

Leucémies

de la recherche au traitement

Les leucémies sont des maladies cancéreuses de la moelle osseuse. On les appelle aussi des hémopathies malignes. La moelle osseuse permet la fabrication continue des globules rouges, des globules blancs et des plaquettes, ce qui permet, entre autres, l'oxygénation des tissus, la lutte contre les infections et les hémorragies. Dès lors qu'un cancer se développe au niveau de la moelle osseuse, la production des éléments sanguins normaux est perturbée, ce qui rend compte des symptômes généralement observés : hémorragies, infections, grande pâleur.

Certaines formes de leucémie sont d'emblée aiguës, d'autres passent par une phase chronique. La raison pour laquelle ces cancers se développent fait l'objet de recherches intensives. Nous savons que certains virus (virus leucémogènes) peuvent être impliqués. Ce sont souvent des rétrovirus dont l'étude a conduit à décrire les gènes des cancers encore appelés oncogènes. Les oncogènes sont des gènes cellulaires normaux qui codent pour des protéines, lesquelles peuvent avoir de l'importance dans la différenciation cellulaire normale.

L'activation des oncogènes peut se faire selon différents processus, l'un d'entre eux étant la translocation chromosomique. Au cours de ce processus, un gène situé sur un chromosome va passer sur un autre chromosome et parfois vice versa : c'est une translocation réciproque. Ce processus va activer l'oncogène qui devient transformant pour la cellule, laquelle acquiert les caractéristiques du cancer.

Nous sommes tous porteurs de ces gènes potentiellement cancéreux. La question fondamentale posée est notre prédisposition personnelle, parfois familiale, à ce que ces gènes s'expriment. Ainsi, certains cancers sont véritablement familiaux. C'est le cas par exemple de certains cancers du sein, du colon ou du rétinoblastome, etc. Il est connu que des facteurs environnementaux peuvent jouer un rôle sur le déclenchement des

cancers. Ainsi, on sait qu'il y a un lien assez fort entre le tabagisme chronique et le déclenchement des cancers pulmonaires, entre la survenue des leucémies et l'exposition à des radiations ionisantes ou à des produits dérivés du pétrole (benzène).

Nous nous sommes particulièrement intéressés à Poitiers à une forme de leucémie pour laquelle a été identifiée de façon précise une translocation chromosomique. C'est la leucémie myéloïde chronique. Ce cancer du système hématopoïétique est particulièrement redoutable surtout lorsque les patients sont en phase aiguë. Les travaux qui ont été faits à Poitiers ont été des travaux de laboratoire mais aussi de recherche thérapeutique. Ils ont contribué à accroître nos connaissances et améliorer significativement la survie des malades.

La leucémie myéloïde chronique est un modèle en cancérologie

C'est en effet dans cette maladie que l'on a découvert pour la première fois que les gènes étaient impliqués dans le processus cancéreux. La découverte s'est faite aux Etats-Unis, principalement dans la ville de Philadelphie. C'est la raison pour laquelle on a donné le nom de chromosome de Philadelphie à l'anomalie génétique. Celle-ci consiste en une translocation entre deux chromosomes : les chromosomes 9 et 22. Dans cette maladie, il y a une translocation réciproque, c'est-à-dire qu'un morceau du chromosome 9 va se fixer sur le 22 et que réciproquement un morceau du chromosome 22 va se fixer sur le 9. C'est au niveau du chromosome 22, et de l'association d'une partie de celui-ci avec le morceau du chromosome 9, que se constitue un néogène, lui-même responsable de la production d'une protéine qui va transformer la cellule. Dès lors que cette translocation est survenue, la maladie est inéluctable. Cette anomalie génétique,

bien examinée avec une technique chromosomique (le caryotype) permet de poser le diagnostic et donc de proposer au patient un traitement. La moelle osseuse est pratiquement toujours atteinte par cette translocation qui est visible dans presque toutes les cellules.

L'analyse des chromosomes est une analyse utile pour le diagnostic. Mais elle ne suffit plus actuellement. On est arrivé par des méthodes de biologie moléculaire à détecter le gène de cette leucémie. Ce sont des méthodes dites d'amplification génique. Cela change le niveau de sensibilité de la technique de détection. En effet, le traitement va chercher à faire disparaître les cellules cancéreuses de la moelle. Ce qui se voit par l'analyse répétée de la moelle osseuse. Néanmoins la technique chromosomique a une sensibilité faible de l'ordre de 5%. Cela veut dire que s'il reste une ou deux cellules sur 100, on ne les verra pas. A l'inverse, les méthodes d'amplification de gène par les techniques de biologie moléculaire permettent d'augmenter la sensibilité de la détection. Grâce à ces méthodes on pourra détecter une cellule cancéreuse sur 100 000, voire sur 1 000 000. Ce niveau de sensibilité est très utile pour le médecin qui va suivre son patient au cours du traitement et va pouvoir adapter la thérapeutique en fonction des résultats obtenus.

