

Année 2020

N°

**THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE
DOCTEUR EN MÉDECINE**

**Étude du paysage mutationnel des Syndromes Myélodysplasiques
et Leucémies Myélomonocytaires chroniques associées aux
Maladies Auto-Immunes et Systémiques**

Présentée et soutenue publiquement

le 7 octobre 2020

Par

Lin-Pierre Zhao

Né le 22 août 1990 à Paris

Sous la direction de M. Le Professeur Lionel Adès

Jury :

M. Le Professeur Olivier Hermine (PU- PH).....Président

M. Le Professeur Pierre Fenaux (PU-PH).....Membre

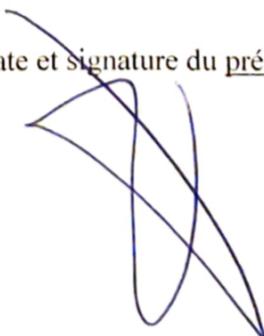
M. Le Professeur Olivier Fain (PU-PH)..... Membre

M. Le Professeur Nicolas Boissel (PU-PH)..... Membre

Date et signature du directeur de thèse :


Pr Lionel ADES
Hématologie Séniors
Hôpital Saint Louis
1, Av. Claude VELLEFAUX
75475 Paris cedex 10
Secrétariat Tél. : 01 71 20 70 18 ou 70 19
Fax : 01 71 20 70 17
N° FINESS 750100075

Date et signature du président de thèse :


Le 2/9/2020

Remerciements

A Monsieur le Professeur Olivier Hermine

Service d'Hématologie, Centre Hospitalo-Universitaire Necker, Paris

Merci de me faire l'honneur de présider mon Jury de thèse et veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect. Je vous suis très reconnaissant pour vos conseils, votre enseignement d'une vision très singulière de l'hématologie et la bienveillance dont vous avez fait preuve à mon égard depuis mon stage dans votre service.

A Monsieur le Professeur Lionel Adès

Service d'Hématologie séniors, Centre Hospitalo-Universitaire Saint-Louis, Paris

Merci d'avoir accepté de diriger ce travail. Je vous suis très reconnaissant pour votre encadrement, votre disponibilité constante, et votre initiation aux travaux universitaires. J'espère pouvoir encore longtemps bénéficier de votre accompagnement.

A Monsieur le Professeur Pierre Fenaux

Service d'Hématologie séniors, Centre Hospitalo-Universitaire Saint-Louis, Paris

Merci de me faire l'honneur de faire partie de mon jury de thèse et d'évaluer ce travail en tant qu'expert dans le domaine. Vos conseils et votre guidance depuis le début de mon internat ont toujours été d'une grande importance pour moi.

A Monsieur le Professeur Olivier Fain

Service de Médecine Interne, Centre Hospitalo-Universitaire Saint-Antoine, Paris

Merci de me faire l'honneur de juger mon travail de thèse, et d'y apporter votre grande expertise sur le sujet. Ayant longtemps hésité avec la médecine interne au début de l'internat, je suis très intéressé par ces sujets transversaux et espère travailler à nouveau ensemble dans le futur.

A Monsieur le Professeur Nicolas Boissel

Service d'Hématologie Adulte Jeunes et Adolescents (AJA), Centre Hospitalo-Universitaire Saint-Louis, Paris

Merci de me faire l'honneur de participer à mon jury de thèse, votre équipe et vous-même étant probablement à l'origine de mon choix pour l'hématologie, depuis mon passage dans votre service durant l'externat. Eussé-je choisi un autre stage, le chemin aurait peut-être été différent.

Aux différents chefs que j'ai rencontré depuis le début de mes études de médecine, et aux autres membres du personnel hospitalier, qui m'ont tant appris, motivé pour essayer de faire mieux, et à qui je n'ai peut-être pas toujours su témoigner directement ma gratitude. Je réalise leur profonde influence sur moi et leur en suis sincèrement reconnaissant.

Aux membres de l'équipe EMIly. Merci de m'avoir initié la recherche fondamentale, je suis très enthousiaste à l'idée de vous rejoindre au décours de l'internat, et suis persuadé que ces années à venir seront riches.

Aux co-internes en hématologie et des autres spécialités, à ces si bons moments ensembles, parfois tard dans la contrainte d'un stage prenant mais surtout en dehors, nos liens dépassent l'hôpital. Je suis curieux de voir ce que l'avenir nous réserve.

A mes amis historiques, une bouffée d'air et d'originalité. La médecine reste aussi passionnante à condition que l'on sache s'en extraire de temps à autre, grâce à vous.

Aux Michels, moins historiques mais tout aussi précieux. A nos tablées mémorables qui se perpétueront avec la nouvelle génération.

Enfin, avant tout, à mes parents, mon frère et ma sœur, pour leur présence et leur soutien indéfectible depuis le début, qui ont été une immense force pour moi.

