



**HAL**  
open science

# Impact pronostique des délétions d'IKAROS dans les leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant : analyse rétrospective de la cohorte rouennaise

Marie Jaffray

► **To cite this version:**

Marie Jaffray. Impact pronostique des délétions d'IKAROS dans les leucémies aiguës lymphoblastiques de l'enfant : analyse rétrospective de la cohorte rouennaise. Médecine humaine et pathologie. 2016. dumas-01425536

**HAL Id: dumas-01425536**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01425536>**

Submitted on 3 Jan 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License



**ANNEE UNIVERSITAIRE 2015 - 2016**  
**U.F.R. DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN**

-----

DOYEN : **Professeur Pierre FREGER**

ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**

**Professeur Benoit VEBER**

**Professeur Pascal JOLY**

**Professeur Stéphane MARRET**

<b>I - MEDECINE</b>
---------------------

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mr Frédéric <b>ANSELME</b>	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle <b>AUQUIT AUCKBUR</b>	HCN	Chirurgie plastique
Mr Bruno <b>BACHY</b> ( <i>surnombre jusque 01/11/15</i> )	HCN	Chirurgie pédiatrique
Mr Fabrice <b>BAUER</b>	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya <b>BEKRI</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Jacques <b>BENICHOU</b>	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Jean-Paul <b>BESSOU</b>	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise <b>BEURET-BLANQUART</b>	HCN	Commission E.P.P. D.P.C. Pôle Qualité ( <i>surnombre</i> )

Mr Guy <b>BONMARCHAND</b> ( <i>urnombre</i> )	HCN	Réanimation médicale
Mr Olivier <b>BOYER</b>	UFR	Immunologie
Mr François <b>CARON</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe <b>CHASSAGNE</b>	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent <b>COMPERE</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Antoine <b>CUVELIER</b>	HB	Pneumologie
Mr Pierre <b>CZERNICHOW</b>	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Nicolas <b>DACHER</b>	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan <b>DARMONI</b>	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre <b>DECHELOTTE</b>	HCN	Nutrition
Mme Danièle <b>DEHESDIN</b> ( <i>urnombre</i> )	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Frédéric <b>DI FIORE</b>	CB	Cancérologie
Mr Fabien <b>DOGUET</b>	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean <b>DOUCET</b>	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard <b>DUBRAY</b>	CB	Radiothérapie
Mr Philippe <b>DUCROTTE</b>	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Frank <b>DUJARDIN</b>	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice <b>DUPARC</b>	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric <b>DURAND</b>	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand <b>DUREUIL</b>	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène <b>ELTCHANINOFF</b>	HCN	Cardiologie
Mr Thierry <b>FREBOURG</b>	UFR	Génétique
Mr Pierre <b>FREGER</b>	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François <b>GEHANNO</b>	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel <b>GERARDIN</b>	HCN	Imagerie médicale

Mme Priscille <b>GERARDIN</b>	HCN	Pédopsychiatrie
Mr Michel <b>GODIN</b> ( <i>surnombre</i> )	HB	Néphrologie
M. Guillaume <b>GOURCEROL</b>	HCN	Physiologie
Mr Philippe <b>GRISE</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN	Urologie
Mr Dominique <b>GUERROT</b>	HCN	Néphrologie
Mr Olivier <b>GULLIN</b>	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier <b>HANNEQUIN</b>	HCN	Neurologie
Mr Fabrice <b>JARDIN</b>	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie <b>JOLY</b>	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal <b>JOLY</b>	HCN	Dermato - Vénérologie
Mme Annie <b>LAQUERRIERE</b>	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent <b>LAUDENBACH</b>	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Joël <b>LECHEVALLIER</b>	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé <b>LEFEBVRE</b>	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry <b>LEQUERRE</b>	HB	Rhumatologie
Mr Eric <b>LEREBOURS</b>	HCN	Nutrition
Mme Anne-Marie <b>LEROI</b>	HCN	Physiologie
Mr Hervé <b>LEVESQUE</b>	HB	Médecine interne
Mme Agnès <b>LIARD-ZMUDA</b>	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves <b>LITZLER</b>	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand <b>MACE</b>	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David <b>MALTETE</b>	HCN	Neurologie
Mr Christophe <b>MARGUET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle <b>MARIE</b>	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul <b>MARIE</b>	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc <b>MARPEAU</b>	HCN	Gynécologie - Obstétrique

Mr Stéphane <b>MARRET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique <b>MERLE</b>	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre <b>MICHEL</b>	HCN	Hépatogastro-entérologie
Mr Jean-François <b>MUIR</b>	HB	Pneumologie
Mr Marc <b>MURAINÉ</b>	HCN	Ophthalmologie
Mr Philippe <b>MUSETTE</b>	HCN	Dermatologie - Vénérologie
Mr Christophe <b>PEILLON</b>	HCN	Chirurgie générale
Mr Christian <b>PFISTER</b>	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe <b>PLANTIER</b>	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier <b>PLISSONNIER</b>	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan <b>PREVOST</b>	HCN	Endocrinologie
Mr Bernard <b>PROUST</b>	HCN	Médecine légale
Mme Nathalie <b>RIVES</b>	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Jean-Christophe <b>RICHARD</b> ( <i>détachement</i> )	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent <b>RICHARD</b>	UFR	Pharmacologie
Mr Horace <b>ROMAN</b>	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe <b>SABOURIN</b>	HCN	Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume <b>SAVOYE</b>	HCN	Hépatogastrologie
Mme Céline <b>SAVOYE-COLLET</b>	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale <b>SCHNEIDER</b>	HCN	Pédiatrie
Mr Michel <b>SCOTTE</b>	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne <b>TAMION</b>	HCN	Réanimation médicale
Mr Luc <b>THIBERVILLE</b>	HCN	Pneumologie
Mr Christian <b>THUILLEZ</b>	HB	Pharmacologie
Mr Hervé <b>TILLY</b>	CB	Hématologie et transfusion

Mr Olivier <b>TROST</b>	HCN	Chirurgie Maxillo Faciale
Mr Jean-Jacques <b>TUECH</b>	HCN	Chirurgie digestive
Mr Jean-Pierre <b>VANNIER</b>	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît <b>VEBER</b>	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre <b>VERA</b>	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric <b>VERIN</b>	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
Mr Eric <b>VERSPYCK</b>	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier <b>VITTECOQ</b>	HB	Rhumatologie
Mr Jacques <b>WEBER</b>	HCN	Physiologie

### **MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mme Noëlle <b>BARBIER-FREBOURG</b>	HCN	Bactériologie – Virologie
Mr Jeremy <b>BELLIEN</b>	HCN	Pharmacologie
Mme Carole <b>BRASSE LAGNEL</b>	HCN	Biochimie
Mme Valérie <b>BRIDOUX HUYBRECHTS</b>	HCN	Chirurgie Digestive
Mr Gérard <b>BUCHONNET</b>	HCN	Hématologie
Mme Mireille <b>CASTANET</b>	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie <b>CHASTAN</b>	HCN	Physiologie
Mme Sophie <b>CLAEYSSENS</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Moïse <b>COEFFIER</b>	HCN	Nutrition
Mr Stéphane <b>DERREY</b>	HCN	Neurochirurgie
Mr Manuel <b>ETIENNE</b>	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Serge <b>JACQUOT</b>	UFR	Immunologie
Mr Joël <b>LADNER</b>	HCN	Epidémiologie, économie de la santé

Mr Jean-Baptiste <b>LATOUCHE</b>	UFR	Biologie cellulaire
Mr Thomas <b>MOUREZ</b>	HCN	Bactériologie
Mme Muriel <b>QUILLARD</b>	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Mathieu <b>SALAUN</b>	HCN	Pneumologie
Mme Pascale <b>SAUGIER-VEBER</b>	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire <b>TOBENAS-DUJARDIN</b>	HCN	Anatomie

**PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE**

Mme Dominique <b>LANIEZ</b>	UFR	Anglais
Mr Thierry <b>WABLE</b>	UFR	Communication



## II - PHARMACIE

### PROFESSEURS

Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques <b>BONNET</b>	Pharmacologie
Mr Roland <b>CAPRON</b> (PU-PH)	Biophysique
Mr Jean <b>COSTENTIN</b> (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b> (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre <b>GOULLE</b>	Toxicologie
Mr Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
Mme Isabelle <b>LEROUX - NICOLLET</b>	Physiologie
Mme Christelle <b>MONTEIL</b>	Toxicologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b> (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth <b>SEGUIN</b>	Pharmacognosie
Mr Rémi <b>VARIN</b> (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie <b>VAUGEOIS</b>	Pharmacologie
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique <b>BOUCHER</b>	Pharmacologie

Mr Frédéric <b>BOUNOURE</b>	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam <b>CHAGRAOUI</b>	Physiologie
Mme Marie Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mme Cécile <b>CORBIERE</b>	Biochimie
Mr Eric <b>DITTMAR</b>	Biophysique
Mme Nathalie <b>DOURMAP</b>	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUC</b>	Pharmacologie
Mr Abdelhakim <b>ELOMRI</b>	Pharmacognosie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie Organique
Mr Gilles <b>GARGALA</b> (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla <b>GHARBI</b>	Chimie analytique
Mme Marie-Laure <b>GROULT</b>	Botanique
Mr Hervé <b>HUE</b>	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia <b>LE GOFF</b>	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong <b>LU</b>	Biologie
Mme Sabine <b>MENAGER</b>	Chimie organique
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Malika <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Christine <b>THARASSE</b>	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric <b>ZIEGLER</b>	Biochimie

### **PROFESSEURS ASSOCIES**

Mme Cécile <b>GUERARD-DETUNCQ</b>	Pharmacie officinale
Mr Jean-François <b>HOUIVET</b>	Pharmacie officinale

**PROFESSEUR CERTIFIE**

Mme Mathilde **GUERIN**

Anglais

**ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE**

Mr Jérémie **MARTINET**

Immunologie

**ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE**

Mr Romy **RAZAKANDRAINIBE**

Parasitologie

Mr François **HALLOUARD**

Galénique

Mme Caroline **LAUGEL**

Chimie organique

Mr Souleymane **ABDOUL-AZIZ**

Biochimie

Mme Maité **NIEPCERON**

Microbiologie

## LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie thérapeutique
Mr Roland <b>CAPRON</b>	Biophysique
Mr Jean <b>CHASTANG</b>	Mathématiques
Mme Marie-Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mr Jean-Jacques <b>BONNET</b>	Pharmacodynamie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b>	Parasitologie
Mr Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie organique
Mme Isabelle <b>LEROUX-NICOLLET</b>	Physiologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b>	Microbiologie
Mme Elisabeth <b>SEGUIN</b>	Pharmacognosie
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### III – MEDECINE GENERALE

#### PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS-MÉDECIN GÉNÉRALISTE

Mr Jean-Loup **HERMIL** UFR Médecine générale

#### PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine générale

Mr Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

#### MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mme Lucille **PELLERIN** UFR Médecine générale

Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale

Mme Marie Thérèse **THUEUX** UFR Médecine générale

## ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

### PROFESSEURS

Mr Serguei <b>FETISSOV</b> (med)	Physiologie (ADEN)
Mr Paul <b>MULDER</b> (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su <b>RUAN</b> (med)	Génie Informatique

### MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil <b>ADRIOUCH</b> (med) 905)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle <b>BOUGEARD-DENOYELLE</b> (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine <b>CLEREN</b> (phar)	Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline <b>GAILDRAT</b> (phar)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas <b>GUEROUT</b> (phar)	Chirurgie Expérimentale
Mr Antoine <b>OUVRARD-PASCAUD</b> (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric <b>PASQUET</b>	Sciences du langage, orthophonie
Mme Isabelle <b>TOURNIER</b> (phar)	Biochimie (UMR 1079)

**CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE**

*HCN - Hôpital Charles Nicolle*

*HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME*

*CB - Centre Henri Becquerel*

*CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray*

*CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation*

*SJ – Saint Julien Rouen*

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.



## **Remerciements**

**A Monsieur le Professeur Jean-Pierre Vannier,**

Vous me faites l'honneur de diriger cette thèse, je vous remercie pour toutes vos idées et tous vos commentaires qui m'ont aidée à mûrir ce travail.

Je vous remercie de m'avoir entraînée dans la spécialité d'héματο-oncologie pédiatrique, de m'avoir montré le chemin de la publication de mon premier article, de m'avoir appris le savoir-être auprès des patients.

**A Madame le Professeur Pascale Schneider,**

Tu me fais l'honneur de juger ce travail. Je te remercie de me faire confiance pour les prochaines années dans le service, j'ai hâte de travailler à tes côtés.

**A Monsieur le Professeur Fabrice Jardin,**

Tu me fais l'honneur d'accepter d'être membre du jury. Je te remercie pour ton enseignement au lit du malade.

**A Monsieur le Professeur Jean-Hugues Dalle,**

Vous me faites l'honneur de venir juger ce travail. Je vous remercie chaleureusement.

**A Madame le Docteur Pascaline Etancelin, et aux techniciens Laetitia, Mathieu et Colas du laboratoire de génétique oncologique du Centre Henri Becquerel,**

Vous m'avez initiée aux techniques de biologie moléculaire et vous avez pris le temps de réaliser et interpréter les analyses pour mon travail. Je vous en remercie vivement.

**A Kristell et Pierre-Julien Vially,**

Vous m'avez aidé à réaliser les statistiques des résultats de mon travail, je vous en remercie.

**A tous les médecins des services où j'ai été interne :** services d'hémo-oncologie pédiatrique, de pédiatrie au CH d'Elbeuf, de pédiatrie générale, d'hématologie adulte au Centre Henri Becquerel, de néonatalogie, de réanimation.

J'ai grandi tout au long de mon internat en apprenant à vos côtés et en prenant un peu de chacun de vous, je vous en remercie.

A Cécile et Aude, pour votre engagement auprès des patients et de leur famille,

A Catherine à Elbeuf, pour nos visites en maternité interminables mais toujours avec enthousiasme !

A Clémentine, tu m'as appris la bienveillance dans toutes les situations !

A Alexandra, j'admire ta rigueur exemplaire !

A Hélène au Centre Henri Becquerel, pour ta bonne humeur en toute circonstance,

A Sophie en réa, tu m'as appris la franchise auprès des patients,

A Thierry, pour tes raisonnements sans faille.

**A tous les biologistes** de l'IBC et du laboratoire de génétique oncologique : je vous remercie de m'avoir enseigné l'hématologie d'un autre point de vue.

**Aux pédiatres libéraux** qui m'ont accueillie, je vous remercie de m'avoir fait découvrir une autre facette de la pédiatrie.

**Aux chefs de clinique et assistants**, quel plaisir d'avoir travaillé à vos côtés !

A Hélène, je te remercie de m'avoir transmis ta passion pour la pédiatrie !

A tous les autres : Stéphanie, Dorothée, Ophélie, Lise, Léna, Nimrod, Joffrey, et Bruno (tu es le meilleur !)

**A tous les soignants, psychologues, techniciens de laboratoire, secrétaires** que j'ai croisés, vous savez travailler en équipe et mettre de la bonne humeur, ne changez rien !

**A mes co-internes**, je vous remercie pour votre entraide et votre sens de l'humour, nécessaires pour surmonter les journées ou les gardes difficiles !

A Marie Br, je souhaite qu'on reste connectées encore longtemps,

A Marie LR, et toutes ces aventures hématologiques que nous partageons !

A Marion A, pour ta finesse d'esprit,

A Roxane, Marie C, Marie Be., Doriane, Edouard, Marion C, Boris, et bien d'autres qui ont croisé mon chemin !

**A ma famille,**

A ma mère, je te remercie pour ton soutien immense depuis ma décision d'étudier la médecine !

A Fanny, Pierre, et Olivier, je vous remercie pour les courageuses relectures de mon travail !

A mon père, qui veille sur moi tout là-haut.

A Robin et Diane, mes beaux-enfants plein de vie !

A Baptiste, mon garçon toujours joyeux, tu as grandi au rythme de l'externat, puis des gardes, merci pour ta compréhension et ta patience !

A Emile, mon bébé si sage, même pendant les transmissions de réa !

A Bruno, je te remercie bien sûr pour ta disponibilité et ton soutien sans faille dans l'élaboration de cette thèse, pour tes remarques pertinentes. Je te remercie surtout de me rendre heureuse tous les jours, je t'aime de tout mon cœur.

## Résumé

Introduction : Le pronostic des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) B de l'enfant s'est progressivement amélioré, grâce notamment à l'utilisation de facteurs pronostiques pour une stratification plus précise des patients en groupes de traitement. Cet axe d'amélioration est rendu possible par les progrès des techniques de génétique moléculaire, par l'identification de nouveaux marqueurs, notamment les délétions du gène *IKAROS*.

Objectif : Le but de ce travail était d'étudier l'impact pronostique des délétions *IKAROS* chez les enfants traités pour une LAL B selon le protocole FRALLE 2000 au CHU de Rouen.

Patients et méthode : Nous avons recueilli rétrospectivement les données de tous les enfants âgés de 1 à 16 ans, porteurs d'une LAL B, *BCR-ABL*-négatif, entre septembre 2000 et décembre 2015. Les délétions du gène *IKAROS* ont été recherchées par MLPA, rétrospectivement sur matériel biologique congelé.

Résultats/Discussion : La cohorte (111 patients) présentait une survie sans rechute (EFS) et une survie globale (OS) à 5 ans élevées, respectivement 84,3% et 92,8%. La fréquence des délétions *IKAROS* était de 15%, conforme aux résultats antérieurement publiés. La délétion *IKAROS* était associée plus fréquemment à un âge >10 ans, une hyperleucocytose >50G/L au diagnostic, et un phénotype proB, mais sans significativité statistique. Sur le plan génétique, les anomalies B-other étaient surreprésentées dans le groupe *IKAROS*-déléte de façon significative. L'EFS et l'OS à 5 ans étaient plus basses dans le groupe délété : respectivement 55% vs 88% ( $p < 0,005$ ), et 94% vs 76% ( $p = 0,05$ ).

Conclusion : Cette étude montre pour la première fois dans le protocole FRALLE 2000 que les délétions *IKAROS* ont un pronostic défavorable en termes d'EFS et d'OS, ce qui avait déjà été publié pour d'autres protocoles de traitement. L'intensification précoce du traitement pourrait prévenir les rechutes. Des études prospectives sont nécessaires pour connaître l'efficacité de cette attitude.

Mots-clés : *IKAROS* (*IKZF1*), leucémie aiguë lymphoblastique B, pédiatrie, impact pronostique.

