATU nominative en association avec la dexaméthasone dans les MM en rechute ou réfractaire après 4 lignes de traitement. Le blocage de l'export nucléaire induit une accumulation et une activation nucléaires de protéines suppresseurs de tumeurs, inhibe le facteur nucléaire κ B et réduit la traduction de l'ARN messager des oncoprotéines[39].

4. Stratégies thérapeutiques

Tous les patients dont le diagnostic de MM a été posé selon les nouvelles recommandations de l'IMWG doivent bénéficier d'un traitement[40]. En première intention, deux grandes stratégies s'appliquent selon que le patient soit éligible ou non à l'intensification thérapeutique. De façon simpliste, les sujets jeunes, c'est-à-dire arbitrairement de moins de 66 ans, sont éligibles car susceptibles de mieux supporter l'intensification thérapeutique (« fit patients »). A l'opposé, les patients de plus de 66 ans sont inéligibles car ils sont considérés trop fragiles pour supporter la profonde aplasie provoquée par la chimiothérapie haute dose. En pratique, cette barre théorique de 66 ans peut être modulée au cas par cas, en fonction du performans status et des co-morbidités.

a) 1^{ère} intention

Associations	Molécules
VMP	Bortézomib / Melphalan / Prednisone
MPT	Melphalan / Prednisone / Thalidomide
VCD	Bortézomib / Cyclophosphamide / Dexaméthasone
VTD	Bortézomib / Thalidomide / Dexaméthasone
VRd	Bortézomib / Lénalidomide / dexaméthasone dose faible
Rd	Lénalidomide / dexaméthasone dose faible

Tableau 8 : Principales associations thérapeutiques de première intention et leurs abréviations.

i. Sujet jeune

En traitement d'induction, une association triple d'IP, d'IMiDS et de corticoïdes est recommandée. Deux triplets sont actuellement recommandés : le VTD et le VRD d'après les guidelines américaines (National Comprehensive Cancer Network NCCN) et européennes (European Society for Medical Oncology ESMO)[41]. Ce traitement vise à réduire au maximum la masse tumorale.

4 à 6 cycles d'induction sont nécessaires avant de procéder au recueil des cellules souches hématopoïétiques (CSH), chaque cycle durant de 3 à 6 semaines. Les CSH sont recueillies au niveau du sang périphérique. A l'issue de ce recueil, un traitement par forte dose de melphalan est initié suivi de la greffe autologue des cellules souches hématopoïétiques.

Après la greffe, le traitement de consolidation, alliant les mêmes molécules que le traitement d'induction, permet d'améliorer la profondeur de la réponse.

L'objectif du traitement d'entretien est de maintenir la réponse obtenue et de retarder la rechute. Le melphalan était historiquement la molécule utilisée en traitement d'entretien. De nombreuses études ont fait état d'une bonne efficacité du lénalidomide et d'une toxicité modérée (toxicité hématologie, neuropathies, complications thrombo-emboliques). L'IFM recommande actuellement un traitement d'entretien par lénalidomide de 2 ans (schéma 10 mg/j 21/28) sous couvert d'une thromboprophylaxie afin de limiter les effets indésirables thrombo-emboliques[41]. Cette limite de 2 ans a été conseillée d'un part pour limiter le risque de cancers secondaires liés au traitement et également pour éviter des rechutes sous lénalidomide qui nous imposeraient de changer le traitement.

ii. Sujet âgé

Pour les sujets non éligibles à l'autogreffe, les associations recommandées en première intention sont les associations VMP, Rd (étude FIRST)[28] ou VRd[40]. L'association MPT est possible mais en seconde intention car elle a montré de moins bons résultats quant à la PFS et l'OS. L'association VCD est également recommandée en deuxième intention car elle n'est pour l'instant pas approuvée par l'EMA (European Medicines Agency). Les traitements durent en général 12 à 18 mois [42]. L'adjonction d'un anti-CD38 au VMP ou au Rd (études ALCYONE et MAIA) a démontré son bénéfice en améliorant la PFS[43].

b) Rechute

Malgré les progrès majeurs réalisés dans le traitement du MM, les patients finissent toujours par rechuter plus ou moins tardivement. Le traitement de la rechute est choisi en fonction de nombreux paramètres : l'âge, les comorbidités, les traitements antérieurs, la durée de rémission, les facteurs pronostiques (notamment les mutations de haut risque cytogénétique), selon que la rechute est biologique ou clinique. Historiquement, le bortézomib ou le lénalidomide étaient employés en monothérapie ou en combinaison avec d'autres molécules. Pour les patients ayant bénéficié d'une

autogreffe et qui rechutent après plus de 18 mois de rémission, une seconde intensification thérapeutique avec autogreffe peut être considérée[44].

Généralement, les études d'efficacité des nouvelles thérapies sont menées d'abord pour des MM en rechute, souvent en association avec des molécules déjà sur le marché. Ceci explique qu'actuellement, de nombreuses associations sont disponibles sur le marché dans le MM en rechute, récapitulées dans le Tableau 9 : Principales associations thérapeutiques de seconde intention et leurs abréviations. Les combinaisons les plus efficaces associent un IMiDs avec un IP ou un anticorps monoclonal.

Associations	Molécules
KRd	Carfilzomib / Lénalidomide / dexaméthasone
Kd	Carfilzomib / dexaméthasone
ERd	Elotuzumab / Lénalidomide / dexaméthasone
IRd	Ixazomib / Lénalidomide / dexaméthasone
Pan-Vd	Panobinostat / bortézomib / dexaméthasone
Pom-dex	Pomalidomide / dexaméthasone
Dara-m	Monothérapie Daratumumab
DRd	Daratumumab / Lénalidomide / dexaméthasone
DVd	Daratumumab / bortézomib / dexaméthasone

Tableau 9 : Principales associations thérapeutiques de seconde intention et leurs abréviations.

Partie II : Le point sur les facteurs et scores pronostiques

I. FACTEURS PRONOSTIQUES

De nombreux paramètres influencent le devenir du patient lorsque le MM est diagnostiqué. Ces paramètres peuvent être propres à la tumeur (anomalies cytogénétiques, masse tumorale) ou au patient (âge, comorbidités, etc.).

1. Paramètres intrinsèques au patient

L'âge est un important facteur pronostique et est déterminant dans le choix du traitement. Le MM affecte principalement les personnes âgées. Or les patients sont inégaux en matière de vieillissement. On distingue les patients « fit » (vieillesse réussie) des patients fragiles. La fragilité est due au déclin des fonctions physiologiques (insuffisance rénale entre autres co-morbidités) qui diminue la résistance des patients aux stress, tels que le cancer ou ses traitements[45].

Dans le MM, le schéma thérapeutique proposé au patient est étroitement lié à la condition physique du patient, autrement dit à son âge et à ses comorbidités. L'intensification thérapeutique, proposée aux patients jeunes, reste le traitement qui donne les meilleurs résultats.

2. Marqueurs biochimiques

a) β 2-microglobuline sérique

La β 2-microglobuline sérique (S β 2M) est une protéine impliquée dans les défenses immunitaires et la prévention de l'apparition de cellules cancéreuses. Son taux est augmenté en cas d'infection, de maladie rhumatismale, de mort cellulaire et de lésions rénales[46]. Dans le MM, le taux de S β 2M est influencé à la fois par la masse tumorale et par la fonction rénale. Ceci implique que chez les patients atteints d'insuffisance rénale, un taux élevé de S β 2M n'est plus informatif sur la masse tumorale. La S β 2M est un facteur très discriminant dans l'évaluation du pronostic des patients[47]. Les patients avec un taux élevé au diagnostic ont une OS bien inférieure aux patients avec des taux plus faibles.

b) Albuminémie

L'albumine est un facteur pronostique puissant dans le MM, d'autant plus lorsqu'elle est associée à la S β 2M. La cause spécifique de la diminution du taux d'albumine dans la physiopathologie reste encore peu connue. Un taux bas d'albumine est corrélé avec une augmentation de la concentration sérique en IL-6, une cytokine qui contribue à l'accumulation des plasmocytes et à l'expansion de la maladie[48]. L'IL-6 est une cytokine pro-inflammatoire qui pourrait avoir un effet au niveau hépatique en inhibant la synthèse d'albumine. De plus, une hypoalbuminémie se rencontre

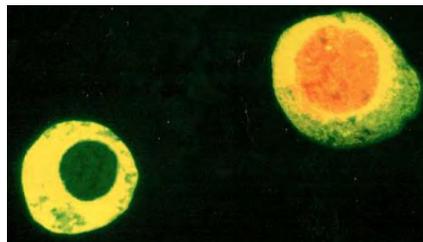
dans l'insuffisance hépatique, la dénutrition et plus rarement l'insuffisance rénale. C'est un reflet de l'état général du patient. Or nous savons que les patients fragiles seront moins prompts à tolérer les effets toxiques du traitement.

c) Taux de LDH

La LDH est une enzyme ubiquitaire qui est relarguée lors de la lyse cellulaire. C'est un marqueur de lésion tissulaire. De multiples situations pathologiques sont responsables d'une élévation du taux de LDH : souffrance hépatique ou cardiaque, anémies hémolytiques, leucémies, lymphomes, cancers solides. Les études ont montré que dans le MM, un taux élevé de LDH était associé à un moins bon pronostic[49], [50]. Ce taux est corrélé avec l'activité de la maladie c'est-à-dire l'agressivité de la tumeur, l'index de prolifération plasmocytaire et la maladie extra-médullaire (notamment l'infiltration ou le dépôt d'immunoglobulines au niveau hépatique). Récemment, il a été intégré dans la version révisée du score ISS malgré son manque de spécificité. D'après l'étude de Palumbo et al.[51], un taux élevé de LDH prédit une OS et une PFS diminuées (Hazard Ratio respectivement de 2,55 et 1,34).

3. Index de prolifération plasmocytaire

L'index de prolifération plasmocytaire (ou PLCI pour Plasma Cell Labeling Index) est un facteur pronostique important dans le MM même si rigoureusement, le terme d'accumulation devrait être préféré au terme prolifération car les plasmocytes sont des cellules peu proliférantes contrairement à d'autres cellules tumorales. Le PCLI est un index calculé à partir du pourcentage de plasmocytes en phase S du cycle cellulaire. Il est basé sur la détection des cellules entrant en mitose autrement dit en division. Les plasmocytes sont distingués des autres cellules par le marquage de leurs immunoglobulines intra-cytoplasmiques. Les cellules en division sont marquées par la 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) qui s'incorpore dans l'ADN[52]. La lecture est réalisée par immunofluorescence grâce l'utilisation d'anticorps dirigés contre le marqueur.



*Figure 8 : Exemple d'image de plasmocytes par immunofluorescence pour la mesure du PLCI.
La fluorescence jaune correspond au marquage des immunoglobulines et les noyaux en phase S sont marqués par la bromodeoxyuridine (fluorescence rouge orangé). A gauche de l'image, plasmocyte normal. A droite, plasmocyte en division.
D'après Greipp et Kumar [52].*

Les patients avec un index élevé au diagnostic ont une survie globale plus courte que les patients avec un index faible.

Cet index est utilisé par la Mayo Clinic dans leur classification (cf II.3 Classification mSMART page 57).

Cette technique ne différencie pas les plasmocytes « normaux » en division des plasmocytes clonaux du MM. De nouvelles techniques associant la cytométrie en flux multiparamétrique et l'incorporation de BrdU permettent de déterminer l'index de prolifération des plasmocytes malins[53]. La CMF sépare les plasmocytes malins des plasmocytes normaux à partir des signaux des marqueurs CD19, CD27, CD56, CD117 et CD200. Toutes les cellules sont préalablement incubées avec de la BrdU puis avec des anticorps anti-BrdU. Il est également possible de marquer les cellules en division grâce à un anticorps anti-Ki67, une protéine présente seulement en cycle cellulaire actif. Les fenêtrages successifs sélectionnent dans un premier temps les plasmocytes malins. Dans un second temps, les plasmocytes malins en division sont identifiés grâce à l'expression de BrdU ou de Ki67. Cette technique plus spécifique pourrait avoir un intérêt dans les études cliniques pour analyser l'impact des nouveaux traitements sur la fraction « proliférative » dans le MM.

Une étude récente a évalué l'intérêt pronostique de la quantification des plasmocytes clonaux par CMF[54]. Selon leurs travaux, la quantification des plasmocytes clonaux pourrait améliorer la classification R-ISS des sous-groupes de patients en stade I ou II.

4. Anomalies cytogénétiques et moléculaires

Les anomalies cytogénétiques sont nombreuses dans le MM. Certaines sont assez récurrentes, d'autres plus rares, et on les retrouve souvent associées entre elles. Leur impact sur le pronostic est variable, elles peuvent causer un pronostic défavorable, être neutres ou au contraire conférer (beaucoup plus rarement) un meilleur pronostic.

a) Dérégulation de TP53

La dérégulation de *TP53*, un gène suppresseur de tumeur, est impliquée dans la pathogenèse de nombreux cancers. Dans le myélome multiple, il existe trois grandes atteintes : la délétion du bras court du chromosome 17 (*del(17p)*), une mutation du gène *TP53* ou une inactivation biallélique[55].

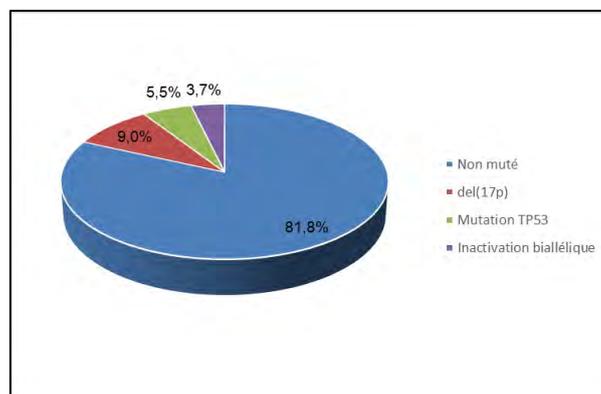


Figure 9 : Répartition des mutations de TP53 dans le MM. Chiffres repris de l'article de Walker et al., *Leukemia* 2019[56].

La del(17p) est l'anomalie la plus connue dans le MM et concerne 8 % des patients nouvellement diagnostiqués. Elle provoque la perte d'expression de *TP53* ; toutes les cellules clonales ne portent pas la délétion. La del(17p) entre dans le calcul du score pronostique R-ISS. C'est l'anomalie cytogénétique considérée comme la plus défavorable dans le MM[6].

Dans les études, l'un des facteurs de variabilité du poids pronostique de cette délétion est le seuil de plasmocytes concernés par l'anomalie (CCF ou cancer clonal fraction). Ce seuil est déterminé par FISH, une technique cytogénétique qui utilise des sondes à ADN marquées par un marqueur fluorescent pour mettre en évidence de grosses altérations chromosomiques, telles que des délétions ou des translocations. Beaucoup d'études ont utilisées le seuil de 20 % pour relever un impact significatif sur les résultats cliniques. D'autres études ont fixé arbitrairement un seuil qui peut varier de 1 à 60 % ! Cependant, une méta-analyse européenne récente a confirmé une étude de l'IFM qui date de plus de 10 ans[57], en montrant que le seuil de cellules mutées détectées par FISH devait être strictement supérieur à 55 % pour pouvoir classer les patients en haut risque cytogénétique[55], [58]. En effet, l'étude de Thakurta et al. a montré que la PFS et l'OS était significativement supérieure chez les patients qui ont une CCF inférieure ou égale à 55 % (voir Figure 10).

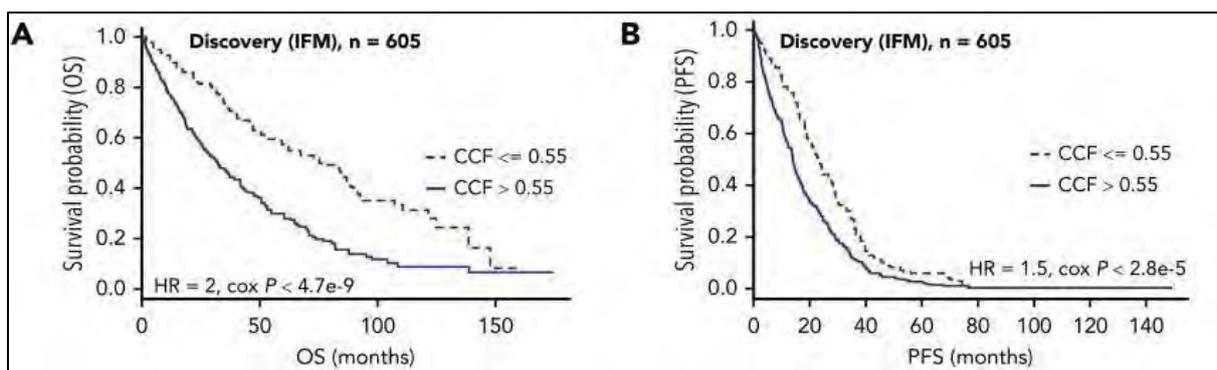


Figure 10 : Courbes de Kaplan-Meier représentant la survie globale (OS ou overall survival) (figure A) et la PFS (figure B) pour les patients de la cohorte Discovery de l'IFM stratifiés en fonction du seuil de CCF à 0,55. D'après Thakurta et al.[58].

Près de 6 % des patients ont des mutations touchant un seul allèle du gène de *TP53* (mutations monoalléliques). Comme les translocations du locus q32 du chromosome 14, la mutation de *TP53* est un évènement considéré comme driver dans l'oncogenèse du MM. Les mutations sont diverses et sont distribuées sur le gène entier. Fréquemment, il s'agit de mutations faux-sens (modification d'un acide aminé) touchant le domaine de liaison de la protéine à l'ADN. Cela se traduit par une protéine *TP53* dont la fonction est altérée. L'inactivation complète de la protéine, due à des mutations non-sens (aboutissant à une protéine tronquée) ou frameshift (décalage du cadre de lecture), est plus rare. Leur impact pronostique spécifique est peu connu, ces mutations étant diverses et très peu récurrentes d'un patient à l'autre.

Enfin, le gène peut être entièrement inactivé. Cette anomalie est le résultat d'une délétion 17p combinée à une mutation sur le second allèle (mutation double-hit). Cette inactivation biallélique de *TP53* est associée à un très mauvais pronostic[56].

Les études qui ont tenté de déterminer les différences de survie selon que le patient ait une del(17p), une mutation ou les deux ont donné des résultats contradictoires. Ceci s'explique par un manque d'harmonisation dans les définitions des études comme par exemple le seuil de CCF ou l'absence de distinction dans quelques cohortes entre les patients ayant une délétion ou une mutation du gène de *TP53*.

Cependant, l'étude présentée par Thakurta et al. ne montre aucune différence significative entre les patients porteurs d'une mutation *TP53* et ceux sans mutation *TP53* comme le montre la Figure 11 : Courbes de Kaplan-Meier représentant la survie globale (OS) en fonction du temps (mois)[55]., tandis qu'elle confirme le mauvais pronostic des del(17p) ou des inactivations bialléliques[58]. Ces études doivent être confirmées sur de plus grandes cohortes.

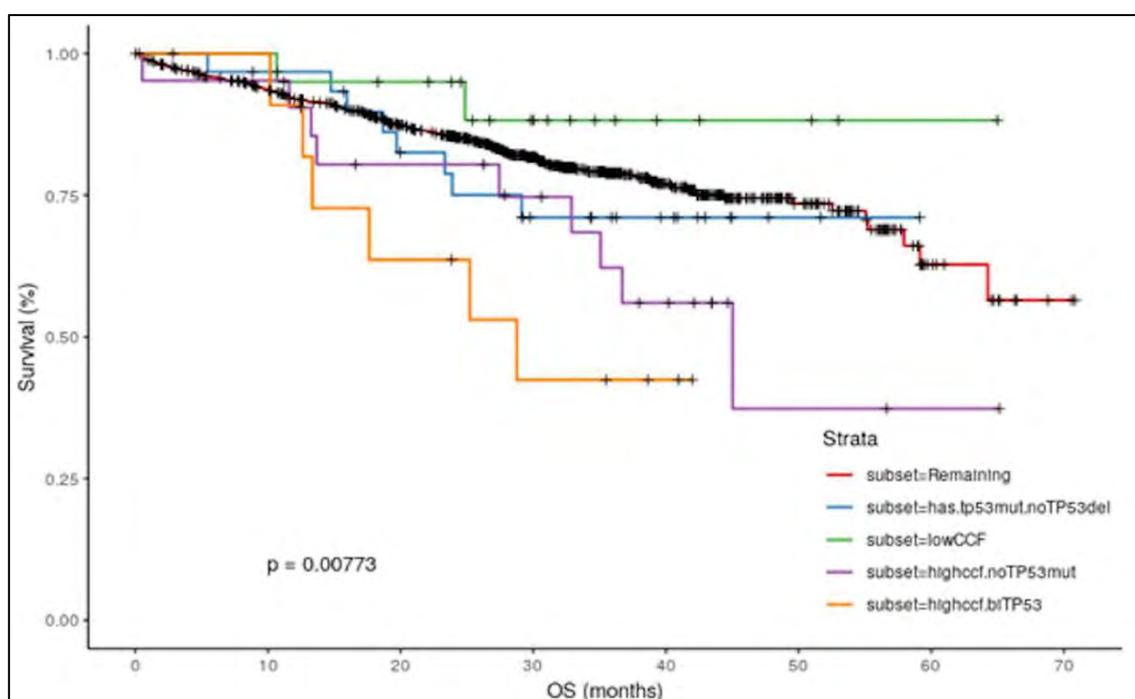


Figure 11 : Courbes de Kaplan-Meier représentant la survie globale (OS) en fonction du temps (mois)[55].
En bleu : mutation monoallélique *TP53* ; en vert : del(17p) avec une CCF < 0,55 ; en violet : del(17p) > 0,55 ; en orange : inactivation biallélique (del(17p) + mutation *TP3*) ; en rouge : patients n'entrant pas dans les catégories précédentes
D'après Flynt et al.[55].

La cible moléculaire qui confère à la del(17p) son mauvais pronostic pourrait être *TP53* même s'il manque encore la preuve biologique pour confirmer cette hypothèse. Les cassures du bras court du chromosome 17 ne sont pas uniques ; la délétion del(17p) emporte tout ou une grande partie du bras du chromosome. Cette région comprend plus de 300 gènes codant pour des protéines dont certaines sont des suppresseurs de tumeurs. D'autres gènes peuvent être emportés par la délétion. Dans la plupart des cancers solides, la mutation de *TP53* conduit à l'inactivation totale de la fonction de la protéine. Dans le MM, l'allèle restant chez les patients atteints de del(17p) n'est muté que dans 30 à 40 % des cas. Il subsiste donc une activité de la protéine *TP53* chez 60-70 % des patients. De plus, dans le MM comme dans d'autres hémopathies malignes (leucémie aiguë myéloïde), la del(17p) combinée à une mutation *TP53* sur l'autre allèle est associée à un pronostic plus sombre que les

pathologies arborant des mutations de *TP53*. Ceci suggère qu'il existe d'autres gènes à proximité de *TP53* dont la délétion a une conséquence sur le pronostic des patients[59]. Une étude de Liu et al. a identifié des gènes candidats tels que *Eif5a* et *Alox15b*[60]. L'inhibition de leur expression par des ARN interférents induit chez les souris un processus de lymphomagenèse.

b) Translocations du locus 14q32 (gène des chaînes lourdes des immunoglobulines)

Les anomalies impliquant la région 14q32 codant pour le gène des chaînes lourdes des immunoglobulines (IGH) sont les plus fréquentes.

i. t(11;14)

La translocation (11;14) est la plus fréquente des anomalies portant sur le chromosome 14 (20% des patients au diagnostic). Elle provoque une hyperexpression de cycline D1. Elle ne possède pas de valeur pronostique particulière mais elle présente un intérêt pour le choix de traitement de seconde ligne. En effet, la majorité des patients présentant cette anomalie ont une sensibilité accrue au vénétoclax, un inhibiteur spécifique de Bcl-2[38].

ii. t(4;14)

La t(4;14), spécifique du MM, résulte en la formation d'un transcrite de fusion IGH-MMSET et une hyperexpression de FGFR3. Il semble que ce soit MMSET qui ait le plus fort impact pronostique dans cette translocation, car les patients ayant une perte associée de l'expression de FGFR3 (un tiers des patients) ont des résultats cliniques équivalents. Le transcrite IGH-MMSET conduit à des reprogrammations épigénétiques qui diminuent l'expression des gènes (impliqués entre autres dans la mort cellulaire, l'adhésion cellulaire). La t(4;14) induisant une instabilité génétique, d'autres altérations moléculaires lui sont souvent associées : gain(1q), del(12p), del(13q), del(22q), etc. L'impact pronostique de la t(4;14) est très hétérogène, il serait neutre ou défavorable en fonction des mutations associées (notamment la cooccurrence avec la del(17p)). Cette notion de cooccurrence a été prise en compte dans la construction du score pronostique LP décrit dans la partie II Scores pronostiques.

