

La leucémie myéloïde chronique en 2003

Chronic myeloid leukemia in the year 2003

P. Lewalle et P. Martiat

Laboratoire d'Hématologie Expérimentale et Service d'Hématologie, Institut Jules Bordet, U.L.B.

RESUME

L'introduction récente de l'imatinib mésylate a bouleversé le traitement de la leucémie myéloïde chronique. Ce premier médicament intelligent, ciblant l'anomalie moléculaire à l'origine de la maladie, l'activité tyrosine kinase anormale de la protéine de fusion engendré par le chromosome de Philadelphie, se révèle d'une efficacité prodigieuse mais nous manquons encore du recul nécessaire à l'évaluation de son efficacité à long terme. D'autre part, d'autres modalités thérapeutiques éprouvées, comme l'allogreffe, ou expérimentales, comme l'immunothérapie ou l'autogreffe sont en cours d'évolution. Dans cette revue, les auteurs ont essayé de faire la synthèse de ce que l'on sait de cette maladie et proposent une base de réflexion pour une stratégie thérapeutique adaptée aux données du moment.

Rev Med Brux 2003 ; 24 : 420-30

ABSTRACT

The recent introduction of imatinib mesylate has deeply changed the treatment of chronic myeloid leukemia. This first physiopathology-based therapy, which targets the molecular anomaly that gives rise to the disease (the abnormal tyrosine kinase activity generated by the fusion protein P210 Bcr-Abl) has demonstrated an impressive activity. However, its long-term efficacy remains unknown. On the other hand, other treatment modalities, such as stem cell transplantation or experimental ones (immunotherapy) are also profoundly evolving. In this review, the authors have tried to synthesize the current knowledge of this disease and suggest a therapeutic strategy based on the currently available data.

Rev Med Brux 2003 ; 24 : 420-30

Key words : *chronic myeloid leukemia, treatment, physiopathology*

INTRODUCTION

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une prolifération maligne monoclonale de cellules myéloïdes. Elle résulte de la transformation néoplasique d'une cellule souche hématopoïétique pluripotente. Elle est caractérisée par une forte augmentation des cellules granulocytaires et la présence de formes immatures dans le sang. La maladie peut être divisée en deux périodes : une phase chronique et une phase d'acutisation, appelée crise blastique. La transition de la première à la deuxième phase se fait en quelques mois et porte le nom de phase d'accélération. La phase chronique, qui dure de 4 à 5 ans, est souvent peu symptomatique. De plus en plus diagnostiquée de façon fortuite, la LMC peut être à ce stade parfaitement asymptomatique. Avec l'augmentation de la leucocytose, des symptômes peuvent survenir : fatigue, splénomégalie, sensibilité sternale, perte de poids sont les plus fréquents (> 50 %). Moins souvent, on peut constater une hépatomégalie, une sensation de réplétion abdominale, des micro-adénopathies, des douleurs épigas-

triques et de la fièvre. L'hyperleucocytose résulte d'une augmentation du nombre de cellules progénitrices myéloïdes, encore capables de maturation et différenciation, ce qui augmente le nombre de formes jeunes et de granulocytes circulants. Lors de cette phase, la leucocytose peut être contrôlée par une chimiothérapie orale, ou, mieux, par une thérapeutique à visée curative. L'évolution est typiquement biphasique, avec parfois une phase intermédiaire plus ou moins prolongée. Pendant plusieurs années, la LMC évolue de façon indolente puis, de façon abrupte ou après une période de transition de quelques mois (phase accélérée), elle évolue vers une crise blastique, caractérisée par la présence de plus de 30 % de blastes dans la moelle. La crise blastique est caractérisée par la prolifération anarchique de cellules immatures ne répondant plus aux traitements. Ces blastes peuvent être de la lignée myéloïde ou lymphoïde. En dehors de rares exceptions, la crise blastique est toujours fatale à bref délai, de quelques mois à un an. Les signes d'accélération sont : une altération de l'état général avec l'apparition de fièvre, une difficulté croissante de contrôler la leucocytose avec

le traitement habituel, l'apparition de blastes circulants ou de formes jeunes en plus grand nombre, un excès de blastes médullaires, une hyperéosinophilie ou une basophilie supérieure à 20 %, une anémie ou une thrombocytopénie d'apparition progressive, une thrombocytose, une splénomégalie progressive, l'apparition de myélofibrose et enfin l'apparition d'anomalies chromosomiques supplémentaires.

EPIDEMIOLOGIE ET PATHOGENIE

Epidémiologie

La LMC, quoique pouvant se manifester à tout âge, est typiquement une maladie de l'adulte (médiane de survenue entre 45 et 50 ans), et sa fréquence augmente avec l'âge. Son incidence annuelle globale est de 1 à 2/100.000 personnes pour l'ensemble de la population. En dehors de l'exposition aux radiations ionisantes, aucun autre facteur de risque n'a pu être identifié. L'effet des radiations ionisantes a pu être reproduit *in vitro* par l'induction de la translocation t(9;22) dans des lignées cellulaires¹.

Pathogénie

La LMC est caractérisée par la translocation chromosomique t(9;22) dans plus de 90 % des cas, et par une fusion des gènes Bcr (gène dont la fonction normale est encore mal connue, situé sur le chromosome 22) et Abl (ou proto-oncogène Abelson, situé sur le chromosome 9) dans tous les cas typiques, même si la translocation est masquée ou inapparente². En fonction du site de cassure dans le gène Bcr, différents transcrits hybrides sont produits. Le type majeur mène à la production d'une protéine hybride de 210 kD (P210), à localisation cytoplasmique³. Cette protéine semble à elle seule responsable des phénomènes menant à la transformation leucémique. La conséquence de ce néogène hybride est une hyperactivité, une perte de la régulation et de la spécificité de l'activité tyrosine kinase (transfert de groupe phosphates sur des messagers intracellulaires pour les activer) de la portion Abl de la protéine. Cette dérégulation perturbe divers signaux cellulaires normaux (schématisés dans la Figure 1) et mène à la transformation leucémique. La phosphorylation anormale de la partie Bcr la rend capable de recruter la voie de signalisation médiée par le proto-oncogène RAS^{4,5}, par l'intermédiaire d'une interaction avec les protéines responsables de l'activation de ce proto-oncogène, ce qui entraîne la présence anormalement abondante de sa forme activée. L'augmentation de l'activité catalytique de la partie Abl de la protéine active le proto-oncogène C-MYC⁶ et la voie JAK-STAT⁷. Ceci entraîne une indépendance à certains facteurs de croissance comme l'IL-3, active des protéines à fonction catalytique comme les PI3-kinases⁷, ce qui résulte en une augmentation de la croissance cellulaire. Enfin, P210 inhibe la réponse à certains signaux apoptotiques⁸ et modifie certaines protéines du cytosquelette, ce qui diminue la sensibilité à l'inhibition de contact et la nécessité d'adhérence au stroma, typique de cette maladie⁹. A ce jour, il n'y a pas d'évidence

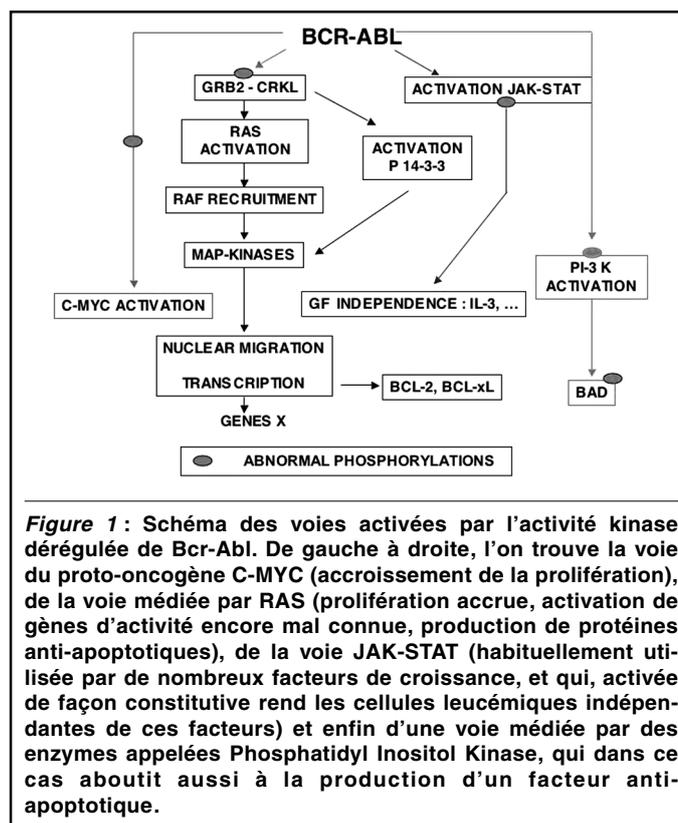


Figure 1 : Schéma des voies activées par l'activité kinase dérégulée de Bcr-Abl. De gauche à droite, l'on trouve la voie du proto-oncogène C-MYC (accroissement de la prolifération), de la voie médiée par RAS (prolifération accrue, activation de gènes d'activité encore mal connue, production de protéines anti-apoptotiques), de la voie JAK-STAT (habituellement utilisée par de nombreux facteurs de croissance, et qui, activée de façon constitutive rend les cellules leucémiques indépendantes de ces facteurs) et enfin d'une voie médiée par des enzymes appelées Phosphatidyl Inositol Kinase, qui dans ce cas aboutit aussi à la production d'un facteur anti-apoptotique.