# Sommaire

INTRODUCTION.....	4
LEUCEMIES AIGUES .....	4
Epidémiologie .....	4
Facteurs de risques étiologiques.....	4
Diagnostic des LAL .....	6
Facteurs pronostiques actuels : simplification des critères cliniques, complexification des critères génétiques .....	9
Traitement .....	11
Le gène <i>IKAROS</i> .....	16
Structure du gène <i>IKAROS</i> .....	16
Les isoformes de la protéine .....	17
Expression du gène <i>IKAROS</i> .....	17
Fonction du gène <i>IKAROS</i> .....	17
Mutations du gène <i>IKAROS</i> (cf figure 4).....	21
OBJECTIFS.....	23
PATIENTS ET METHODE.....	23
Patients.....	23
Méthode .....	24
Données générales.....	24
Aspects éthiques.....	24
Analyse du gène <i>IKAROS</i> .....	24

Analyses statistiques .....	27
RESULTATS .....	28
Description de la cohorte du FRALLE 2000 .....	28
Analyse de la cohorte pour laquelle le statut <i>IKAROS</i> est connu .....	30
Devenir des patients pour l'ensemble de la cohorte .....	33
<i>IKAROS</i> et rechute .....	33
<i>IKAROS</i> et survie globale.....	35
Fréquence et type de délétion <i>IKAROS</i> .....	36
DISCUSSION.....	38
Technique MLPA .....	38
Cas particulier de la monosomie 7 .....	38
Aspects généraux de la cohorte rouennaise .....	39
Impact d' <i>IKAROS</i> sur les caractéristiques au diagnostic.....	39
Age, hyperleucocytose .....	39
Immunophénotype.....	40
Caractéristiques génétiques .....	41
Impact d' <i>IKAROS</i> sur la réponse précoce.....	41
Corticotosensibilité.....	41
MRD en fin d'induction .....	42
Impact d' <i>IKAROS</i> sur la rechute.....	42
Faible impact dans le sous-groupe génétique <i>ETV6-RUNX1</i> .....	42
Impact majeur dans le sous-groupe génétique B-other .....	43
<i>IKAROS</i> et groupes de traitement .....	43
Place de la délétion d' <i>IKAROS</i> dans l'allogreffe .....	43
Pas d'impact sur le type de délétion d' <i>IKAROS</i> .....	44
<i>IKAROS</i> et délai de rechute.....	44
Statut <i>IKAROS</i> lors de la rechute .....	45

Impact d' <i>IKAROS</i> sur la survie.....	45
Autres délétions .....	45
CONCLUSION .....	47
BIBLIOGRAPHIE .....	48
Annexe 1 : Schéma général du traitement FRALLE 2000A .....	53
Annexe 2 : Schéma général du traitement FRALLE 2000B .....	54
Annexe 3 : Revue de la littérature .....	55

# **INTRODUCTION**

La leucémie aigüe (LA) est une hémopathie maligne caractérisée par la prolifération dans la moelle osseuse de cellules immatures, non différenciées, les blastes.

## **LEUCEMIES AIGUES**

### **Epidémiologie**

La LA est le cancer le plus fréquent chez l'enfant, il représente le tiers des cancers, devant les tumeurs cérébrales et les lymphomes. On dénombre 600 nouveaux cas de LA par an en France, avec un sex-ratio de 1,2 à 1,4 [1].

80% des LA de l'enfant sont des LA lymphoblastiques (LAL), c'est-à-dire une prolifération clonale développée à partir d'une cellule lymphoïde bloquée à un stade précoce de sa différenciation. Les LA myéloblastiques (LAM) sont plus rares.

La LAL est une pathologie à prédominance pédiatrique : la moitié des cas est diagnostiquée chez les enfants ou les adolescents.

On distingue les LAL de la lignée B et celles de la lignée T, en fonction de leur précurseur initial. Les LAL B sont plus fréquentes chez le petit enfant, avec un pic d'incidence entre 2 et 5 ans. Les LAL T se retrouvent plus fréquemment chez les enfants plus âgés.

### **Facteurs de risques étiologiques**

#### **Histoire naturelle des LAL**

Concernant 60% des LAL B, le mécanisme de leucémogenèse s'explique par l'existence de clones préleucémiques en anténatal, qui ont évolué vers un clone leucémique dans l'enfance. Ainsi on a retrouvé un clone unique identique chez des jumeaux monozygotes prouvant un passage transplacentaire du clone préleucémique [2].

On estime que le risque de transformation vers un clone leucémique est de 1/1500, modulé par certains autres facteurs de risques que nous allons détailler.

## **Facteurs de risques génétiques**

Plusieurs syndromes génétiques, notamment la trisomie 21 constitutionnelle [3], le syndrome de Li et Fraumeni, le syndrome de Fanconi, certains déficits immunitaires comme l'ataxie-télangiectasie, sont associés à un risque élevé de LA. Mais la grande majorité des patients n'a pas de facteur génétique constitutionnel reconnu.

Il existe néanmoins une susceptibilité génétique au développement d'une LAL : des analyses pangénomiques ont retrouvé certains polymorphismes associés à une augmentation du risque de LAL [4,5]. Les polymorphismes les plus fréquents sont situés sur les gènes *ARID5B*, *CDKN2A*, *IKAROS* (polymorphisme rs4132601 dont nous reparlerons ci-dessous), *GATA3*. Le risque relatif est d'environ 3.

## **Facteurs de risques environnementaux**

### **Radiations ionisantes et non ionisantes**

Une exposition fœtale ou dans la petite enfance aux radiations ionisantes à forte dose augmente fortement le risque relatif de LA, au maximum à 140, 5 ans après l'exposition [6].

Le scanner pendant l'enfance augmenterait le risque relatif jusqu'à 3, avec 50 mGy d'irradiation sur la moelle osseuse, mais l'étude souligne l'importance du biais d'indication chez les enfants inclus [7].

Les champs magnétiques à extrêmement basse fréquence augmenteraient le risque à 1,7 [0,9-3,6] [8].

### **Facteurs infectieux**

Les facteurs infectieux jouent possiblement un rôle protecteur : la stimulation précoce du système immunitaire, comme en cas de garde collective, diminuerait le risque de LA, avec un risque relatif de 0,8 en moyenne selon les études [9]. En effet la maturation précoce du système immunitaire pourrait influencer la transformation ultérieure d'un clone pré-leucémique en leucémie.

### **Exposition chimique**

Le risque leucémogène des chimiothérapies anti-cancéreuses telles que les agents alkylants et les inhibiteurs de topo-isomérase II est reconnu. Le benzène à forte dose est reconnu comme facteur de risque chez l'adulte.



## **Diagnostic des LAL**

Le diagnostic de certitude d'une LA repose sur l'analyse cytologique de la moelle osseuse, prélevée le plus souvent chez l'enfant au niveau de l'os iliaque. On observe ainsi, après coloration au May-Grünwald-Giemsa, un envahissement de cette moelle par les lymphoblastes. Le diagnostic est alors posé lorsque plus de 20% des cellules observées sont des blastes.

### **Clinique**

Le tableau clinique peut être d'installation plus ou moins brutale, il résulte de l'insuffisance médullaire et de l'infiltration blastique.

Ainsi lors du diagnostic, on peut trouver :

- des signes généraux : altération de l'état général, fièvre
- des douleurs osseuses, présentes dans 20 à 40% des cas, d'horaires inflammatoires
- des manifestations liées aux cytopénies :
  - un syndrome anémique (l'anémie peut être profonde dans les formes lentement évolutives)
  - une fièvre d'origine infectieuse, surtout en présence d'une neutropénie inférieure à  $500/\text{mm}^3$ . Parmi les infections révélatrices, on retrouve classiquement une angine ulcéro-nécrotique
  - un syndrome hémorragique, le plus souvent cutanéomuqueux
- un syndrome tumoral :
  - des adénopathies superficielles (50 à 70% des cas) : touchant toutes les aires, en particulier cervicales
  - des adénopathies profondes : abdominales et médiastinales. Ces dernières sont le reflet d'une atteinte thymique et se retrouvent majoritairement dans les cas de LAL T
- des atteintes extra-hématologiques inaugurales :
  - un envahissement du système nerveux central (SNC)
  - une atteinte testiculaire initiale (1 à 2% des garçons).

## **Classification des LAL**

### **Etude cytologique et cytochimique**

L'analyse du type cytologique des cellules blastiques permet de distinguer les deux grandes variétés de LA : les LAM et les LAL.

Le caractère lymphoïde de la leucémie est affirmé par l'absence de granulations cytoplasmiques et par l'analyse cytochimique retrouvant une négativité de la réaction des peroxydases dans le cytoplasme (caractérisant la lignée myéloïde).

### **Etude immunologique**

L'expression variable, par les cellules leucémiques, d'antigènes membranaires et intra-cytoplasmiques regroupés en « CD » (cluster de différenciation) permet de déterminer si les lymphoblastes sont issus de la lignée B ou T, et de préciser leur stade de maturation.

### **Etude cytogénétique et moléculaire**

Des altérations génétiques somatiques sont à l'origine des LAL. Cela peut être une aneuploïdie, c'est-à-dire un nombre de chromosomes aberrant, un réarrangement chromosomique, une délétion, un gain, ou une mutation dans la séquence d'ADN [10].

Dans les LAL B, certaines altérations génétiques sont actuellement recherchées de manière systématique, elles sont prises en compte pour définir des groupes pronostiques :

- l'hyperdiploïdie (>51 chromosomes), présente dans 30-35% des cas
- la translocation t(12;21)(p13;q22), conduisant à la fusion *ETV6-RUNX1*, présente dans 20-25% des cas
- l'hypo /haploïdie (<5% des cas)
- la translocation t(1;19)(q23;p13.3) conduisant à la fusion *TCF3-PBX1* (<5% des cas)
- la translocation t(9;22)(q34;q11.2) conduisant à la formation du gène de fusion *BCR-ABL* (2%)
- les translocations impliquant un réarrangement de *MLL*(11q23) : principalement t(4;11)(q21;q23) et t(11;19)(q23;p13.3)
- la délétion intragénique du gène *ERG* (3%)
- l'amplification intra-chromosomique du chromosome 21 (iAMP21) (1%)

- les autres anomalies, regroupées sous le terme B-other, représentant 25-30% des cas, dont *BCR-ABL*-like (10%) et *CRFL2* (5%).

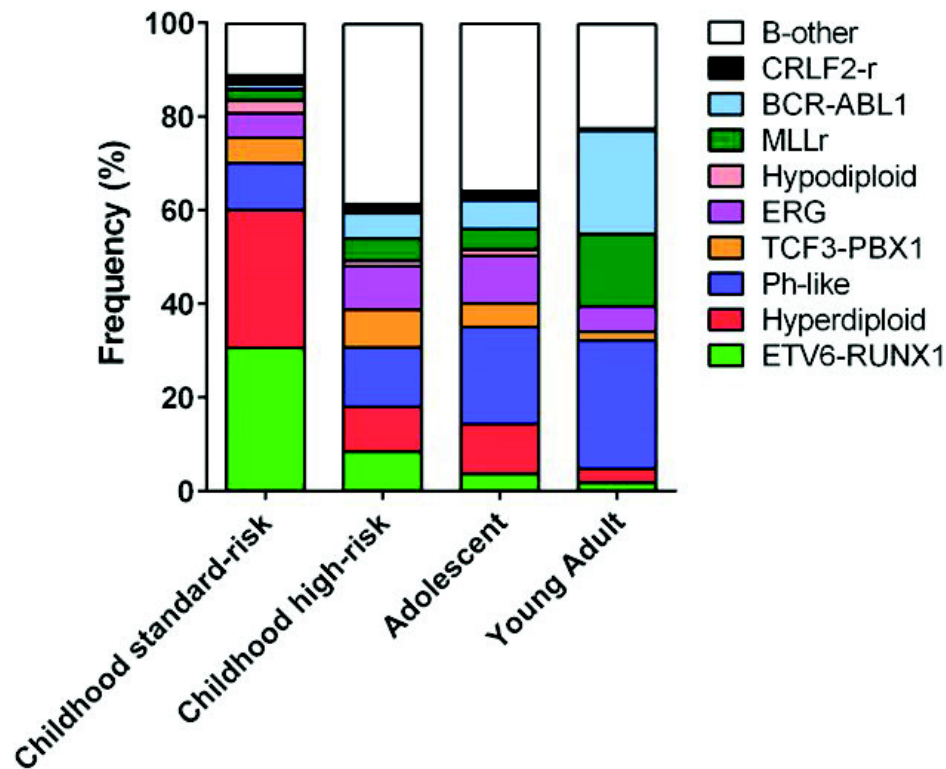


Figure 1 : Prévalence des sous-types de LAL selon les groupes d'âge et de risque [11].

Par ailleurs, le séquençage pangénomique a permis d'identifier des anomalies génétiques additionnelles, qui peuvent avoir un intérêt pronostique ou thérapeutique [11]. Elles interviennent dans :

- La différenciation de la cellule lymphoïde : c'est le cas de *PAX5*, *IKAROS*, *EBF1*
- La prolifération et la survie : *RAS*, *PTPN11*, *FLT3*, *CRFL2*, *JAK*
- La régulation du cycle cellulaire : *TP53*, *CDKN2A*
- La régulation de la transcription : *ETV6*.

Certains réarrangements, comme la translocation impliquant *MLL*, très précoce et très agressive, suffisent à eux seuls au développement d'une LAL. Mais la majorité des LAL portent des altérations génétiques somatiques multiples : les LAL avec le transcrite *ETV6-RUNX1* ou *BCR-ABL* ont en moyenne 6 à 8 altérations génétiques additionnelles. D'une manière générale, les réarrangements chromosomiques et les aneuploïdies sont des événements précoces, alors que les mutations sont des événements plutôt tardifs.

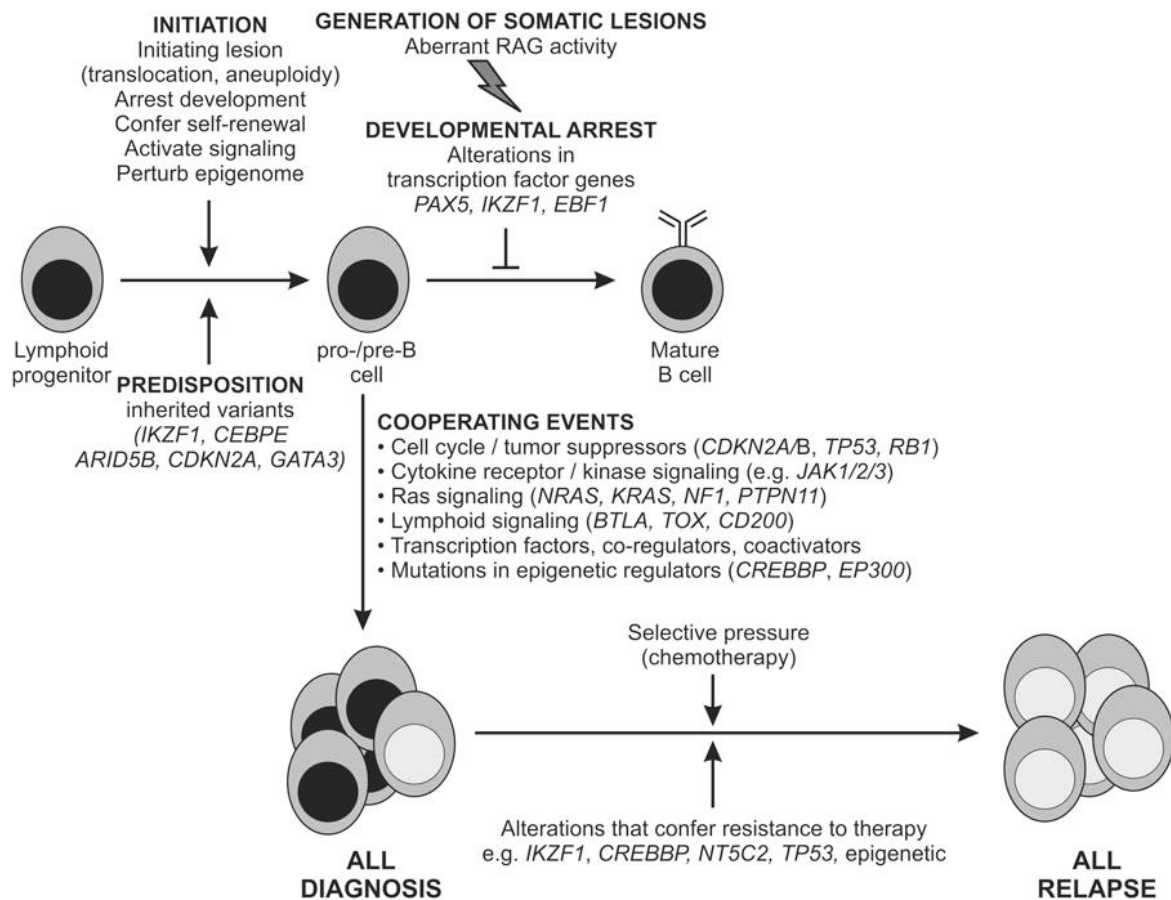


Figure 2 : Pathogenèse génétique des LAL B [11]. Variants somatiques et leurs relations dans le développement de LAL et dans l'échec de traitement.

Les LAL T ne sont pas divisées selon les facteurs génétiques car ceux-ci ne sont pas clairement associés à des caractéristiques biologiques uniques des LAL T. L'immunophénotypage identifie et classe alors les blastes dans la lignée lymphocytaire T.

### **Facteurs pronostiques actuels : simplification des critères cliniques, complexification des critères génétiques**

L'analyse rétrospective des données cliniques, cytologiques, immunologiques et cytogénétiques a permis de définir des facteurs pronostiques des LAL de l'enfant permettant d'adapter l'intensité des traitements sur des bases rationnelles. Cette intensité de traitement adaptée a permis de gommer l'impact de certains facteurs pronostiques. Les facteurs de mauvais pronostic actuellement pris en compte sont décrits dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Principaux facteurs de mauvais pronostic des LAL de l'enfant pris en compte dans le FRALLE 2000.

• <b>Cliniques :</b>	- âge : si <12 mois ou >10 ans
• <b>Biologiques :</b>	- leucocytes sanguins >50 G/L
• <b>Immunologiques :</b>	- absence d'expression du CD10
• <b>Cytogénétiques et moléculaires :</b>	- hypodiploïdie - translocation t(9;22) - translocation impliquant le gène <i>MLL</i> - amplification intra-chromosomique du 21 (iAMP21)
• <b>Thérapeutiques :</b>	- corticorésistance - chimiorésistance - MRD positive

### Réponse précoce au traitement : une valeur pronostique majeure

- La corticosensibilité, définie comme moins de 1000 blastes/mm<sup>3</sup> dans le sang après 7 jours de prednisone,
- La chimiosensibilité précoce, définie comme l'absence d'excès de blastes médullaires à J21 du traitement,
- La rémission complète (RC) en fin d'induction, c'est-à-dire la normalisation de l'examen clinique, de l'hémogramme et de la cytologie médullaire,
- **La maladie résiduelle (MRD)** est l'expression de la persistance de cellules leucémiques, recherchée à des seuils de sensibilité de 10<sup>-2</sup> à 10<sup>-5</sup>. Elle est mesurée soit par immunophénotypage, en détectant des combinaisons spécifiques d'antigènes de surface, soit par PCR quantitative en temps réel, sur le réarrangement clonal spécifique de gènes codant pour les immunoglobulines ou les récepteurs des cellules T. La maladie résiduelle est recherchée à J35 du début du traitement, c'est-à-dire en fin d'induction. C'est un facteur pronostique majeur et indépendant : le risque de rechute de la maladie est 3 à 5 fois plus élevé chez les enfants dont la MRD est positive >10<sup>-4</sup> en fin d'induction [12].

Les groupes de facteurs pronostiques sont en constante évolution. Grâce à l'impact de la MRD, de nombreux critères défavorables cliniques (gros médiastin) ou biologique (anémie

sévère) ont été gommés. En revanche, on assiste actuellement à l'utilisation de nouveaux facteurs pronostiques génétiques (*BCR-ABL-like*, réarrangement impliquant *CRFL2*).