Nous avons mené à Poitiers des travaux de recherche sur les aspects chromosomiques de la maladie et aussi sur ces techniques d'amplification du gène. Ces travaux ont été effectués dans le laboratoire du professeur Kitzis (en collaboration avec le docteur Jean-Claude Chomel du laboratoire de biologie cellulaire et moléculaire) et dans le laboratoire d'hématologie (docteur Françoise Brizard, professeur André Brizard). Ces travaux ont permis de mettre au point une technique de dosage du gène. Ils permettent le suivi des patients traités. Une partie de ces travaux ont pu être subventionnés par l'Arc.

Les résultats thérapeutiques obtenus à Poitiers

Des progrès indéniables ont été enregistrés ces dernières années dans le traitement des cancers. Ceci parce que les prises en charge sont plus précoces et aussi parce que les méthodes de soin ont bénéficié de l'apport de nouveaux produits pharmaceutiques très efficaces contre les tumeurs. C'est surtout dans les maladies du sang que l'on a pu montrer que la chimiothérapie, donnée toute seule, pouvait guérir certaines variétés de leucémie. La fabrication de nouveaux agents anti-leucémiques, souvent proposés par des industriels, nécessite que ceux-ci soient testés sur l'homme. Il est évident que l'application



Professeur François Guilhot, Département d'hématologie et d'oncologie médicale, CHU de Poitiers.

à l'homme ne se fait qu'après des contrôles très rigoureux de qualité et après avoir démontré sur des modèles cellulaires en culture au laboratoire ou chez l'animal de laboratoire que ces nouveaux agents anti-leucémiques ont une réelle efficacité sans avoir de toxicité trop importante.

La preuve qu'un nouveau médicament anti-leucémique est réellement efficace nécessite la mise au point d'un essai thérapeutique. Les essais thérapeutiques sont maintenant, en France, organisés, pour la plupart, selon des règles scientifiques précises et aussi légales. C'est la loi Huriet qui, au début des années 1990, donne des directives pour le déroulement de ces essais. La méthodologie de ces essais doit être très rigoureuse. On distingue souvent quatre étapes dans le développement d'un nouvel agent thérapeutique.

La phase I est la première évaluation chez l'homme où on recherche la dose maximum tolérable et la toxicité à cours terme ; des dosages pharmacocinétiques sont pratiqués (dosage du médicament dans le sang et dans d'autres liquides).

La phase II concerne les études de tolérance et d'efficacité.

Les phases III sont des études comparatives où le médicament est donné souvent en association et comparé à un traitement dit de référence.

Les phases IV sont les études de surveillance qui permettent de mettre en évidence des effets indésirables rares ou tardifs, et elles correspondent à l'introduction du médicament dans la pratique médicale courante après l'autorisation de mise sur le marché (délivrée par l'Agence française du médicament).

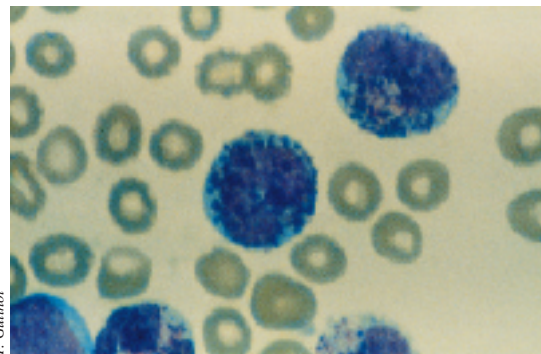
Nous avons, à Poitiers, mené dans la leucémie myéloïde chronique plusieurs études thérapeutiques. Nous nous sommes illustrés depuis 1988 dans le traitement de cette hémopathie maligne, et les résultats récents observés ont permis de définir le traitement standard actuel.

Nous nous sommes intéressés à la phase chronique de la maladie et avons dans une première

phase pilote suggéré que deux médicaments pouvaient avoir une grande efficacité. Précédemment, on utilisait de la chimiothérapie sous forme de comprimés à prendre par la bouche. Cette chimiothérapie améliorait l'état général des patients mais n'était pas efficace au niveau de la moelle osseuse qui gardait la trace de la maladie sous forme de la persistance de cellules porteuses du chromosome de Philadelphie.