claire que le système immunitaire joue un rôle dans la survenue ou le contrôle de la maladie. Néanmoins, deux observations sont intrigantes : d'une part la présence dans les leucocytes d'individus sains de transcrits Bcr-Abl, détectables uniquement par une réaction de PCR à très haute sensibilité^{10,11}, d'autre part, l'incidence diminuée de moitié de la maladie chez les individus porteurs simultanément des molécules d'histocompatibilité HLA-A3 et HLA-B8¹². Ces molécules peuvent lier des peptides dérivés de la protéine Bcr-Abl et initier *in vitro* des réactions cytotoxiques ; elles pourraient, *in vivo* induire une réponse immune protectrice. Bien que certains des transcrits Bcr-Abl détectés chez les individus sains ne soient pas fonctionnels et que d'autres pourraient se trouver dans des cellules autres que dans les cellules souches, seules capables d'initier la maladie, on ne peut exclure le rôle d'un déficit de l'immunosurveillance dans la survenue de la LMC.

CLASSIFICATION ET STRATIFICATION PRONOSTIQUE

Les perspectives thérapeutiques étant mauvaises pour un patient en phase accélérée ou blastique, il est important de prévoir la durée de la phase chronique et les chances de réponse à différents traitements. Le score de Sokal est un bon indicateur de l'évolution sans traitement curatif et de la réponse à des thérapeutiques de type interféron-alpha, tandis que le score EBMT (*European Blood and Marrow Transplantation Group*) a été construit pour évaluer les chances d'un patients de bénéficier d'une allogreffe de cellules souches.

Les index pronostiques pré-imatinib

Le score de Sokal : ce score a été établi sur

813 patients en phase chronique, étudiés depuis le diagnostic¹³. La survie médiane était de 47 mois, représentative d'une population de LMC avant l'apparition de traitement plus récents (interféron et imatinib, discutés plus loin). Différents paramètres ont été étudiés en analyse multivariée dont quatre, le taux de plaquettes, l'âge, la taille de la rate et le pourcentage de blastes circulants sont ressortis comme déterminants. Ces quatre paramètres ont permis d'établir un score calculé comme suit : $0,0016 \times (\text{âge} - 43,4) + 0,0345 \times (\text{taille de la rate} - 7,51) + 0,0887 \times (\text{blastés circulants} - 2,10) + 0,188 \times [(\text{plaquettes}/700)^2 - 0,563]$.

Ce score permet de définir 3 groupes de risque : bon, < 0,8 : survie à 2 ans de 90 % et survie médiane de 5 ans ; intermédiaire, 0,8 à 1,2 : survie à 2 ans de 75 % et survie médiane à 3,5 ans ; mauvais, > 1,2 : survie à 2 ans de 65 % et survie médiane de 2,5 ans.

Ces estimations de survie sont valables pour des patients traités par chimiothérapie orale seule. Néanmoins, comme discuté plus loin, ce score reste très puissant pour prédire la réponse à d'autres thérapeutiques comme l'interféron-alpha et la greffe de cellules souches allogéniques.

Le score EBMT (Tableau 1) : ce score a été défini par l'EBMT sur un groupe de 3.142 patients, allogreffés entre 1989 et 1996¹⁴. Il définit les chances de survie à 5 ans indépendamment du score de Sokal. Il tient compte, en leur attribuant une valeur, comprise entre 0 et 2, des paramètres suivants : le type de donneur (0 pour un donneur apparenté HLA-identique ; 1 pour un non apparenté HLA-identique), la phase de la maladie (0 en phase chronique ; 1 en phase accélérée ; 2 en crise blastique), l'âge du patient (0 < 20 ans ; 1 entre 20 et 40 ans ; 2 > 40 ans), l'interaction du genre du donneur et du receveur (0 sauf si le donneur est une femme et le receveur un homme, où la valeur devient 1) et le délai entre le diagnostic et la greffe (0 si < 12 mois ; 1 si > 12). Le score s'obtient par l'addition des différentes valeurs obtenues pour chaque paramètre. Il est évident que ce score ne prend pas en compte, par manque de recul, ni l'amélioration des soins supportifs, ni les nouvelles modalités de greffes discutées plus loin, comme les greffes à conditionnements

non myéloablatifs (" mini-greffes ") ou les greffes déplétées en lymphocytes T avec transfusions ultérieures de lymphocytes, probablement moins toxiques et aussi efficaces.

TRAITEMENT

La chimiothérapie orale par busulfan ou hydroxyurée n'améliore pas la survie et ne sera pas discutée ici. Elle n'a plus de place sauf au diagnostic pour diminuer rapidement une leucocytose trop élevée et chez les patients présentant des contre-indications ou une intolérance majeure à l'un des traitements décrits ci-dessous, pour maintenir la leucocytose à une valeur normale. Dans ce cas, l'hydroxyurée est préférable au busulfan pour la survie un peu plus longue qu'elle apporte¹⁵.

L'interféron-alpha

L'interféron-alpha, introduit au milieu des années 80 était jusqu'il y a peu le seul traitement, hors allogreffe, à prolonger de façon significative la survie d'une partie des patients atteints de LMC. Les premières études non randomisées¹⁶ avaient montré, à des doses de 5 MU/m²/j, un taux de réponses hématologiques de 80 % et cytogénétiques de 58 %, dont un tiers de majeures (moins 33 % de métaphases porteuses du chromosome de Philadelphie) et un quart de complètes (100 % de mitoses normales). La survie médiane des patients répondeurs complets ou majeurs se situe entre 7 à 10 ans. Par la suite, de nombreux groupes ont entrepris des études randomisées¹⁷⁻¹⁹ dont on peut résumer les conclusions comme suit :

- L'interféron-alpha augmente globalement la survie des patients traités par rapport au traitement conventionnel, de un à deux ans.
- Environ 30 % des patients sous interféron-alpha obtiennent une réponse significative (complète ou majeure) d'après la plupart des études^{17,18,29}.
- Le taux de ces réponses significatives est beaucoup plus important (50 %) chez les patients à bon score de Sokal^{16,20}.
- La survie est nettement augmentée (médiane supérieure à 10 ans) chez les patients qui obtiennent une réponse cytogénétique significative¹⁶⁻¹⁹.

C'est chez les patients à bon score de Sokal que l'on observe le plus de réponses cytogénétiques, c'est aussi chez eux que la survie est la plus prolongée (47 % contre 16 % à 10 ans), tous répondeurs confondus²⁰. Les études ultérieures ont testé l'adjonction de cytosine arabinoside (Ara-C) à l'interféron-alpha, soit de manière continue²¹, soit discontinue, 2 semaines sur 4²⁰. La dernière étude montre un gain significatif en termes de réponses complètes et majeures (38 % contre 28 % pour l'interféron-alpha seul), se traduisant par une survie à 5 ans augmentée (70 % contre 60 %). Du point de vue de la tolérance, il semble que l'administration en continu d'Ara-C à la dose de 10 mg/j soit mieux tolérée et conduise à des résultats similaires. En conclusion, la combinaison interféron-alpha et Ara-C était jusqu'il y a peu le standard des traitements de la LMC

Tableau 1 : Score pronostique EBMT pour les allogreffes de cellules souches dans la leucémie myéloïde chronique.