L'hétérogénéité pronostique des porteurs de la t(4;14) serait également due à la diversité des points de cassure au niveau du domaine MMSET. L'hyperexpression de MMSET est impliquée dans la progression tumorale et l'instabilité génomique. Il existe trois points de cassure principaux au niveau du gène (MB4-1, MB4-2 et MB4-3) qui conduisent à des transcrits de fusion légèrement différents. Le transcrite de MB4-1 code pour la protéine entière de MMSET alors que pour MB4-2 et MB4-3, il manque respectivement le premier exon ou les deux premiers exons ce qui aboutit à des protéines tronquées. Une étude de Li et al.[61] a comparé 53 patients porteurs de t(4;14) selon leur point de cassure avec d'une part, ceux ayant la protéine MMSET complète (MB4-1) et d'autre part, ceux ayant des points de cassure conduisant à une protéine tronquée (MB4-2 et MB4-3). Les patients avaient une PFS similaire quel que soit le point de cassure. Cependant, les patients avec la cassure MB4-1 avaient une OS significativement plus longue que les patients avec une protéine tronquée (NR versus 39,7 mois, *P* à

0,001). Cette discordance serait due à une survie plus courte après rechute chez les patients du groupe MB4-2/MB4-3. L'hypothèse serait que toutes les t(4;14) auraient la même réponse au traitement de première ligne mais que les patients MB4-2/MB4-3 développeraient plus de chimiorésistance à la rechute. D'un point de vue cellulaire, les protéines sont tronquées au niveau de la région N-terminale ce qui facilite leur entrée nucléaire. Dans le noyau, la protéine tronquée provoque une plus grande instabilité génomique et donc une plus grande adaptabilité pour les cellules tumorales.

L'utilisation du bortézomib a amélioré les résultats cliniques chez les patients atteints de t(4;14) (voir Figure 12 : Survie sans évènement (EFS, Event-free survival) (A) et survie globale (OS, overall survival) chez les patients atteints de t(4;14) avec une induction par bortézomib/dexaméthasone (Vel/Dex) (n = 106) ou vincristine, doxorubicine et dexaméthasone (VAD) (n = 98). ci-contre)[62] même si ceux-ci restent moins bons que chez les patients non porteurs de cette translocation.

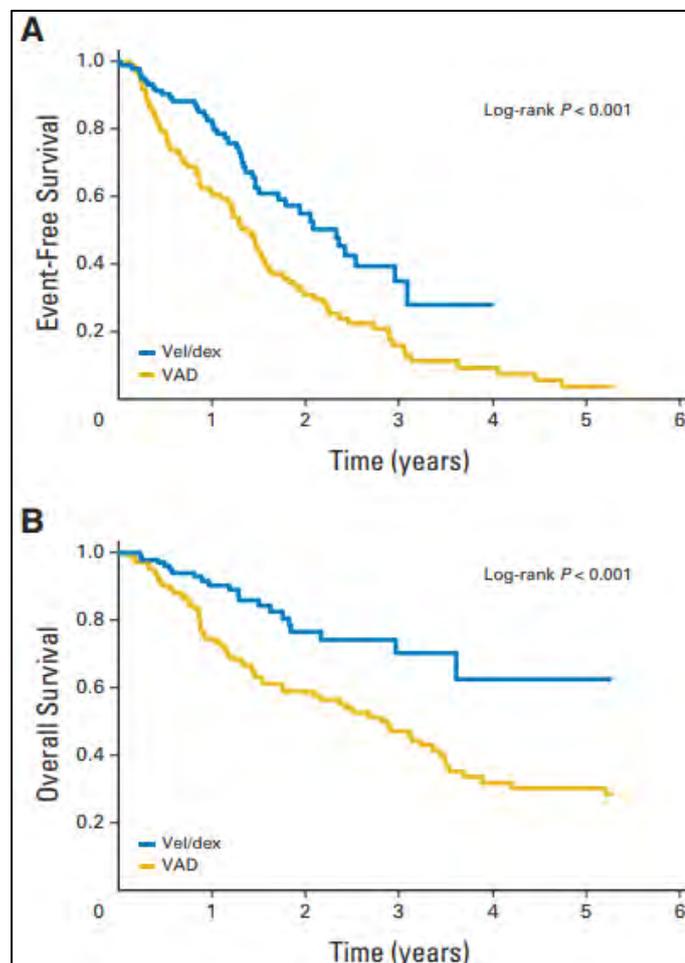


Figure 12 : Survie sans évènement (EFS, Event-free survival) (A) et survie globale (OS, overall survival) chez les patients atteints de t(4;14) avec une induction par bortézomib/dexaméthasone (Vel/Dex) (n = 106) ou vincristine, doxorubicine et dexaméthasone (VAD) (n = 98). D'après Avet-Loiseau et al. [62].

Il a été démontré que MMSET augmente l'expression d'IRF4 (interferon regulatory factor 4) en se fixant sur la région promotrice du gène et en jouant le rôle de coactivateur de NFκB[63]. Or, l'IRF4 a un rôle critique dans la survie des cellules myélomateuses. En effet, l'inactivation d'IRF4 par des micro-ARN induit leur apoptose *in vitro*. Le bortézomib réduit l'expression de MMSET et IRF4 ce qui explique l'amélioration du pronostic chez les patients atteints de la t(4;14) avec les nouvelles stratégies thérapeutiques, qui incluent souvent ce médicament.

iii. t(14;16)

La translocation t(14;16) est présente chez 3 à 4 % des patients au diagnostic. Elle entraîne la surexpression de c-MAF (c-musculoaponeurotic fibrosarcoma), un facteur de transcription proto-oncogène. c-MAF est impliqué dans de nombreuses voies de signalisation intracellulaires, directement ou indirectement par la dérégulation de la cycline D2, CCR1, etc. Il a un rôle dans la prolifération, la différenciation et la réponse à l'IL-6, dont on ne discute plus l'influence majeure dans le MM[64]. C'est un oncogène important dans le développement des pathologies lymphoïdes.

Contrairement à la t(4;14), les t(14;16) et les t(14;20) n'ont pas bénéficié de l'introduction du bortézomib. En effet, les modifications de la voie MAF et MAFB (pour le cas de la t(14;20)) pourraient être impliquées dans la résistance aux IP et donc définir un pronostic plus péjoratif chez ce groupe de patients[65]. Il a été montré que les IP augmentent la quantité de MAF en empêchant sa dégradation dans les cellules atteintes de t(14;16) mais pas dans les cellules avec une t(4;14). Cette activité serait médiée d'une part par l'inhibition du protéasome et d'autre part par l'inhibition de la glycogène synthase kinase 3β (GSK3β) qui phosphoryle normalement MAF pour activer sa dégradation. Le taux élevé de la protéine MAF prévient l'apoptose des cellules tumorales en diminuant l'activation des caspases ce qui explique la moindre efficacité des IP (comme le bortézomib).

La t(14;16) a été considérée comme une anomalie de haut risque cytogénétique dans le score pronostique R-ISS. Cependant, il existe peu d'études sur le réel impact pronostique de la t(14;16), encore moins chez des patients traités de façon « moderne ». De plus, la fréquence faible de l'anomalie au sein de la population touchée par le MM rend le recrutement de patients difficile. Par conséquent, les études ne sont pas assez puissantes pour obtenir des résultats concluants.

L'étude conduite par la Mayo Clinic au début des années 2000 a montré l'impact négatif de la t(14;16) sur la survie versus les patients sans l'anomalie t(14;16) (15/323 patients étudiés) avec une OS et une PFS nettement inférieures (OS : 16 mois versus 41 mois, $P = 0,003$; PFS : 9 mois versus 30 mois, $P = 0,003$)[66]. En ajustant avec les facteurs cliniques, malgré un hazard-ratio élevé (1,67) pour la t(14;16), les résultats n'étaient pas statistiquement significatifs (intervalle de confiance : 0,92-2,83). La valeur pronostique n'a donc pas pu être démontrée.

Une autre étude menée par l'IFM n'a pas réussi à conclure à une différence significative concernant la survie[67]. La divergence entre ces études s'explique sûrement par le recrutement des patients et leurs caractéristiques. Le pronostic des patients et la valeur pronostique des anomalies moléculaires évoluent en parallèle avec le développement des traitements. Qui plus est, ces études ont été menées chez des patients qui n'ont pas bénéficié de l'association IP + IMiD en première ligne.

Des études plus récentes sont parues mais leurs conclusions sur la valeur péjorative de la t(14;16) restent brumeuses.

Une étude polonaise a analysé une cohorte particulièrement large avec 223 patients[68]. Pourtant, cette étude ne fait que confirmer une meilleure PFS et une OS allongée grâce à l'association IMiDs + IP et de l'autogreffe chez les patients atteints de la t(14;16). Elle confirme également, dans cette population, le pronostic défavorable pour les patients âgés ou classés en R-ISS III. Cette étude descriptive présente d'importantes faiblesses. D'une part, le sous-groupe de patients atteints de t(14;16) n'a pas été comparé à des patients non porteurs de la mutation. Or il est essentiel d'avoir un groupe contrôle pour pouvoir juger de l'impact pronostique de la translocation. De plus, l'étude n'a pas fait la distinction entre une t(14;16) isolée et une t(14;16) associée à des anomalies cytogénétiques de haut risque. En effet, 22 % des patients de l'étude avaient une del(17p) associée, et 81 % des patients avaient un gain(1q). Or ces anomalies, plus fréquentes dans le MM, ont prouvé leur impact majeur sur le pronostic. Cela constitue un biais important dans l'analyse des données de survie. Le facteur pronostique défavorable attribué à la t(14;16) dans l'étude pourrait provenir en réalité des autres anomalies cytogénétiques associées et être le reflet de la del(17p) ou du gain(1q).

c) Autres anomalies cytogénétiques pronostiques notables

Le **gain(1q)** est défini par une ou plusieurs copies supplémentaires d'un locus du bras long du chromosome 1. Etant donné la multitude de gènes situés sur cette partie du chromosome, il était difficile de connaître les gènes concernés sans une analyse par NGS. Le locus (1q21), composé notamment des gènes *BCL9*, *MCL1*, *CKS1B* et *ANP32E* est le plus souvent touché. L'instabilité de la chromatine à proximité du centromère pourrait être responsable de ce gain(1q21). Cette anomalie est fréquente au diagnostic (30-35 % des patients), souvent associée à d'autres altérations chromosomiques (del(17p), t(4;14), del(13q)) et caractérisée par une maladie agressive. Selon certaines études (voir plus loin), le pronostic serait plus sombre pour les patients ayant 4 copies (amplification) ou plus[56]. Il semble donc important de distinguer le gain(1q) de l'amplification(1q). L'amplification du chromosome 1 menant à une amplification du gène *CKS1B* entre dans la définition des patients double-hit détaillée plus loin.

La délétion du bras court du chromosome 1 (**del(1p)**) concerne environ 30 % des patients atteints de MM. Son impact pronostique est presque aussi mauvais que celui de la del(17p) notamment lorsque l'anomalie implique les loci 1p12 et 1p32[13]. La région 1p12 contient le gène codant pour *FAM46C* (gène suppresseur de tumeur) qui est aussi fréquemment muté dans le MM. La région 1p32 contient deux gènes, *CDKN2C* et *FAF1*, respectivement impliqués dans la régulation négative du cycle cellulaire pour le premier et dans l'initiation et le renforcement de l'apoptose pour le second. 8 % des patients ont une del(1p32) au diagnostic mais on ne sait pas encore lequel des deux gènes est la cible principale de la délétion. Dans une étude de Hebraud et al.[69], le risque de décès chez les patients avec une del(1p32) est quatre fois plus élevé que les patients sans cette anomalie cytogénétique. Parce que son impact est très délétère sur la survie, sa recherche doit systématiquement être effectuée au diagnostic. La del(1p21) accompagne fréquemment le gain(1q) et a également montré son association avec un pronostic moins bon chez les patients subissant l'autogreffe[70].

Les **trisomies 3 et 5** sont associées à une meilleure OS par rapport aux patients non porteurs de ces anomalies[71]. Ces trisomies 3 et 5 pourraient avoir un impact favorable sur le pronostic du patient lorsqu'elles sont associées à des mutations défavorables telles que la del(17p). Au contraire, la **trisomie 21** est un facteur de mauvais pronostic et aggrave le pronostic des patients lorsqu'elle est associée à une t(4;14) ou une del(17p).

Malgré des progrès considérables en matière de traitement ces deux dernières décennies, il reste une grande disparité entre les patients. 20 à 30 % des patients peuvent être considérés à haut risque avec une PFS inférieure à 18 mois et une OS entre 1,5 et 3 ans[8]. Ces chiffres sont liés à des rechutes précoces ou des pathologies réfractaires aux traitements proposés. Il n'existe pas une seule anomalie qui définisse ce groupe de haut risque. Celui-ci est plutôt lié à une multitude de causes. Une nouvelle catégorie de patients a été isolée, les patients à très haut risque cytogénétique (6 à 12 % des patients)[10]. Elle inclut les patients « **double-hit** ». Deux entités définissent ce sous-groupe : d'une part l'inactivation biallélique de *TP53* et d'autre part l'amplification (≥ 4 copies) de *CKS1B* chez les patients au stade ISS III[56]. Le pronostic défavorable de l'inactivation biallélique de *TP53* a déjà été développé précédemment. L'amplification *CKS1B* ne concerne qu'un petit groupe de patients (environ 5 %). La surexpression de *CKS1B* stimule la progression dans le cycle cellulaire et augmente la prolifération des plasmocytes. Dans l'étude de Bock et al.[72] qui compare les patients porteurs d'une amplification *CKS1B* versus un groupe contrôle, les PFS étaient de 15 et 33 mois respectivement ($P = 0,002$). L'OS médiane n'avait pas encore été atteinte à l'issue de l'étude mais le taux de survie à 2 ans était de 62 % pour *CKS1B* et 91 % pour le groupe contrôle ($P = 0,018$). Toujours dans la même étude, le risque d'avoir une progression était trois fois plus élevé chez les patients avec une amplification de *CKS1B*. De nombreuses études confirment le poids pronostique du gain(1q) dans le MM et son influence indépendante vis-à-vis des autres facteurs. Cependant, l'implication du gène *CKS1B* n'a pas pu être démontré clairement car d'autres gènes sont concernés par l'amplification.

En conclusion pour cette partie, les anomalies cytogénétiques ont le plus haut poids pronostique dans le MM, comparées aux autres facteurs pronostiques tels que l'âge ou les comorbidités.

Il reste cependant encore un sous-groupe de patients pour lesquels aucune mutation n'a été retrouvée par technique standard (caryotype moléculaire par SNParray, FISH) mais qui sont sujets à des rechutes. Des études moléculaires par NGS cherchent à identifier des mutations présumées drivers chez ces patients, responsable de la cancérisation des plasmocytes.

Au fur et à mesure de l'introduction de nouvelles thérapies, il est aussi essentiel de réévaluer régulièrement la définition du risque, puisqu'il a été démontré que certaines mutations étaient associées à de meilleures réponses (cas du vénétoclax et de la t(11;14) ou du bortézomib avec la t(4;14))[9].

5. Réponse au traitement

La réponse au traitement est un facteur à prendre en compte dans l'évaluation du pronostic du patient même si ce critère ne rentre dans aucune classification pronostique. En effet, après un premier traitement, il a été prouvé que plus la réponse obtenue était profonde et meilleure était l'issue clinique[73]. Autre paramètre important pour définir une réponse de qualité : sa durée. Il a été récemment montré qu'une rechute précoce après intensification thérapeutique reste associée à une OS plus courte, même quand les patients peuvent bénéficier de stratégies de rattrapage innovantes[74].

Avec l'amélioration des thérapeutiques, beaucoup de patients parviennent à une réponse complète. La MRD est un marqueur beaucoup plus sensible donc plus discriminant. L'obtention d'une MRD négative est corrélée à une amélioration de la PFS et de l'OS. Ce postulat a été démontré notamment grâce à une méta-analyse sur des études menées de 2008 à 2015 (Figure 13 : MRD et PFS ou OS chez les patients atteints de MM.). Les hazard ratios (HR) étaient significativement inférieurs à 1 pour la PFS (HR = 0,35) et l'OS (HR = 0,48).

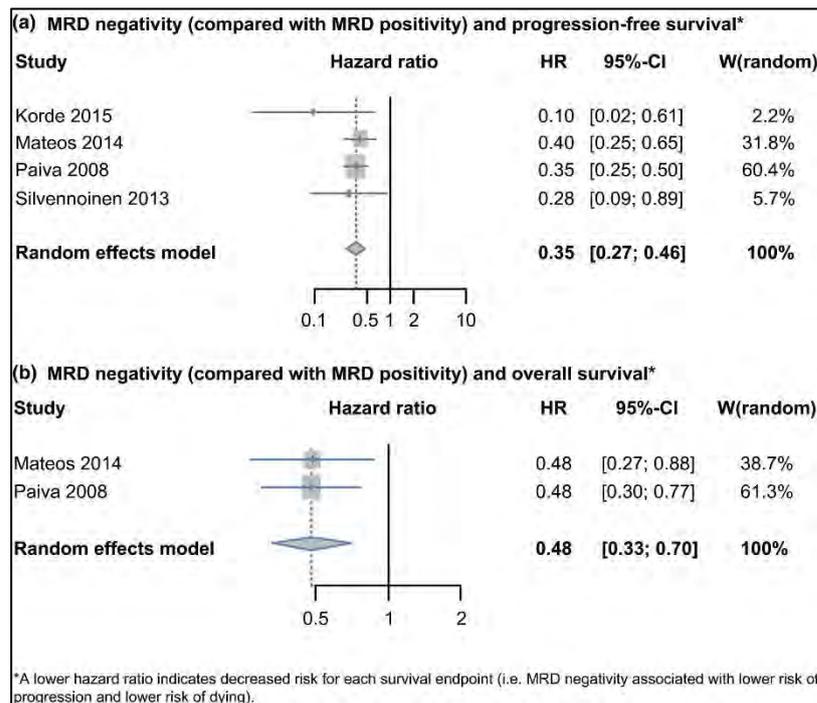


Figure 13 : MRD et PFS ou OS chez les patients atteints de MM.
(CI : intervalle de confiance ; HR : hazard ratio). D'après Landgren et Iskander [73].

D'autres études plus récentes ne font que renforcer le potentiel de la MRD pour prédire le pronostic des patients, y compris chez les patients en réponse complète. L'objectif est d'utiliser à terme la MRD comme surrogat marqueur dans les études sur le MM[75]. L'intérêt serait de se substituer aux critères principaux cliniques comme la PFS et l'OS qui sont des données longues à récolter et de pouvoir accélérer la mise sur le marché des nouveaux traitements.

II. SCORES PRONOSTIQUES

Le myélome multiple reste une maladie hétérogène et il paraît essentiel de stratifier les patients en fonction de leur risque pronostique pour leur proposer une prise en charge la plus adaptée.

1. International Staging System (ISS)

Le score ISS a été créé en 2005 dans le but de proposer une stratification simple et objective, avec des paramètres facilement mesurables à l'échelle internationale[76]. Depuis longtemps, l'albumine et la β 2-microglobuline sérique (S β 2M) sont des marqueurs éprouvés dans le MM. Ces deux éléments suffisent à établir le score pronostique ISS. Celui-ci permet de classer les patients en trois catégories explicitées ci-dessous (Tableau 10 : Classification International Staging System. D'après Greipp et al. (2005)[76]).

Stade ISS	Critères	Survie médiane (mois)	Pourcentage de patients (%)
I	β 2-microglobuline sérique < 3,5 mg/L ET albumine sérique \geq 35 g/L	62	28
II	Ni stade 1 ni stade 3	44	33
III	β 2-microglobuline sérique \geq 5,5 mg/L	29	39

Tableau 10 : Classification International Staging System. D'après Greipp et al. (2005)[76]

2. Revised International Staging System (R-ISS)

Le score ISS a été construit grâce à des cohortes de patients qui ne bénéficiaient pas encore des nouveaux traitements (IP et IMiDs). En 2015, le score ISS a été révisé pour donner le score R-ISS. Deux nouvelles variables ont été intégrées : le dosage de la LDH et la présence ou non d'anomalies cytogénétiques de haut risque en FISH (Tableau 11 : Classification R-ISS. D'après Palumbo et al. (2015)[51]). Parmi les multiples anomalies retrouvées dans le MM, seules trois ont été intégrées dans le nouveau score : la del(17p), la t(4;14) et la t(14;16).

		Anomalies chromosomiques de haut risque en FISH (del(17p) et/ou t(4;14) et/ou t(14;16))		Taux de LDH
		Non	Oui	
ISS I	R-ISS I		R-ISS II	
	R-ISS II		R-ISS II	> à la normale
ISS II	R-ISS II		R-ISS II	Normal
	R-ISS II		R-ISS II	> à la normale
ISS III	R-ISS II		R-ISS III	Normal
	R-ISS III		R-ISS III	> à la normale

Tableau 11 : Classification R-ISS. D'après Palumbo et al. (2015)[51]

Stade R-ISS	Taux de survie globale à 5 ans (%)	Pourcentage de patients (%)
I	82	28
II	62	62
III	40	10

Tableau 12 : Taux de survie globale à 5 ans et pourcentage de patients par stade R-ISS.

Lors de la construction du score, les seuils de positivité en FISH étaient différents d'un laboratoire à l'autre (de 8 à 20 %) ce qui a pour effet une variabilité notable. De plus, certaines anomalies telles que le gain(1q) n'ont pas été intégrées car le nombre de patients pour lesquels les données étaient disponibles était trop faible. Etant donné la fréquence de cette anomalie et son impact non négligeable sur le pronostic, le score R-ISS gagnerait à inclure le gain(1q) dans les anomalies chromosomiques de haut risque. Enfin, afin d'établir un score, il est nécessaire d'utiliser deux populations bien distinctes : l'une pour bâtir le score et l'autre pour le valider. Pour le R-ISS, il n'y a pas eu de réelle cohorte de validation indépendante.

Dans le score R-ISS, chaque composante contribue au même poids pour la détermination du risque. Avec les connaissances actuelles, nous savons que chaque critère n'a pas le même poids pronostique sur la maladie ; par exemple, la del(17p) est de plus haut risque que la t(4;14). Avec le développement des connaissances, cette classification est devenue trop simpliste d'autant plus que dans le MM, les anomalies cytogénétiques sont rarement isolées. De plus, le seuil de CCF pour la del(17p) n'est pas précisé ce qui entraîne une variabilité dans le classement des patients d'un centre à l'autre. Or une méta-analyse a récemment démontré que pour que la del(17p) ait un réel impact pronostique, il fallait que la CCF soit supérieure ou égale à 56 %[58].

Enfin, au sein de la population des patients atteints de la t(4;14), le pronostic n'est pas toujours aussi péjoratif. Il s'agit donc de nuancer ce classement binaire entre risque standard et haut risque cytogénétique comme le propose actuellement l'IMWG.

3. Classification mSMART

La classification mSMART (Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy)[77] réactualisée en 2013 n'est pas un score pronostique en soit. Elle est utilisée par les américains pour stratifier les patients afin de leur proposer un traitement le plus adapté, c'est-à-dire un traitement qui garantit la meilleure efficacité tout en minimisant les effets toxiques. Les patients sont classés en trois groupes : haut risque, risque intermédiaire et risque standard (Tableau 13 : Classification mSMART 2013.). Pour chaque groupe, est conseillé un schéma thérapeutique en fonction de l'éligibilité à l'autogreffe, ces recommandations ne s'appuyant sur aucune étude clinique (Annexe 1 et Annexe 2).

Risque	Caractéristiques	Incidence	Survie globale médiane
Haut risque	FISH - del(17p) - t(14;16) - t(14;20) Profil d'expression des gènes : signature de haut risque	20 %	3 ans
Risque intermédiaire	FISH - t(4;14) Cytogénétique : del 13 Hypodiploïdie Plasma Cell Labeling Index (PCLI) ≥ 3	20 %	4-5 ans
Risque standard	Tous les autres y compris FISH - t(11;14) - t(6;14)	60 %	8-10 ans

Tableau 13 : Classification mSMART 2013.

Ces recommandations sont actualisées régulièrement sur le site internet de la Mayo Clinic, et la dernière recommandation (datant d'août 2019) est revenue à une classification en deux groupes : haut risque et risque standard. Les traitements sont toujours adaptés en fonction de l'éligibilité à l'autogreffe mais également en fonction des mutations présentes au diagnostic.