## **Traitement**

### **Principes du traitement**

La LAL de l'enfant est devenue une maladie curable dans plus de 3 cas sur 4, grâce à plusieurs avancées :

- l'utilisation de polychimiothérapie,
- la prophylaxie des rechutes méningées [13],
- la découverte de la doxorubicine, de la L-asparaginase (L-aspa),
- la stratification du risque de rechute, et donc des traitements,
- les intensifications secondaires [14],
- l'amélioration des soins de soutien,
- la prise en compte de la réponse précoce [15] et de la maladie résiduelle [16].

Le traitement actuel des LAL de l'enfant comprend quatre phases majeures :

- une phase d'induction première, visant à obtenir une RC initiale. Cette phase dure 4 à 8 semaines, et débute par 7 jours de prednisone.
- une phase de consolidation de 2 à 3 mois, où sont introduits d'autres agents de chimiothérapie, afin d'éviter la sélection d'un clone résistant (modèle de Norton et Simon [17]),
- une ou deux phases d'intensification, qui correspond à une 2e induction, 21 à 18 semaines après la RC,
- un traitement d'entretien, associant chimiothérapie orale pendant 2 ans et ré-induction mensuelle la première année.

Parallèlement, un traitement prophylactique des atteintes méningées est entrepris du fait de l'existence d'une barrière hématoencéphalique s'opposant à la pénétration des chimiothérapies. Cette prophylaxie se fait par injections intrathécales de chimiothérapie, par administration intraveineuse de méthotrexate à haute dose, et par une irradiation encéphalique dans les cas d'atteinte méningée initiale, ou de haut risque de rechute méningée.

## Protocole de traitement

En France, en fonction des centres de référence, les patients sont traités selon le protocole franco-belge EORTC ou le protocole français FRALLE 2000. Lors de l'inclusion dans ces deux protocoles, les patients sont répartis en groupe de risque en fonction des facteurs pronostiques précédemment décrits, influençant alors l'intensité thérapeutique.

Le CHU de Rouen travaille avec le protocole FRALLE 2000.

Au diagnostic, les patients sont répartis en groupe de bas risque (FRALLE A) et groupe de risque intermédiaire et élevé (FRALLE B). Un seul critère suffit pour que le patient soit traité selon le groupe B.

Tableau 2 : Critères d'inclusion dans les deux protocoles de traitement.

FRALLE 2000A	FRALLE 2000B
Age au diagnostic >1 an et <10 ans	Age au diagnostic $\geq$ 10 ans
Leucocytose < 50G/L	Leucocytose $\geq$ 50G/L
Absence d'atteinte du système nerveux central	Atteinte du système nerveux central
Absence de t(9;22), de t(4;11), d'hypodiploïdie $\leq$ 44 chromosomes	Présence de t(9;22), de t(4;11), d'hypodiploïdie $\leq$ 44 chromosomes
Absence de transcrite de fusion <i>BCR-ABL</i> , <i>MLL-AF4</i> , de réarrangement <i>MLL</i> .	Présence de transcrite de fusion <i>BCR-ABL</i> , <i>MLL-AF4</i> , de réarrangement <i>MLL</i> avec CD10-.

Dans un deuxième temps, les patients sont répartis en sous-groupe en fonction des anomalies cytogénétiques et moléculaire (pour le FRALLE 2000B), et de la réponse au traitement.

Tableau 3 : Critères des sous-groupes de traitement

	Groupe A1	Groupe A2	Groupe A3
Blastose médullaire à J21	≤5% (moelle M1) (Chimiosensible)	6 à 25% (moelle M2) (Chimiorésistant)	> 25% (moelle M3) (Chimiorésistant)
MRD à J35	< 10 <sup>-2</sup>	< 10 <sup>-2</sup>	≥10 <sup>-2</sup>

Groupe B1 (tous les critères réunis)	Groupe B2 (un seul critère suffit)
Absence d'hypodiploidie < 44, de t(4;11), de t(9;22)	Présence d'hypodiploidie < 44, de t(4;11), de t(9;22)
Absence de transcrite de fusion <i>BCR-ABL</i> , <i>MLL-AF4</i>	Présence de transcrite de fusion <i>BCR-ABL</i> , <i>MLL-AF4</i>
Corticosenibilité à J8	Corticorésistance à J8
Chimiosensibilité à J21	Chimiorésistance à J21
MRD <10 <sup>-2</sup>	MRD ≥10 <sup>-2</sup>

## Place de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

### En première RC (RC1)

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques a pour but d'apporter au patient un tissu hématopoïétique sain, immunocompétent et dans cette indication, éradiquer la maladie résiduelle leucémique. Le tissu hématopoïétique sain peut provenir de la fratrie, il s'agit alors d'une allogreffe géno-identique ; ou de fumeurs (de volontaires sains ou de sang de cordon placentaire), dans ce dernier cas, l'allogreffe est phéno-identique.

Environ 10% des LAL ont des critères d'indication d'allogreffes en RC1. Dans le FRALLE 2000, pour les LAL de la lignée B, les indications actuelles de greffe en première rémission complète sont :

- la présence d'une t(4;11) ou d'un transcrite *MLL-AF4*



- une hyperleucocytose > 100 G/L au diagnostic avec :
  - corticorésistance à J8
  - ou chimiorésistance à J21 avec une moelle de type M3
- une MRD positive, supérieure à  $10^{-2}$  à J35-J42, confirmée sur un deuxième prélèvement positif fait 3 à 4 semaines après.

Par définition il s'agit donc de patients qui seront inclus dans le groupe B2. La greffe est réalisée après la première partie de l'intensification n°1.

### **En deuxième RC (RC2)**

Les indications de greffe de LAL B en RC2, après rechute sont :

- les rechutes médullaires avant la fin du traitement,
- les rechutes combinées (médullaire associée à un site extra-médullaire comme le système nerveux central ou les testicules) précoces (RC de moins de 18 mois).

### **Réponse et toxicité**

Cette intensification de traitement comporte de nombreux risques de complications aiguës et tardives, ainsi que des risques de séquelles. Les indications d'allogreffe sont donc limitées et réévaluées régulièrement selon les résultats de protocoles prospectifs.

Le protocole d'allogreffe BFM 2003 [18] rapporte des résultats d'une cohorte multicentrique internationale de 411 patients allogreffés pour une LAL (B ou T), dont 209 patients allogreffés en première RC. La toxicité était majeure : une maladie du greffon contre l'hôte (graft versus host disease, ou GVH) de grade III ou IV était apparue dans 11% des cas. L'incidence cumulée à deux ans de GVH chronique étendue était de 14%. La mortalité liée à la greffe à 4 ans était de 4% (en cas de donneur géno-identique). Les résultats de cet essai sont meilleurs que dans les études publiées antérieurement.

## chronic GvHD

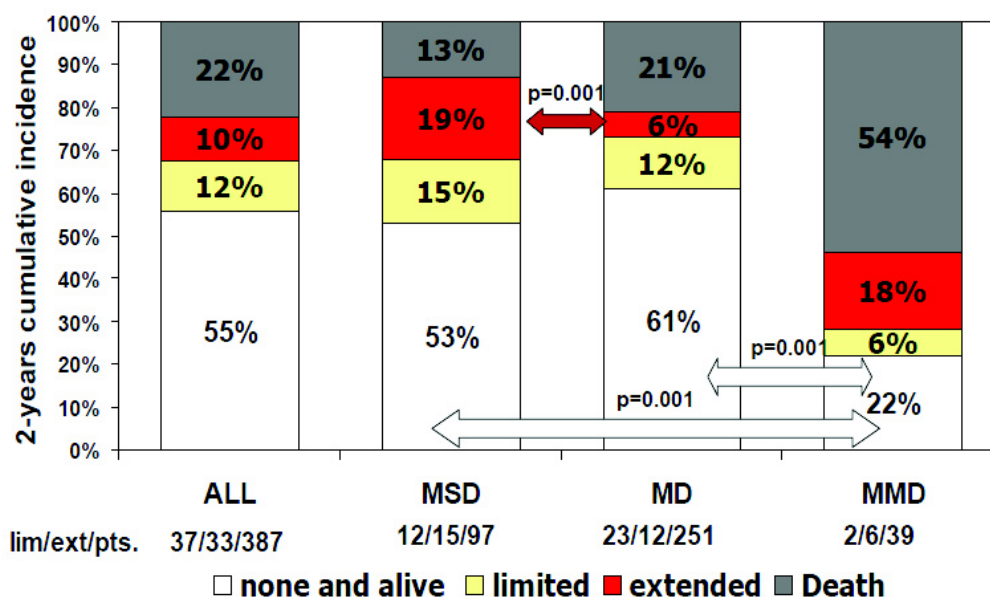


Figure 3 : Incidence cumulée de GVH étendue dans le BFM 03 (données venant du protocole FORUM).

### Enjeu actuel : désescalade ou intensification thérapeutique

Depuis les premières descriptions de rémissions cliniques temporaires induites par chimiothérapie, la survie des LAL pédiatriques est en amélioration constante. Avant 1960, la survie à 10 ans d'un enfant atteint de LAL était de 1%. Le pronostic s'est progressivement amélioré à partir des années 1970, et approche actuellement un taux de survie de 90% à 5 ans

Depuis les années 2000, la réponse précoce, notamment la maladie résiduelle, a permis de prévenir de nombreuses rechutes. A présent, l'enjeu majeur reste d'améliorer la stratification en groupes de risque, afin de réaliser des désescalades thérapeutiques dans les groupes de bas risque, donc de limiter la toxicité ; et au contraire d'intensifier le traitement chez un haut-risque, pour prévenir les rechutes. Les progrès des techniques de génétique moléculaire ont permis d'identifier de nouveaux marqueurs pronostiques, notamment les délétions du gène *IKAROS*.

## Le gène *IKAROS*

Le gène *IKAROS* ou *IKZF1* (*IKAROS* Family Zinc Finger 1), codant pour un facteur de transcription en doigt de zinc, a été isolé en 1992 sur des modèles murins. *IKAROS* a été initialement décrit comme étant un facteur de transcription impliqué dans la maturation des lymphocytes T [19,20].

### Structure du gène *IKAROS*

Le gène *IKAROS* a une taille de 120 kbases, il est situé sur le bras court du chromosome 7 (7p12.2). Il comprend huit exons. L'exon 1 est non codant mais il peut réguler la transcription du gène avec le promoteur. Les exons 2, 3 et 7 ont des fonctions peu connues. Les autres exons sont cruciaux pour la fonction propre d'*IKAROS* : les exons 4, 5 et 6 codent pour un domaine N-terminal de liaison à l'ADN comportant quatre doigts de zinc. L'exon 8 code pour un domaine C-terminal comportant deux doigts de zinc et il permet la dimérisation d'*IKAROS*, avec lui-même ou avec les autres membres de sa famille. En effet, *IKAROS* appartient à une famille de gènes comportant quatre autres membres : *HELIOS* (ou *IKZF2*), *AIOLOS* (ou *IKZF3*), *EOS* (ou *IKZF4*), et *PEGASUS* (ou *IKZF5*) [21,22].

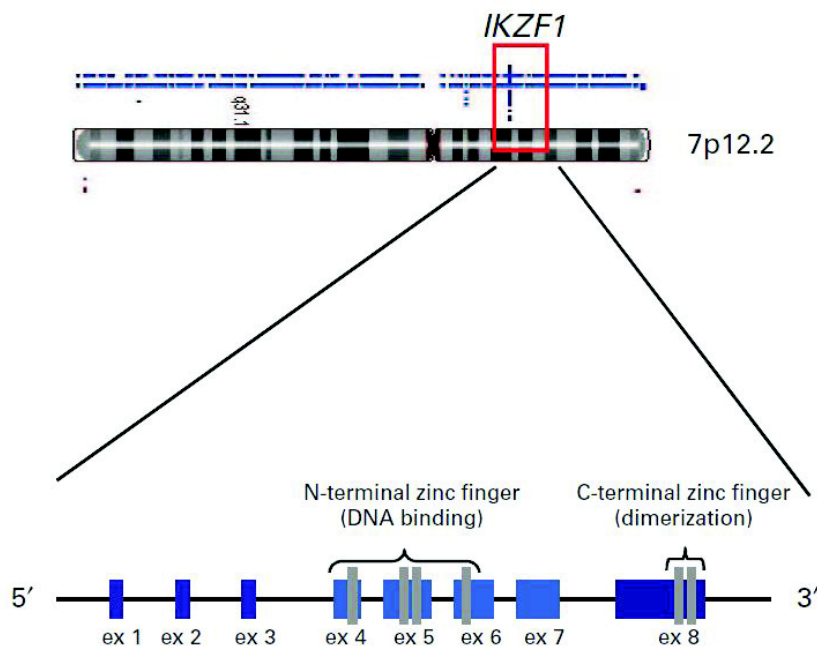


Figure 4 : Le facteur de transcription *IKAROS* [23].

## **Les isoformes de la protéine**

La structure de la protéine est rendue plus complexe par le biais de l'épissage alternatif. En effet, l'épissage alternatif de l'ARN pré-messager permet l'expression de plusieurs isoformes protéiques. Toutes les isoformes contiennent les 2 premiers exons ainsi que le dernier, mais le nombre d'exons à l'intérieur varie :

IK1, IK2 et IK3 sont des isoformes longues et fonctionnelles possédant 3 doigts de zinc centraux interagissant avec l'ADN.

IK4, IK7, IK8 sont des isoformes courtes ayant perdu leur domaine à doigt de zinc central, c'est-à-dire leur domaine de liaison à l'ADN. Leur domaine C-terminal est en revanche fonctionnel et donc interagit par homo- ou hétérodimérisation avec des isoformes longs. Ces isoformes courtes inhibent donc l'action des isoformes longues, et confèrent à ces dernières un effet dominant négatif [24].

IK6 est aussi une isoforme courte, mais il est rarement issu de l'épissage alternatif. Il résulte plutôt de la délétion génomique des exons 4 à 7 (Figure 5).

## **Expression du gène *IKAROS***

L'expression d'*IKAROS* est détectée très tôt au cours du développement embryonnaire (8,5 jours), au niveau des sites où se produisent l'hématopoïèse primitive (sac vitellin) et définitive (foie fœtal). Plus tard chez l'adulte, il est exprimé dans l'ensemble des cellules hématopoïétiques. Les isoformes sont en proportions différentes selon que les cellules s'orientent vers une différenciation myéloïde, lymphoïde ou érythroïde.

Les isoformes IK1 et IK2 sont également abondamment exprimées dans l'hypothalamus et la glande pituitaire, et sont essentielles dans le développement du système neuro-endocrine [25].

## **Fonction du gène *IKAROS***

### **Un rôle clé dans l'hématopoïèse**

Sa fonction dans l'hématopoïèse a été démontrée à partir de modèles de murins mutés. Le gène *IKAROS* intervient tout au long de la différenciation hématopoïétique. Chez la souris mutée, l'absence de protéine conduit à une hypoplasie voire une absence des organes lymphoïdes secondaires, associée à une absence de cellules précurseurs lymphoïdes et des lymphocytes matures B et T [20].

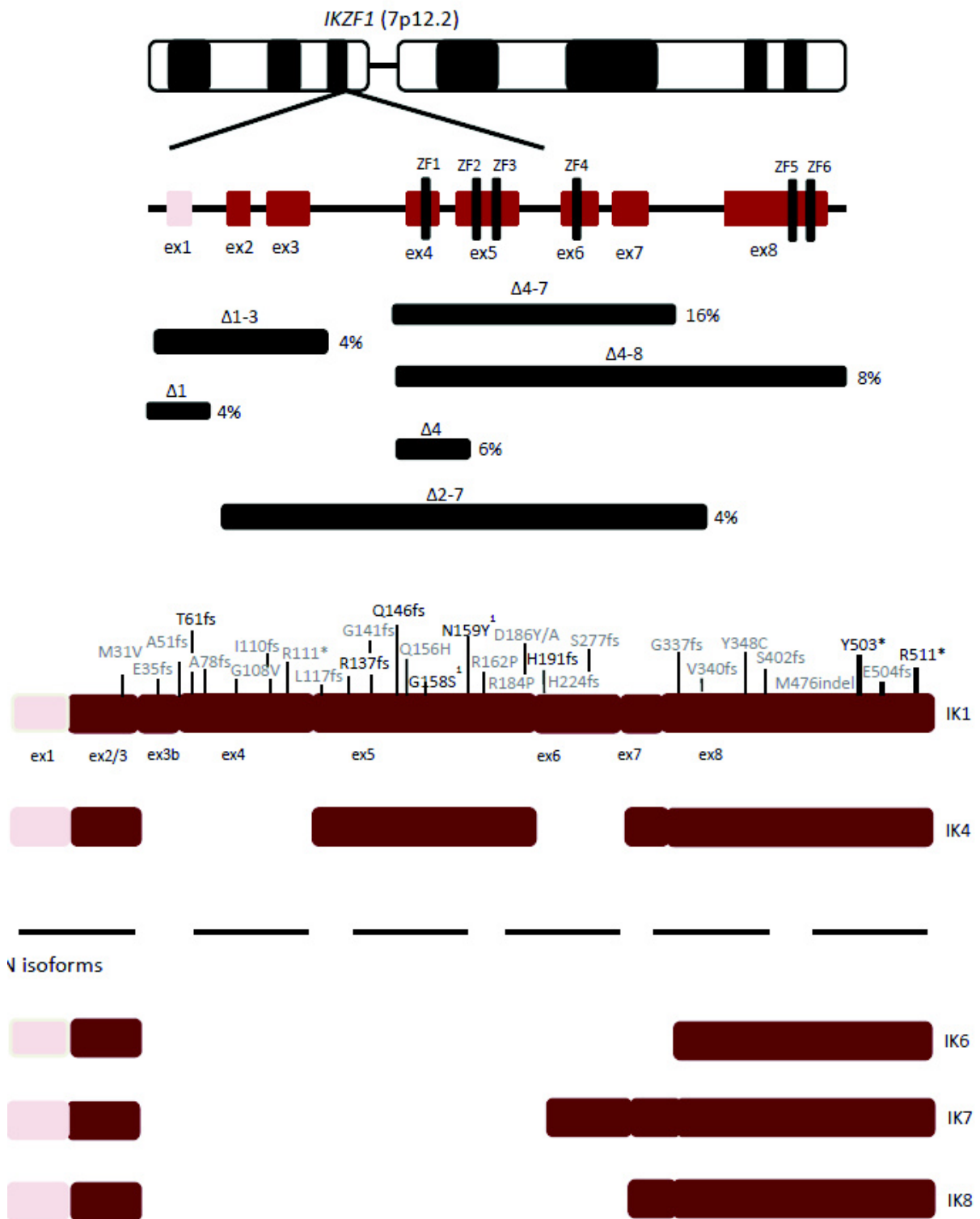


Figure 5 : Présentation des différentes isoformes d'IKAROS [21].

*IKAROS* intervient également dans la différenciation du progéniteur myéloïde commun. En effet, chez des souris mutées, Yoshida et son équipe ont montré une augmentation du compartiment des progéniteurs érythroïdes aux dépens de celui des progéniteurs granulocytaires [26].

Le cas d'un enfant porteur d'une mutation hétérozygote constitutionnelle *de novo* d'*IKAROS* a été rapporté par Goldman et son équipe [27] : l'enfant présentait une pancytopenie dont les caractéristiques ressemblaient à celles des souris mutées.