Score EBMT	Survie à 5 ans (%)
0 - 1	70
2	62
3	48
4	40
5 - 7	< 20

Le score s'obtient par l'addition des points attribués aux différents paramètres (âge, type de donneur, concordance des sexes, phase de la maladie et délai entre le diagnostic et la greffe) donnés dans les texte.

hors allogreffe.

La greffe de cellules souches allogéniques

La greffe allogénique est pour le moment le seul traitement curatif de la LMC. Comme la médiane d'âge des patients est d'environ 50 ans, l'âge est un facteur de risque important et de nombreux efforts (déplétion du greffon en cellules T, mini-conditionnement) sont faits pour en réduire la toxicité. Les chances de trouver un donneur apparenté, HLA-identique, ne sont que de 20 à 25 % dans nos pays. En conséquence, d'autres techniques de greffe à partir de donneurs alternatifs (non apparentés, apparentés mais partiellement misappariés) ont été développées. Les progrès de ces dernières décades sont dus à l'introduction de la combinaison cyclosporine-méthotrexate²² pour la prévention de la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD), à l'accroissement du nombre de donneurs non apparentés disponibles, qui est de plusieurs millions, au raffinement des méthodes de typage HLA (typage moléculaire à haute résolution) et plus récemment aux tentatives de séparer l'effet délétère du greffon contre l'hôte de son effet bénéfique anti-leucémique (GVL) et à l'introduction de conditionnements non myéloablatifs (" mini-transplants "). Les résultats actuels, rétrospectifs, et ne prenant pas en compte les modes de greffe plus récents, tirés du registre international de greffe de moelle (IBMTR) sur des LMC allogreffées en phase chronique²³, sont résumés dans le Tableau 2. Il apparaît clairement dans ce tableau que la greffe à partir d'un jumeau, même si elle expose à un taux de rechute élevé, reste une option valable, surtout pour des patients âgés, étant donné sa faible toxicité et l'excellente survie des patients. L'alternative est un donneur apparenté compatible ; il faut signaler qu'une discordance pour un antigène HLA est acceptable dans ce contexte ; une différence unique portant sur une molécule HLA-C pourrait même être préférable, car elle entraîne un effet anti-leucémique du greffon (effet dit GVL pour *Graft-Versus-Leukemia*) plus important²⁴ malgré le risque de rejet accru (ceci est encore à vérifier). Le choix d'un donneur non apparenté produit une survie globale et sans leucémie de 20 % inférieure à celui d'un donneur familial, ceci à cause de la toxicité accrue. Il est néanmoins probable que la notion de compatibilité HLA, définie actuellement en classe I de façon sérologique va évoluer, et il semble qu'une greffe non apparentée, HLA-identique en classe I et II, selon des techniques moléculaires à haute résolution, donne lieu à des résultats

comparables, en termes de toxicité, à une greffe apparentée²⁴. La déplétion en lymphocytes T, telle qu'elle était pratiquée jusqu'à ces dernières années, donne des résultats moins bons en termes de survie sans rechute (LFS pour *Leukemia Free Survival*) (39 contre 57 %), tout en préservant une survie globale identique. Il s'agit manifestement d'une perte d'effet " GVL ", ce qui est l'objet des études actuelles. En résumé, la greffe de moelle classique, à partir d'un donneur familial ou non apparenté HLA-identique, donne des résultats de survie à long terme sans rechute de ± 60 % en familial et de ± 40 % en non apparenté²⁵⁻³⁰.

Les nouvelles modalités thérapeutiques

Les approches nouvelles en greffe de cellules souches

Les problèmes principaux des allogreffes, s'adressant à une population dont la médiane d'âge est d'environ 50 ans, sont la toxicité de la procédure et le manque de donneurs familiaux histocompatibles. Les nouvelles approches visent donc à la fois à diminuer la toxicité et à utiliser des donneurs moins compatibles. La toxicité est liée à trois phénomènes : la GVHD, la toxicité du conditionnement lui-même et les problèmes infectieux. Pour résoudre le premier problème, on peut utiliser diverses formes de déplétion du greffon en cellules T. Les conséquences en sont une très nette diminution des GVHD graves, mais en contrepartie la reconstitution immunitaire est beaucoup plus lente et le taux de rechute beaucoup plus élevé^{25,26,28}. Idéalement, il faudrait réduire fortement la GVHD tout en préservant autant que possible l'effet GVL et les capacités immunitaires. Pour y parvenir, une approche nouvelle empirique des greffes T-déplétées est en train de voir le jour, basée sur deux observations essentielles : une même dose de lymphocytes donnée en dehors du " tourbillon de cytokines " faisant suite au conditionnement et aux infections liées à la phase de neutropénie induit beaucoup moins de GVHD³¹, d'autre part, il est possible³²⁻³⁴ de mettre en rémission complète une LMC en rechute après allogreffe par transfusion de lymphocytes du donneur (DLI), indépendamment d'une GVHD suivant la première greffe et sans nécessairement induire une GVHD. La réponse à ces DLI est d'autant meilleure qu'elles sont données précocement, en rechute moléculaire ou cytogénétique, sans attendre la rechute hématologique^{23,32}. Enfin, il existe clairement une dissociation, au moins quantitative, entre GVHD et GVL. Une étude d'escalade de doses de lymphocytes³⁵ démontre

Tableau 2 : Résultats des allogreffes de cellules souches, pratiquées en phase chronique, en fonction du type de donneur et d'une déplétion en lymphocytes T du greffon.

Donneur	Patients (nombre)	Rechutes	Survie en rémission à 3 ans	Survie à 3 ans
Jumeau	49	51 \pm 20 %	43 \pm 19 %	86 \pm 14 %
Apparenté HLA-identique	4.630	17 \pm 2 %	57 \pm 2 %	65 \pm 2 %
Apparenté HLA-identique T déplétion	281	45 \pm 8 %	39 \pm 6 %	64 \pm 6 %
Non apparenté HLA-identique	1.234	18 \pm 3 %	41 \pm 3 %	46 \pm 3 %

que des doses l'ordre de 10^7 /kg peuvent déjà avoir un effet sur la rechute en entraînant très peu de phénomènes de type GVHD. Une étude plus récente³⁴ démontre que traiter une rechute en escaladant progressivement les doses de lymphocytes assure un taux de rémission équivalent à l'administration unique d'une dose importante, mais que le prix à payer en GVHD est beaucoup plus faible. Ces travaux ouvrent la porte à un nouveau type de greffe, T-déplétées, où l'on ajoute, soit de façon préventive à des délais fixes (à partir des jours 30 à 60 selon les équipes), soit de façon pré-emptive, en fonction de l'évolution du taux de transcrits Bcr-Abl mesurés par PCR quantitative, des doses croissantes de lymphocytes du donneur. Pour aller plus loin, plusieurs pistes sont à l'étude : la première est basée sur certaines indications^{33,36} suggérant que l'effet GVL serait plutôt médié par les lymphocytes auxiliaires (CD4) et que la GVHD dépendrait plus des lymphocytes cytotoxiques (CD8) infusés avec le greffon. Dans cette approche, le même type de greffe T-déplétée serait pratiqué, avec des DLI déplétées en CD8, ou bien le greffon serait déplété en lymphocytes CD8. Ces travaux restent encore à confirmer. Une autre piste est l'utilisation de lymphocytes cytotoxiques, générés *ex vivo* contre des antigènes mineurs d'histocompatibilité restreints aux tissus hématopoïétiques, voire aux cellules leucémiques. L'existence des premiers est maintenant démontrée³⁷, celle des seconds semble probable³⁸. Ceci pourrait mener à des greffes T-déplétées avec réinjection de lymphocytes spécialisés, après une phase courte d'expansion *in vitro*. Le même raisonnement pourrait d'ailleurs s'appliquer à la génération *ex vivo* de lymphocytes spécialisés, dirigés contre certains pathogènes (CMV, EBV, toxoplasme, etc.) très dangereux après une allogreffe, surtout déplétée en lymphocytes T.

Le problème de la toxicité du conditionnement et de la durée de la neutropénie trouve une solution dans la greffe avec conditionnement non myéloablatif³⁹⁻⁴¹. Le principe est de diminuer l'intensité de la myélosuppression, tout en maintenant une immunosuppression importante, résultant en une pancytopenie de courte durée et à l'instauration d'un chimérisme mixte. Ensuite, il s'agit de faire basculer progressivement l'hématopoïèse vers un chimérisme complet de type donneur, par la levée de l'immunosuppression et éventuellement par des DLI. Cette approche permet d'élargir les possibilités de greffe à des patients plus âgés, jusqu'à 65 ans, voire plus.