Risque	Caractéristiques
Haut risque	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 60%;"> Anomalies génétiques de haut risque - t(4;14) - t(14;16) - t(14;20) - del(17p) - mutation TP53 - gain(1q) R-ISS stade III PCLI élevé Profil d'expression des gènes : signature de haut risque </div> <div style="width: 35%;"> Myélome « double-hit » : 2 anomalies génétiques de haut risque Myélome « triple-hit » : 3 ou plus anomalies génétiques de haut risque </div> </div>
Risque standard	Tous les autres y compris - trisomies - t(11;14) - t(6;14)

Tableau 14 : Classification mSMART actualisée en août 2019[78].

4. Score LP

En 2020, nous ne pouvons plus nous contenter des trois anomalies cytogénétiques proposées dans le R-ISS pour définir le risque cytogénétique. D'autres facteurs pronostiques ont été identifiés comme la del(1p32) ou le gain(1q), et l'interaction des différentes anomalies entre elles doit être prise en compte. De plus, les nouveaux traitements plus efficaces ont pu modifier le poids pronostique de certaines mutations ce qui doit inciter la communauté scientifique à redéfinir les patients entrant dans la catégorie de haut risque.

Le score LP, proposé par l'IFM, est basé sur 6 anomalies récurrentes dans le MM qui influencent le pronostic du patient de manière indépendante[79]. Cinq de ses anomalies sont associées à une OS plus courte : del(17p), del(1p32), gain(1q), t(4;14) et trisomie 21 alors que la trisomie 5 est plutôt un facteur protecteur. Pour ces anomalies sont attribués des coefficients de pondération en fonction de leurs valeurs pronostiques, qui s'additionnent selon un algorithme établi après une analyse statistique multivariée. Le coefficient correspond au logarithme népérien du hazard-ratio ; plus il est élevé et plus l'impact pronostique est négatif. Les caractéristiques de ces mutations et les catégories pronostiques sont détaillées dans les tableaux ci-après.

Anomalie	Coefficient	Fréquence
Trisomie 5	-0,3	40 %
Trisomie 21	0,3	25 %
t(4;14)	0,4	12-15 %
Gain 1q	0,5	35 %
del(1p32)	0,8	11 %
del(17p)	1,2	8 %
LP score = 0,4 x t(4;14) + 1,2 x del(17p) – 0,3 x tri5 + 0,3 x tri21 + 0,5 x gain1q + 0,8 x del1p32		

Tableau 15 : LP score : facteurs pronostiques et formule. D'après Perrot et al.[79].

Score	Risque	Fréquence
-0,3 à 0	Risque favorable	55 %
0,1 à 1	Risque intermédiaire	30 %
> 1	Haut risque	15 %

Tableau 16 : LP score : catégories.

Ainsi, d'après cette nouvelle étude, une t(4;14) isolée est qualifiée d'anomalie de risque intermédiaire. Cependant, l'association avec un gain 1q et une trisomie 21 (association fréquente au diagnostic) confère à la t(4;14) un pronostic de haut risque. Ceci pourrait au moins partiellement expliquer l'hétérogénéité pronostique des patients atteints de t(4;14).

Un index pronostique élevé (supérieur à 1) est associé à une survie plus courte, et les patients avec un index faible ont des meilleures données de survie ; ceci étant valable pour toutes les cohortes utilisées dans l'étude (cohorte de validation interne, cohorte de validation externe) (Figure 14 : Courbes de survie de Kaplan-Meier selon les 3 catégories de risque du LP-score. (A) Cohorte de

construction (n = 647). (B) Cohorte de validation interne (n = 234). (C) Cohorte de validation externe 1 (n = 359). (D) Cohorte de validation externe 2 (n = 322). D'après Perrot et al.[79]). Les patients à haut risque cytogénétique ont un hazard-ratio pour le décès 6 à 15 fois plus élevé que les patients dans la catégorie de faible risque.

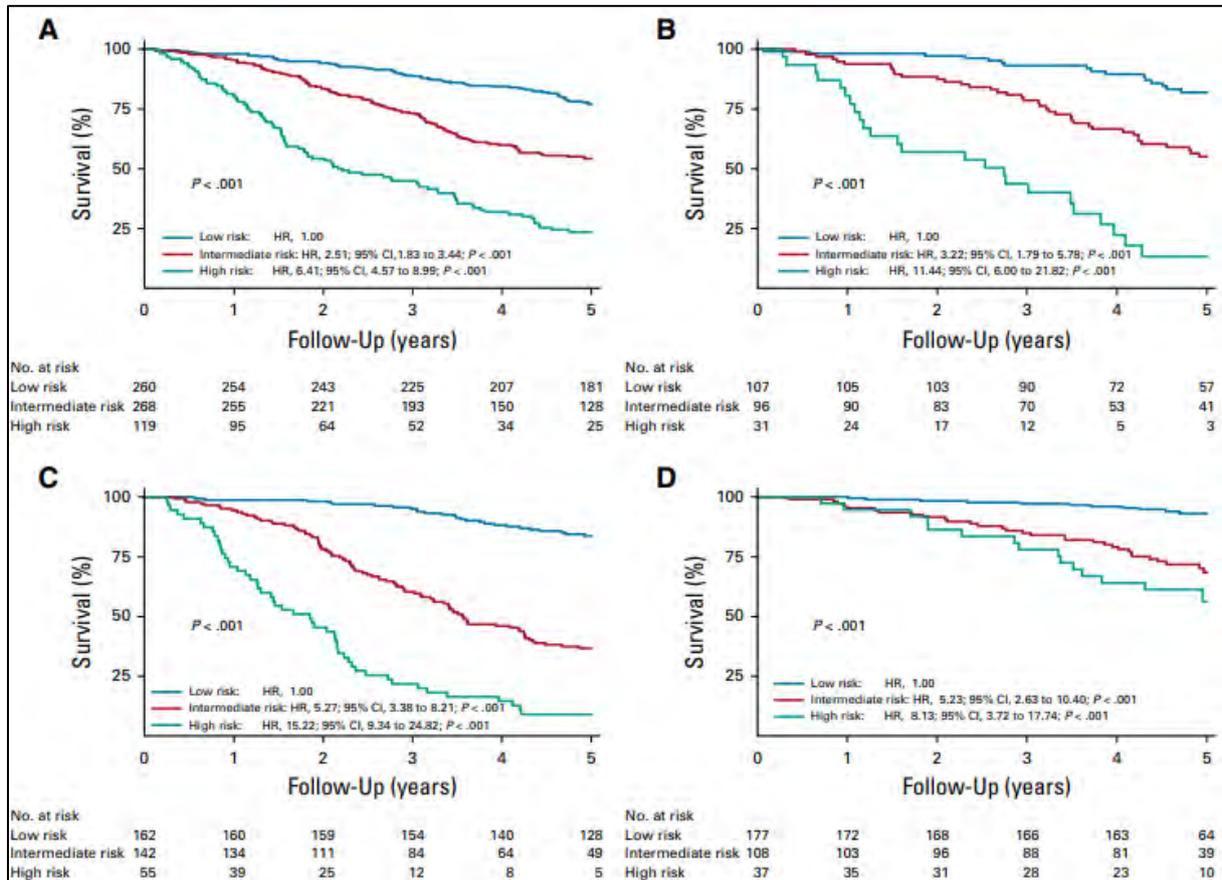


Figure 14 : Courbes de survie de Kaplan-Meier selon les 3 catégories de risque du LP-score. (A) Cohorte de construction (n = 647). (B) Cohorte de validation interne (n = 234). (C) Cohorte de validation externe 1 (n = 359). (D) Cohorte de validation externe 2 (n = 322). D'après Perrot et al.[79].

L'étude a également permis de comparer les différents scores pronostiques (ISS, R-ISS et le LP score ou PI pour pronostic index). La performance était évaluée en calculant la probabilité de concordance entre la survie estimée par le score et la survie observée en situation réelle sur la cohorte. Le C-index de Harrell (utilisé pour les études pronostiques) mesure la capacité discriminante du marqueur, plus il est proche de 0,5 et moins il est informatif. L'analyse a été effectuée sur les cohortes de validation externe (Set 1 et Set 2) ; la troisième colonne du Tableau 17 correspond aux patients de la cohorte Set 2 pour lesquels le dosage de LDH était disponible pour le calcul du score R-ISS. Le meilleur C-index a été observé pour le LP score (que ce soit en continu ou en divisant en 3 catégories de risque). Le C-index pour le R-ISS était de 0,55 alors qu'il est autour de 0,7 pour le LP score ce qui montre la meilleure performance de ce nouveau score.

Prognostic Factor	External Validation, C-Index (95% CI)		
	Set 1 (n = 268)	Set 2 (n = 322)	Set 2 (n = 310)*
Model 1: linear PI	0.77 (0.73 to 0.81)	0.73 (0.67 to 0.79)	0.72 (0.66 to 0.78)
Model 2: PI in three risk categories	0.75 (0.71 to 0.78)	0.71 (0.65 to 0.77)	0.70 (0.64 to 0.76)
Model 3: ISS disease stage	0.61 (0.56 to 0.65)	0.56 (0.49 to 0.64)	0.56 (0.49 to 0.63)
Model 4: linear PI plus ISS stage	0.78 (0.74 to 0.82)	0.72 (0.66 to 0.78)	0.72 (0.65 to 0.78)
Model 5: PI in three risk categories plus ISS stage	0.76 (0.72 to 0.80)	0.72 (0.65 to 0.78)	0.71 (0.64 to 0.77)
Model 6: adverse cytogenetic†	0.64 (0.60 to 0.67)	0.63 (0.57 to 0.69)	0.62 (0.56 to 0.69)
Model 7: ISS stage plus adverse cytogenetic	0.69 (0.65 to 0.73)	0.63 (0.57 to 0.72)	0.64 (0.56 to 0.72)
Model 8: R-ISS			0.55 (0.49 to 0.62)

Abbreviations: C-index, Harrell's concordance index; ISS, International Staging System; PI, prognostic index, R-ISS, revised International Staging System for Multiple Myeloma.

*Lactate dehydrogenase was missing for 12 patients in the external validation data set 2.

†Adverse cytogenetic risk is defined by del(17p) and/or t(4;14).

Tableau 17 : C-index pour la survie spécifique au Myélome en fonction des différents modèles pronostiques. D'après Perrot et al.[79].

Les performances de ce score, basé uniquement sur les anomalies cytogénétiques, est une nouvelle fois la preuve que les anomalies cytogénétiques et moléculaires portent le plus haut poids pronostique dans le MM.

Partie III : Evaluation du score pronostique R-ISS

I. INTRODUCTION

Le score R-ISS combine des anomalies cytogénétiques (del(17p), t(4;14) et t(14;16)) ainsi que des paramètres biochimiques (LDH, S β 2M, albumine). Il attribue le même poids pronostique à chacun des paramètres alors qu'une del(17p) a un plus fort impact pronostique qu'une t(14;16) par exemple. De plus, il ne tient pas compte de l'association de plusieurs anomalies cytogénétiques. Or, les phénomènes qui influencent le pronostic du patient sont bien plus complexes et ce score pronostique semble trop réducteur pour évaluer au mieux le pronostic des patients.

Dans cette partie, nous allons évaluer la performance du score R-ISS sur une cohorte de patients jeunes (éligible à l'autogreffe) issus des études cliniques menées par l'IFM. A notre connaissance, il s'agit de la première étude multicentrique européenne de large échelle.

Le premier objectif de l'étude est de valider le R-ISS comparativement à l'ISS pour la prédiction de la PFS et l'OS chez les patients de moins de 65 ans atteints de myélome.

Le second objectif est de décrire le pronostic des patients R-ISS stade II et del(17p) positif ou t(4;14) positif dans cette nouvelle classification.

II. MATERIELS ET METHODES

1. Patients

Les données ont été obtenues à partir de patients inclus dans trois différents essais cliniques randomisés menés par l'IFM : IFM 2005-02 (ClinicalTrials.gov identifiant : NCT00430365), IFM 2009 (ClinicalTrials.gov identifiant : NCT01191060) et IFM 2014-02 (ClinicalTrials.gov identifiant : NCT02197221). Les détails de ces études sont résumés dans le Tableau 18 ci-dessous.

Les anomalies cytogénétiques considérées comme étant de haut risque sont la del(17p), la t(4;14) et la t(14;16), définies par le score R-ISS.

IFM 2005-02
De juin 2006 à septembre 2018, 614 patients (français, belges et suisses) de moins de 65 ans ayant subi une autogreffe ont été inclus dans l'essai IFM/DFCI 2005-02. L'objectif était d'évaluer la pertinence d'un traitement de maintenance par légalidomide après une autogreffe versus un placebo.
IFM 2009
De novembre 2010 à novembre 2012, 700 patients (français et belges) de moins de 65 ans atteints de myélome multiple et n'ayant jamais été traités pour leur myélome ont été inclus dans l'essai IFM/DFCI 2009. L'objectif était de comparer le schéma 8 cycles de VRD contre 3 cycles de VRD, melphalan à haute dose et autogreffe, suivie de 2 cycles de consolidation par VRD. Tous les patients ont reçu un traitement d'entretien d'un an par légalidomide.
IFM 2014-02
Depuis janvier 2015, 300 patients (français et belges) de moins de 65 ans atteints de myélome multiple et n'ayant jamais été traités pour leur myélome ont été inclus dans l'essai 2014-02. L'objectif de cette étude est de comparer l'efficacité d'un conditionnement associant le bortézomib et le melphalan à un conditionnement par melphalan seul, chez des patients ayant un myélome multiple et candidats à une autogreffe de cellules souches (moins de 65 ans).

Tableau 18 : Description brève des études IFM utilisées pour notre étude.

2. Analyses statistiques

La description des patients a été réalisée par le calcul d'effectifs et de pourcentages pour les variables catégorielles et par les indicateurs de tendance centrale (moyenne, médiane) et de dispersion (minimum, maximum, écart type et interquartiles) pour les variables continues. La durée de suivi des patients a été estimée à l'aide de la méthode de Kaplan-Meier inversée. Pour la modélisation de la PFS et l'OS la date d'origine était la date de randomisation, tous les modèles étaient stratifiés sur l'essai thérapeutique et le bras de traitement pour tenir compte de l'effet traitement dans les estimations. La durée de survie a été estimée de la date d'entrée à la date de décès ou à la date des dernières nouvelles chez les patients non décédés. La durée de PFS a été estimée de la date d'entrée à la date de récurrence ou du décès (en l'absence de récurrence). Les patients sans récurrence et non décédés ont été censurés à la date de dernière évaluation clinique.

Les courbes de probabilité de l'OS ou de la PFS ont été établies à l'aide des estimations de Kaplan-Meier et comparées à l'aide des tests du log Rank stratifiés. Les risques relatifs (hazard ratio ou HR) de décès ou de récurrence en fonction de variables potentiellement pronostiques ont été estimés à l'aide d'un modèle de Cox multivarié ajusté sur l'âge et le sexe et stratifié selon l'essai thérapeutique et le bras de traitement. La capacité discriminante des différents modèles a été estimée avec l'indice de concordance de Harrell et son intervalle de confiance à 95 %. Les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel Stata version 14.2 (StataCorp).

III. RESULTATS

1. Description globale

Sur les 1614 patients inclus dans les 3 études, nous disposions des données complètes (score ISS, anomalies cytogénétiques de haut risque soit del(17p), t(4;14) et t(14;16), et taux de LDH) pour 1180 patients (Figure 15 : Flow-chart des patients.). Les caractéristiques des patients sont résumées dans le Tableau 19 : Caractéristiques des patients.

La médiane d'âge de notre cohorte de patients est inférieure à la cohorte utilisée pour valider le R-ISS (58 vs 62 ans)[51]. En effet, les patients inclus dans les études utilisées étaient tous âgés de moins de 65 ans ; tous les patients des études IFM 2005-02 et IFM 2014-02 ont été greffés et la moitié des patients de l'essai IFM 2009 ont eu une autogreffe. Seuls 60 % des patients de la cohorte de Palumbo et al. ont été greffés.

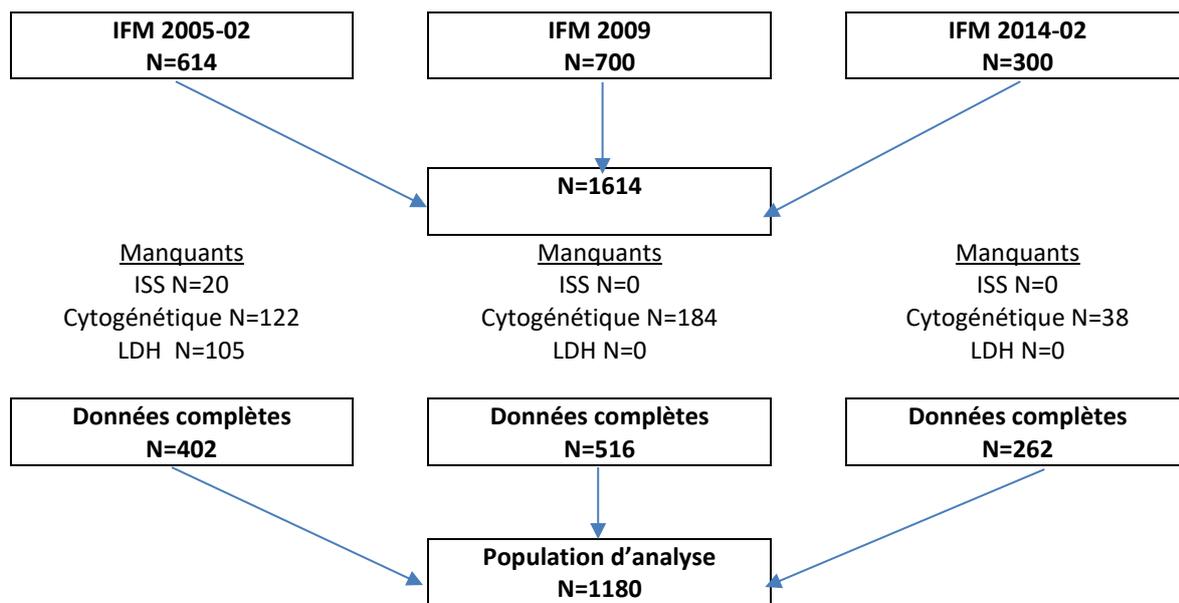


Figure 15 : Flow-chart des patients.

Variable	Statistique	Total N=1180
Age au diagnostic (ans)		
	Moyenne (ET)	56,1 (7,3)
	Médiane [IQR]	58,0 [51,9; 62,0]
	Min ; Max	28,0 ; 68,0
	Missing n(%)	0 (0,0)
Sexe		
Hommes	n (%)	692 (58,6)
Femmes	n (%)	488 (41,4)
Missing	n (%)	0 (0,0)
Indice de masse corporelle (IMC)		
	Moyenne (ET)	26,0 (4,5)
	Médiane [IQR]	25,5 [23,1 ; 28,4]
	Min ; Max	15,6 ; 49,9
	Missing n(%)	70 (5,9)
Statut de performance ECOG		
0	n (%)	545 (49,7)
1	n (%)	449 (41,0)
2	n (%)	102 (9,3)
Missing	n (%)	84 (7,1)
Type de myélome		
IgA	n (%)	262 (22,2)
IgG	n (%)	708 (60,0)
IgD	n (%)	17 (1,4)
IgM	n (%)	1 (0,1)
Kappa	n (%)	119 (10,1)
Lambda	n (%)	68 (5,8)
Non sécrétant	n (%)	5 (0,4)
Missing	n (%)	0 (0,0)
Type de myélome		
IgG	n (%)	708 (60,0)
IgA	n (%)	262 (22,2)
Chaînes légères	n (%)	187 (15,8)
Autres	n (%)	23 (1,9)
Missing	n (%)	0 (0,0)
Hémoglobine au diagnostic (g/dL)		
	Moyenne (ET)	11,4 (1,9)
	Médiane [IQR]	11,5 [10,0; 12,7]
	Min ; Max	4,6 ; 17,4
	Missing n(%)	1 (0,1)
Créatinine au diagnostic (mg/L)		
	Moyenne (ET)	39,4 (39,4)
	Médiane [IQR]	12,5 [6,9 ; 75,0]
	Min ; Max	1,0 ; 190,9
	Missing n(%)	2 (0,2)
Albumine au diagnostic (g/L)		
	Moyenne (ET)	38,2 (6,9)
	Médiane [IQR]	38,8 [33,6 ; 43,0]
	Min ; Max	10,9 ; 62,9
	Missing n(%)	6 (0,5)

Variable	Statistique	Total N=1180
Sβ2M au diagnostic (mg/L)		
	Moyenne (ET)	4,0 (2,9)
	Médiane [IQR]	3,2 [2,3 ; 4,6]
	Min ; Max	1,1 ; 29,8
	Missing n(%)	22 (1,9)
Stade ISS au screening		
ISS I	n (%)	505 (42,8)
ISS II	n (%)	465 (39,4)
ISS III	n (%)	210 (17,8)
Missing	n (%)	0 (0,0)
Anomalies cytogénétiques		
Risque Standard (SR)	n (%)	981 (83,1)
Haut Risque (HR)	n (%)	199 (16,9)
Missing	n (%)	0 (0,0)
t(4;14)		
Non	n (%)	1054 (89,5)
Oui	n (%)	123 (10,5)
Missing	n (%)	3 (0,3)
del(17p)		
Non	n (%)	1101 (93,7)
Oui	n (%)	74 (6,3)
Missing	n (%)	5 (0,4)
t(14;16)		
Non	n (%)	1165 (98,9)
Oui	n (%)	13 (1,1)
Missing	n (%)	2 (0,2)
LDH en dessous de la limite normale supérieure		
Non	n (%)	267 (22,6)
Oui	n (%)	913 (77,4)
Missing	n (%)	0 (0,0)
Stade R-ISS au screening		
R-ISS I	n (%)	350 (29,7)
R-ISS II	n (%)	736 (62,4)
R-ISS III	n (%)	94 (8,0)
Missing	n (%)	0 (0,0)
Meilleure Réponse		
Réponse complète stringente (SCR)	n (%)	322 (27,3)
Réponse complète (CR)	n (%)	184 (15,6)
Très bonne réponse partielle (VGPR)	n (%)	437 (37,0)
Réponse partielle (PR)	n (%)	222 (18,8)
Maladie progressive (MS)	n (%)	15 (1,3)
Progression		
Non	n (%)	356 (30,2)
Oui	n (%)	824 (69,8)
Missing	n (%)	0 (0,0)
Décès		
Non	n (%)	747 (63,3)
Oui	n (%)	433 (36,7)
Missing	n (%)	0 (0,0)

Tableau 19 : Caractéristiques des patients.

2. Comparaison des caractéristiques des patients en fonction du R-ISS

Les caractéristiques résumées ci-dessus ont été comparées entre les 3 groupes de patients R-ISS I, R-ISS II et R-ISS III (cf Tableau 20 : Comparaison des caractéristiques des patients en fonction de leur stade R-ISS.).

Plus le stade R-ISS est élevé et plus le score de performance ECOG est mauvais ($P = 0,002$). Les taux d'hémoglobine et d'albumine diminuent de manière significative lorsque le stade R-ISS devient défavorable ($P < 0,001$). Les taux de créatinine, de LDH et de S β 2M sont significativement plus élevés chez les patients de mauvais pronostic ($P < 0,001$). Les différences qui ressortent pour l'albumine et la S β 2M sont attendues puisque leurs taux conditionnent le classement des patients dans le score ISS ; de même pour le taux de LDH et les anomalies cytogénétiques (del(17p), t(4;14) et t(14;16)) qui déterminent les stades R-ISS. Dix-huit pour cent des patients du stade R-ISS III sont porteurs d'une del(17p), 34,0 % ont une t(4;14) et 4,3 % portent une t(14;16). Ces anomalies cytogénétiques sont plus fréquentes chez les patients du stade R-ISS III par rapport au stade R-ISS II ($P < 0,001$).

Le taux de progression et le nombre de décès sont plus élevés chez les patients ayant un score pronostique défavorable (p-values respectivement de 0,006 et $< 0,001$).

En revanche, il n'existe pas de différence significative entre les stades R-ISS en ce qui concerne l'âge, le sexe, l'IMC, le type d'Ig impliquée et la réponse au traitement.