Ainsi ces différentes études illustrent le rôle essentiel d'*IKAROS* dans l'hématopoïèse normale. *IKAROS* a un rôle d'activation de la transcription, de répression, de remodelage de la chromatine [28].

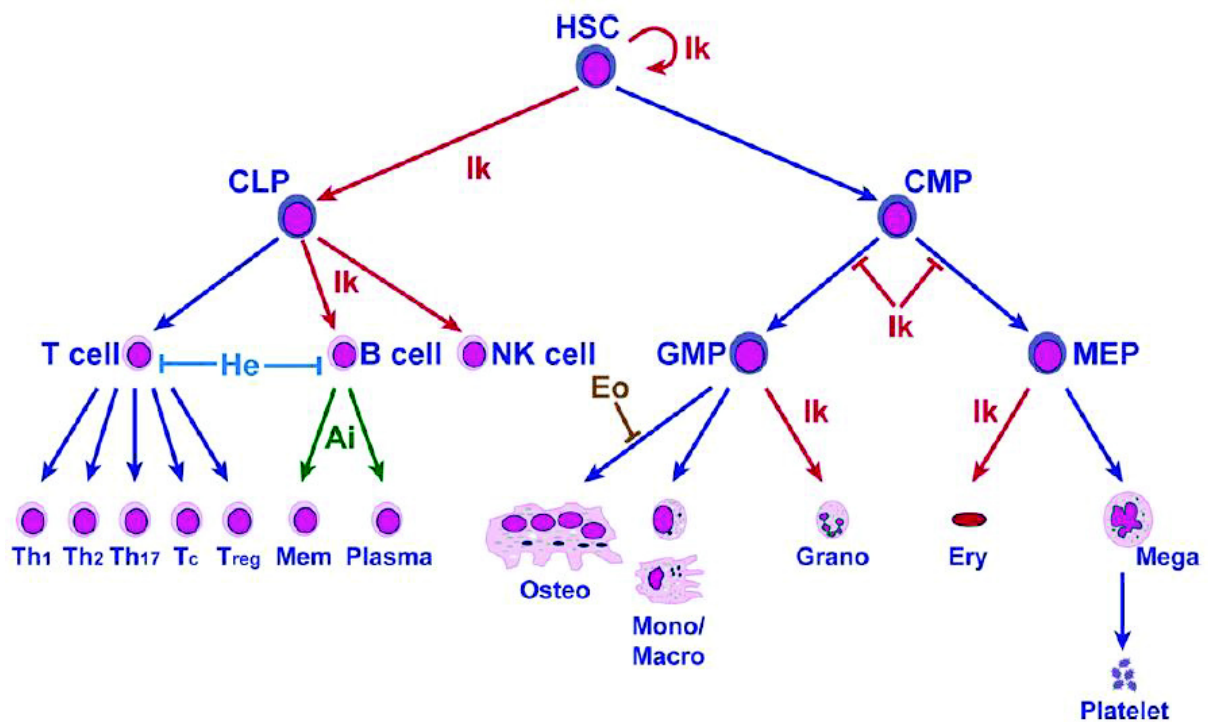


Figure 6 : Rôle du facteur de transcription IKAROS (Ik) et des autres membres de la famille incluant Aiolos (Ai), Helios (He), Eos (Eo) lors de l'hématopoïèse [29].

### ***IKAROS* et leucémogénèse**

Au vu de l'importance d'*IKAROS* dans l'hématopoïèse, il n'est pas surprenant que la perte de fonction intervienne dans le phénomène de leucémogénèse ; contrairement à ce qui a été décrit dans les modèles murins [30], les mutations d'*IKAROS* sont rarement impliquées dans les LAL T chez l'homme [31]. Elles sont en revanche fréquemment rencontrées dans les

LAL B. C'est en 1999 qu'est mise en évidence la présence d'isoformes aberrantes (Ik6) chez des enfants ayant une LAL B [32].

Il est à noter que des souris mutées pour *IKAROS* ne développent pas de LAL B, alors que l'haplo-insuffisance de la protéine IKAROS, associée à l'anomalie *BCR-ABL*, contribue au développement rapide des LAL B [33]. Par la suite, la présence d'altération du gène *IKAROS* a été retrouvée dans environ 30% des cas de LAL B adultes [34], et dans 15 à 20% des cas de LAL B pédiatriques, et dans plus de 75% des cas de LAL B pédiatriques avec *BCR-ABL* [35].

Les altérations d'*IKAROS* semblent donc intervenir comme deuxième événement dans la leucémogénèse.

Un cas de jumeaux monozygotes, porteurs tout deux d'un clone de *BCR-ABL* a été rapporté. Le premier jumeau a développé une LA : l'anomalie *BCR-ABL* était associée à une délétion d'*IKAROS*. Le deuxième jumeau n'a pas développé de LA malgré la présence d'un clone de *BCR-ABL*, sans délétion du gène *IKAROS*. Cela suggère que la fusion du gène *BCR-ABL* était l'événement initiateur alors que la délétion *IKAROS* a été acquise secondairement [36].

Certains cas de mutations *IKAROS* retrouvées au diagnostic de rechute mais non au diagnostic initial évoquent également le fait que la mutation *IKAROS* est un événement tardif du phénomène de leucémogénèse [37]. Par ailleurs les délétions d'*IKAROS* ne semblent pas être les mêmes selon la présence ou non de *BCR-ABL* [38].

### **Activation de la voie JAK-STAT**

Les mutations du gène *IKAROS* sont ainsi associées à la fusion de l'oncogène *BCR-ABL*. Le point commun semble être la voie JAK-STAT, qui est activée par la fusion de *BCR-ABL*, mais aussi par les mutations d'*IKAROS* en l'absence de *BCR-ABL*. Le mécanisme de cette activation reste encore incompris.

### **Polymorphismes sur le locus d'*IKAROS***

A côté des mutations somatiques, un polymorphisme sur le locus d'*IKAROS* semble prédisposer à la survenue de LAL B : le variant « C » du SNP rs4132601, localisé sur l'exon 8. Il est associé à une diminution du taux d'ARNm d'*IKAROS* dans les lymphocytes et confère une augmentation modérée du risque de LAL B pédiatriques (odds ratios entre 1,5 et 2,8) [39,40].

## **Mutations acquises d'*IKAROS* dans les néoplasies**

Des mutations somatiques d'*IKAROS* ont été identifiées dans plusieurs types de tumeurs solides : adénocarcinome colorectal, carcinome pulmonaire, hépatique, rénal et de la prostate, tumeur pituitaire. Cependant l'impact clinique reste inconnu [21].

### **Mutations du gène *IKAROS* (cf figure 4)**

Les mutations d'*IKAROS* sont le plus souvent liées à des délétions intragéniques mais quelques mutations ponctuelles ont aussi été décrites (environ 5 à 10% des cas).

On peut classer les délétions intragéniques en trois principales catégories [41] :

#### **Monosomie 7 ou large délétion du bras 7p**

Cette anomalie est présente dans 4% des LAL B. Elle est toujours associée à une perte complète d'un allèle.

#### **Délétions de 15-200 kb**

Parmi ces délétions, deux ont particulièrement leur application clinique :

- **Délétion 4-7 ( $\Delta$  4-7)**

Cette délétion des exons 4 à 7, de 50,7 kb, représente 55% des mutations d'*IKAROS* [42]. Elle entraîne la synthèse de l'isoforme Ik6.

- **Délétion 2-7 ( $\Delta$  2-7)**

Cette délétion des exons 2 à 7 représente 30% des mutations d'*IKAROS*. Elle possède le même point de cassure que la délétion 4-7, il est situé dans l'intron 7-8 [42].

Le codon initiateur étant synthétisé à partir de l'exon 2, cette délétion entraîne la perte d'un des allèles.

La plupart des délétions sont probablement médiées par un effet non ciblé de la protéine RAG (recombination activating gene) au cours de la recombinaison VDJ du progéniteur lymphoïde B [43]. En effet, les points de cassure impliqués dans ces délétions, sont juxtaposés à des RSS (recombination signal sequences) qui sont des séquences reconnues par la protéine RAG.

D'autres délétions peuvent également être rencontrées, notamment la délétion 2-8 et la délétion de l'exon 1 non-codant. Ces délétions entraînent également la perte d'un allèle.



### **Mutations ponctuelles**

Elles représentent 10% des mutations *IKAROS* et entraînent le plus souvent l'apparition prématurée d'un codon stop.

### **Classes fonctionnelles de mutations**

#### **Haplo-insuffisance (55%)**

Toutes les délétions qui entraînent la perte d'un allèle provoquent une haplo-insuffisance, avec une réduction du taux de protéine IKAROS.

Cette haplo-insuffisance est retrouvée en cas de monosomie 7, de larges délétions du bras 7p, de délétion  $\Delta 2-7$ . Elle est également retrouvée dans certaines délétions focales affectant les exons 1, 2, 3 et 8.

#### **Effet dominant négatif (33%)**

Les délétions des exons 4,5 et/ou 6, comme la délétion  $\Delta 4-7$ , conduisent à la synthèse de l'isoforme Ik6 qui a perdu son domaine de liaison à l'ADN, mais qui garde son domaine de dimérisation à une protéine native d'IKAROS (synthétisée par l'allèle normal). Ik6 exerce donc un effet dominant négatif, séquestrant la protéine normale dans le cytoplasme.

#### **Perte de la fonction du gène (12%)**

Les délétions bi-alléliques conduisent à une absence complète de la protéine IKAROS.

### **Conséquences cliniques**

Différentes études ont permis de mettre en évidence que la mutation du gène *IKAROS* est associée à un moins bon pronostic en termes de survie globale et de risque de rechute. Les mutations d'*IKAROS* entraînent une diminution de la sensibilité aux drogues cytotoxiques par la cellule leucémique [44].

## **OBJECTIFS**

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'impact de la mutation du gène *IKAROS* sur le devenir des enfants ayant une LAL B traités selon le protocole FRALLE 2000, en termes de risque de rechute et de survie.

Les objectifs secondaires sont d'évaluer son association avec les caractéristiques au diagnostic et la réponse au traitement.

## **PATIENTS ET METHODE**

### **Patients**

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée dans le centre d'hématologie pédiatrique du CHU de Rouen, concernant des patients diagnostiqués entre mai 2000 et décembre 2015.

Les critères d'inclusion étaient :

- Age au diagnostic entre 1 et 18 ans
- Diagnostic de LAL de phénotype B confirmé au myélogramme et à l'immunophénotypage
- Analyse du gène *IKAROS* possible
- Consentement des parents signé

Les critères d'exclusion étaient :

- Age <1 an ou >18 ans
- LAL de phénotype T, biphénotypique
- Matériel non disponible pour l'analyse du gène *IKAROS*.

## **Méthode**

### **Données générales**

Les données générales ont été recueillies de manière rétrospective par analyse des dossiers médicaux. Le diagnostic, l'inclusion dans le groupe de traitement et le traitement étaient réalisés selon le protocole FRALLE 2000.

### **Aspects éthiques**

En accord avec la réglementation en vigueur, les responsables de l'autorité des patients traités dans le service d'immuno-hémato-oncologie pédiatrique du CHU de Rouen ont signé, lors du diagnostic, des documents d'information sur l'informatisation et le traitement des données médicales, et sur l'utilisation à des fins de recherche des reliquats de prélèvements effectués à des fins diagnostiques.

### **Analyse du gène *IKAROS***

#### **Pour les patients dont le diagnostic est antérieur à 2012**

Nous avons réalisé l'analyse du gène *IKAROS* rétrospectivement au laboratoire de biologie moléculaire du Centre Henri Becquerel.

L'ADN provenait des blastes médullaires ou sanguins au diagnostic. Pour certains patients, il n'y avait pas d'ADN conservé lors du diagnostic. Cependant nous avons pu en extraire à partir de culots de cytogénétique congelés.

#### **Pour les patients de diagnostic postérieur à 2012**

L'analyse a été réalisée de manière prospective, en même temps que le diagnostic de LAL, au CHU de Lille, qui centralise toutes les analyses protocolaires. En effet, depuis 2012, les mutations d'*IKAROS* sont recherchées de manière systématique au diagnostic d'une LAL B.

#### **Recherche de délétions par MLPA (Multiplex Ligation Probe-dependant Amplification)**

Les délétions *IKAROS* ont été analysées par la technique de MLPA, avec le kit P335-A3 ALL-IKZF1 (MRC-Holland, Amsterdam, Pays-Bas), selon le protocole du fournisseur.

Cette méthode s'effectue à partir de l'ADN. Chaque exon du gène *IKAROS* est hybridé par un ou plusieurs couples d'oligonucléotides adjacents correspondant à des séquences spécifiques d'exons. Ensuite se produit l'étape de ligation des oligonucléotides, formant une sonde seulement si les deux séquences spécifiques sont présentes. Les produits de ligation sont ensuite amplifiés par PCR multiplexe à l'aide d'amorces universelles. L'une des deux amorces est couplée à un fluorochrome. La détection des fragments amplifiés se fait sur un automate de séquençage. Les différents produits de ligation sont différenciés à l'aide d'une séquence synthétique de taille variable (« stuffer sequence ») [45].

Cette méthode est actuellement considérée comme une des méthodes de référence pour la détection des délétions d'*IKAROS* (Figure 7).

- **Avantages :**

Cette technique est dotée d'une grande sensibilité et possède une grande capacité de multiplexage : 40 loci peuvent être analysés dans la même réaction.

Sa spécificité est élevée car elle emploie deux oligonucléotides adjacents comme sonde.

Elle nécessite de faibles quantités d'ADN (20ng suffisent).

Elle est moins sensible à la dégradation de l'ADN car les sondes utilisées sont courtes (50-70 pb).

Elle est rapide.

- **Limites de la technique :**

Comme la MLPA utilise deux sondes adjacentes, la présence d'une mutation au niveau de la séquence cible spécifique de la sonde peut interférer avec la fixation de la sonde à sa cible ou interférer dans la phase de ligation. Cela aboutit à la diminution des produits de ligation, interprétée à tort comme une délétion (faux positifs).

Le coût des kits prêts à l'emploi est très élevé.

La détection des sous-clones minoritaires est difficile voire impossible.

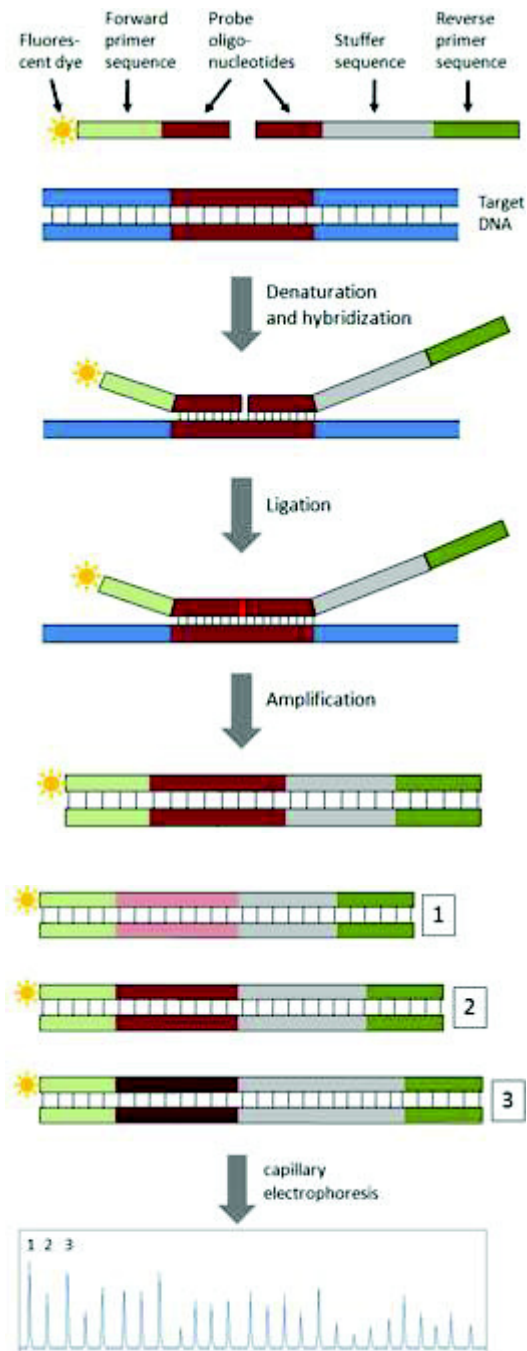


Figure 7 : Principe de la MLPA. Emprunté du site internet de Biomerieux Compagny (<http://www.applied-maths.com/applications/multiplex-ligation-dependent-probe-amplification-mlpa-analysis>).

## **Analyses statistiques**

La survie sans événement (Event Free Survival, EFS) correspond à l'intervalle de temps écoulé entre la date du début du traitement et la date de survenue d'un événement, c'est-à-dire la progression de la maladie ou le décès du patient. La survie globale (Overall Survival, OS) correspond à l'intervalle de temps écoulé entre la date du début du traitement et la date du décès ou des dernières nouvelles du patient.

Le recul médian a été calculé entre la date de diagnostic et la date des dernières nouvelles ou de décès.

Les différences entre les groupes de patients ont été analysées par les tests exacts de  $\chi^2$  et de Fisher.

L'estimation de la survie a été calculée en utilisant la méthode de Kaplan-Meier.

# RESULTATS

## Description de la cohorte du FRALLE 2000

Nous avons analysé les données de tous les enfants porteurs d'une LAL B traités à Rouen selon le protocole FRALLE 2000 A ou B, non *BCR-ABL*, depuis l'ouverture du protocole (septembre 2000) jusqu'à décembre 2015. Il s'agit d'une cohorte de 147 enfants, avec un sex ratio de 0,8 (66 garçons et 81 filles), et un âge médian au diagnostic de 3,0 ans [1,0-15,9]. Le recul médian était de 7,3 ans [0,5-15,8].

Parmi ces patients, 19 ont rechuté, ce qui donne une EFS à 5 ans de 84,3%. Huit patients sont décédés, ce qui donne une OS à 5 ans de 92,8 %.