Le manque de donneurs histocompatibles peut être partiellement résolu par une greffe effectuée à partir d'un donneur familial haplo-identique⁴²⁻⁴⁴. Ces greffes, qui ne s'adressent pour le moment qu'à des patients jeunes, en phase avancée de leur maladie et dépourvus d'autres possibilités thérapeutiques, sont très efficaces en termes d'effet anti-leucémique, exploitent le potentiel de certains lymphocytes appelés "Natural Killers" (NK) et ont actuellement une toxicité comparable à celle d'autres allogreffes. Elles sont basées sur une forte immunosuppression du receveur pour éviter les risques de rejet du greffon, suivie d'une déplétion importante en lymphocytes T du greffon. Cette déplétion

peut se faire, soit de façon classique⁴², soit de façon fonctionnelle, en essayant de dépléter le greffon en lymphocytes alloréactifs⁴³. Dans cette approche, on rend anergique le greffon par contact préalable avec des cellules cibles irradiées du receveur, dans un système de culture tuant les lymphocytes stimulés par les antigènes du receveur. Le but est d'essayer de mieux préserver les capacités anti-infectieuses du greffon et de conserver un effet GVL. Cette approche, prometteuse, nécessite encore de nombreuses validations.

L'autogreffe de cellules souches

Il existe deux façons de procéder à une autogreffe, soit en utilisant des cellules prélevées au diagnostic⁴⁵, qui contiennent encore de nombreux précurseurs non leucémiques, soit en effectuant une collecte, après chimiothérapie et stimulation sous facteur de croissance, qui mobilise un peu plus tôt les cellules souches normales que les cellules souches leucémiques⁴⁶. Ceci donne une fenêtre d'un à deux jours pour une collecte de cellules "purgées *in vivo*". Ce type de traitement donne un nombre important de réponses cytogénétiques, pouvant durer plusieurs mois, voire années, et la survie des patients paraît plus longue comparée à celles de contrôles historiques. Néanmoins, de possibles biais de sélection peuvent exister et il est encore difficile d'affirmer l'intérêt de ce traitement en phase précoce de la maladie. Avec l'apparition de l'imatinib (voir plus loin), l'autogreffe pourrait trouver une nouvelle place, par exemple chez des patients résistants, leurs cellules ayant probablement accumulé au cours du temps trop d'événements génétiques secondaires. Si l'on dispose de cellules souches collectées à la phase initiale de la maladie, contenant à la fois des cellules normales et des cellules leucémiques "jeunes" potentiellement sensibles à l'imatinib, l'autogreffe pourrait permettre, en éradiquant un maximum de cellules leucémiques avancées, de réinstaurer une LMC sensible à ce traitement⁴⁷.

Les approches basées sur la physiopathologie

Il existe deux voies d'abord, basées sur la production de la protéine hybride P210 engendrée par le gène de fusion Bcr-Abl : inhiber sa production (approche antisens) ou sa fonction (inhiber son activité de phosphorylation) ou l'utiliser comme un "néo-antigène", cible potentielle d'une immunothérapie anti-leucémique.

Les approches antisens visent à inhiber la traduction de l'ARN messager en protéines par l'introduction dans la cellule d'un acide nucléique (ARN ou ADN) de séquence complémentaire au transcrit à bloquer, pour qu'il s'y attache par hybridation et en bloque la traduction. Cela se fait soit en faisant synthétiser en continu par la cellule leucémique un ARN antisens⁴⁸, soit en y faisant pénétrer des oligonucléotides (petits brins d'ADN) antisens⁴⁹, faisant intervenir après hybridation avec la cible un mécanisme de dégradation enzymatique. Les problèmes soulevés par ces approches sont divers : la transduction par une construction antisens est faisable et fonctionne⁴⁸ mais se heurte au

problème de toute thérapie génique du cancer, qui est de toucher l'ensemble des cellules leucémiques. L'utilisation d'oligonucléotides, après une première phase prometteuse, a montré ses limites actuelles. De nombreux travaux restent donc encore indispensables pour pouvoir évaluer l'efficacité de cette approche.

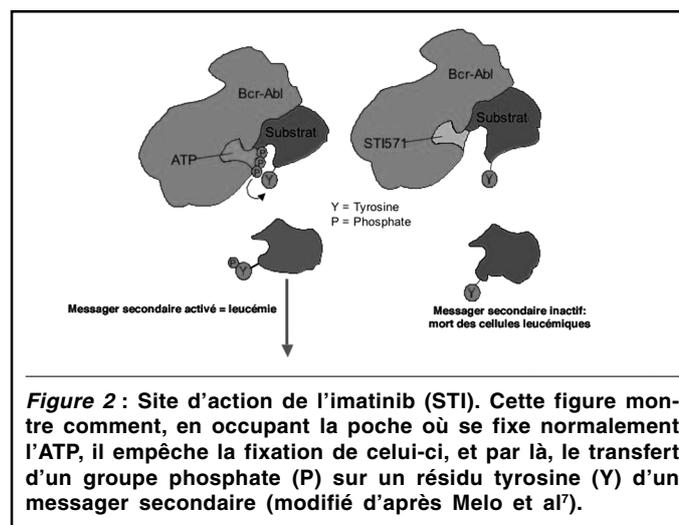
Les approches visant à contrarier l'effet de P210 se proposent soit de bloquer son activité tyrosine kinase (inhibiteurs spécifiques) ou de désactiver les substrats phosphorylés (phosphatases spécifiques), soit d'interférer au niveau des protéines phosphorylées par P210, qui servent à la transmission anormale de signaux. Par exemple, les inhibiteurs de la farnésyl transférase pourraient par leur effet sur la voie RAS réduire l'activité transformante de la protéine. Actuellement, en dehors de quelques essais de ces derniers⁵⁰, la voie la plus explorée est celle des inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase Abl. Les premiers composés de ce type ont été isolés depuis plus de 10 ans⁵¹. Bien qu'ayant une activité anti-tyrosine kinase et étant efficaces *in vitro* sur des lignées leucémiques comme K562, ces produits (herbimycine A, génistéine et erbstatine) étaient dépourvus de sélectivité. Ce n'est que depuis la découverte de la structure cristallographique d'Abl que de nouveaux composés ont pu être synthétisés. Parmi eux, le GCP 57148 ou STI 571 ou imatinib mésylate, a montré à la fois une puissante activité inhibitrice⁵², une sélectivité intéressante, une biodisponibilité orale importante et une absence de toxicité permettant d'atteindre *in vivo* des taux compatibles avec ceux actifs *in vitro*^{53,54}. Aux doses efficaces (1 à 10 µM), ce composé n'a pas d'effet sur d'autres tyrosines kinases sauf sur deux autres récepteurs normaux (celui au facteur de croissance dérivé des plaquettes : PDGF et celui au facteur de croissance de la cellule souche : SCF). Il n'a pas non plus d'effet inhibiteur sur la croissance *in vitro* des progéniteurs normaux⁵⁴. Ce composé mérite un chapitre à part et sera discuté plus loin.

Les approches immunologiques (ou vaccination) sont basées sur deux observations : la LMC est la maladie où l'effet anti-leucémique du greffon allogénique est le plus important et où les cellules présentatrices professionnelles (cellules dendritiques) font partie du clone leucémique et expriment la protéine de fusion. Il est possible, *in vitro*, de générer des lignées T cytotoxiques spécifiques à partir de cellules dendritiques leucémiques⁵⁵, de cellules chargées en peptide jonctionnel Bcr-Abl⁵⁶ ou de cellules transduites avec une construction exprimant P210⁵⁷. Ces études ouvrent la porte à des essais de vaccination, soit dans un contexte autologue, soit en renforcement d'une greffe allogénique pour augmenter l'effet anti-leucémique. La vaccination autologue essaye de renverser un phénomène éventuel de tolérance à cette protéine, par ailleurs immunogène *in vitro*, chez les patients. Deux types de stratégies peuvent se concevoir : une immunothérapie adoptive au moyen de lignées de lymphocytes T générées *ex vivo* ou la vaccination directe par des cellules dendritiques leucémiques, chargées ou non en peptides. Il reste de nombreuses questions à résoudre comme le type de cellules dendritiques à utiliser, la

façon de les charger en antigènes, etc. Néanmoins, les premières études ont commencé, et démontrent la faisabilité de la procédure, son absence de toxicité et la présence d'une réponse T détectable chez certains patients. De nouveau, les années futures vont être cruciales pour définir la place de ce type d'approche dans la LMC.