	ISS Révisé			p-value
	Stade I N=350 (29,7)	Stade II N=736 (62,4)	Stade III N=94 (7,9)	
Age au diagnostic (ans)				0,120
n /missing	350/0	736/0	94/0	
Moyenne (Ecart-type, ET)	55,8 (7,4)	56,1 (7,2)	57,5 (6,7)	
Médiane	57,4	58,0	60,0	
IQR	[50,2 ; 62,0]	[52,0 ; 62,0]	[53,1 ; 62,1]	
Min;Max	33,0 ; 67,0	30,0 ; 68,0	28,0 ; 65,3	
Sexe n(%)				0,999
Hommes	205 (58,6)	432 (58,7)	55 (58,5)	
Femmes	145 (41,4)	304 (41,3)	39 (41,5)	
Indice de masse corporelle (MC)				0,756
n /missing	326/24	695/41	89/5	
Moyenne (ET)	25,9 (4,3)	26,1 (4,5)	26,2 (4,6)	
Médiane	25,3	25,5	25,4	
IQR	[23,3 ; 28,2]	[23,0 ; 28,6]	[23,6 ; 27,7]	
Min;Max	15,9 ; 41,0	15,6 ; 47,8	18,9 ; 49,9	
Statut de performance ECOG n(%)				0,002
0	178 (55,5)	334 (48,6)	33 (37,5)	
1	125 (38,9)	284 (41,3)	40 (45,5)	
2	18 (5,6)	69 (10,0)	15 (17,0)	
Type de myélome n(%)				0,335*
IgA	73 (20,9)	163 (22,1)	26 (27,7)	
IgG	207 (59,1)	452 (61,4)	49 (52,1)	
IgD	3 (0,9)	11 (1,5)	3 (3,2)	
IgM	1 (0,3)	0 (0,0)	8 (8,5)	
Kappa	39 (11,1)	72 (9,8)	8 (8,5)	
Lambda	23 (6,6)	37 (5,0)	0 (0,0)	
Non sécrétant	4 (1,1)	1 (0,1)		
Type of myélome n(%)				0,405
IgG	207 (59,1)	452 (61,4)	49 (52,1)	
IgA	73 (20,9)	163 (22,1)	26 (27,7)	
Chaînes légères	62 (17,7)	109 (14,8)	16 (17,0)	
Autres	8 (2,3)	12 (1,6)	3 (3,2)	
Hémoglobine au diagnostic (g/dL)				<0,001
n /missing	350/0	735/1	94/0	
Moyenne (ET)	12,3 (1,6)	11,1 (1,8)	10,1 (1,8)	
Médiane	12,4	11,1	9,7	
IQR	[11,4 ; 13,4]	[9,7 ; 12,5]	[8,8 ; 11,5]	
Min;Max	7,4 ; 17,4	4,6 ; 16,2	5,9 ; 14,9	
Créatinine au diagnostic (mg/L)				<0,001
n /missing	350/0	735/1	93/1	
Moyenne (ET)	31,6 (33,4)	41,2 (39,8)	54,5 (49,3)	
Médiane	10,0	15,2	54,0	
IQR	[6,9 ; 64,0]	[6,7 ; 77,0]	[8,4 ; 93,0]	
Min;Max	1,0 ; 115,0	1,0 ; 170,0	1,0 ; 190,9	
Albumine au diagnostic (g/L)				<0,001
n /missing	350/0	730/6	94/0	
Moyenne (ET)	41,8 (4,0)	36,8 (7,3)	35,4 (7,5)	
Médiane	41,5	36,7	35,5	
IQR	[38,8 ; 44,6]	[31,9 ; 42,0]	[29,1 ; 40,3]	
Min;Max	35,0 ; 54,5	10,9 ; 62,9	20,0 ; 54,3	

	ISS Révisé			p-value
	Stade I N=350 (29,7)	Stade II N=736 (62,4)	Stade III N=94 (7,9)	
Sβ2M au diagnostic (mg/L)				
n /missing	345/5	723/13	90/4	<0,001
Moyenne (ET)	2,4 (0,6)	4,2 (2,6)	8,9 (4,6)	
Médiane	2,3	3,6	7,3	
IQR	[1,9 ; 2,8]	[2,7 ; 4,7]	[6,2 ; 9,8]	
Min;Max	1,1 ; 4,6	1,1 ; 24,9	2,2 ; 29,8	
Anomalies cytogénétiques n(%)				
Risque standard (SR)	350 (100,0)	585 (79,5)	46 (48,9)	<0,001
Haut Risque (HR)	0 (0,0)	151 (20,5)	48 (51,1)	
t(4;14) n(%)				
Non	350 (100,0)	642 (87,6)	62 (66,0)	<0,001
Oui	0 (0,0)	91 (12,4)	32 (34,0)	
del(17p) n(%)				
Non	350 (100,0)	675 (92,2)	76 (81,7)	<0,001
Oui	0 (0,0)	57 (7,8)	17 (18,3)	
t(14;16) n(%)				
Non	350 (100,0)	727 (98,8)	88 (95,7)	0,003
Oui	0 (0,0)	9 (1,2)	4 (4,3)	
LDH en dessous de la limite normale supérieure n(%)				
Non	0 (0,0)	207 (28,1)	60 (63,8)	<0,001
Oui	350 (100,0)	529 (71,9)	34 (36,2)	
Meilleure Réponse				
Réponse complète stringente (SCR)	88 (25,1)	209 (28,4)	25 (26,6)	0,733
Réponse complète (CR)	63 (18,0)	107 (14,5)	14 (14,9)	
Très bonne réponse partielle (VGPR)	124 (35,43)	275 (37,4)	38 (40,4)	
Réponse partielle (PR)	71 (20,3)	136 (18,5)	15 (16,0)	
Maladie progressive (MS)	4(1,1)	9 (1,0)	2 (2,1)	
Progression n(%)				
Non	114 (32,6)	227 (30,8)	15 (16,0)	0,006
Oui	236 (67,4)	509 (69,2)	79 (84,0)	
Décès n(%)				
Non	251 (71,7)	456 (62,0)	40 (42,6)	<0,001
Oui	99 (28,3)	280 (38,0)	54 (57,4)	

*Myélomes non sécrétant et à IgM exclus de la comparaison

Tableau 20 : Comparaison des caractéristiques des patients en fonction de leur stade R-ISS.

3. Etude comparative de la PFS et l'OS

Tous statuts confondus, la PFS 5 ans après le diagnostic était de 29,5 %, la PFS médiane des patients était de 35,9 mois (IQR [19-71]). L'OS 5 ans après le diagnostic était de 74,3 %, l'OS médiane des patients était de 121 mois (IQR [58,8-NR]) (cf Tableau 21 : Description globale de la PFS et de l'OS dans la population étudiée.).

	PFS		OS	
Patients censurés n(%)	N=1180		N=1180	
Progression (PFS) ou Décès (OS) n(%)	306 (25,9)		749 (63,5)	
	874 (74,1)		431 (36,5)	
Survival Time points	Evènements cumulatifs	Pourcentages de survie (ET)	Evènements cumulatifs	Pourcentages de survie (ET)
12 mois	169	85,6 (1,0)	37	96,9 (0,5)
24 mois	227	66,1 (1,4)	90	92,3 (0,8)
36 mois	181	49,9 (1,5)	150	87,0 (1,0)
48 mois	119	37,5 (1,5)	206	81,1 (1,2)
60 mois	73	29,5 (1,4)	265	74,3 (1,4)
72 mois	43	24,6 (1,4)	326	67,2 (1,5)
84 mois	27	20,9 (1,3)	367	62,3 (1,6)
96 mois	23	16,2 (1,4)	405	56,6 (1,7)
108 mois			415	54,4 (1,8)
120 mois			426	50,3 (2,0)
Médiane [IQR] (mois)	35,9 [19,2 ; 70,9]		121,0 [58,8 ; NR]	
Médiane (95 % CI) (mois)	35,9 (33,6 ; 38,4)		121,0 (109,8 ; NR)	
Suivi (méthode de Kaplan-Meier inversée)				
Médiane [IQR]	83,8 [62,9 ; 110,8]		93,6 [51,4 ; 110,8]	

Tableau 21 : Description globale de la PFS et de l'OS dans la population étudiée.

a) Selon l'ISS

ISS	Effectifs	Temps de survie (mois)					
		PFS			OS		
		25 %	50 %	75 %	25 %	50 %	75 %
ISS I	505	21,7	41,0	80,0	79,6	-	-
ISS II	465	16,6	34,7	70,5	55,3	100,7	-
ISS III	210	14,5	29,4	51,0	41,7	82,6	-
Total	1180	19,1	35,9	70,9	58,8	121,0	-

Tableau 22 : Temps de survie selon l'ISS.

La PFS médiane des patients est de 41 mois (IQR [22-80]) pour les patients classés ISS stade I au diagnostic, de 35 mois (IQR [17-71]) pour les stades II et de 29 mois (IQR [15-51]) pour les stades III.

L'OS médiane des patients était non atteinte (IQR [80-NR]) pour les patients classés ISS stade I au diagnostic, de 101 mois (IQR [55-NR]) pour les stades II et de 83 mois (IQR [42-NR]) pour les stades III.

	PFS					OS						
	HR	ET	z	P > z	[95 % CI]	HR	ET	z	P > z	[95 % CI]		
Age	1,00	0,00	-0,73	0,466	0,99	1,01	1,02	0,01	3,36	0,001	1,01	1,04
Sexe	0,78	0,05	-3,50	< 0,001	0,68	0,90	0,78	0,08	-2,49	0,013	0,64	0,95
ISS												
ISS II	1,23	0,09	2,66	0,008	1,06	1,43	1,78	0,20	5,07	< 0,001	1,43	2,23
ISS III	1,52	0,14	4,43	< 0,001	1,26	1,83	2,11	0,28	5,67	< 0,001	1,63	2,73

Tableau 23 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction de l'ISS selon un modèle de Cox multivarié.

Il existe une différence statistiquement significative que ce soit pour la PFS et l'OS entre les différents stades de l'ISS (voir Figure 16 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant la PFS (figure A) et l'OS (figure B) en fonction du stade ISS.). Les patients ISS stade II ont 1,2 fois plus de risque de progresser que les patients de stade I ($P = 0,008$) et les patients de stade III ont 1,5 fois plus de risque de progresser que les patients de stade I ($P < 0,001$). Le risque de décès est 1,8 fois plus élevé chez les patients de stade II par rapport au stade I ($P < 0,001$) et il est 2,1 fois plus élevé chez les patients de stade III par rapport au stade I ($P < 0,001$).

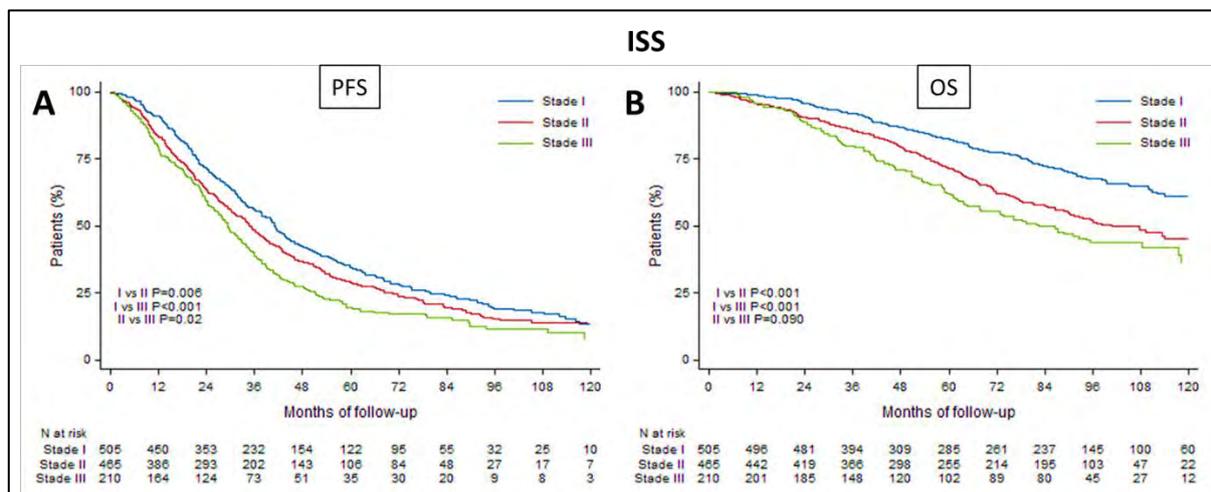


Figure 16 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant la PFS (figure A) et l'OS (figure B) en fonction du stade ISS.

b) Selon le R-ISS

R-ISS	Effectifs	Temps de survie (mois)					
		PFS			OS		
		25 %	50 %	75 %	25 %	50 %	75 %
R-ISS I	350	22,4	41,1	83,4	80,7	-	-
R-ISS II	736	18,4	35,6	69,7	55,5	113,2	-
R-ISS III	94	12,1	26,9	41,6	34,1	61,9	-
Total	1180	19,1	35,9	70,9	58,8	121,0	-

Tableau 24 : Temps de survie selon le R-ISS.

La PFS médiane des patients est de 41 mois (IQR [22-83]) pour les patients classés R-ISS stade I au diagnostic, de 36 mois (IQR [18-70]) pour les stades II et de 27 mois (IQR [12-42]) pour les stades III.

L'OS médiane des patients était non atteinte (IQR [81-NR]) pour les patients classés R-ISS stade I au diagnostic, de 113 mois (IQR [56-NR]) pour les stades II et de 62 mois (IQR [34-NR]) pour les stades III.

	PFS						OS					
	HR	ET	z	P > z	[95 % CI]		HR	ET	z	P > z	[95 % CI]	
Age	1,00	0,00	-0,75	0,455	0,99	1,01	1,02	0,01	3,30	0,001	1,01	1,04
Sexe	0,77	0,05	-3,72	< 0,001	0,67	0,88	0,76	0,08	-2,80	0,005	0,62	0,92
R-ISS												
R-ISS II	1,20	0,09	2,40	0,017	1,03	1,40	1,81	0,21	4,97	< 0,001	1,43	2,28
R-ISS III	1,83	0,23	4,70	< 0,001	1,42	2,35	3,00	0,52	6,35	< 0,001	2,14	4,21

Tableau 25 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction du R-ISS selon un modèle de Cox multivarié.

Il existe une différence statistiquement significative pour la PFS et l'OS entre les différents stades du R-ISS (Figure 17 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant la PFS (figure A) et l'OS (figure B) en fonction du stade R-ISS.). Les patients R-ISS stade II ont 1,2 fois plus de risque de progresser que les patients de stade I ($P = 0,017$) et les patients de stade III ont 1,8 fois plus de risque de progresser que les patients de stade I ($P < 0,001$). Le risque de décès est 1,8 fois plus élevé chez les patients de stade II par rapport au stade I ($P < 0,001$) et il est 3 fois plus élevé chez les patients de stade III par rapport au stade I ($P < 0,001$).

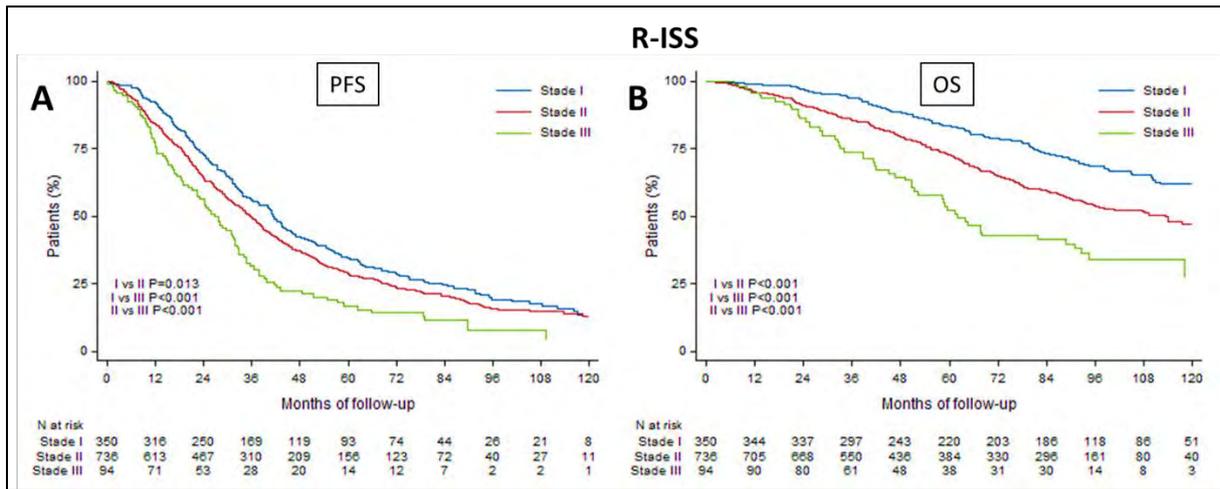


Figure 17 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant la PFS (figure A) et l'OS (figure B) en fonction du stade R-ISS.

c) Selon le couplage de l'ISS et du R-ISS

Pour cette analyse, cinq catégories ont été créées en fonction du stade de l'ISS et de l'ISS révisé selon le Tableau 26 : Reclassification des patients en fonction de la révision de l'ISS. ci-dessous.

Cent cinquante-cinq patients des 505 (31 %) ISS stade I au diagnostic sont reclassés en stade II selon la révision de l'ISS. Cent seize patients des 210 patients (55 %) ISS stade III au diagnostic sont reclassés en stade II selon la révision de l'ISS. Par définition de l'ISS révisé, les patients ISS stade II au diagnostic ne sont pas reclassés.

Stade ISS au screening	R-ISS I n (%)	R-ISS II n (%)	R-ISS III n (%)	Total
ISS-I	350 (69,3)	155 (30,7)	0 (0)	505
ISS-II	0 (0)	465 (100)	0 (0)	465
ISS-III	0 (0)	116 (55,2)	94 (44,8)	210
Total	350 (29,7)	736 (62,4)	94 (7,97)	1180

Tableau 26 : Reclassification des patients en fonction de la révision de l'ISS.

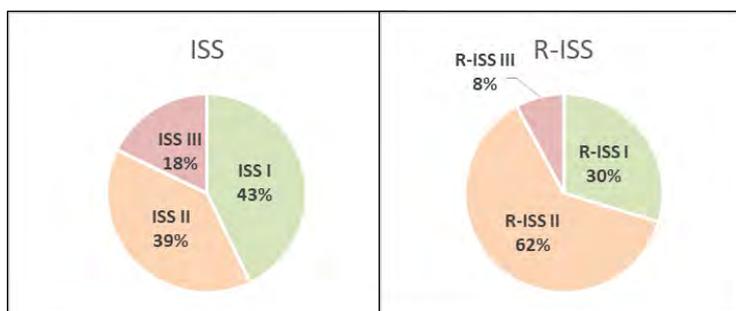


Figure 18 : Répartition des patients selon les scores ISS et R-ISS.

Couples ISS/R-ISS	Effectifs	Temps de survie (mois)					
		PFS			OS		
		25 %	50 %	75 %	25 %	50 %	75 %
ISS I & R-ISS I	350	22,4	41,1	83,4	80,7	-	-
ISS I & R-ISS II	155	20,5	40,1	79,8	73,8	-	-
ISS II & R-ISS II	465	16,6	34,7	70,5	55,3	100,7	-
ISS III & R-ISS II	116	18,1	33,2	53,1	53,1	108,4	-
ISS III & R-ISS III	94	12,1	26,9	41,6	34,1	61,9	-
Total	1180	19,1	35,9	70,9	58,8	121,0	-

Tableau 27 : Temps de survie selon les couples ISS/R-ISS.

	PFS					OS						
	HR	ET	z	P > z	[95 % CI]	HR	ET	z	P > z	[95 % CI]		
Age	1,00	0,00	-0,85	0,396	0,99	1,01	1,02	0,01	3,25	0,001	1,01	1,04
Sexe	0,78	0,05	-3,56	0,000	0,68	0,89	0,76	0,08	-2,72	0,006	0,62	0,93
ISS couple												
ISS I & R-ISS II	1,02	0,13	0,14	0,893	0,80	1,29	1,36	0,26	1,57	0,115	0,93	1,99
ISS II & R-ISS II	1,23	0,10	2,51	0,012	1,05	1,45	1,93	0,24	5,20	<0,001	1,50	2,46
ISS III & R-ISS II	1,32	0,16	2,27	0,023	1,04	1,69	1,82	0,32	3,44	0,001	1,29	2,56
ISS III & R-ISS III	1,83	0,23	4,71	<0,001	1,42	2,35	3,00	0,52	6,36	<0,001	2,14	4,21

Tableau 28 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction du couple ISS/R-ISS selon un modèle de Cox multivarié.

Les patients ISS stade I & ISS révisé stade II n'ont pas plus de risque de progresser que les patients ISS stade I & ISS révisé stade I ($P = 0,893$). De même, ils n'ont pas plus de risque de décéder que les patients ISS stade I & ISS révisé stade I ($P = 0,115$). La dichotomisation cette catégorie ne permet pas de mieux prédire la PFS ni l'OS. Comparativement aux patients ISS stade I et ISS révisé stade I, les autres groupes (à l'exception du stade I & ISS révisé stade II) ont une PFS et une OS plus péjoratives.

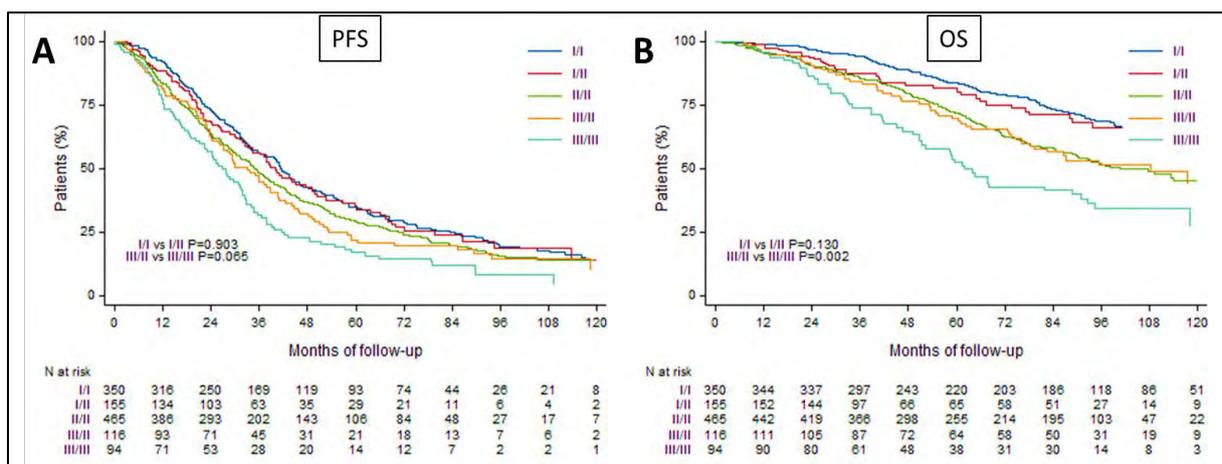


Figure 19 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant la PFS (figure A) et l'OS (figure B) en fonction du couple ISS/R-ISS.

Les patients ISS stade III & ISS révisé stade II ont un meilleur pronostic de survie que les patients classés ISS stade III & ISS révisé stade III ($P = 0,002$).

4. Etude du stade R-ISS II

Dans cette partie, seuls les patients classés dans le stade R-ISS II ont été étudiés, en faisant l'hypothèse que ce sous-groupe n'est pas homogène et que les patients ayant une anomalie cytogénétique auront dans ce sous-groupe une PFS différente des patients n'ayant pas d'anomalie cytogénétique. Seront étudiés les sous-groupes Haut risque/Risque standard, les patients avec ou sans délétion 17p, les patients avec ou sans translocation (4;14) et enfin les patients avec un taux de LDH anormal ou non.

Facteurs de risque	Effectifs	Temps de survie (mois)					
		PFS			OS		
		25 %	50 %	75 %	25 %	50 %	75 %
Anomalies cytogénétiques							
Risque standard	585	19,8	37,9	73,3	63,0	121,0	-
Haut risque	151	14,0	26,0	52,6	32,1	67,6	-
<i>Total</i>	<i>736</i>	<i>18,4</i>	<i>35,6</i>	<i>69,7</i>	<i>55,5</i>	<i>113,2</i>	-
t(4;14)							
Non	642	19,1	36,8	70,9	59,5	117,4	-
Oui	91	14,1	26,5	53,7	35,4	71,1	-
<i>Total</i>	<i>733</i>	<i>18,5</i>	<i>35,4</i>	<i>69,1</i>	<i>55,5</i>	<i>113,2</i>	-
del(17p)							
Non	675	19,2	37,2	70,9	59,8	114,0	-
Oui	57	11,8	21,9	37,8	29,3	54,0	-
<i>Total</i>	<i>732</i>	<i>18,6</i>	<i>35,8</i>	<i>69,7</i>	<i>56,2</i>	<i>113,2</i>	-
LDH normales							
Non	207	19,3	39,7	69,7	57,4	122,3	-
Oui	529	17,7	34,3	68,3	55,3	107,7	-
<i>Total</i>	<i>736</i>	<i>18,4</i>	<i>35,6</i>	<i>69,7</i>	<i>55,5</i>	<i>113,2</i>	-

Tableau 29 : Temps de survie en fonction du risque (standard ou haut risque), de la t(4;14), de la del(17p) et du taux de LDH.

Dans le sous-groupe des patients de stade II selon l'ISS révisé, la médiane de PFS était de 37 mois s'il n'y avait pas d'anomalie cytogénétique et de 26 mois en présence d'au moins une anomalie del(17p), t(4;14) ou t(14;16). L'OS médiane était de 121 mois s'il n'y avait pas d'anomalie cytogénétique et de 68 mois en présence d'au moins une anomalie del(17p), t(4;14) ou t(14;16).