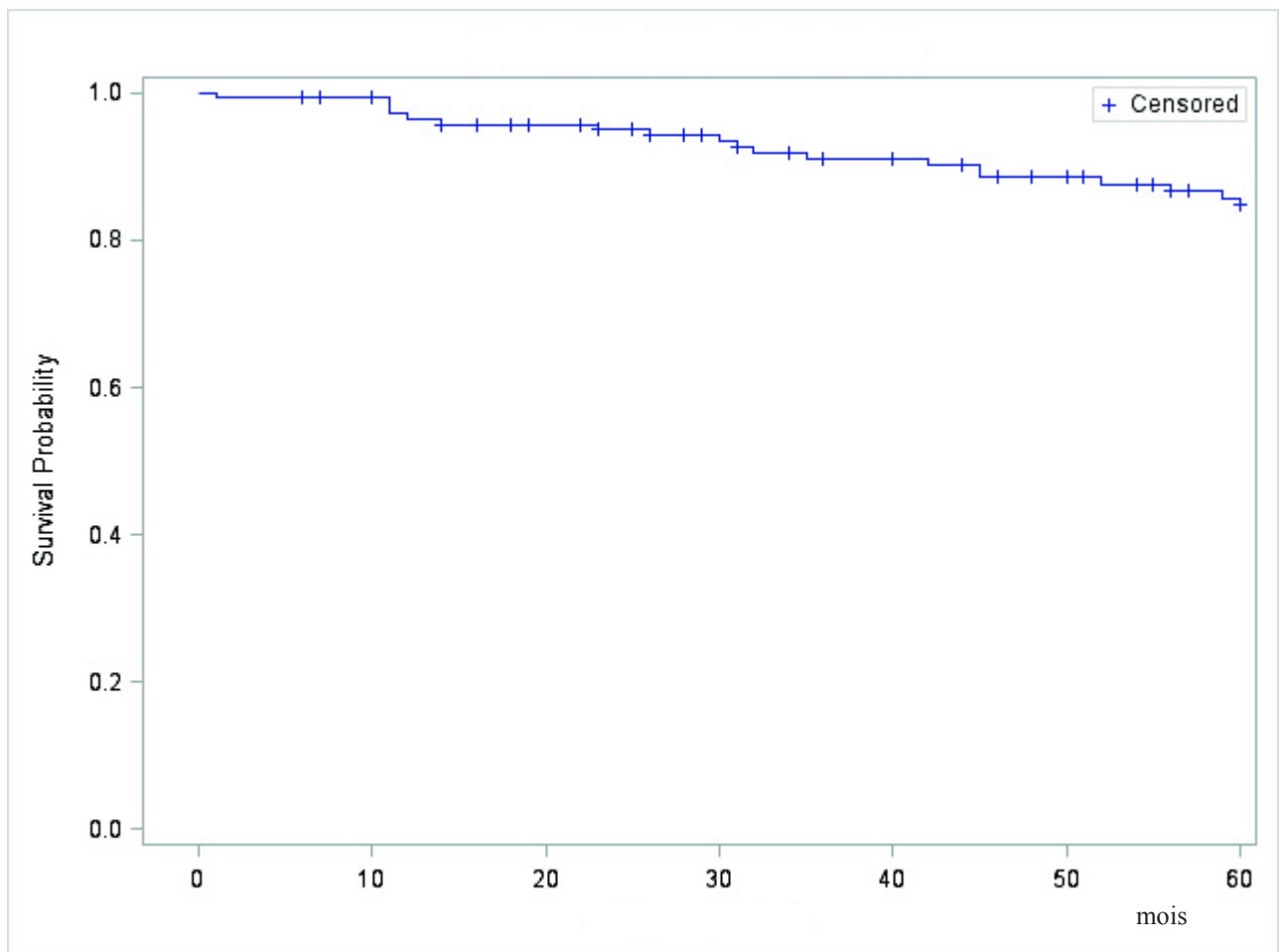


Figure 8 : EFS à 5 ans de la cohorte rouennaise du FRALLE 2000.

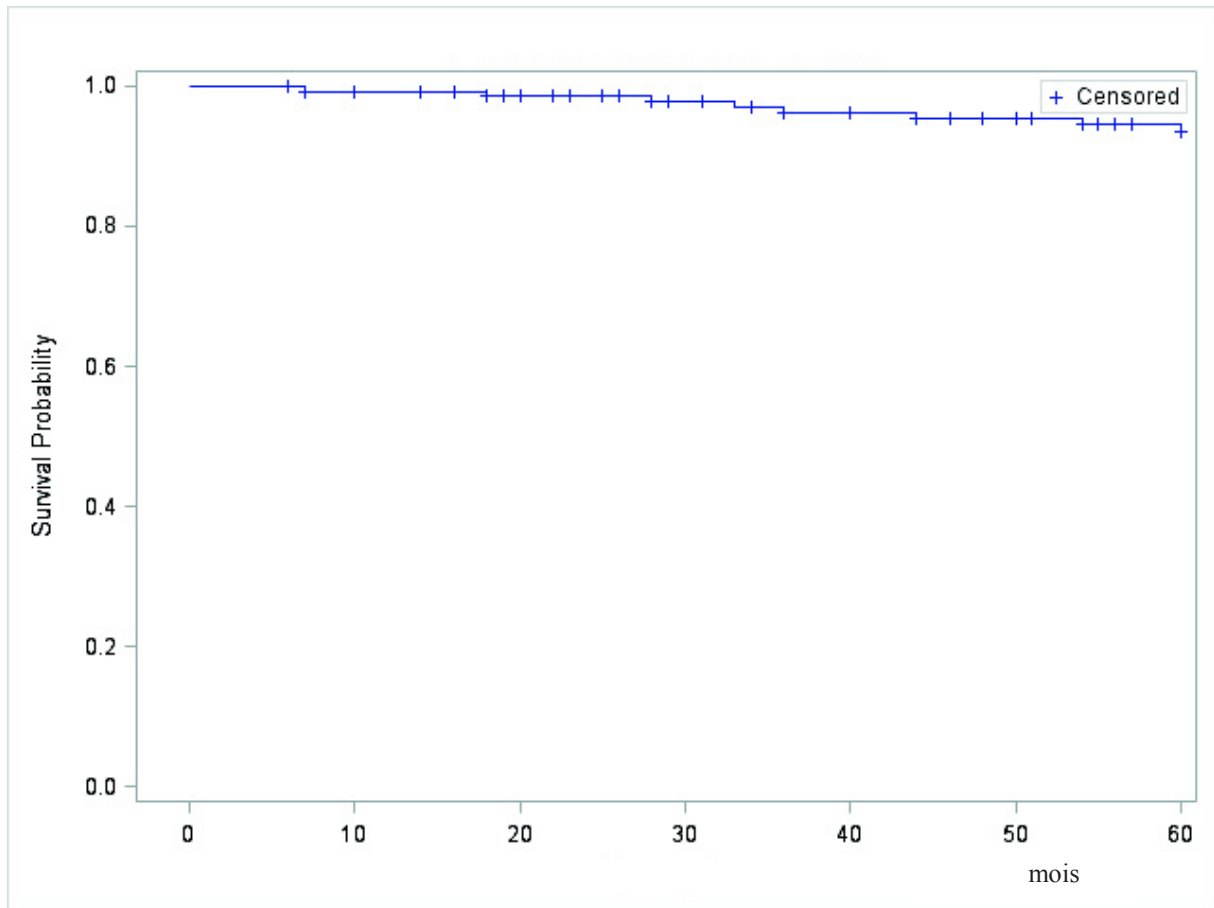


Figure 9 : OS à 5 ans de la cohorte rouennaise du FRALLE 2000.



## Analyse de la cohorte pour laquelle le statut *IKAROS* est connu

Sur les 147 patients de la cohorte initiale, de l'ADN au diagnostic était disponible pour 135 patients. L'analyse a été réalisée pour 122 patients. Il y a eu 11 échecs de technique, ce qui amène à une cohorte de 111 patients avec un statut mutationnel *IKAROS*.

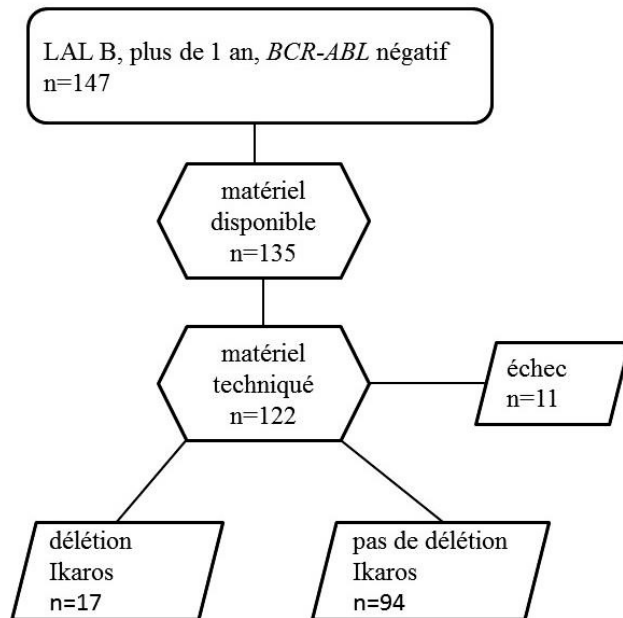


Figure 10 : Diagramme de flux. Représentation de la cohorte rouennaise complète, et celle analysée dans notre étude.

La cohorte des 111 patients dont on connaît le statut *IKAROS*, est représentative de la cohorte globale des 147 patients : aucune caractéristique des patients n'était significativement différente entre les deux cohortes.

Sur les 111 patients, 17 étaient porteurs d'une délétion *IKAROS* (15,3%).

Les caractéristiques de la cohorte des 111 patients ont été comparées selon le statut mutationnel *IKAROS*, présentées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Caractéristiques des patients selon le statut mutationnel *IKAROS*.

Caractéristiques	Cohorte		Délétion <i>IKAROS</i>				P
	n	%	Non		Oui		
			N	%	N	%	
<b>Total</b>	111		94		17		
<b>Sexe</b>							0,09
Masculin	47	42,3	43	45,7	4	23,5	
Féminin	64	57,7	51	54,3	13	76,5	
<b>Age</b>							0,13
10-17 ans	17	15,3	12	12,8	5	29,4	
1-9 ans	94	84,7	82	87,2	12	70,6	
<b>Leucocytes (x10<sup>9</sup>/L)</b>							0,54
<50	85	76,6	73	77,7	12	70,6	
≥50	26	23,4	21	22,3	5	29,4	
<b>Atteinte SNC</b>							0,11
Non	107	96,4	92	97,9	15	88,2	
Oui	4	3,6	2	2,1	2	11,8	
<b>Immunophénotype</b>							0,67
Données manquantes	2	1,8	1	1,1	1	5,9	
B-I	7	6,3	5	5,3	2	11,8	
B-II	75	67,6	64	68,1	11	64,7	
B-III	25	22,5	22	23,4	3	17,6	
B-IV	2	1,8	2	2,1	0	0,0	
<b>Sous-type génétique</b>							0,01
Données manquantes	1	0,9	1	1,1			
Hyperdiploïdie	34	30,6	31	33,0	3	17,6	
ETV6-RUNX1	34	30,6	32	34,0	2	11,8	
Hypodiploïdie	3	2,7	3	3,2	0	0,0	
TCF3-PBX1	4	3,6	4	4,3	0	0,0	
MLL-AF4	2	1,8	2	2,1	0	0,0	
Autres anomalies MLL et CD10 <sup>-</sup>	1	0,9	1	1,1	0	0,0	
iAMP21	1	0,9	1	1,1	0	0,0	
B-other	31	27,9	19	20,2	12	70,6	
<b>Cortico-résistance</b>							0,57
Oui	5	4,5	4	4,3	1	5,9	
Non	106	95,5	90	95,7	16	94,1	
<b>Chimiothérapie-résistance</b>							0,40
Oui	3	2,7	2	2,1	1	5,9	
Non	108	97,3	92	97,9	16	94,1	
<b>MRD J 35 au seuil de 10<sup>-2</sup></b>							0,38
Non évaluable	8	7,2	7	7,4	1	5,9	
Positive	3	2,7	2	2,1	1	5,9	
Négative	100	90,1	85	90,4	15	88,2	
<b>MRD J 35 au seuil de 10<sup>-3</sup></b>							0,44
Non évaluable	42	37,8	36	38,3	6	35,3	
Positive	13	11,7	10	10,6	3	17,6	
Négative	56	50,5	48	51,1	8	47,1	
<b>Groupe de traitement</b>							< 0,01
Données manquantes	1	0,9	1	1,1			
FRALLE 2000A1/2	64	57,7	59	62,8	5	29,4	
FRALLE 2000A3	3	2,7	0	0,0	3	17,6	
FRALLE 2000B1	34	30,6	27	28,7	7	41,2	
FRALLE 2000B2	9	8,1	7	7,4	2	11,8	
<b>Rechute</b>		0,0					< 0,01
Oui	15	13,5	9	9,6	6	35,3	
Non	96	86,5	85	90,4	11	64,7	
<b>Décès</b>							0,07
Oui	8	7,2	5	5,3	3	17,6	
Non	103	92,8	89	94,7	14	82,4	

### ***IKAROS* et caractéristiques générales des patients**

Les patients du groupe *IKAROS*-délété avaient tendance à être plus âgés, avoir une hyperleucocytose >50G/L au diagnostic, à avoir une atteinte du SNC, et un phénotype B-I mais sans significativité statistique.

### ***IKAROS* et caractéristiques génétiques**

Les caractéristiques génétiques étaient significativement différentes selon le statut mutationnel.

Dans le groupe *IKAROS*-délété, on retrouve moins d'anomalies génétiques de bon pronostic telles que l'hyperdiploidie, et la translocation *ETV6-RUNX1*, et plus de B-other (p=0,01).

### ***IKAROS* et réponse précoce au traitement**

La fréquence de corticorésistance et la chimiorésistance n'étaient pas différentes dans les deux groupes délété et non délété.

### ***IKAROS* et MRD à J35**

La proportion de MRD positive n'était pas significativement différente dans les 2 groupes. Cependant on note une tendance à une fréquence de MRD positive plus importante dans le groupe délété, que ce soit au seuil de  $10^{-2}$  (6,3% vs 2,3%), ou au seuil de  $10^{-3}$  (27,3% vs 17,2%).

Concernant les 17 patients *IKAROS*-délété, le résultat de MRD était disponible au seuil de  $10^{-2}$  pour 16 d'entre eux, et au seuil de  $10^{-3}$  pour 11 d'entre eux. Dans ce groupe, la positivité de la MRD n'était pas associée à un taux de rechute plus fréquent (p=0,85).

### ***IKAROS* et groupe de traitement**

Compte tenu des caractéristiques cliniques au diagnostic, des groupes génétiques et de la réponse au traitement, les patients du groupe *IKAROS*-délété étaient donc moins fréquemment dans le protocole FRALLE A1/A2 (29,4% vs 63,4%, p<0,001), et plus fréquemment dans le FRALLE A3/B1/B2 (70,6% vs 36,6%, p<0,001).

## **Devenir des patients pour l'ensemble de la cohorte**

Concernant l'ensemble des 111 patients de la cohorte dont le statut *IKAROS* a pu être analysé, 15 patients ont rechuté (taux de rechute de 13,5%).

Parmi les 15 rechutes de la cohorte, 8 patients sont décédés.

Il est à noter que la MRD J35 au seuil de  $10^{-2}$  était négative pour tous les patients qui ont rechuté. En revanche la MRD J35 au seuil de  $10^{-3}$  était positive pour 4 des patients qui ont rechuté (3 MRD au seuil de  $10^{-3}$  non évaluables).

Après prise en compte de la MRD au seuil de  $10^{-2}$  et adaptation du traitement en fonction de sa positivité, la MRD n'est pas associée à un taux de rechute plus important, ni à deux ans ( $p=0,37$ ), ni à cinq ans ( $p=0,40$ ).

Au seuil de  $10^{-3}$ , la MRD n'est pas non plus associée à un taux de rechute plus important, ni à deux ans ( $p=0,81$ ), ni à cinq ans ( $p=0,46$ ).

## **IKAROS et rechute**

Le taux de rechute était significativement plus élevé dans le groupe *IKAROS*-déléte : 35,3 % contre 9,6 % dans le groupe *IKAROS* non délete, ( $p<0,01$ ).

L'EFS à 5 ans était significativement plus basse dans le groupe délete : 55% vs 88%,  $p<0.005$  (Figure 11).

La délétion *IKAROS* est donc associée à un risque significatif de rechute de 4,184 [1,18-11,80] ( $p<0,01$ ).

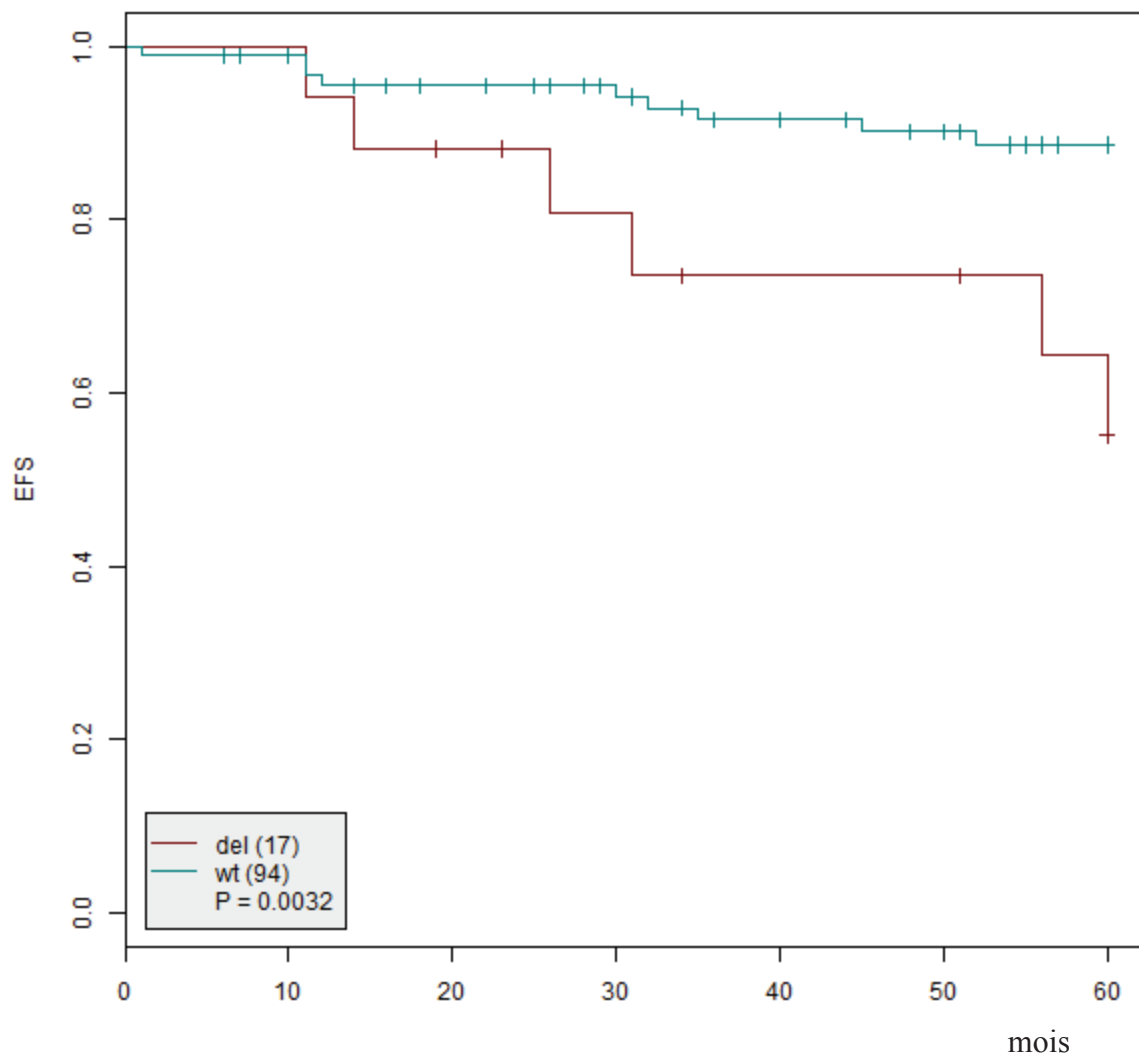


Figure 11 : EFS à 5 ans dans la cohorte Rouennaise en fonction du statut *IKAROS*.

del : groupe *IKAROS*-délété ; wt : groupe *IKAROS*-non délété.