LE STI-571 OU IMATINIB MESYLATE (GLIVEC®)

Depuis 3 à 4 ans, l'imatinib s'est imposé comme une des molécules les plus actives dans la LMC et comme la première thérapie du cancer basée sur la physiopathologie. En effet (Figure 2), il a la propriété, en se fixant au site de fixation de l'ATP à la protéine Abl, de bloquer la cascade de phosphorylations responsable de la maladie.



Diverses études⁵⁷⁻⁶³, allant de la phase I à la phase III, sont disponibles. Un point qui doit demeurer présent à l'esprit, surtout pour l'étude de phase III, est que le suivi médian des patients est de 19 mois, ce qui est relativement court dans ce type de maladie.

Les essais cliniques de phase I datent de 1998. Ces essais incluaient soit des patients en phase chronique, résistant ou réfractaires à l'interféron, soit des patients en crise blastique ou souffrant de leucémie aiguë lymphoblastique Bcr-Abl positive. Les résultats sont impressionnants. Pour les LMC en phase chronique réfractaire, près de 85 % des patients obtiennent une réponse hématologique complète (CHR), à des doses d'au moins 300 mg/j et près de 15 % une réponse cytogénétique complète (CyR). Cette étude nous montre, en particulier, que la dose de 300 mg/j est une dose minimale, en dessous de laquelle les réponses sont peu nombreuses. L'étude portant sur les crises blastiques et les leucémies aiguës démontre un taux de réponse hématologique de l'ordre de 60 %, ces réponses n'étant néanmoins pas durables.

A la suite de ces premières études, les premières phases II ont débuté. En phase chronique réfractaire à l'interféron, la dose était de 400 mg/j, en phase accélérée ou blastique, deux doses ont été utilisées 400 et 600 mg/j. Les résultats sont décrits dans le

Tableau 3 : Taux de réponses obtenus avec l'imatinib utilisé en seconde ligne.

	Phases chroniques résistantes	Accélération	Crise blastique
CHR	88 %	63 %	26 %
MCyR	60 %	24 %	14 %
- Complète	40 %	17 %	5 %
- Partielle	20 %	7 %	9 %
Progression	11 %	40 %	80 %

CHR : réponse hématologique complète ; MCyR : réponse cytogénétique majeure. Le taux de progression est évalué à 12 mois.

Tableau 3 (Figure 3).

Le taux de progression est défini comme le passage à une phase plus avancée pour les phases chroniques ou une perte de la réponse pour les autres. Ce taux de réponse est impressionnant, d'autant plus qu'il s'agit de patients sélectionnés dans le mauvais sens du terme (réfractaires ou avancés). Deux enseignements principaux peuvent en être tirés : pour les LMC en phase chronique avancée, il s'agit du meilleur taux de réponse obtenu jusqu'à présent. Pour les autres cas, le taux de réponse est tout aussi impressionnant, mais il est clair que la réponse est moins durable, et que l'imatinib doit dans ces cas être envisagé comme une solution d'attente, avant d'envisager soit une allogreffe, soit d'autres modalités thérapeutiques (combinaisons ou autres). Fait intéressant (Figure 4), dans les phases accélérées, la dose de 600 mg était nettement plus efficace, démontrant par là l'intérêt de doses plus élevées en cas de non-réponse.

Enfin, en décembre 2002, les premiers résultats d'une étude de phase III ont été rapportés⁶³. Cette étude compare, chez des patients nouvellement diagnostiqués et non éligibles pour une allogreffe d'emblée, l'imatinib à la combinaison de référence interféron + Ara-C²⁰. Un "cross-over" était possible en cas d'intolérance ou d'absence de réponse. Actuellement, les résultats rapportés le sont avec un suivi médian de 19 mois, ce qui doit toujours inciter à la prudence, si l'on envisage le long terme. Ils peuvent être résumés comme suit : l'étude porte sur 1.106 patients, bien équilibrés pour les différents facteurs pronostiques. L'imatinib était donné à la dose de 400 mg/j, avec la possibilité d'augmenter à 600. 12 % des patients dans le groupe imatinib sortent de l'étude (progression, non-réponse, violation de protocole, intolérance, greffe) contre 32 % dans le groupe interféron. Il faut noter que dans ce groupe, près de la moitié quitte le protocole volontairement, ayant probablement entendu parler d'une alternative thérapeutique présentée comme plus prometteuse. Un fait intéressant est à retenir : les "cross-over" pour intolérance ou absence de réponse, sont de l'ordre de 1 % dans le groupe imatinib contre 32 % dans le groupe interféron.

Les résultats, en termes d'efficacité, sont les suivants :

- réponses cytogénétiques complètes : 74 % pour l'imatinib contre 8 % dans le bras contrôle ;
- majeures mais non complètes : 11 % pour l'imatinib contre 14 % dans le bras contrôle.

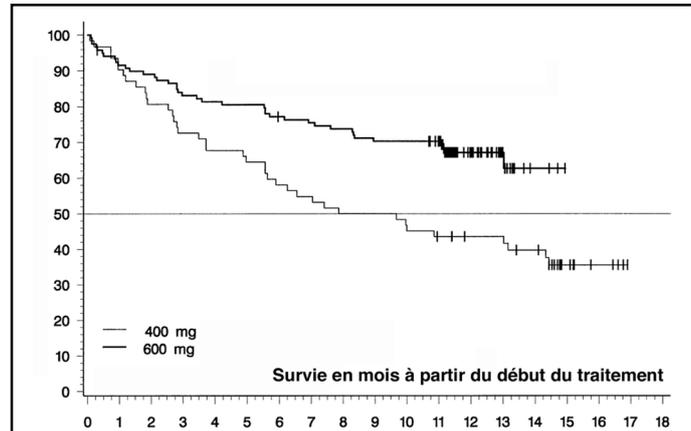


Figure 3 : Durée de la réponse des patients en phase accélérée de leur maladie et traités par imatinib, selon deux dosages. Ces courbes démontrent une bonne réponse initiale, mais qui ne dure pas au-delà d'un an pour la moitié environ des patients (modifié d'après Druker et al⁶¹).

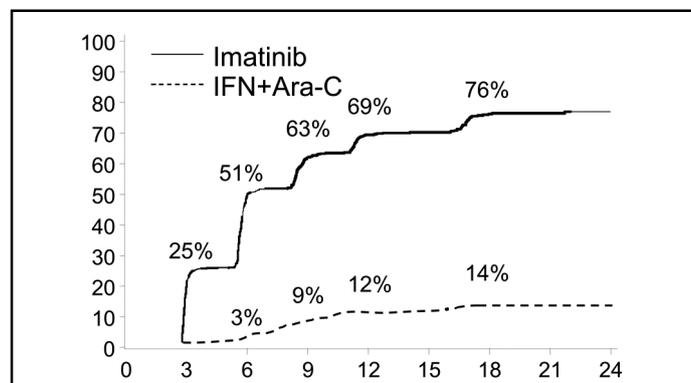


Figure 4 : Rapidité d'obtention d'une réponse cytogénétique, en fonction du bras thérapeutique : imatinib ou interféron + Ara-C (étude de phase III) (d'après Druker et al⁶¹).

Faits importants (Figure 4) : dans le groupe imatinib, 90 % du total des réponses hématologiques complètes (pour un total de 97 %) sont obtenus entre 3 et 6 mois contre un délai de 12 mois dans l'autre bras (67 % de 70 % au total). La majorité des réponses cytogénétiques majeures est obtenue après un an dans le premier groupe, dont les deux tiers à 6 mois, contre un délai d'attente minimal de 12 mois dans le bras interféron et Ara-C. En d'autres mots, et sans préjuger de la durabilité de ces réponses, l'imatinib est le premier médicament à produire autant de réponses cytogénétiques complètes dans la LMC dans un laps de temps aussi court (63 % à 6 mois).