Les PFS médianes pour les patients avec une t(4;14), une del(17p) et des LDH anormales sont respectivement de 27, 22 et 40 mois. Les OS médianes sont de 71 et 122 mois pour les patients avec une t(4;14) et des LDH élevées respectivement. L'OS médiane des patients atteints de del(17p) est bien plus faible avec une valeur de 54 mois.

	PFS						OS					
	HR	ET	z	P > z	[95 % CI]		HR	ET	z	P > z	[95 % CI]	
Age	1,00	0,01	0,20	0,839	0,99	1,01	1,02	0,01	1,93	0,053	1,00	1,04
Sexe	0,76	0,07	-3,02	0,002	0,64	0,91	0,75	0,09	-2,36	0,018	0,58	0,95
Anomalies cytogénétiques	1,43	0,15	3,38	0,001	1,16	1,76	2,15	0,29	5,69	< 0,001	1,65	2,80

Tableau 30 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction des anomalies cytogénétiques selon un modèle de Cox multivarié.

Dans le sous-groupe des patients de stade II selon l'ISS révisé, le fait d'avoir une anomalie cytogénétique multiplie par 1,4 le risque de progression et par 2,1 le risque de décès. Ces différences sont statistiquement significatives après ajustement sur l'âge et le sexe et la prise en compte des différents traitements.

	PFS						OS					
	HR	ET	z	P > z	[95 % CI]		HR	ET	z	P > z	[95 % CI]	
Age	1,00	0,01	0,48	0,629	0,99	1,02	1,02	0,01	2,23	0,026	1,00	1,04
Sexe	0,74	0,07	-3,33	0,001	0,62	0,88	0,71	0,09	-2,69	0,007	0,56	0,91
t(4;14)	1,37	0,18	2,43	0,015	1,06	1,78	2,06	0,34	4,42	< 0,001	1,50	2,84

Tableau 31 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction de la t(4;14) selon un modèle de Cox multivarié.

Dans le sous-groupe des patients de stade II selon l'ISS révisé, le fait d'avoir une t(4;14) augmente significativement le risque de progression (HR : 1,4 ; $P = 0,001$) et le risque de décès (HR : 2,1 ; $P < 0,001$).

	PFS						OS					
	HR	ET	z	P > z	[95 % CI]		HR	ET	z	P > z	[95 % CI]	
Age	1,00	0,01	0,23	0,817	0,99	1,01	1,02	0,01	2,12	0,034	1,00	1,04
Sexe	0,76	0,07	-2,99	0,003	0,64	0,91	0,77	0,10	-2,13	0,033	0,60	0,98
del(17p)	1,55	0,24	2,81	0,005	1,14	2,11	2,14	0,40	4,03	< 0,001	1,48	3,10

Tableau 32 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction de la del(17p) selon un modèle de Cox multivarié.

Dans le sous-groupe des patients R-ISS II, le fait d'avoir une del(17p) multiplie par 1,6 le risque de progression ($P = 0,005$). Cette différence est statistiquement significative après ajustement sur l'âge et le sexe et la prise en compte des différents traitements. Le risque de décès est multiplié quant à lui par 2,1 ($P < 0,001$).

	PFS					OS						
	HR	ET	z	P > z	[95 % CI]	HR	ET	z	P > z	[95 % CI]		
Age	1,00	0,01	0,32	0,751	0,99	1,01	1,02	0,01	2,28	0,023	1,00	1,04
Sexe	0,77	0,07	-2,97	0,003	0,64	0,91	0,75	0,09	-2,29	0,022	0,59	0,96
LDH normales	1,10	0,11	0,97	0,333	0,91	1,34	1,09	0,16	0,61	0,540	0,82	1,46

Tableau 33 : Comparaison de la PFS et de l'OS en fonction du taux de LDH selon un modèle de Cox multivarié.

Dans le sous-groupe des patients R-ISS II, le taux élevé ou normal de LDH n'a pas d'impact sur la PFS ni sur l'OS.

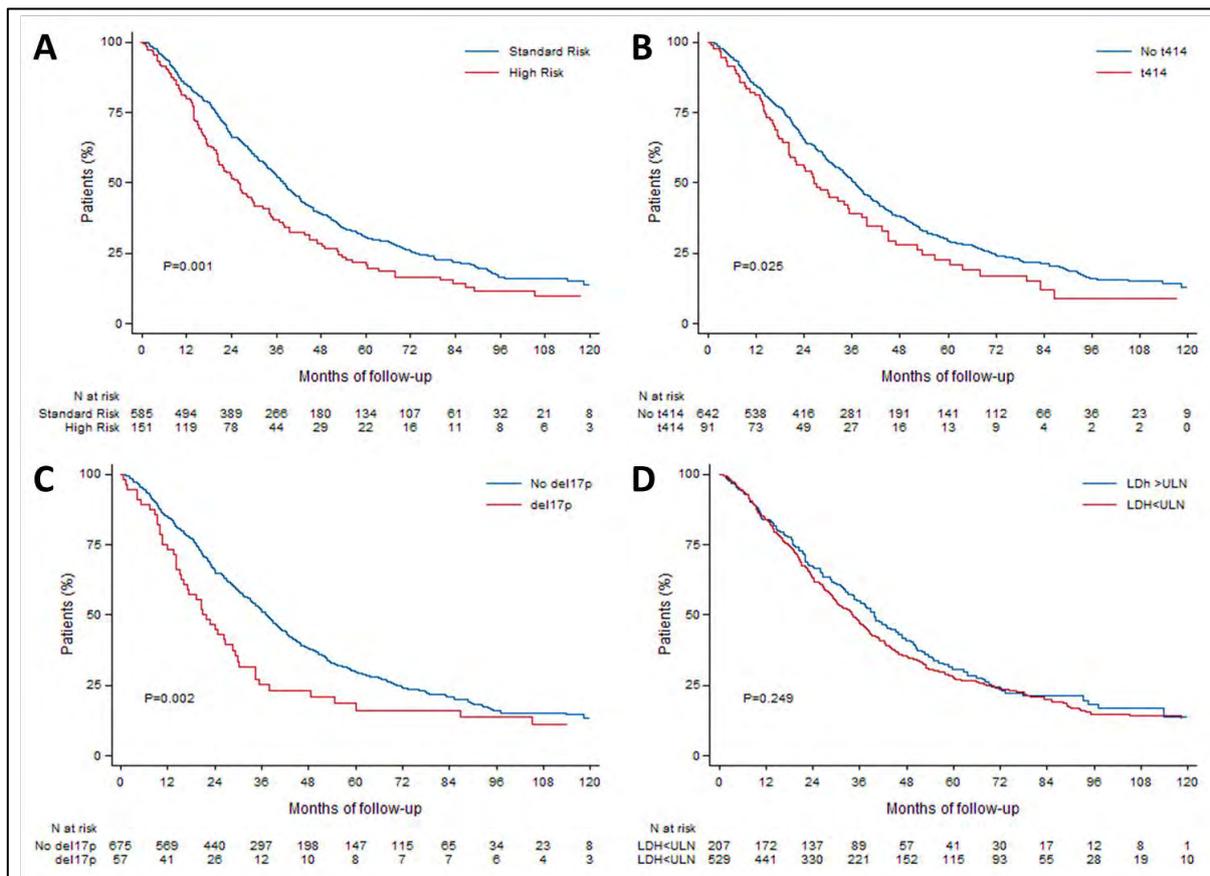


Figure 20 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant la PFS en fonction du risque cytogénétique (Risque standard vs Haut risque) (figure A), de la t(4;14) (figure B), de la del(17p) (figure C) et du taux de LDH (figure D).

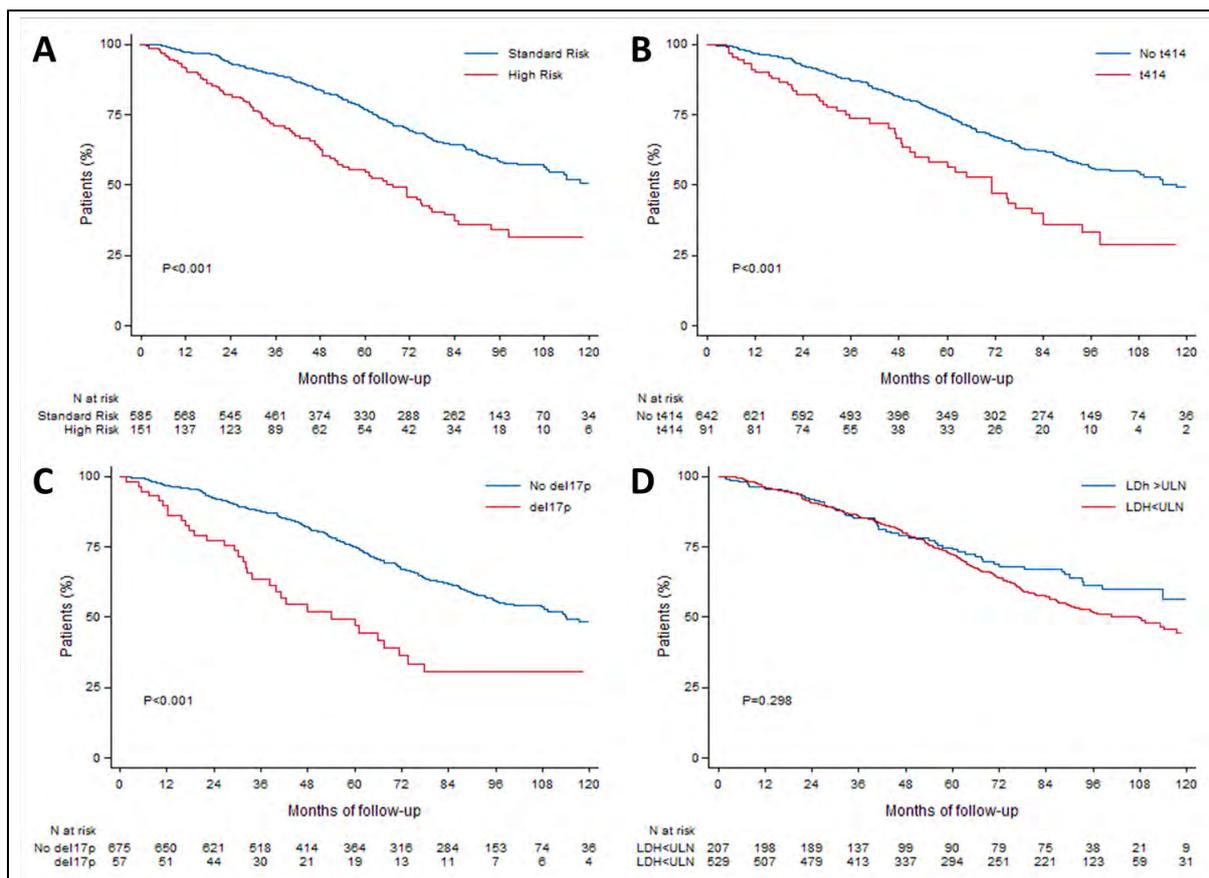


Figure 21 : Courbes de survie de Kaplan-Meier représentant l'OS en fonction du risque cytogénétique (Risque standard vs Haut risque) (figure A), de la t(4;14) (figure B), de la del(17p) (figure C) et du taux de LDH (figure D).

5. Capacité discriminante des différents modèles ajustés sur l'âge et le sexe

Modèles	Harrell C-Index (95 % CI)	
	PFS	OS
ISS	0,560 (0,539 ; 0,580)	0,611 (0,583 ; 0,639)
ISS révisé	0,558 (0,537 ; 0,579)	0,615 (0,587 ; 0,643)
ISS + anomalies cytogénétiques	0,582 (0,561 ; 0,603)	0,650 (0,622 ; 0,677)
ISS + anomalies cytogénétiques + LDH	0,582 (0,562 ; 0,603)	0,651 (0,623 ; 0,678)
ISS + del(17p)	0,575 (0,554 ; 0,595)	0,635 (0,607 ; 0,663)
ISS + del(17p) + LDH	0,575 (0,555 ; 0,596)	0,636 (0,608 ; 0,664)
ISS + t(4;14)	0,571 (0,550 ; 0,591)	0,631 (0,603 ; 0,659)
ISS + t(4;14) + LDH	0,571 (0,550 ; 0,591)	0,634 (0,605 ; 0,662)
ISS + del(17p) + t(4;14)	0,584 (0,563 ; 0,605)	0,655 (0,627 ; 0,682)
ISS + del(17p) + t(4;14) + LDH	0,584 (0,563 ; 0,605)	0,655 (0,627 ; 0,683)

Tableau 34 : C-index pour la PFS ou l'OS en fonction des différents modèles pronostiques.

Le R-ISS n'apporte pas de gain de prédiction par rapport à l'ISS seul (C-index de 0,558 et 0,560 respectivement pour la PFS ; et de 0,611 et 0,615 pour l'OS).

Pour la prédiction de la PFS et pour la prédiction de l'OS, il n'y a aucun gain prédictif apporté par le fait d'avoir une valeur de LDH supérieure à la limite supérieure de la borne de normalité au moment du diagnostic.

Le R-ISS a un indice de discrimination plus faible qu'un modèle incluant séparément la valeur de l'ISS et des anomalies cytogénétiques. Dans la construction du R-ISS, il n'y a que trois groupes basés sur la combinaison de l'ISS, de la cytogénétique et du taux de LDH. Dans le modèle ISS + cytogénétique + LDH, les risques de ces trois facteurs sont calculés indépendamment les uns des autres et pour un patient donné puis additionnés pour estimer le risque global. Il en résulte 12 classes de risque indépendantes (Tableau 35 : Classes de risque du modèle ISS + cytogénétique + LDH.) contre 3 pour le R-ISS.

Modèle ISS + Cytogénétique + LDH	
1 ^{ère} classe	ISS I + Cytogénétique SR + LDH normales
2 ^{ème} classe	ISS I + Cytogénétique SR + LDH élevées
3 ^{ème} classe	ISS I + Cytogénétique HR + LDH normales
4 ^{ème} classe	ISS I + Cytogénétique HR + LDH élevées
...	...
12 ^{ème} classe	ISS III + Cytogénétique HR + LDH élevées

Tableau 35 : Classes de risque du modèle ISS + cytogénétique + LDH.

Combiner les 3 facteurs dans le R-ISS constitue une perte de la précision dans l'estimation du pronostic du patient.

IV. DISCUSSION

Cette étude est la première étude multicentrique européenne à grande échelle (1180 patients analysés). A notre connaissance, cinq études ont déjà été publiées sur l'évaluation du R-ISS : trois en Asie, une étude monocentrique grecque et une étude hispano-américaine sur 134 patients[80]–[84].

Dans notre étude, l'ISS permettait de distinguer la PFS significativement les différents stades (I vs. II : $P = 0,006$; I vs. III : $P < 0,001$; II vs. III : $P = 0,02$). La différence d'OS était significative entre les stades I et les stades II et III ($P < 0,001$) mais il n'y avait pas de différence significative entre l'ISS II et l'ISS III ($P = 0,090$). Le R-ISS permettait de différencier significativement la PFS et l'OS entre les 3 stades. Les PFS médianes étaient légèrement inférieures par rapport à l'étude *princeps* (stades R-ISS I, II, et III : 41, 36 et 27 mois vs. 66, 42 et 29 mois). *A contrario*, les OS étaient plus longues (NR, 113 et 62 mois pour les stades R-ISS I, II et III dans notre étude ; NR, 83 et 43 mois pour Palumbo et al.)[51].

Une étude japonaise a évalué la pertinence du R-ISS dans la pratique clinique sur 718 patients recevant différentes modalités de traitement et l'a comparé à l'ISS[80]. Le pourcentage de patients atteignant une réponse complète était significativement plus élevé chez les patients classés en ISS stade I que chez les stades ISS II et ISS III ; il n'a pas été observé de différence significative entre les stades

du R-ISS. Sans surprise, le type de traitement était plus prédictif sur la réponse clinique que n'importe quel score avec une meilleure survie pour les patients éligibles à l'intensification thérapeutique. L'étude confirmait également qu'une MRD négative est le plus puissant facteur pronostique sur la survie globale. Le stade II du score R-ISS comprenait beaucoup de patients et le pronostic était variable au sein de cette population. De plus, même si le R-ISS différenciait bien les patients au stade I, ceci était moins vrai pour les stades II et III dont la différence en terme de survie était moins significative pour les patients passant par l'autogreffe ($P = 0,033$). Ceci est imputé dans l'étude à l'amélioration du pronostic des patients classés en R-ISS III grâce aux nouveaux traitements.

La construction du score R-ISS comporte un biais de sélection, malheureusement souvent présent dans les études. Les patients recrutés avaient un âge moyen inférieur à la population réelle. Soixante pour cent des patients inclus ont été greffés et la plupart avaient moins de 65 ans. De plus, 66 % des patients ont bénéficié d'IMiDs et seulement 44 % ont eu un IP[51]. Or nous savons maintenant que le bortézomib a considérablement amélioré les résultats cliniques des patients atteints de t(4;14)[81]. De plus, le bortézomib a montré un effet positif sur l'insuffisance rénale, qui bénéficie aux patients qui ont un taux de $\beta 2$ -microglobuline élevé appartenant au score R-ISS III. Dans l'étude d'Abe et al., le R-ISS faisait moins bien que le score ISS et n'était pas assez performant pour distinguer les stades II des stades III, en témoigne l'absence de différence significative entre leurs OS médianes (63,4 mois vs. 54,7 mois, $P = 0,32$). Les auteurs ont ensuite reclassé les patients en trois stades en ne considérant pas la t(4;14) comme une anomalie cytogénétique de haut risque (R-ISS modifié) et ont obtenu des survies globales significativement différentes entre les stades II et III (63,6 mois vs. 38,1 mois, $P = 0,004$) (Annexe 3). Ceci leur a permis d'incriminer la t(4;14) pour expliquer la performance médiocre du score R-ISS dans leur cohorte.

Les études de Kastritis et al.[83] et de Chen et al.[82] ont montré que le R-ISS permettait de bien distinguer trois groupes de patients et ont ainsi conclu à une bonne performance du R-ISS. La Mayo Clinic a étudié la validité du score R-ISS sur une cohorte de 134 patients traités avec les nouveaux agents et ayant bénéficié d'une autogreffe (population similaire à la nôtre)[84]. Leur conclusion sur le score est plus positive que l'étude d'Abe et al avec des OS significativement différentes entre les trois stades bien que les patients classés en R-ISS I ou R-ISS II avaient une PFS globalement similaire. Cependant, les auteurs mettent l'accent sur l'existence d'une hétérogénéité dans le stade II du score R-ISS. En effet, les patients R-ISS II sans anomalies cytogénétiques ont des résultats cliniques bien meilleurs que les patients avec anomalies cytogénétiques. Cette disparité n'est pas surprenante compte-tenu de la multitude de catégories répondant à la définition du stade II du R-ISS.

Nous avons également remarqué une hétérogénéité du stade R-ISS II dans notre travail. Soixante-deux pour cent des patients appartenaient à cette classe ce qui laissait présager une variabilité plus élevée dans ce sous-groupe. En effet, la comparaison des PFS et des OS en fonction des nouveaux critères R-ISS a mis en évidence des pronostics différents en fonction de la cytogénétique, avec des risques de décès significativement plus élevés chez les patients stade II avec une del(17p), une t(4;14), ou n'importe laquelle des anomalies de haut risque du score ; les hazard-ratios étaient tous de l'ordre de 2 et les p-values inférieures à 0,001. En revanche, il n'a pas été relevé de différence significative entre les patients R-ISS II avec des LDH normales ou anormales. Cela conforte l'hypothèse selon laquelle les anomalies cytogénétiques ont le plus fort impact pronostique.

Pour aller plus loin, nous avons comparé les taux de concordance entre survie estimée et survie observée entre l'ISS et le R-ISS. Le R-ISS ne faisait pas mieux que l'ISS pour la discrimination des patients (C-index de Harrell comparables). Ceci avait déjà été démontré dans l'étude de Perrot et al. où le C-index du R-ISS était légèrement inférieur à celui de l'ISS (0,55 ; CI95[0,49 ; 0,62] vs. 0,56 ; CI95[0,49 ; 0,63])[79]. Le fait d'attribuer le même poids à chacun des critères entrant dans la définition du score R-ISS, sans considérer des associations qui peuvent être encore plus délétères sur le pronostic et de combiner le tout en 3 classes provoque une perte de la précision de l'estimation. Lorsque l'on calcule le risque pour chaque critère et pour chaque patient indépendamment les uns des autres, nous obtenons 12 classes de risque avec une meilleure concordance entre l'estimation du pronostic et les résultats réels pour chaque patient donné.

Malheureusement, les données des anomalies cytogénétiques autres que la del(17p) et la t(4;14) étaient insuffisantes dans notre cohorte pour pouvoir comparer le R-ISS au score LP, développé uniquement à partir d'anomalies cytogénétiques, au nombre de 6. L'étude pourra être complétée sur des patients issus d'études plus récentes pour lesquels une analyse NGS a été effectuée. Les premières comparaisons réalisées dans l'article publié sur la validation de ce nouveau score pronostique montraient une performance bien meilleure du score LP avec un C-index atteignant la valeur de 0,70 contre seulement 0,55 pour le R-ISS.

Dans notre étude, le pourcentage de t(14;16) était de 1,1 % alors que sa fréquence atteint les 3 % chez les patients atteints de MM. Cette différence peut être due d'une part à un biais de recrutement. En effet, dans l'étude IFM 2005-02 (qui représente 34 % des patients analysés), un des critères de recrutement était une créatininémie inférieure à 160 $\mu\text{mol/L}$ alors que dans notre étude descriptive (cf Partie IV : Etude descriptive de la translocation t(14;16)), la créatininémie moyenne était supérieure chez les patients atteints de t(14;16). D'autre part, dans les études IFM 2005-02 et 2014, la t(14;16) n'était pas à relever *per* protocole donc il est possible que certains patients n'aient pas été testés spécifiquement pour cette translocation. Par contre, il existait une variable « anomalie cytogénétique autre » dans laquelle l'existence d'une t(14;16) pouvait être renseignée en commentaire. Dans l'étude 2009, la t(14;16) était systématiquement relevée. Il existe donc un biais d'information car les données n'ont pas été collectées de la même façon.

L'évaluation du score a porté uniquement sur des patients jeunes bénéficiant pour la plupart d'une intensification thérapeutique suivie d'une autogreffe. Cela constitue la limite majeure de notre étude, le MM étant principalement une pathologie du sujet âgé. Une étude sur les patients âgés devra être réalisée pour compléter l'analyse. De plus, seuls les patients nouvellement diagnostiqués ont été étudiés ici. Il pourrait être intéressant de faire la même évaluation sur les patients en rechute.

Pour résumer sur cette partie, le score R-ISS a une performance médiocre pour estimer le pronostic des patients. Malgré sa capacité à distinguer 3 classes de patients de manière significative, l'intégration des LDH et de trois anomalies cytogénétiques n'a pas apporté de valeur pronostique supplémentaire à l'ISS.

Partie IV : Etude descriptive de la translocation t(14;16)

I. INTRODUCTION

La translocation t(14;16), qui implique la voie du gène *MAF*, est présente chez 3 à 4 % des patients atteints de MM au diagnostic. Cette faible fréquence rend son étude plus délicate car le recrutement des patients est long pour avoir des cohortes suffisamment grandes. La révision du score ISS en 2015 a rendu la recherche de cette translocation indispensable puisqu'elle a été intégrée dans les critères cytogénétiques de haut risque. Cependant, l'impact pronostique de la t(14;16) n'a jamais été prouvé de manière indépendante.

Grâce à la centralisation des analyses par NGS à l'Unité Génomique du Myélome (UGM) de la plupart des diagnostics de MM en France, nous avons accès à des informations exhaustives sur le profil génétique et moléculaire des plasmocytes malins d'un grand nombre de patients.

L'objectif de ce travail est de décrire les anomalies cytogénétiques et les mutations associées à la t(14;16) et de les comparer aux patients dépourvus de t(14;16). Cette étude descriptive a pour finalité d'améliorer nos connaissances sur les caractéristiques de ce sous-groupe de patients mais aussi d'obtenir des pistes sur les raisons du poids pronostique défavorable attribué à la t(14;16).