### **Analyse des patients *IKAROS*-délété qui ont rechuté :**

Parmi les patients *IKAROS*-délété, 6 patients ont rechuté et 11 non. Les caractéristiques de ces deux groupes étaient semblables sur l'âge, le sexe, l'hyperleucocytose, le phénotype. On note en revanche que les 6 patients ayant rechuté étaient tous dans le groupe génétique B-other, alors que les patients qui n'ont pas rechuté étaient plus souvent associés à une hyperdiploïdie ou à un transcrite *ETV6-RUNX1*.

### **Délai de rechute**

Le délai médian de rechute, c'est-à-dire le délai médian entre la RC et l'apparition de la rechute, n'était pas significativement différent entre les groupes *IKAROS*-délété et *IKAROS*-non délété : respectivement 25 et 29 mois,  $p=0,52$ .

Dans la cohorte, 4 patients ont rechuté tardivement, c'est-à-dire plus de 36 mois après la mise en rémission. Deux d'entre eux présentaient une délétion *IKAROS*. La proportion de rechutes tardives dans les deux groupes *IKAROS*-délété et non délété n'est donc pas différente significativement ( $p=0,9$ ).

### **IKAROS et survie globale**

Sur les 8 décès de la cohorte totale, 3 d'entre eux avaient une délétion *IKAROS*, Il s'agissait à chaque fois de la délétion  $\Delta$  4-7.

Le taux de survie globale avait fortement tendance à être plus élevé dans le groupe *IKAROS*-non délété par rapport au groupe délété mais de façon non significative (94,7% vs 82,4%,  $p=0,07$ ).

L'OS à 5 ans était plus élevée dans le groupe non délété par rapport au groupe délété de manière juste significative (94% vs 76%,  $p=0,05$ ).

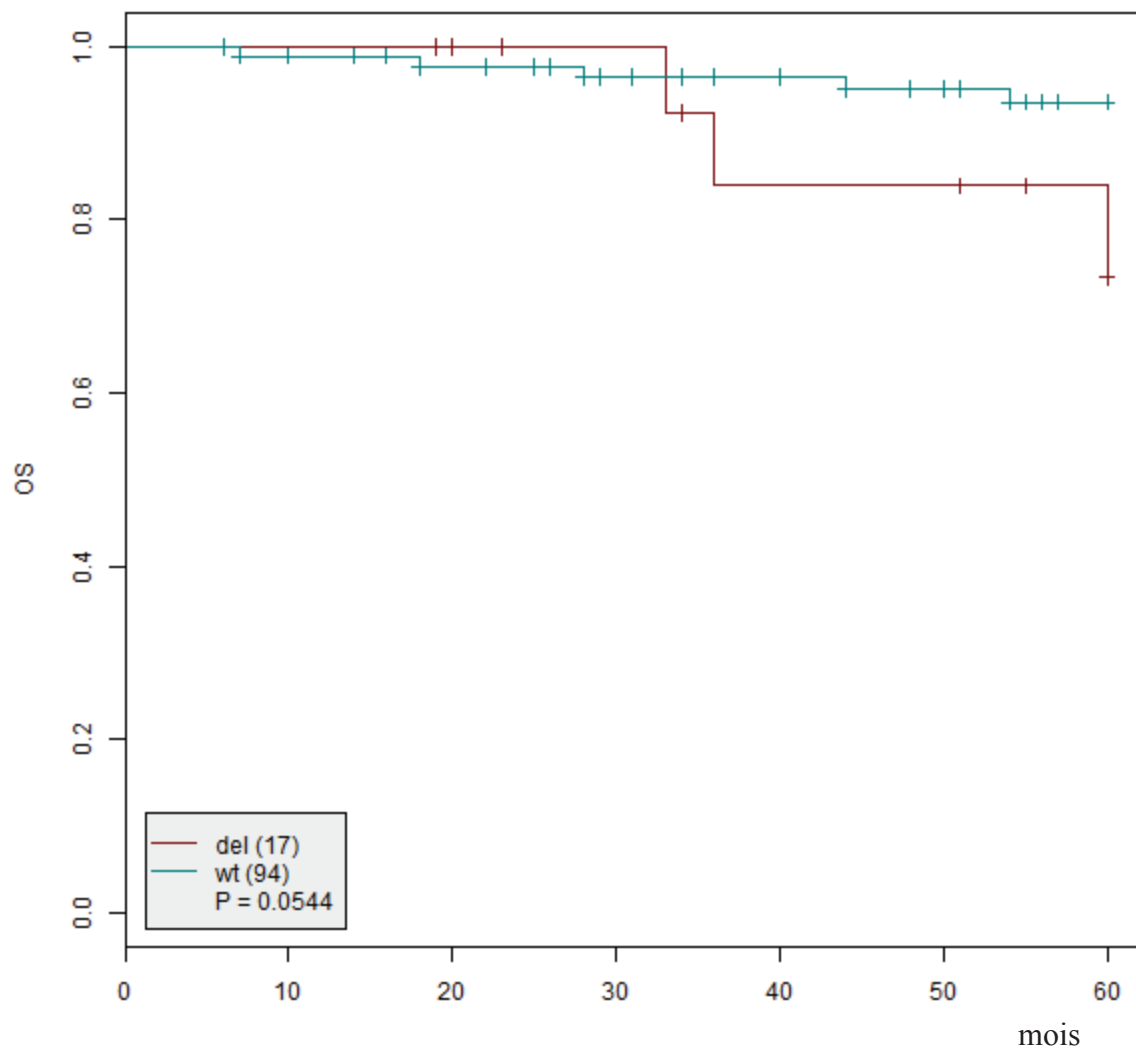


Figure 12 : OS à 5 ans de la cohorte Rouennaise du FRALLE 2000 selon le statut *IKAROS*.  
del : groupe *IKAROS*-délété ; wt : groupe *IKAROS*-non délété.

### **Fréquence et type de délétion *IKAROS***

Parmi les 17 délétions *IKAROS* analysées, on retrouvait :

- Deux délétions  $\Delta 2-7$ , 2 délétions  $\Delta 4-8$ , 4 délétions totales, une délétion  $\Delta 2-3$ . Ces délétions entraînent toutes la perte d'un allèle, soit une haplo-insuffisance (52% des 17 délétions analysées). Trois rechutes ont été notées, aucun décès.
- Six délétions  $\Delta 4-7$  et une délétion de l'exon 6, soit 41% des délétions analysées, qui entraînent un effet dominant-négatif. Trois rechutes ont été notées, suivies de 3 décès.

- Une délétion de l'exon homozygote de l'exon 1 et hétérozygote de l'exon 8, soit une délétion bi-allélique, entraînant l'absence complète de la protéine IKAROS. Le patient porteur de cette délétion bi-allélique n'a pas rechuté.

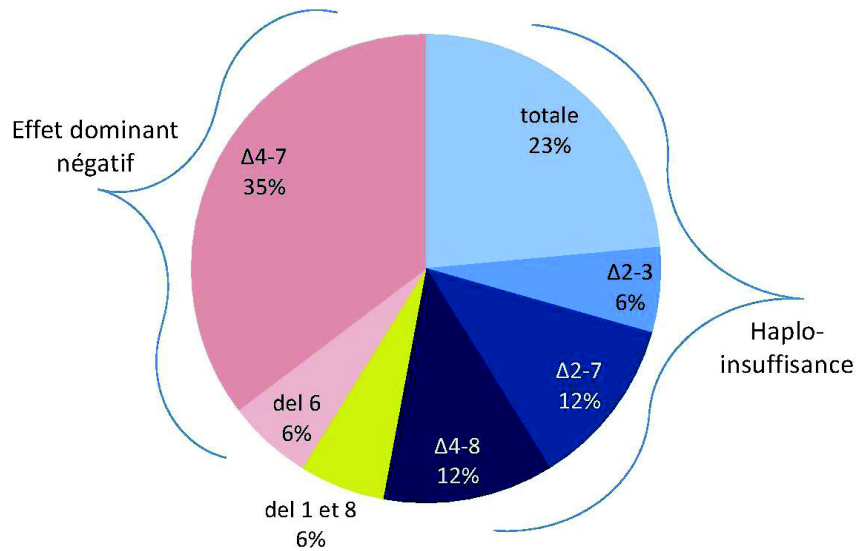


Figure 13 : Répartition des types de délétion *IKAROS* dans la cohorte rouennaise.



## **DISCUSSION**

En 2008, la délétion d'*IKAROS* a été pour la première fois associée à des risques de rechute dans les LAL *BCR-ABL* négatif [46]. L'impact de la délétion *IKAROS* a été ensuite étudié dans des cohortes nationales et internationales de LAL B traitées selon des protocoles comme l'EORTC, le BFM, le NOPHO, le COG (annexe 3) ; cela n'a jamais encore été démontré dans le FRALLE 2000.

### **Technique MLPA**

La MLPA est la technique qui a été utilisée pour détecter les délétions *IKAROS* de notre cohorte. C'est la technique la plus utilisée actuellement, en raison de sa grande spécificité et de sa rapidité. En revanche, certaines délétions peuvent échapper à la MLPA, comme des délétions présentes dans des sous-clones.

Une autre technique, basée sur la PCR multiplexe est très utilisée également. L'inconvénient de celle-ci est la faible détection des larges délétions ; mais elle a l'avantage de mieux détecter la sous-clonalité (breakpoint-specific multiplex polymerase chain reaction).

C'est pourquoi de nombreux laboratoires couplent les deux méthodes pour augmenter la sensibilité de l'analyse [47].

D'autres équipes [48,49] utilisent successivement deux kits MLPA : le premier kit teste également d'autres gènes, puis un deuxième kit n'est utilisé que si le premier retrouve une délétion. Le deuxième kit est moins sensible mais encore plus spécifique, il permet d'affiner la nature de la délétion.

Dans notre étude, nous n'avons utilisé qu'un seul kit MLPA. Il aurait été plus précis de compléter l'analyse par une PCR multiplexe afin d'affiner la caractérisation des délétions.

La fréquence des délétions retrouvées dans notre étude était de 15%, comparable à la plupart des autres études [47, 49], ce qui conforte la fiabilité de nos résultats.

### **Cas particulier de la monosomie 7**

Deux enfants de notre cohorte avaient une délétion du chromosome 7, donc la perte complète d'un allèle du gène *IKAROS*.

Pour l'un d'entre eux, la technique MLPA n'a pas retrouvé cette large délétion *IKAROS*. En reprenant les résultats des analyses cytogénétiques, la monosomie 7 portait sur seulement 15% des cellules au diagnostic. Il s'agit donc probablement d'un sous-clone, inférieur à la limite de détection de la MLPA (environ 25% des cellules).

Concernant le second enfant, la recherche de délétion par MLPA a échoué à cause d'une quantité insuffisante d'ADN. Les résultats cytogénétiques n'ont pas permis de savoir si cette monosomie 7 était présente dans toutes les cellules ou dans un sous-clone. L'enfant a fait une rechute qui a été rattrapée par allogreffe.

Ces deux cas ont été classés dans le groupe *IKAROS*-non délété puisque la MLPA n'a pas détecté de délétion. Cela permettra de comparer la sensibilité de cette technique à une autre ultérieurement.

## **Aspects généraux de la cohorte rouennaise**

Cette étude monocentrique rétrospective a permis d'évaluer la cohorte globale rouennaise traitée selon le FRALLE 2000, depuis l'ouverture de ce protocole, et pendant 15 ans.

Les résultats d'EFS et d'OS sont tout à fait conformes à la moyenne nationale : l'EFS à 5 ans était de 84,3% pour notre cohorte, et de 84,0 % pour l'ensemble du FRALLE. L'OS à 5 ans était de 92,8 % pour notre cohorte, et de 91% pour l'ensemble du FRALLE (données non publiées).

Le protocole FRALLE 2000 intensifie le traitement en cas de MRD positive à  $10^{-2}$ , puisqu'il s'agit d'un facteur prédictif reconnu [16]. Dans notre série, la MRD, au seuil de  $10^{-2}$  et de  $10^{-3}$ , n'était pas prédictive de rechute, ni à deux ans, ni à cinq ans. La prise en compte de la MRD dans la stratification des groupes de risques semble efficace.

## **Impact d'*IKAROS* sur les caractéristiques au diagnostic**

### **Age, hyperleucocytose**

Dans notre étude, les patients *IKAROS*-délété étaient plus âgés, mais de manière non significative, ce qui est concordant avec certaines études [49]. En revanche, d'autres retrouvent un âge significativement augmenté dans le groupe délété [48, 50].

D'autre part, les patients *IKAROS*-délété de notre cohorte étaient plus fréquemment hyperleucocytaires mais ce n'était pas significatif. Toutes les études retrouvaient une hyperleucocytose au diagnostic plus fréquente dans le groupe délété.

C'est pourquoi la majorité de nos patients *IKAROS*-délété étaient traités selon le protocole FRALLE B (52,9% vs 37,6%,  $p < 0,01$ ).

## Immunophénotype

Le phénotype du groupe *IKAROS*-délété avait tendance à être plus fréquemment proB que dans le groupe non délété, sans significativité statistique. L'étude de l'EORTC et celle du BFM 2000 mettent en évidence cette différence de façon significative [47, 49]. Il a été mis en évidence que les leucémies myéloïdes chroniques ne présentent pas de délétion *IKAROS*, et que l'acquisition de cette délétion est un phénomène nécessaire au blocage de maturation et à la transformation de la LMC en LAL [35]. De par son rôle dans la différenciation lymphoïde, *IKAROS* est un gène suppresseur de tumeur, notamment au stade proB lorsque la protéine RAG est active pour les recombinaisons V(D)J des chaînes des immunoglobulines et du TCR (T cell receptor) : *IKAROS* permet la maturation lymphocytaire et donc l'arrêt de l'activité de RAG, afin de limiter des recombinaisons non ciblées qui conduisent à des anomalies génétiques additionnelles et l'émergence du clone leucémique. Par ce mécanisme, les délétions d'*IKAROS* favorisent peut-être les clones leucémiques bloqués au stade proB.

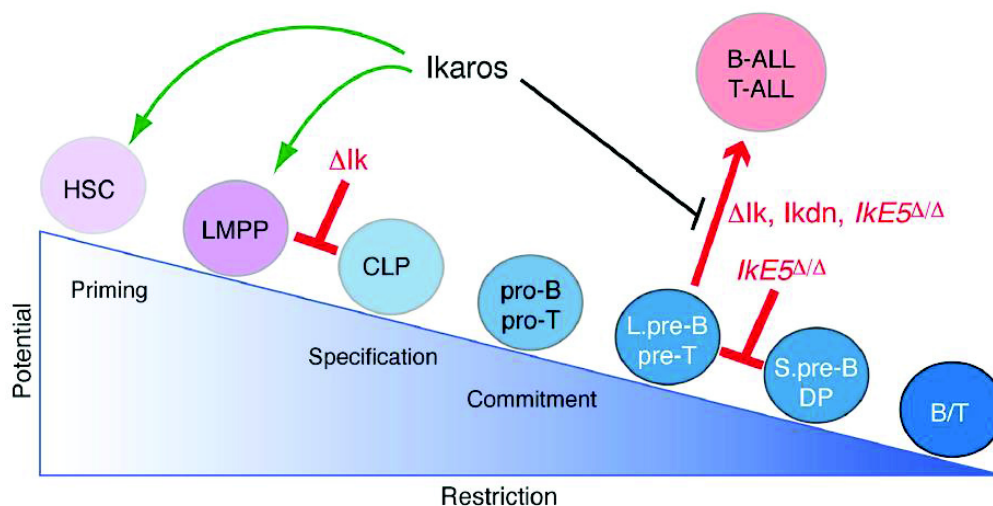


Figure 14 : Rôles d'IKAROS dans la différenciation précoce des lymphocytes, dans divers modèles murins.  $\Delta Ik$  : mutation germinale d'*IKAROS* à effet perte de fonction ; *Ikdn* : mutation germinale d'*IKAROS* à effet dominant négatif ; *IkE5 $\Delta/\Delta$*  : mutation conditionnelle spécifique de lignée B à effet dominant négatif [51].

## **Caractéristiques génétiques**

Sur le plan génétique, la délétion *IKAROS* était rarement associée aux anomalies connues pour être de bon pronostic, c'est-à-dire la translocation *ETV6-RUNX1* (11,8% contre 34,4% dans le groupe non délété) ou l'hyperdiploïdie (17,6% vs 33,3% dans le groupe non délété,  $p=0,01$ ). Les données de la littérature vont en ce sens, avec, dans le groupe délété, une fréquence de présence d'*ETV6-RUNX1* encore plus faible, allant de 4,3 à 9% selon les études [47-52].

La délétion *IKAROS* n'était pas non plus associée aux anomalies génétiques connues pour être de mauvais pronostic. C'est dans le groupe B-other que la délétion *IKAROS* était surreprésentée (70,6% dans le groupe délété contre 26,6% dans le groupe non délété,  $p<0,01$ ), comme dans les études de Clappier et Olsson [47, 50].

Le groupe des LAL B-other est, par définition, hétérogène. Un des sous-types notables du groupe B-other est nommé *BCR-ABL-like* : il a un profil d'expression génique similaire aux LAL *BCR-ABL* positif. Il est caractérisé par des réarrangements impliquant des gènes codant pour des récepteurs de tyrosine kinase comme *ABL1*, *CRFL2*, *JAK2*, et *PDGFRB*. Plusieurs études l'ont identifié comme un sous-type à haut risque, avec une EFS à 5 ans de moins de 60%. La délétion d'*IKAROS* est fréquente (40%). Selon les études, la délétion d'*IKAROS* assombrit ou non le pronostic de ce sous-groupe [21,53]. Un cas de *BCR-ABL-like* a été retrouvé dans notre cohorte : c'était une LAL hyperleucocytaire, avec un caryotype normal et une translocation *ETV6-JAK2*, *IKAROS*-délété. Il a été donc traité selon le protocole B1. L'enfant a rechuté, il est actuellement en rémission après allogreffe.

## **Impact d'*IKAROS* sur la réponse précoce**

### **Corticosenibilité**

La corticosenibilité n'était pas différente selon la présence de la délétion *IKAROS* dans notre cohorte, ce qui est concordant avec les études du BFM [48, 49]. En revanche, la cohorte de l'EORTC [47] retrouve une corticorésistance significativement plus fréquente dans le groupe délété (10,6% contre 4,7%  $p<0,01$ ), ce qui est à rapprocher de l'hyperleucocytose plus fréquente dans ce même groupe.

## **MRD en fin d'induction**

Notre étude n'a pas mis en évidence d'association significative entre la délétion *IKAROS* et la MRD positive aux seuils de  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ .

Concernant les patients *IKAROS*-délété, la positivité de la MRD n'était pas non plus associée significativement à la rechute ( $p=0,85$ ), ce qui était attendu puisque le protocole FRALLE stratifie les groupes de risques en fonction de la MRD.

D'après la littérature, dans l'étude au sein de l'EORTC [47], après analyse multivariée, la délétion *IKAROS* ressort comme facteur de risque indépendant de la MRD sur l'EFS avec un OR de 1,57 [1,11-2,23]. Les autres études ont des conclusions similaires : l'analyse multivariée au sein du protocole suédois NOPHO montre que la MRD est un facteur de risque indépendant de la délétion *IKAROS* sur le taux de rechute de 3,06 [1,09-8,54].