Les effets secondaires : Si l'on ne tient pas compte des effets secondaires hématologiques, les toxicités de grade III à IV sont relativement peu fréquentes : il s'agit surtout de troubles digestifs (1 %), de crampes (1 %), de fatigue (1 %), d'arthralgies et myalgies (2-4 %), de céphalées (1-2 %) et d'éruption cutanées (1 %). Toutes toxicités confondues, les effets les plus fréquents sont les œdèmes péri-orbitaires (60 %), les troubles digestifs (50 %), les crampes et douleurs musculaires (30 %) et les rétentions liquidiennes (10 à 15 %). Le profil de toxicité de l'imatinib est donc extrêmement favorable. Il semble exister peu d'interactions médicamenteuses posant problèmes ; au début des études, quelques cas d'insuffisance hépatique fulminante ont été décrits chez des patients prenant concomitamment des doses trop élevées de paracétamol. La prudence est donc de mise en cas d'utilisation de ce médicament, même à des doses normales.

Les cytopénies, de grade III à IV surviennent chez environ 30 à 40 % des patients en phase chronique avancée. En effet, au fil du temps, l'hématopoïèse est principalement d'origine leucémique, la composante non leucémique, quiescente, se restreignant au fil de la maladie ; il est donc normal d'assister, chez les patients traités pour maladie réfractaire, à une cytopénie, en un premier temps, d'une durée inversement proportionnelle au résidu hématologique normal et au délai nécessaire pour une reconstitution hématologique non leucémique.

Durée de la réponse : pour rappel, le suivi médian est court (19 mois) et quelques années de plus nous apporteront des résultats plus fiables. Pour l'étude de phase III, la probabilité de survie sans progression à 18 mois est de 92 % dans le groupe imatinib contre 74 % dans le groupe interféron. A titre de comparaison, la survie sans progression de patients traités à l'hydroxyurée est de plus ou moins 50 % à 5 ans.

Mécanismes de résistance à l'imatinib : ils ont surtout été décrits dans les études de phase II où l'on rencontre le plus de patients résistants⁶⁴. Deux grandes formes de résistance se rencontrent : soit la maladie est à ce point avancée que de nouvelles anomalies génétiques ont rendu superflue l'activité de P210 pour la survie de la cellule leucémique (50 % des cas), soit des phénomènes de mutations au site de fixation de ce médicament ou des phénomènes de surexpression de Bcr-Abl rendent le patient résistant au traitement (50 % des cas). Ceci indique déjà différentes pistes pour l'avenir chez ce type de patients. Dans le premier cas, des combinaisons avec des traitements ne reposant pas sur le blocage de P210 sont à envisager : association avec l'interféron, l'Ara-C ou d'autres drogues, vaccinations, autogreffes. Dans le second cas, on peut envisager une augmentation de la dose et/ou l'association avec des drogues interférant avec les signaux secondaires activés par P210 (inhibiteurs de Ras, par exemple).

Enfin, signalons la description par plusieurs groupes d'anomalies cytogénétiques dans les cellules mé-

dullaires sans chromosome de Philadelphie de patients répondeurs complets à l'imatinib^{65,66}. Bien qu'il s'agisse jusqu'ici de patients ayant reçu au préalable d'autres traitements (qui pourraient avoir induit, dans des cellules jusqu'ici masquées par les cellules de LMC, ces anomalies), la prudence reste de mise et le suivi des patients ne peut reposer sur la seule technique de FISH. Une cytogénétique conventionnelle, effectuée sur un produit d'aspiration médullaire, reste un examen indispensable tous les 6 à 12 mois.

STRATEGIE THERAPEUTIQUE

Cette question est probablement la plus délicate dans cette maladie, qui est longtemps indolente et qui respecte une qualité de vie excellente pendant plusieurs années. C'est uniquement l'invariable survenue d'une phase blastique, entraînant une issue fatale à brève échéance qui justifie les tentatives de traitements précoces, y compris les plus dangereux. L'autre point important est que les traitements à visée curative doivent être entrepris en phase précoce pour garder toute leur efficacité. Ceci empêche de repousser une décision à risque jusqu'à un moment où la maladie donne des signes d'évolutivité. Tous ces facteurs font que la LMC est typiquement une maladie où les choix thérapeutiques doivent être discutés avec le patient, aussi parfaitement informé que possible. Enfin, notre raisonnement peut être biaisé si nous n'envisageons que la guérison : en effet, les traitements par interféron-alpha, quoi qu'augmentant de façon majeure la survie des patients répondeurs, n'entraînent que très rarement la guérison, au sens moléculaire du terme. Ceci est aussi vrai pour l'imatinib, mais avec un suivi beaucoup plus court. Dans la réflexion menée avec un patient, surtout s'il est plus âgé, la possibilité de vivre une dizaine d'années ou plus doit aussi être prise en compte, face à une greffe qui "guérit" mais dont le risque mortel est élevé.

Nous allons essayer de définir une stratégie de décision, basée sur les traitements établis depuis plusieurs années, à savoir la greffe de cellules souches et les traitements par interféron-alpha et Ara-C et l'impact plus récent, mais spectaculaire, de l'imatinib. La greffe classique, à partir d'un donneur apparenté, avec un greffon non manipulé, mène à un taux de guérison de l'ordre de 60 % pour des patients âgés de 45 ans ou moins. Pour raffiner cette approche, on peut utiliser le score proposé par l'EBMT décrit plus haut. Les patients avec un score de 5 ou plus ont une survie après greffe de moins de 20 % à 5 ans, alors qu'un score de 0 à 2 offre une survie allant de 62 à 70 %. Pour un patient avec un score de 0 à 1, la greffe d'emblée semble la meilleure option. Si le score est de 5 ou plus, la greffe n'est pas un bon premier choix et ne devrait être pratiquée qu'en cas de résistance cytogénétique aux autres traitements. Retenons enfin que ce score pourrait se modifier avec l'utilisation de nouvelles modalités d'allogreffe.

Un algorithme de décision ?

Les avancées thérapeutiques récentes rendent

difficile l'établissement d'un algorithme décisionnel dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique. Qu'y a-t-il de changé actuellement ? Tout d'abord, le nombre de réponses cytogénétiques majeures et/ou complètes a fortement augmenté avec l'imatinib. Par contre, la durabilité de ces réponses n'est pas établie, par manque de recul. D'autre part, la toxicité de l'allogreffe a fortement diminué depuis l'introduction des greffes à conditionnement non myéloablatif ; nous ne savons pas encore si leur efficacité sera comparable. Ensuite, il devient de plus en plus évident que greffer un patient avec un donneur familial haplo-identique n'est pas plus toxique qu'à partir d'un donneur non apparenté. Enfin, la nécessité de greffer tôt, bien établie avec les anciens traitements, n'est pas encore déterminée après un premier traitement par imatinib. La biologie moléculaire (le suivi par PCR), à la fois nous simplifie le suivi, mais nous apporte une source supplémentaire d'indécision : en effet, il devient possible de suivre un patient en rémission cytogénétique complète, et d'éventuellement changer d'attitude précocement quand on voit le nombre de transcrits Bcr-Abl augmenter ; d'autre part, elle introduit une nouvelle notion que nous ne savons pas encore utiliser : parmi les répondeurs cytogénétiques à l'imatinib (Figure 5), il en est qui ont une très bonne réponse moléculaire, d'autres qui restent juste sous le seuil de détection cytogénétique. Ces différences auront-elles un impact sur le devenir de ces patients ? Enfin, il faudra bientôt prendre en compte les données apportées par la technique des "micro-arrays" qui nous permettra peut-être de mieux prédire une évolution individuelle et la réponse à un traitement particulier.

Quelle attitude pratique adopter en 2003 sachant qu'elle se modifiera peut-être dans les années à venir. L'information au patient n'en est que plus importante étant donné l'impact de la décision.