II. MATERIELS ET METHODES

1. Patients et méthodes

Nous avons étudié les données cliniques et biologiques de notre base de patients pour lesquels une analyse NGS a été effectuée. Les dates d'analyse s'étendent de 2012 à 2020. Les échantillons sont transmis à l'UGM à Toulouse par des centres de tout le pays. Ces analyses sont prescrites sur suspicion de myélome ou de rechute de myélome connu. L'UGM récupère *a posteriori* les courriers des cliniciens pour renseigner dans la base le diagnostic final retenu. La cohorte comprend 2023 patients toutes pathologies plasmocytaires confondues (myélome multiple, plasmocytome, myélome indolent, MGUS, leucémie à plasmocytes, POEMS, amylose) (voir Tableau 36 : Distribution des statuts dans la cohorte de patients.). Le diagnostic de myélome multiple a été confirmé par courrier clinique pour 817 patients. Pour ces patients, les échantillons de moelle osseuse ont été prélevés au diagnostic avant initiation d'un traitement.

Les plasmocytes ont été isolés de la moelle osseuse grâce à un tri immunomagnétique reposant sur l'expression du CD138 (Miltenyi Biotec, Paris, France). La pureté des échantillons a été vérifiée par coloration de May-Grünwald-Giemsa et analyse cytologique sur cytopspin : seuls les échantillons avec 70 % ou plus de plasmocytes étaient analysés par la suite.

Statuts (n = 2023)	
	Pourcentages (n)
MGUS	8,2 % (166)
SMM	6,6 % (134)
Diagnostic myélome	40,4 % (817)
Suivi myélome	0,4 % (8)
Rechute myélome	13,6 % (275)
Leucémie à plasmocytes	3,9 % (78)
Plasmocytome	0,7 % (15)
Amylose	3,6 % (73)
POEMS	0,1 % (3)
Randall	0,2 % (4)
Non renseigné	22,2 % (450)

Tableau 36 : Distribution des statuts dans la cohorte de patients.

Un panel de séquençage ciblé a permis l'analyse de tous nos échantillons plasmocytaires. Tous les patients inclus ont donné leur consentement signé pour ces analyses génétiques conformément à la Déclaration d'Helsinki. Le panel NGS couvre les 246 gènes mutés d'intérêt les plus récurrents du MM, 2358 SNP dispersés au hasard sur le génome pour l'analyse du nombre de copies et toutes les séquences IGH, IGK et IGL pour identifier les translocations impliquées. Pour le séquençage, les librairies ont été préparées avec le kit d'enrichissement SureSelect QXT pour séquençage multiplexé Illumina d'Agilent. Le séquençage a été réalisé sur NextSeq500 Illumina. Pour l'analyse bio-informatique, les données de séquençage ont d'abord été alignées sur le génome de référence Ensembl GRCh38 en utilisant BWA avec l'annotation de gènes Ensembl. Les données alignées ont été préparées pour l'appel de mutations suivant le pipeline GATK standard de Broad Institute, et les mutations ont ensuite été appelées en utilisant MuTect2, avec annotation de mutations supplémentaires à partir des bases de données Cosmic, dbSNP, Clinvar et Exac. Les variations du nombre de copies ont été appelées à l'aide du logiciel CNVkit adapté pour identifier ce type de variations dans des données de séquençage ciblé. Enfin, les translocations ont été identifiées à l'aide de SVDetect.

Grâce à cette technique, nous avons obtenu pour chaque patient leur profil mutationnel, toutes les anomalies du nombre de copies (gains et pertes) ainsi que les translocations impliquant la région 14q32.

2. Analyses statistiques

La comparaison des patients a été faite en deux étapes. Dans un premier temps, nous avons comparé les patients porteurs de la translocation t(14;16) versus les patients exempts de t(14;16) (patients contrôles) pour tous les diagnostics confondus. Puis dans un second temps, nous nous sommes focalisés uniquement sur les patients nouvellement diagnostiqués de myélome multiple (NDMM ou Newly Diagnosed Multiple Myeloma) en confrontant les patients atteints t(14;16) versus les patients contrôles.

Pour les échantillons supérieurs à 30 patients, l'âge, les taux d'albumine et de β 2-microglobuline sérique (S β 2M) et le nombre de chromosome ont été comparés grâce à un test Z de comparaison des moyennes. Pour les échantillons inférieurs à 30 patients, ces mêmes paramètres ont été comparés avec un test t de Student de comparaison des moyennes en ayant admis la normalité des distributions et après avoir vérifié l'égalité des variances par le test de Fisher. Les pourcentages d'expression de mutations, d'anomalies de nombre de copies ou de translocations ont été comparés entre les groupes grâce au test du Chi-2. De même, les distributions des scores ISS et la répartition homme/femme ont été évaluées avec un test du Chi-2.

Les tests étaient bilatéraux et une p-value strictement inférieure à 0,05 était considérée comme significative. Tous les tests statistiques ont été effectués en utilisant le logiciel GraphPad Prism version 8.01.

III. RESULTATS

Parmi les 2023 patients de la base, 3,76 % des patients portent une t(14;16) (76 patients sur 2023). Concernant les patients NDMM, 3,55 % sont atteints de t(14;16) (29/817). Lorsque l'on examine les stades précédents le MM (MGUS et SMM), ce pourcentage est légèrement inférieur avec un taux de 2,67 % (8/300).

Les données qui sont présentées dans la partie suivante sont les résultats de l'analyse de la cohorte des patients tous statuts confondus. Les résultats concernant les patients NDMM sont globalement similaires à la comparaison de tous les patients. Les différences seront précisées ci-après. Toutes les analyses des patients NDMM sont récapitulées dans les annexes (page 100).

Les caractéristiques des patients sont résumées dans le Tableau 37 : Caractéristiques des patients (tous diagnostics confondus). ci-dessous. Le taux de S β 2M est significativement plus élevé chez les patients porteurs de la t(14;16) alors que le taux d'albumine est sensiblement le même. L'âge moyen des patients était significativement plus élevé chez les patients contrôles ($P = 0,02$). Le sex-ratio est celui attendu dans le groupe contrôle alors que les femmes sont surreprésentées chez les patients atteints de t(14;16).

Chez les patients NDMM, il n'y avait pas de différences significatives pour le taux de S β 2M et l'âge (Annexe 4). Les autres caractéristiques étaient sensiblement identiques à la cohorte entière.

	Patients contrôles			Patients t(14;16)			p-value
	Moyennes	[min-max]	n	Moyennes	[min-max]	n	
S β 2M (mg/L)	5,8	[1,0 ; 126,9]	1284	11,0	[1,2 ; 97,3]	59	<0,001 (***)
Albumine (g/L)	35,8	[2,2 ; 65,40]	1279	37,1	[2,6 ; 56,3]	57	0,21 (ns)
Age (ans)	66,1	[25 ; 94]	1947	62,9	[37 ; 85]	76	0,02 (*)
Nombre de chromosomes	48,1	[35 ; 64]	1946	45,7	[40 ; 58]	75	<0,001 (***)
	Pourcentages		n	Pourcentages		n	
Sexe							<0,001 (***)
Hommes	56,9 %		1108	31,6 %		24	
Femmes	43,1 %		839	68,4 %		52	

Tableau 37 : Caractéristiques des patients (tous diagnostics confondus).

Les répartitions des scores ISS ont ensuite été comparées. Dans le groupe contrôle, 23 % des patients présentent un score ISS III alors que ce pourcentage atteint les 47 % pour les patients porteurs d'une t(14;16) ($P < 0,001$), en raison du taux de $\beta 2$ -microglobuline plus élevé. Ceci concorde avec le mauvais pronostic attribué à la translocation t(14;16).

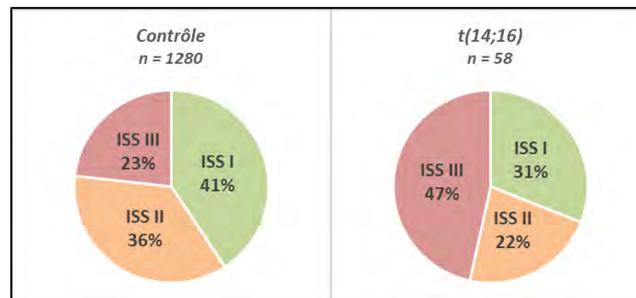


Figure 22 : Répartitions du score ISS entre les patients contrôles (sans t(14;16)) et les patients atteints de t(14;16) (tous diagnostics confondus).

Les principales anomalies de nombre (délétions, gains) et les translocations ont été analysées pour l'ensemble des patients. La distribution des translocations touchant le locus 14q32 (Tableau 38 : Translocations du locus 14q32.) est comparable à celle décrite dans la bibliographie[9]. La t(8;14) n'a pas été analysée du fait de la mise en évidence d'erreurs de fiabilité du pipeline d'analyse des données de séquençage au niveau de cette translocation.

Translocations du locus 14q32	
Pourcentages (n = 2023)	
t(4;14)	8,5 %
t(11;14)	25,6 %
t(14;16)	3,8 %
t(14;20)	1,3 %
t(6;14)	0 %
t(8;14)	Non analysée

Tableau 38 : Translocations du locus 14q32.

Les patients atteints de t(14;16) ont une incidence plus élevée de del(13) par rapport aux patients sans t(14;16) (81,6 % vs. 43,7 %, $P < 0,001$). De même, l'association avec la del(17p) est plus fréquente chez les patients avec une t(14;16) que l'on applique le seuil de positivité de 30 % (27,6 % vs. 9,0 %, $P < 0,001$) ou lorsque l'on se focalise sur un seuil de CCF strictement supérieur à 55 % (seuil pronostique) (25,7 % vs. 7,3 %, $P < 0,001$). A propos des anomalies affectant le chromosome 1, le pourcentage de délétion del(1p32) est plus élevé chez les patients t(14;16) de manière significative (17,1 % vs. 8,7 %, $P = 0,01$). Les gains, mais aussi les amplifications de la région 1q sont significativement plus élevés chez les patients t(14;16) que chez les patients du groupe contrôle (voir Tableau 39 : Pourcentages d'anomalies de nombre : comparaison des patients t(14;16) aux patients contrôles (tous

diagnostics confondus).). Enfin, le pourcentage de double-délétions (quel que soit le chromosome touché) est trois fois plus élevé chez les patients t(14;16) (21,1 % vs. 7,1 %, $P < 0,001$).

Le pourcentage de trisomie 5 ou gain(5p) est significativement inférieur chez le groupe atteints de t(14;16) par rapport au groupe contrôle (7,9 % vs. 33,5 %, $P < 0,001$).

En revanche, il n'a pas été relevé de différence significative pour la trisomie 21 ou le gain(21q).

	Patients contrôles		Patients t(14;16)		p-value
	Pourcentages de positifs (n = 1947)	Missing	Pourcentages de positifs (n = 76)	Missing	
del(13)	43,7 %	10	81,6 %	-	<0,001 (***)
del(17p)	9,0 %	-	27,6 %	-	<0,001 (***)
del(17p) > 55 %	7,3 %	11	25,7 %	2	<0,001 (***)
del(1p32)	8,7 %	4	17,1 %	-	0,01 (*)
Trisomie 5 ou gain(5p)	35,9 %	-	7,9 %	-	< 0,001 (***)
Trisomie 21 ou gain(21q)	20,6 %	-	17,1 %	-	0,46 (ns)
Gain(1q)	24,5 %	9	44,0 %	1	<0,001 (***)
Amp(1q) > 3 copies	4,3 %	9	18,7 %	1	<0,001 (***)
Gain(1q) et amp(1q) confondus	29,0 %	4	63,2 %	-	<0,001 (***)
Double délétions	7,1 %	-	21,1 %	-	<0,001 (***)

Tableau 39 : Pourcentages d'anomalies de nombre : comparaison des patients t(14;16) aux patients contrôles (tous diagnostics confondus).

Nous avons ensuite comparé les patients qui ne présentaient aucune des anomalies à risque suivantes : ni del(17p), ni gain(1q) ou amp(1q), ni del(1p32), ni del(13), ni double-délétions. Le pourcentage de patients sans les anomalies précédentes est bien plus élevé dans le groupe sans t(14;16) par rapport aux patients porteurs d'une t(14;16) (43,3 % vs. 5,3 %, $P < 0,001$). Rares sont les patients porteurs d'une t(14;16) isolée.

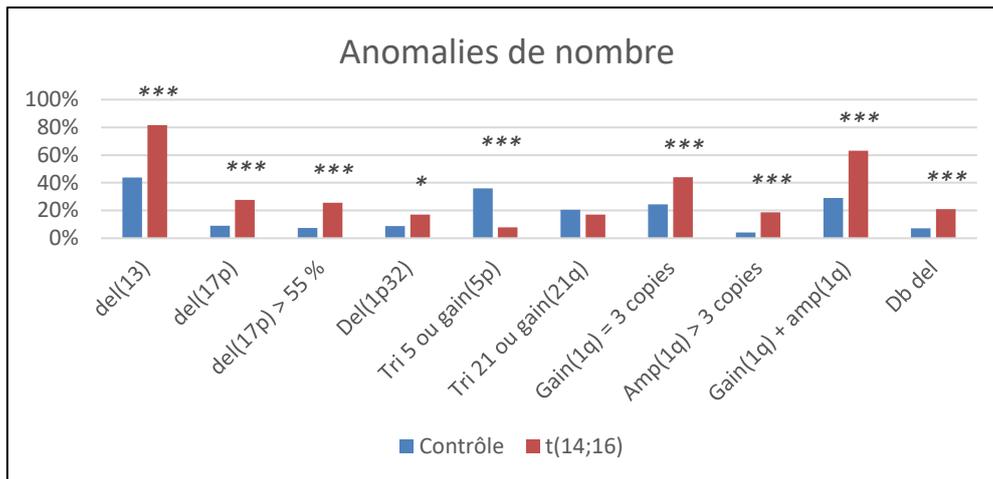


Figure 23 : Représentation graphique des anomalies de nombre (tous diagnostics confondus).

Les 15 principales mutations retrouvées dans le MM ont été recherchées. Les mutations sont rendues positives lorsque la fréquence du variant allélique dépassait les 10 %.

Les patients atteints de t(14;16) sont associés plus fréquemment et de manière significative à des mutations de *TP53* (14,5 % vs. 5,1 %, $P < 0,001$), de *DIS3* (27,6 % vs. 11,7 %, $P < 0,001$), de *TRAF3* (9,2 % vs. 4,1 %, $P = 0,03$) et de *CYLD* (6,6 % vs. 2,2 %, $P < 0,001$).

L'augmentation de l'expression de *KRAS* est à la limite de la significativité (26,3 % vs. 17,5 %, $P = 0,0496$).

Chez les patients NDMM, l'expression de *KRAS* n'était pas significativement différente entre les deux groupes (Annexe 8). A l'inverse, *BIRC2* est plus souvent mutée chez les patients NDMM atteints de t(14;16) (10,4 % vs. 0,6 %, $P < 0,001$) alors que la différence n'a pas pu être démontrée dans la cohorte entière (p-value légèrement supérieure à la limite de linéarité $P = 0,0512$).

	Patients contrôles		Patients t(14;16)		p-value
	Pourcentages de positifs (n = 1947)	Missing	Pourcentages de positifs (n = 76)	Missing	
TP53	5,1 %	-	14,5 %	-	<0,001 (***)
NRAS	15,2 %	-	7,9 %	-	0,08 (ns)
KRAS	17,5 %	1	26,3 %	-	0,0496 (*)
BRAF	5,8 %	1	10,5 %	-	0,09 (ns)
FAM46C	6,2 %	1	5,3 %	-	0,73 (ns)
DIS3	11,7 %	-	27,6 %	-	<0,001 (***)
ATM	21,9 %	-	30,3 %	-	0,08 (ns)
ATR	7,8 %	1	10,5 %	-	0,38 (ns)
MYC	9,2 %	3	6,6 %	-	0,43 (ns)
TRAF3	4,1 %	-	9,2 %	-	0,03 (*)
BIRC2	1,3 %	-	3,9 %	-	0,0512 (ns)
BIRC3	2,4 %	-	1,3 %	-	0,55 (ns)
CYLD	2,2 %	1	6,6 %	-	0,01 (*)
IRF4	4,1 %	-	2,6 %	-	0,52 (ns)
CRBN	1,3 %	-	2,6 %	-	0,32 (ns)

Tableau 40 : Pourcentages des 15 principales mutations : comparaison des patients t(14;16) aux patients contrôles (tous diagnostics confondus).

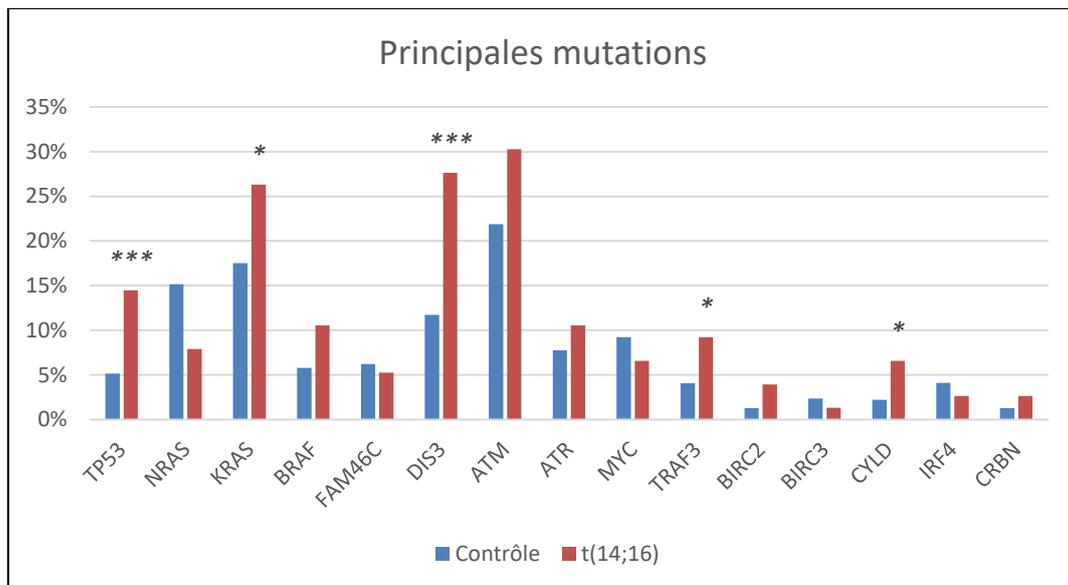


Figure 24 : Représentation graphique des principales mutations (tous diagnostics confondus).

IV. DISCUSSION

Cette étude descriptive a permis de comparer les patients atteints d'une t(14;16) à des patients chez qui cette translocation est indétectable (patients contrôles) sur une population relativement large. Du fait de la faible fréquence de cette anomalie, les études comprenant une population supérieure à 30 patients sont rares.

Nous avons mis en évidence une disparité sur la distribution de la t(14;16) entre les hommes et les femmes. En effet, la t(14;16) est plus fréquemment retrouvée chez les femmes que chez les hommes (5,8 % vs. 2,1 %, $P < 0,001$). Ceci avait déjà été décrit par Boyd et al.[85]. Dans cette étude, le pourcentage de t(14;16) chez les femmes était de 5,7 % contre 1,6 % chez les hommes ($P < 0,001$). Les translocations de la zone IGH sont plus fréquentes chez les femmes alors que l'hyperploïdie toucherait plus souvent les hommes. Le mécanisme sous-jacent n'a pas été établi, l'hypothèse émise serait l'influence des chromosomes sexuels ou encore le rôle des hormones et du microenvironnement sur les translocations de la zone IGH ou l'hyperdiploïdie. Les auteurs ont émis l'hypothèse que les mécanismes conduisant au développement du myélome seraient différents selon le sexe.

Dans notre étude, les anomalies de haut risque cytogénétique telles que la del(17p), le gain(1q), la del(1p32) ou la del(13) sont plus souvent retrouvées chez les patients atteints de t(14;16) par rapport aux patients contrôles.

La valeur pronostique péjorative attribuée à la t(14;16) pourrait être en réalité le résultat de la présence d'autres anomalies cytogénétiques de haut risque. En effet, dans la plupart des études de survie, les analyses sont réalisées de façon multimodale. Dans le cas de la t(14;16), il est difficile d'évaluer son poids pronostique de façon isolée du fait de sa faible fréquence. Pour cela, il faudrait comparer les patients atteints d'une t(14;16) isolée avec des patients porteurs de la t(14;16) associée à d'autres anomalies connues comme étant de haut risque. Ceci est difficile à réaliser car en pratique les effectifs sont trop faibles pour obtenir des études de puissance satisfaisante. L'étude de Mina et al.[86] a tenté une telle comparaison sur 123 patients nouvellement diagnostiqués porteurs de la t(14;16). La plupart du temps, l'anomalie n'était pas présente isolément mais associée à une del(13q), un gain(1q) ou une del(17p), tout comme dans notre population. Ces patients ont été comparés aux patients porteurs de la t(14;16) mais sans les trois anomalies cytogénétiques précédemment citées. Les patients arborant une t(14;16) associée aux anomalies ont une PFS significativement inférieure (17 mois vs. NR, $P = 0,04$). Malgré des survies moyennes globales inférieures pour le groupe t(14;16) avec anomalies associées, la différence n'était pas significative. Ceci est probablement dû à des effectifs trop faibles. Il aurait été intéressant de confronter les t(14;16) isolées aux patients exempts de t(14;16) et cela constitue l'une des limites majeures de cette étude. En outre, l'expression des anomalies cytogénétiques de haut risque n'a pas été comparée entre les t(14;16) et les patients sans t(14;16). La force de notre travail est que l'étude comparative a permis d'apporter la preuve d'une association claire entre la translocation t(14;16) et les anomalies cytogénétiques à pronostic défavorable. Seule une poignée de nos patients ($n = 4$) porte une t(14;16) isolément.

Sergentanis et al.[87] ont évalué le rôle pronostique des anomalies cytogénétiques seules ou associées grâce à une régression de Cox multivariée. Cette étude a démontré que la del(13), la t(4;14) et la del(17p) avaient un poids pronostique défavorable sur la survie et chacune de façon indépendante. L'IFM a pourtant démontré que la del(13) n'était pas un facteur indépendant[57] ; leur analyse a montré que la valeur pronostique de la del(13) était presque entièrement dépendante de son association fréquente avec la t(4;14) et la del(17p). L'association d'anomalies cytogénétiques de haut risque aggrave sans surprise ce pronostic. *A contrario*, la t(14;16) ainsi que la t(11;14), mais aussi le gain(1q) n'ont pas montré d'association avec l'OS.

A l'inverse, la trisomie 5, de bon pronostic, est moins représentée chez les patients t(14;16). Ceci n'est pas surprenant compte-tenu du fait que l'hyperdiploïdie et les translocations du locus 14q32 forment souvent deux entités distinctes dans le MM. Cette sous-représentation de la trisomie 5 est un argument de plus en faveur d'un environnement moléculaire propre à la t(14;16) de mauvais pronostic.

Cette piste doit être poursuivie car il y a fort à parier que le mauvais pronostic qui avait été attribué à la base à la t(14;16) en elle-même n'est peut-être que le fruit de son environnement cytogénétique. D'un point de vue moléculaire, le mécanisme expliquant le fort taux d'anomalies cytogénétiques dans les plasmocytes porteurs d'une t(14;16) reste à éclaircir.

Du point de vue des mutations, on ne connaît que très peu l'impact des mutations ponctuelles sur le pronostic des patients. Cela n'a pas encore été étudié en détail, compte-tenu de leur faible récurrence et du manque de recul. La mutation *TP53*, plus fréquente chez les patients t(14;16), confère aux patients porteurs d'une del(17p) un pronostic sombre (double-hit). Certaines mutations comme *IRF4* ou *EGR1* seraient de meilleur pronostic car la réponse aux IMiDs serait meilleure[88]. Cependant, aucune différence significative n'a été mise en évidence sur l'*IRF4* dans notre étude. A l'inverse, *ZFH4* aurait un impact négatif chez les patients recevant des IMiDs[88].

Le pourcentage de patients sans aucune des 15 mutations recherchées est plus élevé chez les patients sans t(14;16) que chez les patients avec une t(14;16) (29,2 % vs. 14,5 %, $P = 0,005$). A noter que certains papiers ont évoqué l'existence d'une relation inversement proportionnelle entre le nombre total de mutations et le pronostic[89].

Les données présentées au congrès international Controversies in Multiple Myeloma (COMy 2020) par Nikhil Munshi vont dans le même sens que nos résultats avec une fréquence très élevée de mutations chez les patients atteints de t(14;16). Le taux élevé de mutations est associé à des PFS et des OS moins longues ; ceci suggère une instabilité génomique qui aurait un rôle dans le comportement du MM.

L'impact des mutations est bien plus complexe à analyser que les anomalies cytogénétiques que nous connaissons déjà. En effet, la sensibilité du NGS permet de détecter des mutations de sous-clones du myélome multiple. Pour l'instant, nous avons encore du mal à prédire quels sont les facteurs qui influencent telle ou telle évolution clonale. De plus, le poids pronostique des mutations diffère en fonction des traitements proposés. Enfin, certaines mutations aujourd'hui considérées comme à risque seront peut-être demain des cibles thérapeutiques prometteuses. La valeur pronostique évoluera sûrement en parallèle de l'évolution des traitements.