Le protocole FRALLE ainsi que les autres protocoles stratifient les groupes de risques en fonction de la MRD, mais ces résultats suggèrent que cela ne suffit pas pour prévenir les rechutes en présence d'une délétion d'*IKAROS*.

## **Impact d'*IKAROS* sur la rechute**

Dans notre cohorte, le risque de rechute était 4 fois plus important chez les patients *IKAROS*-délété, avec un taux de rechute à 35,4% (contre 9,6%,  $p<0,005$ ). Les autres cohortes internationales ont des résultats en accord : la cohorte de l'EORTC étudiée par Clappier *et al* [47] retrouve un taux de rechute à 25,7% vs 10,8%,  $p<0,001$ . L'équipe suédoise retrouve un taux de rechute à 35% vs 12%,  $p<0,001$ .

## **Faible impact dans le sous-groupe génétique *ETV6-RUNX1***

Seulement 2 patients de notre étude étaient porteurs de la délétion *IKAROS* dans le sous-groupe génétique *ETV6-RUNX1*, aucun n'a rechuté ; dans ce sous-groupe connu pour être de très bon pronostic, la littérature est controversée sur l'impact défavorable ou non de la délétion *IKAROS* [53]. La très grande chimiosensibilité des LAL *ETV6-RUNX1* pourrait en effet gommer l'impact défavorable d'*IKAROS*.

## **Impact majeur dans le sous-groupe génétique B-other**

Cet impact sur la rechute est bien plus marqué dans le sous-groupe génétique B-other : les 6 patients *IKAROS*-délété qui ont rechuté étaient tous B-other. Autrement dit, les 5% de patients *IKAROS*-délété / B-other représentent 40% des rechutes de notre cohorte.

Dans l'étude suédoise [50], la probabilité de rechute des patients B-other est significativement plus importante dans le groupe *IKAROS*-délété que dans le groupe *IKAROS* non délété (52% vs 3%,  $p < 0,001$ ). Dans la cohorte traitée selon l'EORTC, 7,2% de patients *IKAROS* délété / B-other représentent 20% des rechutes.

## **IKAROS et groupes de traitement**

Cinq de ces patients étaient traités selon le protocole A1/A2 ou B1, et donc auraient pu être traités plus intensivement en première ligne pour prévenir la rechute. La 6<sup>e</sup> patiente était déjà en groupe B2 et est décédée avant l'allogreffe.

A l'inverse, parmi les 11 patients *IKAROS*-délété qui n'ont pas rechuté, on retrouvait plus fréquemment des *ETV6-RUNX1* (2 cas) et des caryotypes hyperdiploïdes (3 cas), le reste B-other. Sept d'entre eux étaient traités selon le protocole A1/A2 ou B1. Les 4 autres ont été traités plus intensivement, l'un a même reçu une allogreffe en RC1.

Finalement, concernant les B-other / *IKAROS*-délété, 5 patients ont rechuté alors qu'ils auraient pu avoir un traitement de première ligne plus lourd comme le B2 ; et 5 patients n'ont pas rechuté sans nécessité d'un traitement intensif.

Ces résultats suggèrent que les patients porteurs d'une délétion *IKAROS* devraient être inclus dans un groupe de traitement plus intensif.

## **Place de la délétion d'IKAROS dans l'allogreffe**

Pour un seul des 17 patients *IKAROS*-délété de notre cohorte, l'indication d'allogreffe en RC1 a été posée, sur le critère de la chimiorésistance.

Si l'indication de greffe en première rémission complète avait été posée pour tous les autres patients *IKAROS*-délété, 16 patients de plus auraient donc été allogreffés, pour prévenir 3 rechutes (les trois patients guéris par l'allogreffe en RC2), peut-être 6. Effectivement deux patients sont décédés de leur LAL réfractaire à tout traitement de rattrapage, avant d'avoir pu être allogreffés. On peut de penser que l'allogreffe en RC1 aurait pu éviter la rechute. Quant

au dernier patient, il est décédé de complications liées à l'allogreffe en RC2, complications qui auraient pu apparaître aussi lors d'une greffe en RC1.

L'allogreffe est un traitement lourd, avec une mortalité iatrogène importante, estimée classiquement à 10%. L'indication d'allogreffe en première rémission complète de tous les patients *IKAROS*-délété ne semble pas raisonnable au vu de la trop grande toxicité.

### **Pas d'impact sur le type de délétion d'*IKAROS***

Les patients *IKAROS*-délété ayant rechuté avaient différents types de délétions *IKAROS*, ce qui est comparable à la littérature [47, 49]. L'étude internationale de Boer [52] a en revanche mis en évidence un impact pour tout type de délétion, sauf la délétion rare  $\Delta$  1-8.

Comme l'a publié Clappier *et al* [47], nous retrouvions dans notre cohorte que la délétion  $\Delta$ 4-7 n'était jamais associée au transcrit *ETV6-RUNX1*. Pourtant les LAL B *ETV6-RUNX1* sont associées à de nombreuses anomalies génétiques médiées par une activité aberrante de RAG [54]. Or la délétion  $\Delta$ 4-7 semble induite également par une activité non ciblée de RAG.

### ***IKAROS* et délai de rechute**

Dans notre cohorte, le délai médian de rechute n'était pas différent selon le statut *IKAROS*. De manière qualitative, on note tout de même que la seule rechute très tardive (plus de 5 ans) est survenue chez un patient *IKAROS*-délété. L'étude selon le DCOG ALL-10 retrouve une fréquence de rechute tardive plus importante dans le groupe *IKAROS* délété. C'est pourquoi dans le DCOG ALL-11, il a été décidé d'étendre le traitement d'entretien à un an de plus pour les patients du groupe de risque intermédiaire avec une délétion *IKAROS* [52].

L'étude de la cohorte EORTC [47] a mis en évidence une efficacité significative des ré-inductions mensuelles de vincristine et corticostéroïdes lors du traitement d'entretien sur l'EFS des patients *IKAROS*-délété. Le FRALLE 2000 possède ce même schéma de traitement d'entretien avec des réinductions de vincristine et corticostéroïdes, on peut imaginer que cela a pu prévenir certaines rechutes.



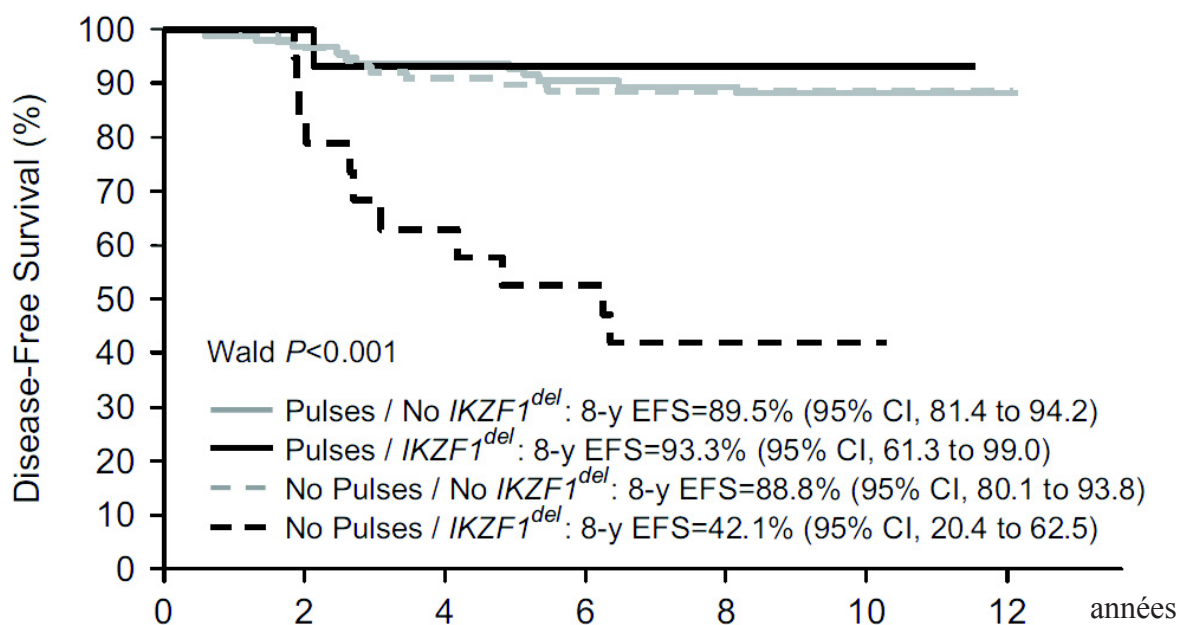


Figure 15 : Courbes de survie de la population de patients randomisés pour les réinductions (pulses), en fonction du statut *IKAROS* [47].

### **Statut *IKAROS* lors de la rechute**

Nous n'avons pas recherché le statut *IKAROS* des patients à la rechute. Il est possible que certains sous-clones minoritaires portaient cette anomalie au diagnostic initial, mais en trop faible proportion pour être détectée par la MLPA. Néanmoins cette délétion peut également être acquise secondairement lors de la rechute.

### **Impact d'*IKAROS* sur la survie**

Dans notre cohorte, la moitié des patients *IKAROS*-délété qui rechutent décèdent. Il existe la même proportion parmi les patients *IKAROS*-délété (5 patients sur 9). Seule l'équipe de Clappier retrouve un meilleur pronostic des patients en rechute dans le groupe *IKAROS*-délété comparativement au groupe *IKAROS*-non délété [47].

### **Autres délétions**

Il aurait été intéressant de connaître le statut de la délétion *ERG* parmi les patients *IKAROS*-délété. En effet, l'équipe de Clappier a récemment montré que la présence de la délétion *ERG* augmentait significativement l'EFS (85,7% vs 51,3%, p=0,04) parmi les patients *IKAROS*-délété [55]. Cependant, selon les publications, la délétion *ERG* représente 6



à 15% des LAL *IKAROS*-délété. Dans notre cohorte, on aurait donc retrouvé a priori 1 à 3 patients *IKAROS*-délété / *ERG*-délété, ce qui n'aurait pas permis de réaliser des analyses.

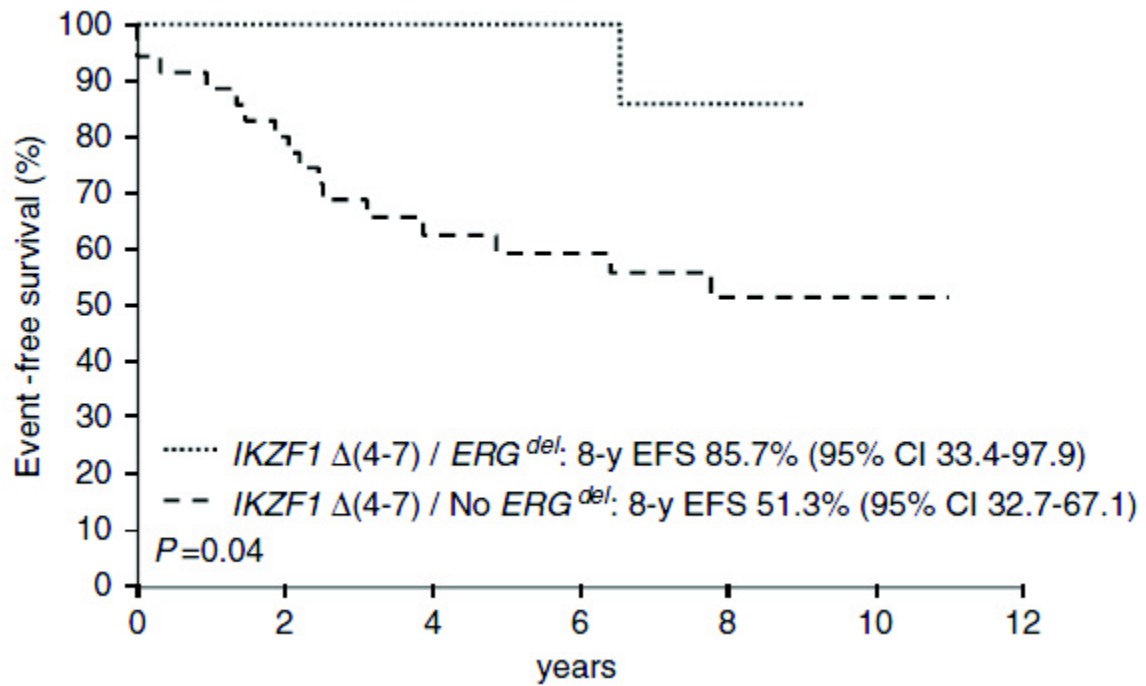


Figure 16 : Courbes d'EFS de la cohorte de l'EORTC selon le statut *ERG* parmi les *IKAROS*-délété [47].

## **CONCLUSION**

Les résultats de notre cohorte rouennaise traitée selon le protocole FRALLE 2000 sont en accord avec les études menées sur les autres protocoles internationaux. Le pronostic de la délétion *IKAROS* est défavorable en termes de rechute et de survie. La présence d'une délétion *IKAROS* doit faire intensifier le traitement de première ligne. Des études prospectives sont nécessaires pour connaître l'efficacité de cette attitude.

Cette étude souligne l'importance de l'utilisation de plusieurs techniques en routine pour la détection des délétions, afin d'améliorer la sensibilité et la spécificité. La technique MLPA réalisée ici pour détecter les délétions pourrait être confrontée, dans une étude ultérieure, à une autre technique de référence comme la PCR multiplexe.

Il serait intéressant de rechercher la délétion *ERG* parmi les LAL *IKAROS*-déléte, afin de confirmer que cette délétion améliore de façon majeure le pronostic, et de prendre en compte cette délétion dans la stratification de groupes de risques.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- [1] Lacour B, Guyot-Goubin A, Guissou S, *et al.* Incidence of childhood cancer in France: National Children Cancer Registries, 2000-2004. *Eur J Cancer Prev* 2010;19:173-81.
- [2] Gruhn B, Taub JW, Ge Y, *et al.* Prenatal origin of childhood acute lymphoblastic leukemia, association with birth weight and hyperdiploidy. *Leukemia* 2008;22:1692-7.
- [3] Hasle H, Clemmensen IH, Mikkelsen M. Risks of leukemia and solid tumours in individuals with Down's syndrome. *Lancet* 2000;355:165-9.
- [4] Urayama KY, Chokkalingam AP, Manabe A, *et al.* Current evidence for an inherited genetic basis of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol* 2013;3-19.
- [5] Orsi L, Rudant J, Bonaventure A, *et al.* Genetic polymorphisms and childhood acute lymphoblastic leukemia: GWAS of the ESCALE study (SFCE). *Leukemia* 2012;26:2561-4.
- [6] Wakeford R. The risk of childhood leukaemia following exposure to ionising radiation--a review. *J Radiol Prot* 2013;33:1-25.
- [7] Journy N, Rehel JL, Ducou Le Pointe H, *et al.* Are the studies on cancer risk from CT scans biased by indication? Elements of answer from a large-scale cohort study in France. *Br J Cancer* 2015;112:185-93.
- [8] Ahlbom A, Day N, Feychting M, Roman E, *et al.* A pooled analysis of magnetic fields and childhood leukaemia. *Br J Cancer* 2000;83:692-8.
- [9] Wiemels J. Perspectives on the causes of childhood leukemia. *Chem Biol Interact* 2012;196:102-9.
- [10] Harrissin CJ. Cytogenetics of paediatric and adolescent acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2009;144:147-56.
- [11] Hunger SP, Mullighan CG. Redefining ALL classification: toward detecting high-risk ALL and implement precision medicine. *Blood* 2015;125:3977-87.
- [12] Borowitz MJ, Devidas M, Hunger SP, *et al.* Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood* 2008;111:5477-85.

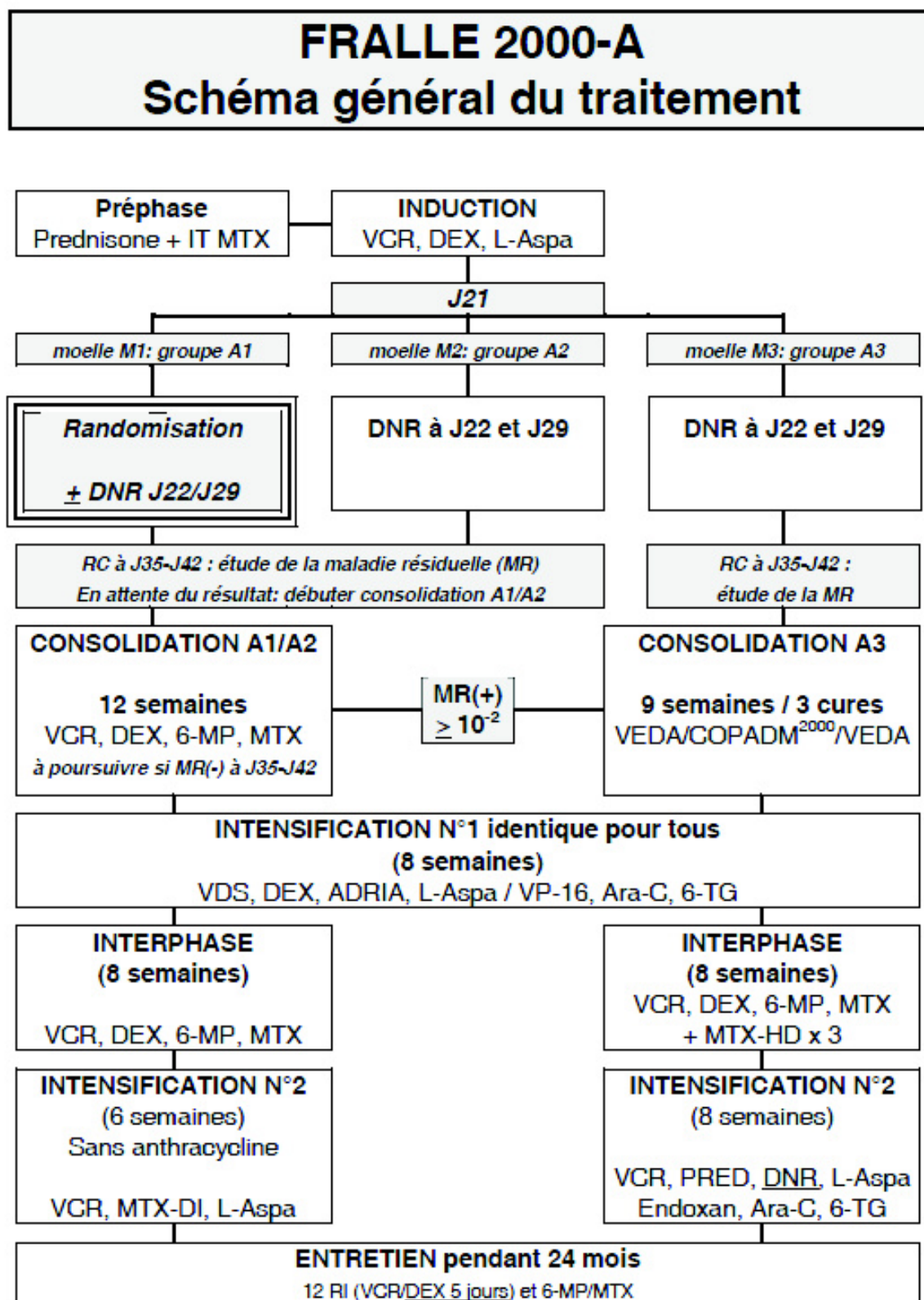
- [13] Sullivan MP, Chen T, Dymont PG, *et al.* Equivalence of intrathecal chemotherapy and radiotherapy as central nervous system prophylaxis in children with acute lymphoblastic leukemia: a pediatric oncology group study. *Blood* 1982;60:948-58.
- [14] Henze G, Fengler R, Reiter A, *et al.* Impact of early intensive reinduction therapy on event-free survival in children with low-risk acute lymphoblastic leukemia. *Haematol Blood Transfus* 1990;33:483-8.
- [15] Reiter A, Schrappe M, Ludwig WD, *et al.* Chemotherapy in 998 unselected childhood acute lymphoblastic leukemia patients. Results and conclusions of the multicenter trial ALL-BFM 86. *Blood* 1994;84:3122-33.
- [16] Cavé H, van der Werff ten Bosch J, Sucio S, *et al.* Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer—Childhood Leukemia Cooperative Group. *N Engl J Med* 1998;339:591-8.
- [17] Norton L, Simon R. The Norton-Simon hypothesis revisited. *Cancer Treat Rep* 1986;70:163-9.
- [18] Peters C, Schrappe M, von Stackelberg A, *et al.* Stem-cell transplantation in children with acute lymphoblastic leukemia: a prospective international multicenter trial comparing sibling donors with matched unrelated donors. The ALL-SCT-BFM-2003 trial. *J Clin Oncol* 2015;33:1265-74.
- [19] Georgopoulos K, Moore DD, Derfler B. Ikaros, an early lymphoid-specific transcription factor and a putative mediator for T cell commitment. *Science* 1992;258:808-12.
- [20] Georgopoulos K, Bigby M, Wang JH, *et al.* The Ikaros gene is required for the development of all lymphoid lineages. *Cell* 1994;79:143-56.
- [21] Olsson L, Johansson B. Ikaros and leukemia. *Br J Haematol* 2015;169:479-91.
- [22] Kaufmann C, Yoshida T, Perotti EA, *et al.* A complex network of regulatory elements in Ikaros and their activity during hemo-lymphopoiesis. *EMBO J* 2003;22:2211-23.
- [23] Martinelli G, Iacobucci I, Storlazzi CT, *et al.* *IKZF1* (Ikaros) deletions in BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia are associated with short disease-free survival and high rate of cumulative incidence of relapse: a GIMENA AL WP report. *J Clin Oncol* 2009;27:5202-7.
- [24] Sun L, Liu A, Georgopoulos K. Zinc finger-mediated protein interactions modulate Ikaros activity, a molecular control of lymphocyte development. *EMBO J* 1996;15:5358-69.