Nous avons été les premiers en France à utiliser l'Interféron a, substance découverte dès les années 1950 et expérimentée précédemment dans le traitement de diverses tumeurs et de diverses leucémies dans un seul centre aux Etats-Unis. On s'est aperçu que l'Interféron donné par voie sous-cutanée faisait disparaître les signes de la maladie, et surtout, fait tout à fait nouveau, entraînait la diminution, voire dans quelques cas la disparition des cellules à chromosomes de Philadelphie au niveau de la moelle osseuse. Ce résultat était souvent obtenu après plusieurs mois de traitement, voire plusieurs années. Il est apparu rapidement, et ceci était encourageant, que les patients chez lesquels il y avait disparition des cellules à chromosome de Philadelphie pouvaient vivre très longtemps. Pour certains on a pu murmurer le mot guérison.

Ci-contre, cellules du sang d'un malade atteint d'une leucémie myéloïde chronique (les petites formes qui apparaissent en vert sont des globules rouges).



F. Gaillhot

Néanmoins, la fréquence de disparition des cellules à chromosome de Philadelphie restait faible. D'un autre côté, une autre substance appelée la Cytosine Arabinoside, médicament anticancéreux connu depuis fort longtemps (probablement depuis des centaines d'années car on en a retrouvé des traces dans des éponges cultivées aux Bahamas il y a près de 2 000 ans), était susceptible d'avoir la même action au niveau des cellules à chromosome Philadelphie. Là encore l'effet n'était pas suffisant car pratiquement toujours transitoire. Comme les deux substances semblaient agir à des niveaux différents, il était judicieux de tester leur association. C'est ce que nous avons fait pendant près d'une dizaine d'années au travers de plusieurs essais thérapeutiques. Le dernier essai, qui était un essai de phase III, a permis de démontrer que l'association Interféron - Cytosine Arabinoside était supérieure à l'utilisation de l'Interféron seul. Ce travail n'a été possible que grâce à une collaboration na-

tionale exemplaire puisque près de 200 médecins ont travaillé avec l'équipe poitevine, dans une soixantaine de centres anticancéreux, services d'hématologie ou services de médecine français. Le projet a nécessité de nombreuses réunions de travail entre statisticiens, médecins et représentants de la Société française d'hématologie et de la Société française de greffe de moelle osseuse. L'essai a été autorisé par un comité d'éthique, et la conduite du travail scientifique a été constamment surveillée pendant la période de la recherche.

Si les travaux fondamentaux menés au laboratoire permettent de mieux comprendre les mécanismes qui conduisent à la transformation cancéreuse d'une cellule, pour autant, les essais thérapeutiques qui testent de nouveaux médicaments ont aussi leur importance.

La rigueur scientifique qui entoure ces essais thérapeutiques doit être parfaite. En effet, les conclusions doivent être sans ambiguïté pour permettre aux médecins de traiter plus efficacement leurs patients. Nous avons pu démontrer grâce à cet essai thérapeutique que les patients traités par l'association Interféron - Cytosine Arabinoside survivaient plus longtemps et que la fraction de patients qui étaient en réponse cytogénétique (ceux pour lesquels on démontrait la disparition des cellules à chromosome Philadelphie) avaient une survie statistiquement augmentée. Ce progrès a été déterminant et a conduit à retenir cette nouvelle association médicamenteuse comme le traitement de référence de cette maladie. Cette association est proposée lorsque la greffe de moelle osseuse n'est pas possible. Car la transplantation de moelle est un traitement qui a lui aussi prouvé son efficacité. Néanmoins la greffe n'est possible que pour un petit nombre de patients : il faut effectivement un donneur compatible et être suffisamment jeune pour tolérer la transplantation. Le donneur peut être un frère ou une sœur, ou être sélectionné sur un fichier de donneurs volontaires. Les équipes médicales mobilisées à Poitiers autour de cette thématique depuis près de dix ans ont très certainement contribué à améliorer nos connaissances dans le domaine des leucémies. Les travaux de laboratoire ont permis de mettre en place des outils très puissants pour la détection des cellules leucémiques. Parallèlement, une méthode efficace de traitement a été conçue et expérimentée à partir de Poitiers. Elle est devenue la référence internationale. Elle illustre que la recherche médicale bien conçue avec comme base l'essai thérapeutique mené avec une grande rigueur vient en complément de la recherche du laboratoire. Elle doit être soutenue par le monde associatif, la générosité du public et aussi les grands organismes de recherche et les collectivités locales. ■



Chromosome Philadelphie

Le laboratoire de génétique cellulaire et moléculaire du CHU de Poitiers et le département d'hématologie et d'oncologie développent actuellement un projet de recherche visant à améliorer le suivi thérapeutique de la leucémie myéloïde chronique. Ce cancer, qui atteint les cellules souches de la moelle osseuse et donc, par voie de conséquence, certains globules blancs, est dû à une translocation chromosomique, c'est-à-dire à un échange de matériel génétique entre deux chromosomes. Cette translocation donne lieu à un caryotype anormal, dans lequel apparaissent non plus deux paires de chromosomes 9 et 22, mais un chromosome 9 et un chromosome 22 normaux, et deux chromosomes hybrides 9-22 (l'un d'eux est appelé le chromosome Philadelphie).