Pour un patient en réponse cytogénétique majeure ou complète sous interféron, la sagesse conseille de ne pas modifier le traitement. Pour un nouveau

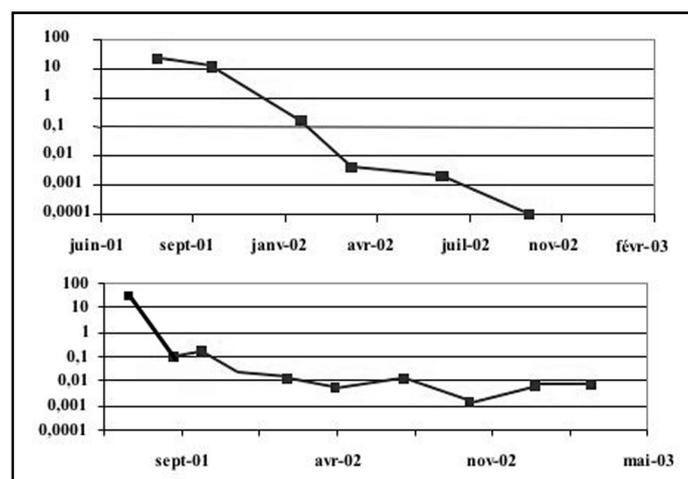


Figure 5 : Qualité de la réponse moléculaire à l'imatinib (en pourcentage de cellules leucémiques résiduelles). Cette courbe démontre la différence en qualité de la réponse moléculaire, chez deux répondeurs cytogénétiques à l'imatinib : le premier atteint le seuil de détection de la PCR (moins d'une cellule sur cent mille), le second conserve environ 0,1 % de cellules leucémiques, soit au moins 100 à 1.000 fois plus.

patient, jeune, avec un donneur apparenté, la question de la greffe d'emblée doit se poser ; néanmoins, une discussion approfondie avec le patient doit avoir lieu et il n'est pas déraisonnable de choisir une période d'essai d'imatinib, avec un suivi cytogénétique et moléculaire fréquent, et une réévaluation de la décision au bout d'un an en fonction de l'obtention d'une réponse cytogénétique complète ou non. Dans le cas d'un patient répondeur, il n'est pas non plus déraisonnable de continuer, tout en maintenant un suivi moléculaire et en étant prêt à changer d'attitude en cas de réaugmentation du taux de cellules leucémiques.

Pour des patients d'âge moyen (40 ans ?), un premier traitement par imatinib semble s'imposer. En cas d'échec, et s'il existe une possibilité d'allogreffe, celle-ci doit pouvoir être discutée. L'on devra également de plus en plus réfléchir aux modalités de cette greffe : classique, T-déplétée avec ajouts de lymphocytes à doses escaladées ou mini-transplant ?

Pour des patients plus âgés, un premier traitement par imatinib semble aussi une option satisfaisante. Mais en cas d'échec, avec l'augmentation des risques de l'allogreffe liée à l'âge, la réflexion doit porter sur un choix entre un éventuel mini-transplant et une association médicamenteuse. Cette stratégie pourrait s'appliquer à des patients âgés de 45 à 65 ans. Au-delà, il est clair que l'allogreffe devient extrêmement périlleuse et que la réflexion doit s'orienter vers une association médicamenteuse, en dehors ou dans une étude clinique randomisée, et vers des essais d'immunothérapie.

En phase accélérée, et *a fortiori* en crise blastique, l'imatinib est une solution d'attente, qui peut, en remettant en phase chronique, donner les quelques mois nécessaires à un autre choix stratégique : allogreffe haplo-identique, mini-transplant non apparenté, autogreffe, immunothérapie, etc.

Comme décrit plus haut, l'autogreffe pourrait retrouver une nouvelle jeunesse, pour les patients avec une durée d'évolution longue de leur maladie, non répondeurs à l'imatinib après l'échec d'autres traitements ou ceux en phase avancée de la maladie, trop âgés pour une greffe haplo-identique et ne disposant pas d'un donneur permettant un mini-transplant.

BIBLIOGRAPHIE

1. Deininger MW, Bose S, Gora J et al : Selective induction of leukemia-associated fusion genes by high-dose ionizing radiation. *Cancer Res* 1998 ; 58 : 421-9
2. Hagemeijer A : Chromosome abnormalities in CML. In : Goldman JM, eds. *Chronic myeloid leukaemia*, Bailliere's Clinical Haematology 1987 ; 963 : 892
3. Ben Neriah Y, Daley GO, Mes-Mason AM et al : The CML specific P210 protein is the product of the hybrid Bcr and Abl gene. *Science* 1986 ; 233 : 212-7
4. Pendergast AM, Quilliam LA, Cripe LD et al : Bcr-Abl induced oncogenesis is mediated by direct interaction with the SH2 domain of the GRB-2 adaptor protein. *Cell* 1993 ; 75 : 175-81

5. Puil L, Liu J, Gish G et al : Bcr-Abl oncoproteins bind directly to activators of the Ras signalling pathway. *EMBO J* 1994 ; 13 : 764-71
6. Afar DE, Goga A, McLaughlin J et al : Differential complementation of Bcr-Abl point mutants with c-Myc. *Science* 1994 ; 264 : 424-30
7. Melo : Insights into the molecular pathology of CML : targets for therapeutic strategies ? American Society of Hematology. Education Program Book 1999 : 143-52
8. Cortez D, Kadlec L, Pendergast AM : Structural and signaling requirements for Bcr-Abl-mediated transformation and inhibition of apoptosis. *Mol Cell Biol* 1995 ; 15 : 5531-8
9. Gordon MY, Dowding CR, Riley GD et al : Altered adhesive interactions with marrow stroma of haematopoietic progenitor cells in chronic myeloid leukaemia. *Nature* 1987 ; 328 : 342-8
10. Biernaux C, Loos M, Sels A et al : Detection of major Bcr-Abl gene expression at a very low level in blood cells of some healthy individuals. *Blood* 1995 ; 86 : 3118-25
11. Bose S, Deininger MV, Gora J et al : The presence of typical and atypical Bcr-Abl fusion genes in leukocytes of normal individuals : biologic significance and implications for the assessment of minimal residual disease. *Blood* 1998 ; 92 : 3362-9
12. Posthuma EF, Falkenburg JH, Apperley JF et al : HLA-B8 and HLA-A3 coexpressed with HLA-B8 are associated with a reduced risk of development of CML. *Blood* 1999 ; 93 : 3863-70
13. Sokal JE, Cox EB, Baccharani M et al : Prognostic discrimination in good-risk chronic granulocytic leukemia. *Blood* 1984 ; 63 : 789-97
14. Gratwohl A, Hermans J, Goldman JM et al : Risk assessment for patients with chronic myeloid leukaemia before allogeneic blood or marrow transplantation. Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Lancet* 1998 ; 352 : 1087-93
15. Hehlmann R, Heimpel H, Hasford J et al : Randomized comparison of busulfan and hydroxyurea in chronic myelogenous leukemia : prolongation of survival by hydroxyurea. *Blood* 1993 ; 82 : 398-409
16. Kantarjian HM, Smith TL, O'Brien S et al : Prolonged survival in chronic myelogenous leukemia after cytogenetic response to interferon-alpha therapy. *Ann Intern Med* 1995 ; 122 : 254-62
17. Allan NC, Richards SM, Shepherd PC : UK-MRC randomized, multicenter trial of interferon-alpha for CML : improved survival irrespective of cytogenetic response. *Lancet* 1995 ; 345 : 1392-9
18. Italian Cooperative Study Group on CML : Long-term follow-up of the Italian trial of interferon *versus* conventional chemotherapy in CML. *Blood* 1998 ; 92 : 1541-9
19. Chronic myeloid leukemia Trialists' Collaborative Group : Interferon alpha vs chemotherapy for CML : a meta-analysis of 7 randomized trials. *J Natl Cancer Inst* 1997 ; 89 : 1616-23
20. Guilhot F, Chastang C, Michallet M et al : Interferon alpha-2b combined with cytarabine *versus* interferon alone in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1997 ; 337 : 223-30
21. Kantarjian HM, Keating MJ, Estey EH et al : Treatment of advanced Philadelphia-positive CML with interferon-alpha and low-dose cytarabine. *J Clin Oncol* 1992 ; 10 : 772-9
22. Storb R, Deeg HJ, Whitehead J et al : Methotrexate and cyclosporine compared to cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft-*versus*-host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med* 1986 ; 314 : 729-38
23. Kolb HJ : Allogeneic stem cell transplantation for CML : Update of Results and New Strategies. American Society of Hematology. Education Program Book 1999 : 159-70
24. Sasazuki T, Juji T, Morishima Y et al : Effect of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from an unrelated donor. *N Engl J Med* 1998 ; 339 : 1177-85
25. Apperley, Mauro, Goldman et al : Bone marrow transplantation for CML in first chronic phase : importance of a graft-*versus*-leukemia effect. *Br J Haematol* 1998 ; 69 : 239-46
26. Ash RC, Horowitz MM, Gale RP et al : Bone marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings : effect of T cell depletion. *Bone Marrow Transplant* 1991 ; 7 : 443-9
27. Goldman, Apperley, Jones et al : Bone marrow transplantation for patients with chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1986 ; 314 : 202-9
28. Goldman JM, Gale RP, Horowitz MM et al : Bone marrow transplantation for CML in chronic phase : Increased risk of relapse associated with T-cell depletion. *Ann Intern Med* 1988 ; 108 : 806-12
29. Hansen JA, Gooley TA, Martin PJ et al : Bone marrow transplantation from unrelated donors for patients with chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1998 ; 338 : 962-71
30. van Rhee F, Szydlo RM, Hermans J et al : Long-term results after allogeneic bone marrow transplantation for CML in chronic phase : a report from the Chronic Leukemia Working Party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant* 1997 ; 20 : 553-63
31. Johnson BD, Drobyski WR, Truitt RL : Delayed infusion of normal donor cells after MHC-matched bone marrow transplantation provides an antileukemia reaction without graft-*versus*-host disease. *Bone Marrow Transplant* 1993 ; 11 : 329-37
32. Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM et al : Graft-*versus*-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood* 1995 ; 86 : 2041-50
33. Giralt S, Hester J, Huh Y et al : CD8-depleted donor lymphocyte infusion as treatment for relapsed CML after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1995 ; 86 : 4337-44
34. Dazzi F, Szydlo RM, Craddock C et al : Comparison of single-dose and escalating-dose regimens of donor lymphocyte infusion for relapse after allografting for CML. *Blood* 2000 ; 95 : 67-75
35. Mackinnon S, Papadopoulos EB, Carabasi MH et al : Adoptive immunotherapy evaluating escalating doses of donor leukocytes for relapse of CML after bone marrow transplantation : separation of graft-*versus*-leukemia responses from graft-*versus*-host disease. *Blood* 1995 ; 86 : 1261-70
36. Alyea EP, Soiffer RJ, Canning C et al : Toxicity and efficacy of defined doses of CD4+ donor lymphocytes for treatment of relapse after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1998 ; 91 : 3671-81
37. Goulmy E, Schipper R, Pool J et al : Mismatches of minor histocompatibility antigens between HLA-identical donors and recipients and the development of graft-*versus*-host disease after bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1996 ; 334 : 281-9
38. Faber LM, van Luxemburg SA, Veenhof WF et al : Generation of CD4+ cytotoxic T-lymphocyte clones from a patient with severe graft-*versus*-host disease after allogeneic bone marrow transplantation : implications for graft-*versus*-leukemia reactivity. *Blood* 1995 ; 86 : 2821-9
39. Slavin S, Nagler A, Naparstek E et al : Nonmyeloablative stem cell transplantation as an alternative to conventional bone marrow