- [25] Ezzat S, Zhu X, Loeper S, *et al.* Tumor-derived Ikaros 6 acetylates the Bcl-XL promoter to up-regulate a survival signal in pituitary cells. *Mol Endocrinol* 2006;20:2976-86.
- [26] Yoshida T, Ng SY, Zuniga-Pflucker JC, *et al.* Early hematopoietic lineage restrictions directed by Ikaros. *Nat Immunol* 2006;7:382-91.
- [27] Goldman FD, Gurel Z, Al-Zubeidi D, *et al.* Congenital pancytopenia and absence of B lymphocytes in a neonate with a mutation in the Ikaros gene. *Pediatr Blood Cancer* 2012;58:591-7.
- [28] Mullighan CG. Molecular genetics of B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest* 2012;22:3407-15.
- [29] John LB, Ward AC. The Ikaros gene family: transcriptional regulators of hematopoiesis and immunity. *Mol Immunol* 2011;48:1272-8.
- [30] Winandy S, Wu P, Georgopoulos K. A dominant mutation in the Ikaros gene leads to rapid development of leukemia and lymphoma. *Cell* 1995;83:289-99.
- [31] Marçais A, Jeannet R, Hernandez L, *et al.* Genetic inactivation of Ikaros is a rare event in human T-ALL. *Leuk Res* 2010;34:426-9.
- [32] Sun L, Goodman PA, Wood CM, *et al.* Expression of aberrantly spliced oncogenic ikaros isoforms in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1999;17:3753-66.
- [33] Virely C, Moulin S, Cobaleda C, *et al.* Haploinsufficiency of the *IKZF1* (*IKAROS*) tumor suppressor gene cooperates with BCR-ABL in a transgenic model of acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2010;24:1200-4.
- [34] Nakase K, Ishimaru F, Avitahl N, *et al.* Dominant negative isoform of the Ikaros gene in patients with adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 2000;60:4062-5.
- [35] Mullighan CG, Miller CB, Radtke I, *et al.* BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature* 2008;453:110-4.
- [36] Cazzaniga G, van Delft FW, Lo Nigro L, *et al.* Developmental origins and impact of BCR-ABL1 fusion and *IKZF1* deletions in monozygotic twins with Ph+ acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2011;118:5559-64.
- [37] Mullighan CG, Phillips LA, Su X, *et al.* Genomic analysis of the clonal origins of relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Science* 2008;322:1377-80.
- [38] Dupuis A, Gaub MP, Legrain M, *et al.* Biclonal and biallelic deletions occur in 20% of B-ALL cases with *IKZF1* mutations. *Leukemia* 2013;27:503-7.

- [39] Papaemmanuil E, Hosking FJ, Vijayakrishnan J, *et al.* Loci on 7p12.2, 10q21.2 and 14q11.2 are associated with risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* 2009;41:1006-10.
- [40] Pastorczak A, Gorniak P, Sherborne A, *et al.* Role of 657del5 NBN mutation and 7p12.2 (*IKZF1*), 9p21 (*CDKN2A*), 10q21.2 (*ARID5B*) and 14q11.2 (*CEBPE*) variation and risk of childhood ALL in the Polish population. *Leuk Res* 2011;35:1534-6.
- [41] Kastner P, Dupuis A, Gaub MP, *et al.* Function of Ikaros as a tumor suppressor in B cell acute lymphoblastic leukemia. *Am J Blood Res* 2013;3:1-13.
- [42] Martinelli G, Iacobucci I, Storlazzi CT, *et al.* *IKZF1* (Ikaros) deletions in BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia are associated with short disease-free survival and high rate of cumulative incidence of relapse: a GIMENA AL WP report. *J Clin Oncol* 2009;27:5202-7.
- [43] Meyer C, zur Stadt U, Escherich G, *et al.* Refinement of *IKZF1* recombination hotspots in pediatric BCP-ALL patients. *Am J Blood Res* 2013;3:165-73.
- [44] Mullighan CG, Su X, Zhang J, *et al.* Deletion of *IKZF1* and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2009;360:470-80.
- [45] Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, *et al.* Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependant probe amplification. *Nucleic Acids Res* 2002;30:1-14.
- [46] Yang, JJ, Bhojwani, D, Yang, W, *et al.* Genome-wide copy number profiling reveals molecular evolution from diagnosis to relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2008;112:4178–83.
- [47] Clappier E, Gardel, E, Bakkus M, *et al.* *IKZF1* deletion is an important prognostic marker in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia, and distinguishes patients benefiting from pulses during maintenance therapy: results of the EORTC Children’s Leukemia Group study 58951. *Leukemia* 2015;29: 2154-61.
- [48] Palmi C, Valsecchi MG, Longinotti G, *et al.* What is the relevance of Ikaros gene deletions as a prognostic marker in pediatric Philadelphia-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia? *Haematologica* 2013;98:1226-31.
- [49] Dörge P, Meissner B, Zimmermann M, *et al.* *IKZF1* deletion is an independent predictor of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Haematologica* 2013;98:428-32.

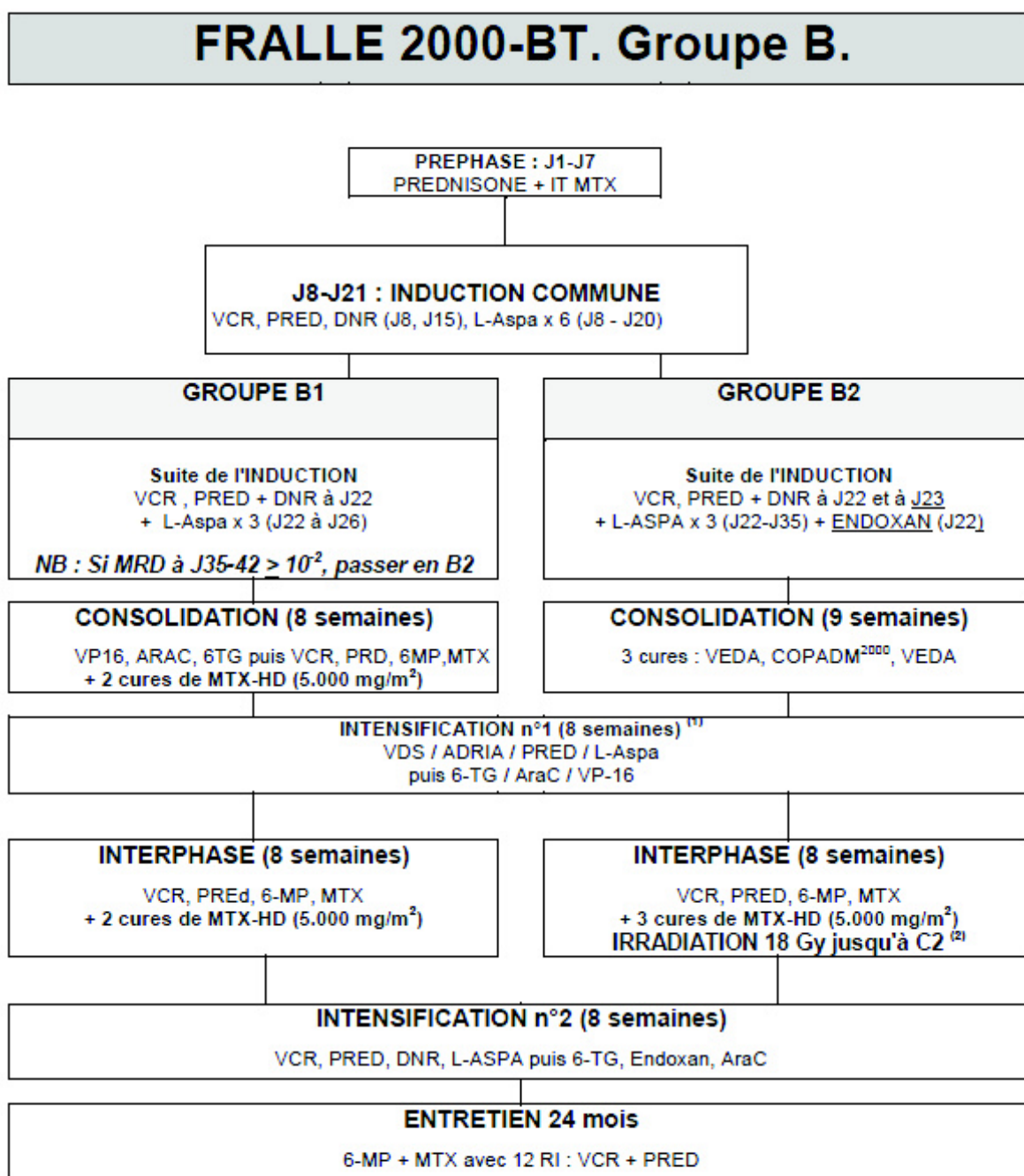
- [50] Olsson L, Ivanov Ofverholm I, Noren-Nystrom U, *et al.* The clinical impact of *IKZF1* deletions in paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia is independent of minimal residual disease stratification in Nordic Society for Paediatric Haematology and Oncology treatment protocols used between 1992 and 2013. *Br J Haematol* 2015;170:847–58.
- [51] Yoshida T, Georgopoulos K. Ikaros fingers on lymphocyte differentiation. *Int J Hematol* 2014;100:220-9.
- [52] Boer JM, Van der Veer A, Rizopoulos D, *et al.* Prognostic value of rare *IKZF1* deletion in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: an international collaborative study. *Leukemia* 2016;30:32–8.
- [53] Van der Veer A, Waanders E, Pieters R, *et al.* Independent prognostic value of BCR-ABL1-like signature and *IKZF1* deletion, but not high CRLF2 expression, in children with B-cell precursor ALL. *Blood* 2013;122:2622–9.
- [54] Papaemmanuil E, Rapado I, Li Y, Tubio J, *et al.* RAG-mediated recombination is the predominant driver of oncogenic rearrangement in ETV6-RUNX1 acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* 2014;46:116–25.
- [55] Clappier E, Auclerc MF, Rapon J, *et al.* An intragenic ERG deletion is a marker of an oncogenic subtype of B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with a favorable outcome despite frequent *IKZF1* deletions. *Leukemia* 2014;28:70-7.

## Annexe 1 : Schéma général du traitement FRALLE 2000A





## Annexe 2 : Schéma général du traitement FRALLE 2000B



(1) : les patients du groupe B2 allogreffés le sont après la 1<sup>ère</sup> partie de l'intensification n°1.

(2) : les patients du groupe B2 et âgés de moins de 4 ans ne sont pas irradiés sur le SNC en PROPHYLACTIQUE: cf. p

## Annexe 3 : Revue de la littérature

Pays	Suède	France	Allemagne, Autriche, Suisse, Tchèque	
Auteur	Olsson	Clappier	Dorge	Volejnikova
Revue	BJH 2015	Leukemia 2015	Haematologica 2013	PBC 2013
Protocole	NOPHO-ALL-1992, -2000 et -2008	EORTC-CLG	ALL-BFM 2000	ALL-IC-BFM 2002
n	334	1223	694	206
Dates inclusion	1992-2013	1998-2008		
Inclusion des Phi+	non	non	oui	non
Groupe de traitement	SR, IR, HR	VLR, AR, VHR	SR, IR, HR	
Technique d'analyse d' <i>IKAROS</i>	SNP ou MLPA	multiplex fluo, PCR et MLPA	MLPA	MLPA
<b>Résultats</b>				
Fréquence <i>IKAROS</i> -déléété	15%	14,6%	12%	7%
Type de délétion	focales 58% non focales 42%	focales: 37% gène entier: 63%	focales: 65% gène entier: 35%	
Caractéristiques des patients <i>IKAROS</i> -déléété (éléments significatifs)	<b>leucocytes plus élevés</b>	<b>leucocytes plus élevés</b>	<b>leucocytes plus élevés</b>	
	<b>faible fréquence des t(12;21): 6%</b>	<b>faible fréquence des t(12;21): 4.3 %</b>	<b>faible fréquence des t(12;21)</b>	
	<b>B-other surreprésentés</b>	<b>âge &gt; 10 ans</b>	<b>plus de BCR-ABL</b>	
	<b>plus fréquent dans le HR</b>	<b>plus fréquent dans le groupe VHR</b>		
		<b>plus de proB</b>		
		<b>plus de MRDJ35&gt;10<sup>-2</sup></b>		
	<b>plus de SNC+</b>			
<b>Taux de rechute</b>	<b>à 5 ans : 35% vs 12%</b>	<b>à 8 ans : 25,7% vs 10,8%</b>	<b>à 5 ans : 21% vs 10%</b>	<b>à 5 ans : 56% vs 9%</b>
	<b>B-other : 52% vs 3%</b>			
Impact pronostique d' <i>IKAROS</i> par sous-groupe	pas d'impact selon type de délétion		pas d'impact selon type de délétion	
	<b>différence dans les groupes HR et SR</b>			
	<b>différence quelle que soit MRD</b>			
<b>EFS</b>	<b>à 10 ans : 60% vs 83%</b>	<b>à 8 ans : 67.7% vs 86.5%</b>	<b>à 5 ans : 69% vs 85%</b>	<b>à 5 ans : 41% vs 86%</b>
		pas d'impact selon le type de délétion		
		<b>différence dans le groupe B-other</b>	<b>différence dans le groupe HR</b>	
		<b>différence dans le groupe hyperdiploïde</b>		
<b>OS</b>	<b>à 10 ans : 73% vs 89%</b>	<b>à 8 ans : 86,7% vs 92,4%</b>	<b>à 5 ans : 82% vs 92%</b>	
	<b>B-other: 58% vs 90%</b>		<b>différence quel que soit le groupe de risque</b>	
Analyse multivariée	<b>FDR indépendant sur rechute, EFS et OS</b>	<b>FDR indépendant sur EFS</b>	<b>FDR indépendant sur EFS</b>	
	<b>MRD prise en compte</b>	<b>MRD prise en compte</b>	<b>MRD prise en compte</b>	

Pays	Italie	USA	Pays Bas	
Auteur	Palmi	Mullighan	Kuiper	Waanders
Revue	Haematologica 2013	NEJM 2009	Leukemia 2010	Leukemia 2011
Protocole	AEIOP-BFM 2000	COG	DCOG-ALL 7-8-9	DCOG-ALL 9
N	410	221	131	131
Dates inclusion	2003-2005	2000-2003	1997-2000	1997-2001
Inclusion des Phi+	non	oui	oui	
Groupe de traitement	SR, IR, HR	HR	NHR et HR	NHR et HR
Technique d'analyse d' <i>IKAROS</i>	MLPA	NC	MLPA	NC
<b>Résultats</b>				
Fréquence <i>IKAROS</i> -déléété	13,2%	28,6%		
Type de délétion	intra-géniques: 46,2% gène entier: 53,8%	intra-géniques: 75% gène entier: 25%		
Caractéristiques des patients <i>IKAROS</i> -déléété (éléments significatifs)	<b>faible fréquence des t(12;21):2 % âge &gt; 10 ans</b>			
	<b>plus fréquent dans le HR-MRD</b>			
<b>Taux de rechute</b>	<b>à 5 ans : 24,2% vs 13,1%</b>	<b>à 5 ans : 76% vs 22%</b>	<b>à 8 ans : 61% vs 11%</b>	
Impact pronostique d' <i>IKAROS</i> par sous-groupe				<b>à 9 ans : 73% vs 4 %</b> dans le groupe MRD > 5.10 <sup>-4</sup> au TP2
<b>EFS</b>	<b>à 5 ans : 70,2% vs 85,2%</b> <b>groupe IR: 69% vs 82.2%</b>			
<b>OS</b>	à 5 ans : 87% vs 93% (NS)		à 8 ans : 56% vs 91%	
			<b>différence quel que soit le groupe de risque</b>	
<b>Analyse multivariée</b>	<b>FDR indépendant sur rechute (NS), EFS</b>	<b>FDR indépendant sur rechute et EFS</b>	<b>FDR indépendant sur rechute et OS</b>	<b>FDR indépendant sur rechute</b>
		<b>MRD prise en compte</b>	non ajusté sur MRD	<b>MRD prise en compte</b>

n : nombre de patients inclus dans l'étude ; Phi+ : leucémie lymphoblastique avec t(9;22) *BCR-ABL* ; EFS : even-free survival ; OS : overall survival ; BJH : British Journal of Haematology ; PBC : Paediatric Blood & Cancer ; NEJM : New England Journal of Medicine ; SR : standard risk ; IR : intermediate risk ; HR : high risk ; VLR : very low risk ; AR : average risk ; VHR : very high risk ; MLPA : multiplex ligation-dependant probe amplification ; SNP : single nucleotide polymorphism ; PCR : polymerase chain reaction ; NC : non communiqué ; MRD : minimal residual disease ; NS : non significatif ; **en gras** : résultats significatifs (p<0,05); FDR : facteur de risque.