Pour conclure sur cette partie, la description moléculaire des t(14;16) a permis de confirmer leur association avec des anomalies cytogénétiques de haut risque. Le séquençage NGS n'ayant été mis en place en pratique de routine que depuis 2019, le suivi clinique est insuffisant à l'heure actuelle pour déterminer le pronostic. La base continue d'être implémentée ce qui nous permettra d'avoir des effectifs importants dans le futur. Il sera intéressant d'évaluer la PFS et l'OS des patients atteints de t(14;16) lorsque nous aurons le recul nécessaire. Ceci permettra de répondre avec une puissance satisfaisante aux interrogations posées dans cette discussion.

Conclusion et perspectives

La révision du score ISS en 2015 n'a pas permis d'apporter une amélioration dans l'estimation du pronostic du patient. L'intégration des anomalies cytogénétiques dans la définition du pronostic était nécessaire car les études ont montré qu'elles contribuaient de façon majeure au pronostic. Cependant, combiner les critères biochimiques et cytogénétiques diminue la précision de l'estimation. Chaque anomalie devrait être considérée séparément, et les risques de chaque critère devraient être additionnés pour évaluer le pronostic global.

A l'heure où le NGS permet l'accès à une pléiade d'anomalies moléculaires, nous ne pouvons plus nous limiter à définir le haut risque cytogénétique par l'existence de l'une ou l'autre des trois anomalies $del(17p)$, $t(4;14)$ ou $t(14;16)$. Cette vision est trop restrictive. D'une part, d'autres anomalies cytogénétiques comme la $del(1p32)$, à impact pronostique péjoratif, doivent être prises en considération. D'autre part, l'influence de ces anomalies est bien plus complexe que cela, avec une interaction des anomalies entre elles, certaines associations (double-hit) altérant drastiquement le pronostic du patient alors que d'autres ont un impact bénéfique (association avec la trisomie 5). La notion de risque cytogénétique doit être nuancée et nous ne pouvons plus raisonner de façon bimodale. Le poids de chacune des anomalies devrait être pris en compte ; par exemple, la présence d'une $del(17p)$ a définitivement plus d'impact qu'une $t(4;14)$.

De plus, la notion de risque évolue avec les connaissances et les schémas thérapeutiques désormais employés. Par exemple, les patients porteurs d'une $t(4;14)$, anomalie de haut risque selon le score R-ISS, ont vu leur pronostic s'améliorer depuis l'introduction des inhibiteurs du protéasome.

Enfin, définir la $t(14;16)$ comme étant de haut risque est critiquable. En effet, il n'existe aucune étude permettant de confirmer le rôle pronostique indépendant de cette translocation faiblement représentée chez les patients atteints de MM. Notre étude descriptive portant sur plus de 2000 patients a permis d'enrichir nos connaissances sur l'environnement moléculaire de la $t(14;16)$. Son association fréquente à d'autres anomalies cytogénétiques dont l'impact péjoratif est reconnu ($del(17p)$, $gain(1q)$ ou $amp(1q)$, $del(1p32)$, $del(13)$, et double-délétions) pourrait être responsable du mauvais pronostic attribué à la $t(14;16)$.

A l'heure actuelle, le choix du traitement est pris en fonction de l'éligibilité ou non à l'intensification thérapeutique supportée par l'autogreffe. La décision de la stratégie est adaptée à l'âge du patient et à ses comorbidités. A l'avenir, l'âge restera sûrement déterminant dans le choix du traitement, mais il ne sera plus le seul critère. Les scores pronostiques se font de plus en plus discriminants grâce à la démocratisation des examens de biologie moléculaire. L'analyse des patients en fonction de leurs anomalies cytogénétiques a permis de distinguer différents groupes de risque. L'avenir tend vers une adaptation du traitement selon le risque cytogénétique (haut risque versus standard)[59]. Compte-tenu de la multitude des nouveaux traitements à disposition, les patients à haut risque devraient pouvoir bénéficier de stratégie agressive. A l'inverse, pourquoi ne pas envisager une « épargne » thérapeutique pour les patients de risque standard. La Mayo Clinic, avec son score mSMART, va déjà dans ce sens en proposant différentes stratégies en fonction des caractéristiques

cliniques et cytogénétiques du patient (Annexe 1 et Annexe 2). Cependant, leur algorithme ne s'appuie sur aucune étude clinique.

Dans la course aux nouvelles molécules, il faut cependant rester critique sur le design des études et notamment sur la définition accordée aux patients de haut risque. En effet, d'une étude à l'autre, les critères entrant dans la définition du haut risque sont différents (score R-ISS, seuil de del(17p), etc.) et la vigilance est de mise dans les conclusions des études quant à l'efficacité de ces nouveaux médicaments.

L'amélioration des connaissances des mécanismes moléculaires mis en jeu permettra également peut-être d'aller plus loin et de personnaliser le traitement non seulement suivant le risque mais aussi d'après les mutations de chacun des patients. En effet, certaines mutations peuvent être de véritables cibles spécifiques et conférer au patient une meilleure sensibilité à certaines molécules. C'est le cas du vémurafénib et la mutation *BRAF* V600E, du vénétoclax et de la t(11;14), ou des mutations de la voie des MAPK et des MEK inhibiteurs. Ces traitements pourraient être proposés en première intention, associés au schéma classique quand la mutation est présente au diagnostic. *A contrario*, certaines mutations sont associées à une résistance et le séquençage permettrait de proposer une alternative thérapeutique dès le diagnostic (mutation *CRBN*, cible des immunomodulateurs et IMiDs). L'un des écueils de la thérapie ciblée est l'hétérogénéité moléculaire du MM. En effet, une même tumeur compte en moyenne une soixantaine de mutations. Le risque de cibler une mutation en particulier est de sélectionner un sous-clone qui était minoritaire au diagnostic et dont l'agressivité pourrait être supérieure. En outre, certaines molécules peuvent être bénéfiques sur une mutation mais péjoratives sur une autre. Tout l'environnement mutationnel doit être pris en compte ce qui complique son application dans la pratique clinique.

L'impact pronostique des mutations est une notion dynamique qui évolue en fonction du développement des nouvelles stratégies thérapeutiques. Les scores pronostiques qui sont performants aujourd'hui seront rapidement désuets dans le futur. A l'échelle individuelle, le score pronostique change également en fonction des rechutes et de l'évolution clonale de la maladie.

En conclusion, les scores pronostiques seront à l'avenir un outil essentiel pour la décision de la prise en charge thérapeutique par les cliniciens. Ils doivent être performants, reproductibles et applicables facilement dans tous les centres. Nous avons montré dans notre travail que le R-ISS n'était pas meilleur que l'ISS développé en 2005. De plus, le choix d'intégrer la t(14;16) dans les anomalies de haut risque n'est pas optimal en l'absence de preuves de son impact pronostique indépendant. Avec l'évolution très probable des pratiques cliniques dans le MM, il est donc urgent de s'accorder sur un score pronostique fiable à pouvoir discriminant élevé.

Bibliographie

- [1] A. Mahindra, T. Hideshima, et K. C. Anderson, « Multiple myeloma: biology of the disease », *Blood Rev.*, vol. 24, p. S5-S11, nov. 2010, doi: 10.1016/S0268-960X(10)70003-5.
- [2] D. D. Alexander *et al.*, « Multiple myeloma: A review of the epidemiologic literature », *Int. J. Cancer*, vol. 120, n° S12, p. 40-61, 2007, doi: 10.1002/ijc.22718.
- [3] M. Pertesi, M. Went, M. Hansson, K. Hemminki, R. S. Houlston, et B. Nilsson, « Genetic predisposition for multiple myeloma », *Leukemia*, vol. 34, n° 3, Art. n° 3, mars 2020, doi: 10.1038/s41375-019-0703-6.
- [4] I. Turesson, M. Bjorkholm, C. H. Blimark, S. Kristinsson, R. Velez, et O. Landgren, « Rapidly changing myeloma epidemiology in the general population: Increased incidence, older patients, and longer survival », *Eur. J. Haematol.*, vol. 101, n° 2, p. 237-244, 2018, doi: 10.1111/ejh.13083.
- [5] K. C. Anderson, « Progress and Paradigms in Multiple Myeloma », *Clin. Cancer Res.*, vol. 22, n° 22, p. 5419-5427, nov. 2016, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0625.
- [6] W. Xu *et al.*, « Macrophages induce differentiation of plasma cells through CXCL10/IP-10 », *J. Exp. Med.*, vol. 209, n° 10, p. 1813-1823, sept. 2012, doi: 10.1084/jem.20112142.
- [7] « Laboratoire d'Hématologie Cellulaire du CHU d'Angers ». <http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/leucocytes-et-leur-pathologie/96-physiologie-des-lymphocytes-b-t-et-nk> (consulté le janv. 07, 2020).
- [8] C. Pawlyn et G. J. Morgan, « Evolutionary biology of high-risk multiple myeloma », *Nat. Rev. Cancer*, vol. 17, n° 9, p. 543-556, sept. 2017, doi: 10.1038/nrc.2017.63.
- [9] H. Avet-Loiseau et J. Corre, « Cytogénétique et génétique moléculaire du myélome multiple », *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2019, n° 511, p. 50-57, avr. 2019, doi: 10.1016/S1773-035X(19)30225-4.
- [10] C. Pawlyn et F. E. Davies, « Toward personalized treatment in multiple myeloma based on molecular characteristics », *Blood*, vol. 133, n° 7, p. 660-675, févr. 2019, doi: 10.1182/blood-2018-09-825331.
- [11] S. Robiou du Pont *et al.*, « Genomics of Multiple Myeloma », *J. Clin. Oncol.*, vol. 35, n° 9, p. 963-967, févr. 2017, doi: 10.1200/JCO.2016.70.6705.
- [12] O. C. Lomas, S. Tahri, et I. M. Ghobrial, « The microenvironment in myeloma », *Curr. Opin. Oncol.*, déc. 2019, doi: 10.1097/CCO.0000000000000615.
- [13] S. Manier, K. Z. Salem, J. Park, D. A. Landau, G. Getz, et I. M. Ghobrial, « Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications », *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, vol. 14, n° 2, Art. n° 2, févr. 2017, doi: 10.1038/nrclinonc.2016.122.
- [14] B. Klein et R. Bataille, « Interleukine 6 et myélome multiple chez l'homme », vol. 7, p. 7.
- [15] S. Lonial, B. Durie, A. Palumbo, et J. San-Miguel, « Monoclonal antibodies in the treatment of multiple myeloma: current status and future perspectives », *Leukemia*, vol. 30, n° 3, p. 526-535, mars 2016, doi: 10.1038/leu.2015.223.
- [16] M. Engelhardt *et al.*, « European Myeloma Network recommendations on the evaluation and treatment of newly diagnosed patients with multiple myeloma », *Haematologica*, vol. 99, n° 2, p. 232-242, févr. 2014, doi: 10.3324/haematol.2013.099358.
- [17] K. Yong *et al.*, « Multiple myeloma: patient outcomes in real-world practice », *Br. J. Haematol.*, vol. 175, n° 2, p. 252-264, 2016, doi: 10.1111/bjh.14213.

- [18] R. A. Kyle et S. V. Rajkumar, « Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma », *Leukemia*, vol. 23, n° 1, p. 3-9, janv. 2009, doi: 10.1038/leu.2008.291.
- [19] « DIAGNOSTIC -AF3M ». <https://www.af3m.org/connaitre-et-combattre-le-myelome/questions-sur-la-maladie/diagnostic.html> (consulté le avr. 20, 2020).
- [20] J. T. Larsen, S. K. Kumar, A. Dispenzieri, R. A. Kyle, J. A. Katzmann, et S. V. Rajkumar, « Serum free light chain ratio as a biomarker for high-risk smoldering multiple myeloma », *Leukemia*, vol. 27, n° 4, p. 941-946, avr. 2013, doi: 10.1038/leu.2012.296.
- [21] B. G. M. Durie et S. E. Salmon, « A clinical staging system for multiple myeloma correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival », *Cancer*, vol. 36, n° 3, p. 842-854, 1975, doi: 10.1002/1097-0142(197509)36:3<842::AID-CNCR2820360303>3.0.CO;2-U.
- [22] S. V. Rajkumar *et al.*, « International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma », *Lancet Oncol.*, vol. 15, n° 12, p. e538-e548, nov. 2014, doi: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5.
- [23] J. Corre et H. Avet-Loiseau, « Classification, diagnosis and response assessment of myeloma », in *Leukaemia and Myeloma, Essentials for Clinicians*, 2019, p. 31-36.
- [24] « Laboratoire d'Hématologie Cellulaire du CHU d'Angers ». <http://www.hematocell.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/62-enseignement-de-lhematologie-cellulaire-les-principales-maladies-hematologiques/pathologie-lymphoide/126-lymphome-lymphoplasmocytaire-maladie-de-waldenstroem> (consulté le janv. 09, 2020).
- [25] I. U.--T. D. RESERVES, « Orphanet: Syndrome POEMS ». https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=2905 (consulté le janv. 09, 2020).
- [26] S. Manier et X. Leleu, « Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'International Myeloma Working Group (IMWG) », *Immuno-Anal. Biol. Spéc.*, vol. 26, n° 3, p. 125-136, juin 2011, doi: 10.1016/j.immbio.2011.04.001.
- [27] M. Attal *et al.*, « A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Français du Myélome », *N. Engl. J. Med.*, vol. 335, n° 2, p. 91-97, juill. 1996, doi: 10.1056/NEJM199607113350204.
- [28] T. Facon *et al.*, « Final analysis of survival outcomes in the phase 3 FIRST trial of up-front treatment for multiple myeloma », *Blood*, vol. 131, n° 3, p. 301-310, janv. 2018, doi: 10.1182/blood-2017-07-795047.
- [29] J. Alexandre, « Les inhibiteurs du protéasome », *Wwwem-Premiumcomdatarevues024886630026001005003127*, Consulté le: janv. 10, 2020. [En ligne]. Disponible sur: <https://www-em--premium-com-s.docadis.ups-tlse.fr/article/37405/resultatrecherche/2>.
- [30] H. Quach *et al.*, « Mechanism of action of immunomodulatory drugs (IMiDS) in multiple myeloma », *Leukemia*, vol. 24, n° 1, Art. n° 1, janv. 2010, doi: 10.1038/leu.2009.236.
- [31] M. Cavo, P. Tacchetti, et E. Zamagni, « Newly diagnosed myeloma, transplant-eligible patients », in *Leukaemia and Myeloma, Essentials for Clinicians*, 2019, p. 37-43.
- [32] P. M. Voorhees *et al.*, « A phase 2 multicentre study of siltuximab, an anti-interleukin-6 monoclonal antibody, in patients with relapsed or refractory multiple myeloma », *Br. J. Haematol.*, vol. 161, n° 3, p. 357-366, mai 2013, doi: 10.1111/bjh.12266.

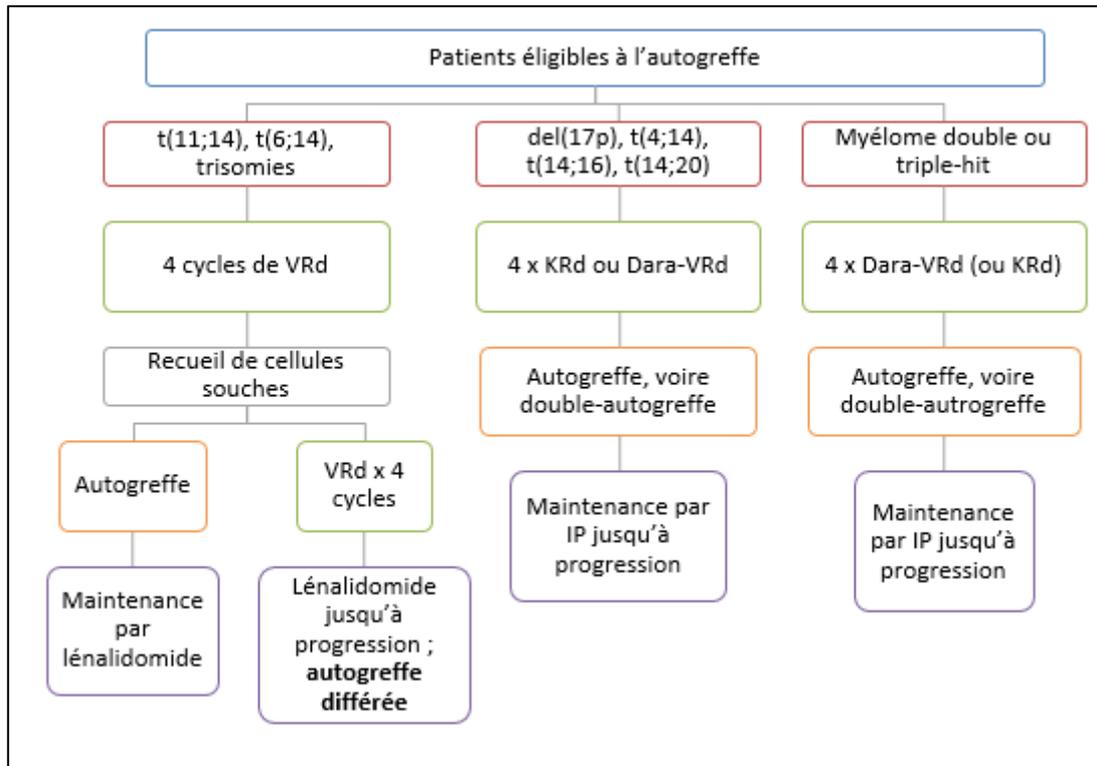
- [33] R. Z. Orlowski *et al.*, « A phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled study of siltuximab (anti-IL-6 mAb) and bortezomib versus bortezomib alone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma », *Am. J. Hematol.*, vol. 90, n° 1, p. 42-49, 2015, doi: 10.1002/ajh.23868.
- [34] S. Lonial *et al.*, « Elotuzumab Therapy for Relapsed or Refractory Multiple Myeloma », *N. Engl. J. Med.*, vol. 373, n° 7, p. 621-631, août 2015, doi: 10.1056/NEJMoa1505654.
- [35] A. L. Garfall *et al.*, « Chimeric Antigen Receptor T Cells against CD19 for Multiple Myeloma », *N. Engl. J. Med.*, vol. 373, n° 11, p. 1040-1047, sept. 2015, doi: 10.1056/NEJMoa1504542.
- [36] A. Talbot et B. Alnulf, « Immunothérapie du myélome multiple : aujourd'hui et demain », *Corresp. En Onco-Hématologie*, vol. XIII, n° 2, p. 114-117, avr. 2018.
- [37] J. P. Laubach, P. Moreau, J. F. San-Miguel, et P. G. Richardson, « Panobinostat for the Treatment of Multiple Myeloma », *Clin. Cancer Res.*, vol. 21, n° 21, p. 4767-4773, nov. 2015, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0530.
- [38] S. Kumar *et al.*, « Efficacy of venetoclax as targeted therapy for relapsed/refractory t(11;14) multiple myeloma », *Blood*, vol. 130, n° 22, p. 2401-2409, nov. 2017, doi: 10.1182/blood-2017-06-788786.
- [39] A. Chari *et al.*, « Oral Selinexor-Dexamethasone for Triple-Class Refractory Multiple Myeloma », *N. Engl. J. Med.*, vol. 381, n° 8, p. 727-738, 22 2019, doi: 10.1056/NEJMoa1903455.
- [40] P. Moreau *et al.*, « Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up », *Ann. Oncol.*, vol. 28, n° suppl_4, p. iv52-iv61, juill. 2017, doi: 10.1093/annonc/mdx096.
- [41] M. Macro, « Recommandations de l'Intergroupe francophone du myélome sur le traitement d'induction et l'entretien des patients éligibles au traitement intensif », *Hématologie*, vol. 25, n° 1, p. 30-40, janv. 2019, doi: 10.1684/hma.2019.1424.
- [42] S. V. Rajkumar, « Myeloma Today: Disease Definitions and Treatment Advances », *Am. J. Hematol.*, vol. 91, n° 1, p. 90-100, janv. 2016, doi: 10.1002/ajh.24236.
- [43] A. Perrot, « Incroyables avancées thérapeutiques dans le myélome depuis 10 ans », *Horiz. Hémato*, vol. 9, n° 2, juin 2019.
- [44] M. Gavriatopoulou, E. Kastiris, et M. Dimopoulos, « Relapsed and refractory multiple myeloma », in *Leukaemia and Myeloma, Essentials for Clinicians*, 2019, p. 50-55.
- [45] B. G. Patel, S. Luo, T. M. Wildes, et K. M. Sanfilippo, « Frailty in Older Adults With Multiple Myeloma: A Study of US Veterans », *JCO Clin. Cancer Inform.*, n° 4, p. 117-127, févr. 2020, doi: 10.1200/CCI.19.00094.
- [46] Z. Mátrai, J. Németh, K. Miklós, Z. Szabó, et T. Masszi, « Serum β 2-microglobulin measured by immunonephelometry: expression patterns and reference intervals in healthy adults », *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 47, n° 5, p. 585-589, 2009, doi: 10.1515/CCLM.2009.137.
- [47] B. G. Durie *et al.*, « Prognostic value of pretreatment serum beta 2 microglobulin in myeloma: a Southwest Oncology Group Study », *Blood*, vol. 75, n° 4, p. 823-830, févr. 1990.
- [48] J. E. Kim, C. Yoo, D. H. Lee, S.-W. Kim, J.-S. Lee, et C. Suh, « Serum albumin level is a significant prognostic factor reflecting disease severity in symptomatic multiple myeloma », *Ann. Hematol.*, vol. 89, n° 4, p. 391-397, avr. 2010, doi: 10.1007/s00277-009-0841-4.
- [49] T. Kiba *et al.*, « Bortezomib and dexamethasone for multiple myeloma: higher AST and LDH levels associated with a worse prognosis on overall survival », *BMC Cancer*, vol. 14, n° 1, p. 462, juin 2014, doi: 10.1186/1471-2407-14-462.

- [50] B. Simonsson, G. Brenning, C. Källander, et A. Åhre, « Prognostic value of serum lactic dehydrogenase (S-LDH) in multiple myeloma », *Eur. J. Clin. Invest.*, vol. 17, n° 4, p. 336-339, 1987, doi: 10.1111/j.1365-2362.1987.tb02197.x.
- [51] A. Palumbo *et al.*, « Revised International Staging System for Multiple Myeloma: A Report From International Myeloma Working Group », *J. Clin. Oncol.*, vol. 33, n° 26, p. 2863-2869, sept. 2015, doi: 10.1200/JCO.2015.61.2267.
- [52] P. R. Greipp et S. K. Kumar, « Plasma cell labeling index. », *Methods Mol. Med.*, vol. 113, p. 25-35, 2005.
- [53] G. Requirand *et al.*, « BrdU incorporation in multiparameter flow cytometry: A new cell cycle assessment approach in multiple myeloma », *Cytometry B Clin. Cytom.*, vol. 96, n° 3, p. 209-214, 2019, doi: 10.1002/cyto.b.21730.
- [54] W. I. Gonsalves *et al.*, « Enhancing the R-ISS classification of newly diagnosed multiple myeloma by quantifying circulating clonal plasma cells », *Am. J. Hematol.*, vol. 95, n° 3, p. 310-315, 2020, doi: 10.1002/ajh.25709.
- [55] E. Flynt, K. Bisht, V. Sridharan, M. Ortiz, F. Towfic, et A. Thakurta, « Prognosis, Biology, and Targeting of TP53 Dysregulation in Multiple Myeloma », *Cells*, vol. 9, n° 2, p. 287, févr. 2020, doi: 10.3390/cells9020287.
- [56] B. A. Walker *et al.*, « A high-risk, Double-Hit, group of newly diagnosed myeloma identified by genomic analysis », *Leukemia*, vol. 33, n° 1, p. 159-170, 2019, doi: 10.1038/s41375-018-0196-8.
- [57] H. Avet-Loiseau *et al.*, « Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome », *Blood*, vol. 109, n° 8, p. 3489-3495, avr. 2007, doi: 10.1182/blood-2006-08-040410.
- [58] A. Thakurta *et al.*, « High subclonal fraction of 17p deletion is associated with poor prognosis in multiple myeloma », *Blood*, vol. 133, n° 11, p. 1217-1221, 14 2019, doi: 10.1182/blood-2018-10-880831.
- [59] J. Corre et H. Avet-Loiseau, « Risk-Based Therapeutic Strategies », *Cancer J. Sudbury Mass*, vol. 25, n° 1, p. 54-58, févr. 2019, doi: 10.1097/PPO.0000000000000352.
- [60] Y. Liu *et al.*, « Deletions linked to TP53 loss drive cancer through p53-independent mechanisms », *Nature*, vol. 531, n° 7595, p. 471-475, mars 2016, doi: 10.1038/nature17157.
- [61] F. Li *et al.*, « MB4-2/MB4-3 transcripts of IGH-MMSET fusion gene in t(4;14)pos multiple myeloma indicate poor prognosis », *Oncotarget*, vol. 8, n° 31, p. 51608-51620, août 2017, doi: 10.18632/oncotarget.18209.
- [62] H. Avet-Loiseau *et al.*, « Bortezomib plus dexamethasone induction improves outcome of patients with t(4;14) myeloma but not outcome of patients with del(17p) », *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 28, n° 30, p. 4630-4634, oct. 2010, doi: 10.1200/JCO.2010.28.3945.
- [63] Z. Xie, C. Bi, J. Y. Chooi, Z. L. Chan, N. Mustafa, et W. J. Chng, « MMSET regulates expression of IRF4 in t(4;14) myeloma and its silencing potentiates the effect of bortezomib », *Leukemia*, vol. 29, n° 12, Art. n° 12, déc. 2015, doi: 10.1038/leu.2015.169.
- [64] M. Chesi *et al.*, « Frequent dysregulation of the c-maf proto-oncogene at 16q23 by translocation to an Ig locus in multiple myeloma », *Blood*, vol. 91, n° 12, p. 4457-4463, juin 1998.
- [65] Y.-W. Qiang *et al.*, « MAF protein mediates innate resistance to proteasome inhibition therapy in multiple myeloma », *Blood*, vol. 128, n° 25, p. 2919-2930, 22 2016, doi: 10.1182/blood-2016-03-706077.