transplantation with lethal cytoreductive treatment of malignant and non-malignant hematologic diseases.
Blood 1998 ; 91 : 756-64

40. McSweeney, Wagner, Maloney et al : Outpatient PBSC allografts using immunosuppression with low dose TBI before, and cyclosporin and mycophenolate mofetil after transplant.
Blood 1998 (Suppl 1) ; 92 : 519a
41. Childs R, Clave G, Contentin N et al : Engraftment kinetics after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation : full donor T-cell chimerism precedes alloimmune responses. Blood 1999 ; 94 : 3234-41
42. Aversa F, Tabilio A, Velardi A et al : Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype.
N Engl J Med 1998 ; 339 : 1186-93
43. Guinan EC, Boussiotis VA, Neuberg D et al : Transplantation of anergic histo-incompatible bone marrow allografts.
N Engl J Med 1999 ; 340 : 1704-9
44. Lewalle P, Triffet A, Delforge A et al : Donor lymphocyte infusions in adult haploidentical transplant : a dose finding study.
Bone Marrow Transplant 2003 ; 31 : 39-44
45. Khouri IF, Kantarjian HM, Talpaz M et al : Results with high-dose chemotherapy and unpurged autologous stem cell transplantation in 73 patients with CML.
Bone Marrow Transplant 1996 ; 17 : 775
46. Carella AM, Lerma E, Corsetti MT et al : Autografting with philadelphia chromosome-negative mobilized hematopoietic progenitor cells in chronic myelogenous leukemia.
Blood 1999 ; 93 : 1534
47. Lewalle P, Meuleman N, Verhest A et al : Infusion of peripheral blood stem cells collected at diagnosis, with maintenance of the treatment, resulted in Ph-negative recovery in a chronic myeloid leukaemia patient in persisting aplasia on STI-571 therapy.
Br J Haematol 2002 ; 118 : 144-6
48. Martiat P, Lewalle P, Taj AJ et al : Retrovirally transduced antisense sequences stably suppress P210 expression and inhibit the proliferation of Bcr-Abl cell lines. Blood 1993 ; 81 : 1502-11
49. Szczylik C, Skorski T, Nicolaides NC et al : Selective inhibition of leukemia cell proliferation by Bcr-Abl antisense oligodeoxynucleotides. Science 1991 ; 253 : 562-9
50. Emanuel, Sokol, Snyder et al : Growth inhibitory effects of a protein farnesyl-transferase inhibitor in juvenile myelomonocytic leukemia. Blood 1997 (Suppl 1) ; 92 : 567a
51. Levitzki A, Gazit A : Tyrosine kinase inhibition : an approach to drug development. Science 1995 ; 267 : 1782-90
52. le Coutre P, Mologni L, Clens L et al : *In vivo* eradication of human Bcr-Abl positive leukemia cells with an Abl kinase inhibitor. J Natl Cancer Inst 1999 ; 91 : 163-8
53. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E et al : Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. Nat Med 1996 ; 2 : 561
54. Deininger MW, Goldman JM, Lydon N et al : The tyrosine kinase inhibitor CGP57148B selectively inhibits the growth of Bcr-Abl positive cells. Blood 1997 ; 90 : 3691-700
55. Choudhury A, Gajewski JL, Liang JC et al : Use of leukemic dendritic cells for the generation of antileukemic cellular cytotoxicity against Philadelphia-positive CML.
Blood 1997 ; 89 : 1133-40
56. Bocchia M, Korontsvit T, Xu Q et al : Specific human cellular immunity to Bcr-Abl oncogene-derived peptides.
Blood 1996 ; 87 : 3587-96
57. ten Bosch GJ, Kessler JM, Joosten AM et al : A Bcr-Abl oncoprotein p210b2a2 fusion region sequence is recognized by HLA-DR2a restricted cytotoxic T lymphocytes and presented by HLA-DR matched cells transfected with an li b2a2 construct.
Blood 1999 ; 94 : 1038-44
58. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ et al : Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 2001 ; 344 : 1031-7
59. Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H et al : Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome.
N Engl J Med 2001 ; 344 : 1038-42
60. Kantarjian H, Sawyers C, Hochhaus A et al : Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. N Engl J Med 2002 ; 346 : 645-52
61. Talpaz M, Silver RT, Druker BJ et al : Imatinib induces durable hematologic and cytogenetic responses in patients with accelerated phase chronic myeloid leukemia : results of a phase 2 study. Blood 2002 ; 99 : 1928-37
62. Sawyers CL, Hochhaus A, Feldman E et al : Imatinib induces hematologic and cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis : results of a phase II study. Blood 2002 ; 99 : 3530-9
63. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA et al : Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia.
N Engl J Med 2003 ; 348 : 994-1004
64. Hochhaus A, Kreil S, Corbin AS et al : Molecular and chromosomal mechanisms of resistance to imatinib (STI571) therapy. Leukemia 2002 ; 16 : 2190-6
65. Meeus P, Demuyneck H, Martiat P et al : Sustained, clonal karyotype abnormalities in the Philadelphia chromosome negative cells of CML patients successfully treated with imatinib. Leukemia 2003 ; 17 : 465-7
66. Bumm T : Emergence of clonal cytogenetic abnormalities in Ph-cells in some CML patients in cytogenetic remission to imatinib but restoration of polyclonal hematopoiesis in the majority.
Blood 2003 ; 101 : 1941-9

Correspondance et tirés à part :

P. MARTIAT
Institut J. Bordet
Laboratoire d'Hématologie Expérimentale et Service
d'Hématologie
Boulevard de Waterloo 121
1000 Bruxelles

Travail reçu le 25 mars 2003 ; accepté dans sa version définitive le 29 septembre 2003.