«Aujourd'hui, l'analyse des chromosomes grâce au caryotype ne suffit plus au médecin, explique Alain Kitzis, professeur à la faculté de médecine et de pharmacie de l'Université de Poitiers et directeur du laboratoire. Nous avons donc mis en place une méthode permettant de quantifier le gène hybride bcr-abl, présent sur le chromosome Philadelphie. Cette méthode utilise des techniques de biologie moléculaire et en particulier la PCR (polymerase chain reaction). Cette réaction, grâce à l'amplification considérable d'un gène ou d'une partie de celui-ci, permet sa détection même s'il est

présent en très petite quantité dans le matériel étudié».

L'analyse directe du gène par PCR est beaucoup plus sensible que les méthodes de la biologie classique. La biologie moléculaire permet en effet de détecter un globule blanc anormal sur 100 000 voire sur 1 000 000. L'intérêt de cette nouvelle méthode est en particulier de suivre l'efficacité thérapeutique. Cliniquement, un malade peut être soit dans un état satisfaisant (et dans ce cas le médecin peut décider de diminuer, voire d'arrêter le traitement), soit dans un état non satisfaisant (le médecin va alors modifier le traitement pour l'arrêter). Jean-Claude Chomel, praticien hospitalo-universitaire dans le laboratoire de génétique cellulaire et moléculaire, a développé le dosage du gène bcr-abl par biologie moléculaire. Il a ensuite mis en place un diagramme permettant de suivre la quantité de gène bcr-abl en fonction du temps. Celui-ci permet de distinguer non plus deux, mais trois états d'évolution de la leucémie myéloïde chronique. Il existe en effet un stade intermédiaire d'évolution de la maladie, apparemment stable pour le médecin, mais en réalité non satisfaisant pour le biologiste moléculaire. Le rôle de ce dernier est alors d'informer le thérapeute qui pourra modifier le traitement afin d'obtenir une meilleure efficacité. **L B-G ■**

Ces travaux sont réalisés avec le soutien financier de l'Arc.

Un gène suppresseur de tumeur

De nombreuses anomalies, responsables de certains types de cancers, affectent les chromosomes humains. En cherchant un gène suppresseur de tumeur, Joëlle Roche, professeur au laboratoire de génétique humaine de l'Imig de l'Université de Poitiers, a mis en évidence, sur le chromosome 3p, une délétion fréquente dans les carcinomes du poumon (une délétion est en fait l'absence d'un gène). A l'inverse des oncogènes, qui sont des gènes dont la présence est responsable du développement de tumeurs, c'est ici l'absence du gène qui entraîne le développement du cancer. «Dans un premier temps, explique Joëlle Roche, nous avons établi une carte physique de la région fréquemment délétée sur le chromosome 3p. Cette cartographie nous a permis de mettre en évidence un gène codant pour la synthèse d'une protéine, la sémaphorine IV.» Découvertes grâce à leur propriété de guidage des neurones, les sémaphorines, présentes chez de nombreuses espèces, des insectes aux mammifères, sont très importantes lors du neuro-développement. Elles pourraient intervenir

en particulier dans la différenciation et la reconnaissance cellulaire.

Des études descriptives de la localisation de la protéine ont été réalisées sur l'embryon et le cerveau humains, ainsi que sur différentes tumeurs du pou-



Bruno Veysser

mon. «Des résultats préliminaires suggèrent une localisation différente de la protéine selon les types cellulaires. Le gène de la sémaphorine IV a pu être transfecté dans des lignées cellulaires de fibrosarcome de souris. Ces lignées, habituellement très tumorigènes, voient leur effet diminuer par injection du gène de la protéine.» Des études très récentes ont montré que les sémaphorines partagent un récepteur commun avec le VEGF (la molécule responsable du développement des vaisseaux lors de l'embryogenèse), suggérant une possible compétition entre les deux molécules. Cette nouvelle donnée est d'autant plus intéressante que plus une tumeur est irriguée et plus elle se développe. La délétion du gène de la sémaphorine IV, et par voie de conséquence l'absence de la protéine dans les cellules malades, pourrait engendrer une meilleure irrigation de la tumeur ainsi existante, participant donc à son développement. **L B-G ■**

Ce travail est réalisé avec le soutien financier de l'Arc, de la Ligue contre le cancer, et de la région Poitou-Charentes.