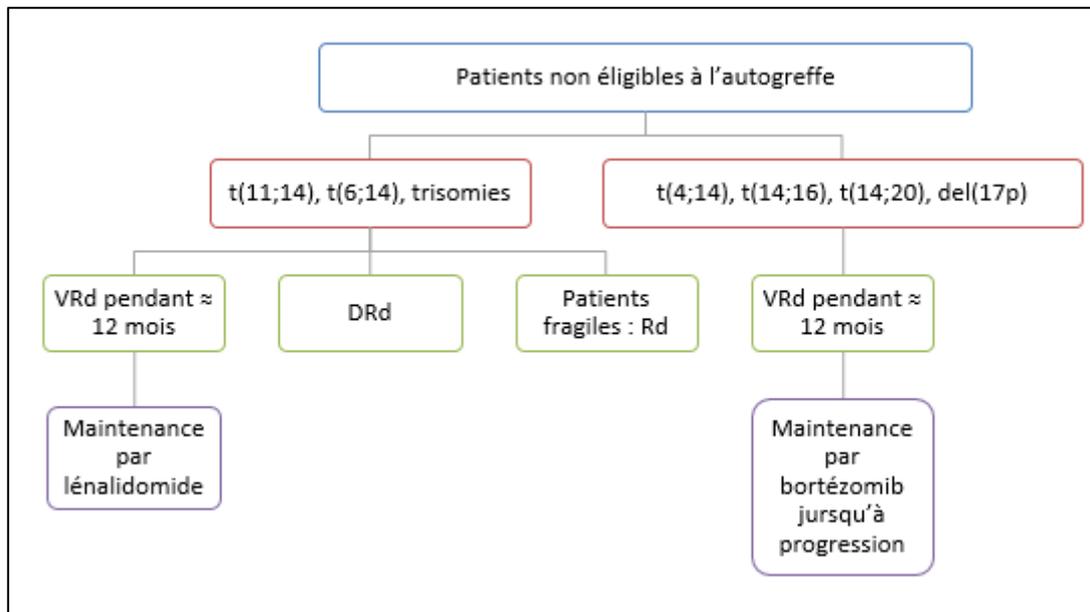
- [66] R. Fonseca *et al.*, « Clinical and biologic implications of recurrent genomic aberrations in myeloma », *Blood*, vol. 101, n° 11, p. 4569-4575, juin 2003, doi: 10.1182/blood-2002-10-3017.
- [67] H. Avet-Loiseau *et al.*, « Translocation t(14;16) and multiple myeloma: is it really an independent prognostic factor? », *Blood*, vol. 117, n° 6, p. 2009-2011, févr. 2011, doi: 10.1182/blood-2010-07-295105.
- [68] S. Goldman-Mazur *et al.*, « A multicenter retrospective study of 223 patients with t(14;16) in multiple myeloma », *Am. J. Hematol.*, vol. n/a, n° n/a, doi: 10.1002/ajh.25758.
- [69] B. Hebraud *et al.*, « Deletion of the 1p32 region is a major independent prognostic factor in young patients with myeloma: the IFM experience on 1195 patients », *Leukemia*, vol. 28, n° 3, Art. n° 3, mars 2014, doi: 10.1038/leu.2013.225.
- [70] H. Chang, X. Qi, A. Jiang, W. Xu, T. Young, et D. Reece, « 1p21 deletions are strongly associated with 1q21 gains and are an independent adverse prognostic factor for the outcome of high-dose chemotherapy in patients with multiple myeloma », *Bone Marrow Transplant.*, vol. 45, n° 1, Art. n° 1, janv. 2010, doi: 10.1038/bmt.2009.107.
- [71] M.-L. Chretien *et al.*, « Understanding the role of hyperdiploidy in myeloma prognosis: which trisomies really matter? », *Blood*, vol. 126, n° 25, p. 2713-2719, déc. 2015, doi: 10.1182/blood-2015-06-650242.
- [72] F. Bock *et al.*, « Outcome of Patients with Multiple Myeloma and CKS1B Gene Amplification after Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation », *Biol. Blood Marrow Transplant. J. Am. Soc. Blood Marrow Transplant.*, vol. 22, n° 12, p. 2159-2164, 2016, doi: 10.1016/j.bbmt.2016.09.003.
- [73] O. Landgren et K. Iskander, « Modern multiple myeloma therapy: deep, sustained treatment response and good clinical outcomes », *J. Intern. Med.*, vol. 281, n° 4, p. 365-382, avr. 2017, doi: 10.1111/joim.12590.
- [74] J. Corre *et al.*, « Early relapse after autologous transplant for myeloma is associated with poor survival regardless of cytogenetic risk », *Haematologica*, déc. 2019, doi: 10.3324/haematol.2019.236588.
- [75] H. Avet-Loiseau *et al.*, « Minimal Residual Disease Status as a Surrogate Endpoint for Progression-free Survival in Newly Diagnosed Multiple Myeloma Studies: A Meta-analysis », *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.*, vol. 20, n° 1, p. e30-e37, janv. 2020, doi: 10.1016/j.clml.2019.09.622.
- [76] P. R. Greipp *et al.*, « International staging system for multiple myeloma », *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 23, n° 15, p. 3412-3420, mai 2005, doi: 10.1200/JCO.2005.04.242.
- [77] J. R. Mikhael *et al.*, « Management of Newly Diagnosed Symptomatic Multiple Myeloma: Updated Mayo Stratification of Myeloma and Risk-Adapted Therapy (mSMART) Consensus Guidelines 2013 », *Mayo Clin. Proc.*, vol. 88, n° 4, p. 360-376, avr. 2013, doi: 10.1016/j.mayocp.2013.01.019.
- [78] « Treatment Guidelines — mSMART ». <https://www.msmaart.org/mm-treatment-guidelines> (consulté le mars 28, 2020).
- [79] A. Perrot *et al.*, « Development and Validation of a Cytogenetic Prognostic Index Predicting Survival in Multiple Myeloma », *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 37, n° 19, p. 1657-1665, juill. 2019, doi: 10.1200/JCO.18.00776.
- [80] S. Ozaki *et al.*, « Evaluation of the Revised International Staging System (R-ISS) in Japanese patients with multiple myeloma », *Ann. Hematol.*, vol. 98, n° 7, p. 1703-1711, juill. 2019, doi: 10.1007/s00277-019-03702-1.

- [81] Y. Abe *et al.*, « Improved survival outcomes and relative youthfulness of multiple myeloma patients with t(4;14) receiving novel agents are associated with poorer performance of the revised international staging system in a real aging society », *Oncotarget*, vol. 10, n° 5, p. 595-605, janv. 2019, doi: 10.18632/oncotarget.26562.
- [82] H.-M. Chen *et al.*, « [Clinical Application of R-ISS Staging System in 412 Newly Diagnosed Patients with Multiple Myeloma] », *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, vol. 27, n° 1, p. 110-114, févr. 2019, doi: 10.7534/j.issn.1009-2137.2019.01.018.
- [83] E. Kastiris *et al.*, « Evaluation of the Revised International Staging System in an independent cohort of unselected patients with multiple myeloma », *Haematologica*, vol. 102, n° 3, p. 593-599, mars 2017, doi: 10.3324/haematol.2016.145078.
- [84] V. González-Calle *et al.*, « Evaluation of Revised International Staging System (R-ISS) for transplant-eligible multiple myeloma patients », *Ann. Hematol.*, vol. 97, n° 8, p. 1453-1462, août 2018, doi: 10.1007/s00277-018-3316-7.
- [85] K. D. Boyd *et al.*, « Gender Disparities in the Tumor Genetics and Clinical Outcome of Multiple Myeloma », *Cancer Epidemiol. Prev. Biomark.*, vol. 20, n° 8, p. 1703-1707, août 2011, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0157.
- [86] R. Mina *et al.*, « Clinical features and survival of multiple myeloma patients harboring t(14;16) in the era of novel agents », *Blood Cancer J.*, vol. 10, n° 4, avr. 2020, doi: 10.1038/s41408-020-0307-4.
- [87] T. N. Sergentanis, E. Kastiris, E. Terpos, M. A. Dimopoulos, et T. Psaltopoulou, « Cytogenetics and Survival of Multiple Myeloma: Isolated and Combined Effects », *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.*, vol. 16, n° 6, p. 335-340, juin 2016, doi: 10.1016/j.clml.2016.03.006.
- [88] B. A. Walker *et al.*, « Mutational Spectrum, Copy Number Changes, and Outcome: Results of a Sequencing Study of Patients With Newly Diagnosed Myeloma », *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 33, n° 33, p. 3911-3920, nov. 2015, doi: 10.1200/JCO.2014.59.1503.
- [89] N. Bolli, E. Genuardi, B. Ziccheddu, M. Martello, S. Oliva, et C. Terragna, « Next-Generation Sequencing for Clinical Management of Multiple Myeloma: Ready for Prime Time? », *Front. Oncol.*, vol. 10, p. 189, 2020, doi: 10.3389/fonc.2020.00189.

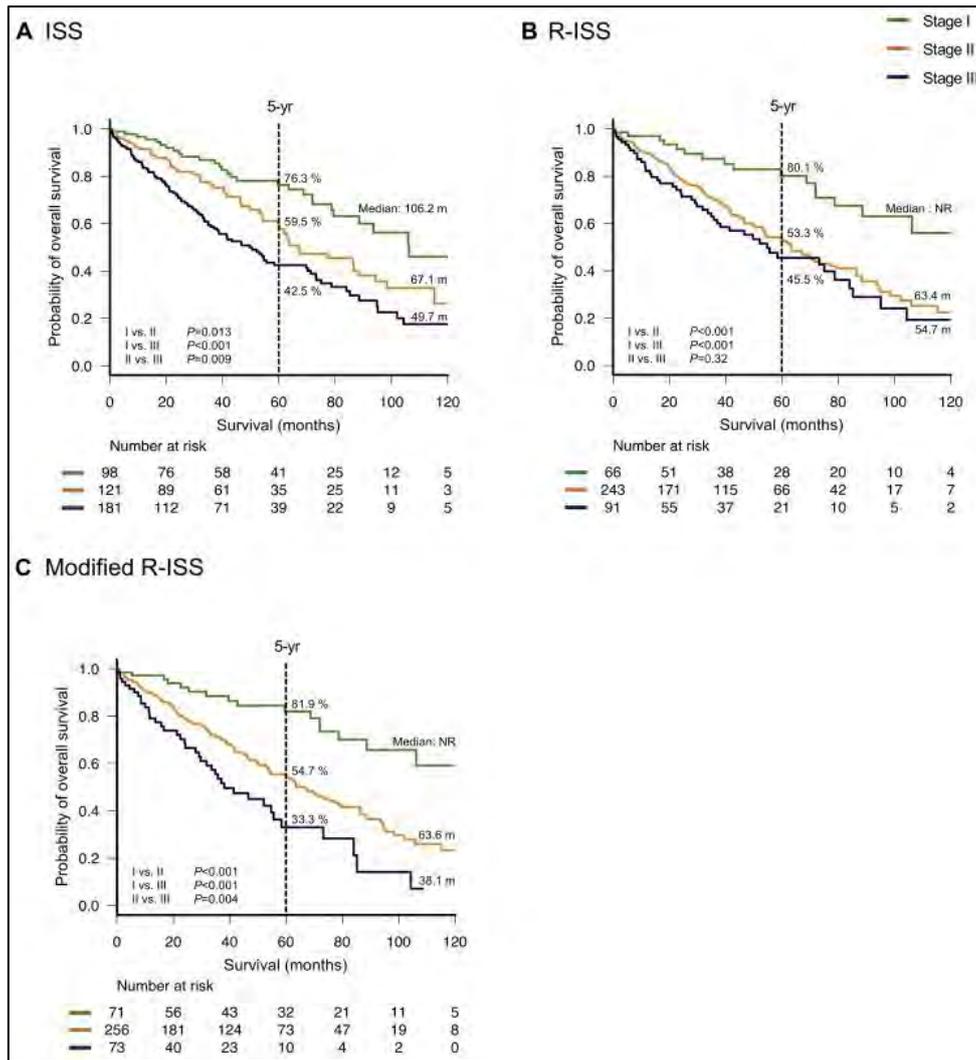
Annexes



Annexe 1 : Recommandations de la Mayo Clinic pour le traitement des patients NDMM éligibles à l'autogreffe[78].



Annexe 2 : Recommandations de la Mayo Clinic pour le traitement des patients NDMM non éligibles à l'autogreffe[78].



Annexe 3 : Survie globale par stades selon (A) Score ISS, (B) Score R-ISS, (C) R-ISS modifié. D'après Abe et al.[81].

	Patients contrôles			Patients t(14;16)			p-value
	Moyennes	[min-max]	n	Moyennes	[min-max]	n	
Sβ2M (mg/L)	5,7	[1,3 ; 126,9]	535	8,4	[2,2 ; 20,8]	23	0,10 (ns)
Albumine (g/L)	35,4	[2,7 ; 55,0]	534	35,8	[23,0 ; 51,0]	23	0,79 (ns)
Age (ans)	66,1	[28 ; 92]	788	65,3	[47 ; 85]	29	0,71 (ns)
Nombre de chromosomes	48,9	[35 ; 60]	787	46,0	[43 ; 55]	29	<0,001 (***)
	Pourcentages		n	Pourcentages		n	p-value
Sexe							<0,001 (***)
Hommes	56,7 %		447	24,1 %		7	
Femmes	43,3 %		341	75,9 %		22	

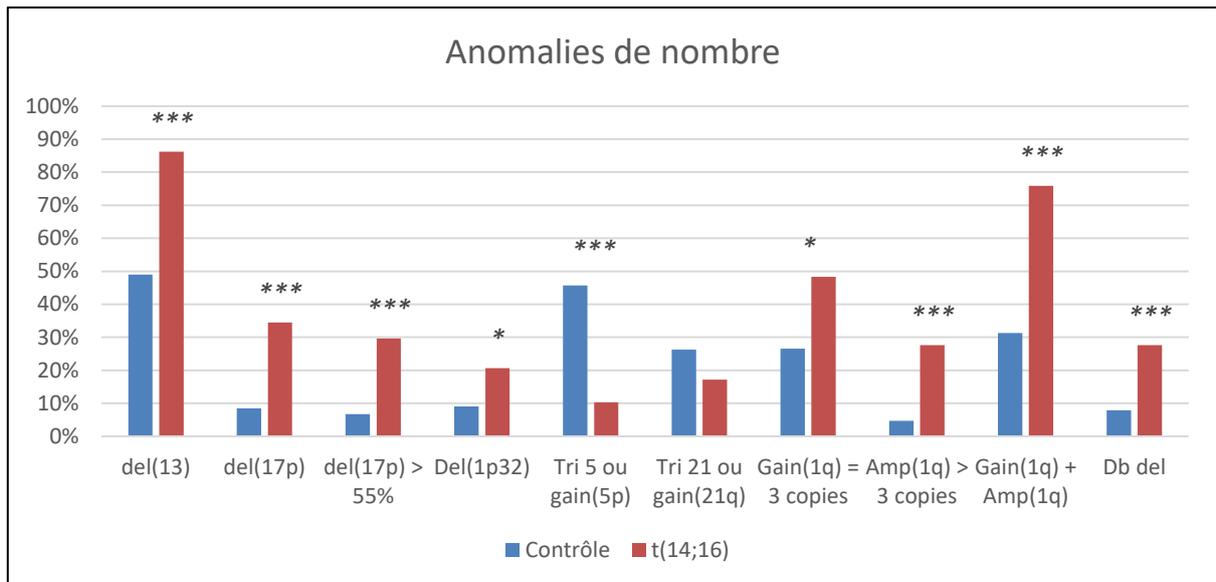
Annexe 4 : Caractéristiques des patients NDMM de l'étude descriptive de la t(14 ;16).



Annexe 5 : Répartitions du score ISS entre les patients contrôles (sans t(14;16)) et les patients atteints de t(14;16) (patients NDMM).

	Patients contrôles		Patients t(14;16)		p-value
	Pourcentages de positifs (n = 788)	Missing	Pourcentages de positifs (n = 29)	Missing	
del(13)	49,0 %	6	86,2 %	-	<0,001 (***)
del(17p)	8,5 %	-	34,5 %	-	<0,001 (***)
del(17p) > 55 %	6,8 %	3	29,6 %	2	<0,001 (***)
Del(1p32)	9,0 %	2	20,7 %	-	0,04 (*)
Trisomie 5 ou gain(5p)	45,7 %	-	10,3 %	-	<0,001 (***)
Trisomie 21 ou gain(21q)	26,3 %	-	17,2 %	-	0,28 (ns)
Gain(1q)	26,6 %	2	48,3 %	-	0,01 (*)
Amp(1q) > 3 copies	4,7 %	2	27,6 %	-	<0,001 (***)
Gain(1q) et amp(1q) confondus	31,3 %	2	75,9 %	-	<0,001 (***)
Double délétions	7,9 %	-	27,6 %	-	<0,001 (***)

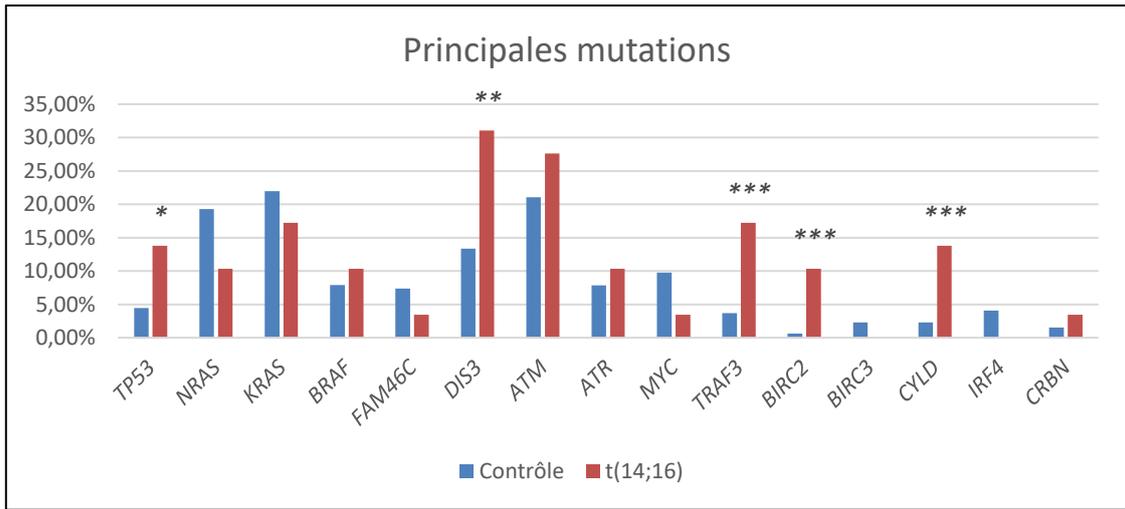
Annexe 6 : Pourcentages d'anomalies de nombre : comparaison des patients t(14;16) aux patients contrôles (patients NDMM).



Annexe 7 : Représentation graphique des anomalies de nombre (patients NDMM).

	Patients contrôles		Patients t(14;16)		p-value
	Pourcentages de positifs (n = 788)	Missing	Pourcentages de positifs (n = 29)	Missing	
TP53	4,4 %	-	13,8 %	-	0,02 (*)
NRAS	19,3 %	-	10,4 %	-	0,23 (ns)
KRAS	22,0 %	-	17,2 %	-	0,55 (ns)
BRAF	7,9 %	1	10,4 %	-	0,63 (ns)
FAM46C	7,4 %	-	3,5 %	-	0,42 (ns)
DIS3	13,3 %	-	31,0 %	-	0,007 (**)
ATM	21,1 %	-	27,6 %	-	0,40 (ns)
ATR	7,9 %	-	10,4 %	-	0,63 (ns)
MYC	9,8 %	-	3,5 %	-	0,26 (ns)
TRAF3	3,7 %	-	17,2 %	-	<0,001 (***)
BIRC2	0,6 %	-	10,4 %	-	<0,001 (***)
BIRC3	2,3 %	-	0 %	-	0,41 (ns)
CYLD	2,3 %	-	13,8 %	-	<0,001 (***)
IRF4	4,1 %	-	0 %	-	0,27 (ns)
CRBN	1,5 %	-	3,5 %	-	0,42 (ns)

Annexe 8 : Pourcentages des 15 principales mutations : comparaison des patients t(14;16) aux patients contrôles (patients NDMM).



Annexe 9 : Représentation graphique des principales mutations (patients NDMM).

Serment de Galien

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;
- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;
- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels ;
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession ;
- De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;
- De coopérer avec les autres professionnels de santé.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

EVALUATION OF THE R-ISS (REVISED INTERNATIONAL STAGING SYSTEM) IN
PATIENTS INCLUDED IN CLINICAL TRIALS FROM THE INTERGROUPE
FRANCOPHONE DU MYELOME

ABSTRACT

The prognostic staging system of multiple myeloma was revised (R-ISS) in 2015 when new risk criteria were added: abnormal serum LDH level and three chromosomal abnormalities (del(17p), t(4;14) and t(14;16)). The main purpose of this work was to assess the R-ISS on a multi-center cohort of transplant-eligible patients. Our study confirms a significant difference on PFS and OS between R-ISS stages I, II and III. However, the discriminatory ability of the R-ISS, assessed by the Harrell C-index, is equivalent to the ISS. Patients in stage R-ISS II had different prognosis depending on their cytogenetic. Moreover, adding the t(14;16) in high-risk chromosomal abnormalities is questionable. No studies have shown its independent clinical impact on the prognosis. Our descriptive analysis reveals in patients harbouring t(14;16) a clearly higher incidence of high risk chromosomal abnormalities such as del(17p).

KEYWORDS: Haematology / Multiple myeloma / Prognosis / Revised International Staging System / t(14;16)

Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Université Paul Sabatier, Toulouse III
35 chemin des maraîchers
31062, TOULOUSE Cedex 4

Supervisor : Dr CORRE Jill

ÉVALUATION DU SCORE R-ISS (REVISED INTERNATIONAL STAGING SYSTEM) SUR DES PATIENTS INCLUS DANS DES ESSAIS CLINIQUES DE L'INTERGROUPE FRANCOPHONE DU MYÉLOME

RÉSUMÉ en français

Le score pronostique du myélome multiple a été révisé (R-ISS) en 2015 pour intégrer de nouveaux critères de risque : LDH sériques élevées et trois anomalies cytogénétiques (del(17p), t(4;14) et t(14;16)). L'objectif de ce travail de thèse était d'évaluer la performance du R-ISS sur une cohorte multicentrique de patients éligibles à l'autogreffe. Notre étude confirme une différence significative pour la PFS et l'OS entre les stades R-ISS I, II et III. Cependant, la capacité discriminante du R-ISS, évaluée par le C-index de Harrell, est équivalente à l'ISS. Les patients classés R-ISS II ont des pronostics différents en fonction de la cytogénétique. En outre, l'incorporation de la t(14;16) dans les anomalies cytogénétiques de haut risque est critiquable. Aucune étude n'a encore démontré son impact indépendant sur le pronostic. Notre étude descriptive révèle une incidence nettement plus élevée chez les patients t(14;16) d'anomalies cytogénétiques de haut risque comme la del(17p).

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : Pharmacie

MOTS-CLÉS : Hématologie / Myélome Multiple / Pronostic / Revised International Staging System / t(14;16)

Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Université Paul Sabatier, Toulouse III
35 chemin des maraîchers
31062, TOULOUSE Cedex 4

Directrice de thèse : Dr CORRE Jill