Table des matières

Remerciements.....	2
Abréviations	6
Illustrations	7
I. INTRODUCTION	9
1. Les syndromes myélodysplasiques	9
a. Définition et épidémiologie	9
b. Étiologies et facteurs de risque	10
c. Physiopathologie des SMD/LMMC	12
d. Diagnostic	17
e. Pronostic	19
f. Traitement	21
2. Les Maladies Auto-Immune et Systémiques associées au SMD/LMMC	22
a. Spectre des manifestations cliniques des SIAD associés aux SMD	22
b. Les associations clinico-biologiques	24
c. Impact sur le pronostic	25
d. Physiopathologie de l'association entre SMD/LMMC et SIAD	26
e. Traitement	28
II. OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	31
III. PATIENTS ET METHODES.....	32
1. Cohorte de patients.....	32
2. Analyses mutationnelles	33
3. Analyses statistiques	34
IV. RESULTATS	36
1. Description comparative des cohortes	36
a. Description des SMD/LMMC	36
b. Description des SIAD	38
2. Analyses mutationnelles	41
3. Données de survie	46

V. DISCUSSION.....	49
1. Comparaison des cohortes et analyse des résultats	49
a. Analyse de la population SMD/LMMC	49
b. Analyse des SIAD	50
c. Analyses des données de survie	52
2. Analyses mutationnelles et apport dans la physiopathologie des SIAD associés aux SMD/LMMC	53
a. Analyse des anomalies moléculaires	53
b. Apport de nos résultats dans la compréhension de la physiopathologie des SMD/LMMC associés au SIAD	53
3. Perspectives : impact des mutations <i>TET2/IDH</i> sur le phénotype des lymphocytes T dans les SMD/LMMC associés au SIAD	57
Conclusion	59
Bibliographie.....	60
Résumé.....	68
Annexes.....	70

Abréviations

5hmC : 5-hydroxyméthylcytosine

AHAI : Anémie Hémolytique Auto-Immune

aHSCT : Allogreffe de Moelle Osseuse

CPSS : Chronic Myelomonocytic Leukemia Pronostic Scoring System

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

EB : Excès de Blastes

HMA : Agents Hypométhylants

IS : Immunosuppresseur

LAM : Leucémie Aiguë Myéloblastique

LMMC : Leucémie Myélomonocytaire Chronique

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin

MLD : Dysplasie Multilignée

NGS : Next Generation Sequencing

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OR : Odd Ratio

OS : Survie Globale

PFS : Survie Sans Progression

PTI : Purpura Thrombopénique Immunologique

R-IPSS : Revised International Pronostic Scoring System

RC : Réponse Complète

RP : Réponse Partielle

RS : Sidéroblastes en couronne

SIAD : Maladie Auto-Immune et Systémique

SLD : Dysplasie Unilignée

SMD : Syndrome Myélodysplasique

Th : T Helper

Treg : Lymphocyte T régulateur

VAF : Fréquence Allélique

WPSS : WHO Pronostic Scoring System

Illustrations

Figures :

Figure 1 : Incidence croissante des SMD/LMMC en fonction de l'âge dans un registre allemand (Neukirchen *et al.*, 2011)

Figure 2 : Modèle d'évolution clonal dans les SMD/LMMC (Sperling *et al.*, 2016)

Figure 3 : Physiopathologie des SMD/LMMC

Figure 4 : Signes de dysplasie médullaire sur les lignées érythroïde, mégacaryocytaire et granuleuse

Figure 5 : Évolution des classifications diagnostiques des SMD/LMMC (Zeidan *et al.*, 2019)

Figure 6 : SIAD associés aux SMD/LMMC (Koguchi-Yoshioka *et al.*, 2014 ; Hamidou *et al.*, 2001 ; Calistru *et al.*, 2011)

Figure 7 : Flow Chart des 2 cohortes de patients inclus

Figure 8 : Mutations récurrentes dans les cohortes SIAD (n=85) et témoins (n=319)

Figure 9 : (A) Forest plot des mutations somatiques pour les cohortes SIAD et témoin ; (B) Circos plot montrant les associations de gènes mutés de façon récurrente dans la cohorte SIAD

Figure 10 : (A) Survie globale (OS) et (B) survie sans progression (PFS) des patients dans les groupes témoin et SIAD

Figure 11 : (A) Survie globale (OS) et (B) survie sans progression (PFS) selon le statut mutationnel pour *TET2/IDH*, dans la cohorte SIAD

Figure 12 : (A) Survie globale (OS) et (B) survie sans progression (PFS) selon le statut mutationnel pour *SRSF2*, dans la cohorte SIAD

Figure 13 : Mécanisme d'action des enzymes TET2 et IDH1/2 et impact sur l'hématopoïèse (Wang *et al.*, 2015)

Figure 14 : Mécanisme physiopathologique hypothétique de l'implication des mutations dans les gènes *TET2*, *IDH* et *SRSF2* sur la genèse des hémopathies myéloïdes et des SIAD

Figure 15: (A) Répartition des sous populations lymphocytaires T et (B) étude de l'expression des récepteurs de checkpoint immun dans les lymphocytes T CD8+ selon le statut mutationnel T

Tableaux :

Tableau I : Chimiothérapies potentiellement inductrices de SMD/LMMC (d'après Adès *et al.*, 2014)

Tableau II : Syndromes génétiques prédisposant aux SMD (d'après Bannon et Dinardo, 2016)

Tableau III : Mutations récurrentes des SMD/LMMC (Adès *et al.*, 2014 ; Patnaik *et al.* 2018)

Tableau IV : Classification et critère des diagnostics OMS des SMD (Arber *et al.*, 2016)

Tableau V : Critères diagnostic OMS des LMMC (Arber *et al.*, 2016)

Tableau VI : Impact des SIAD sur la survie globale chez les patients porteurs de SMD/LMMC (Fozza *et al.*, 2019)

Tableau VII : Critères d'évolution des SMD/LMMC (selon Cheson *et al.*, 2006)

Tableau VIII : Liste des 80 gènes analysés en NGS dans les 2 cohortes

Tableau IX : Caractéristiques cliniques des SMD/LMMC

Tableau X : SIAD associés aux SMD/LMMC (n=85 patients, regroupant 104 SIAD)

Tableau XI : Régression logistique multivariée avec odd ratio en faveur de la présence d'un SIAD

Tableau XII : Caractéristiques des patients de la cohorte SIAD selon le statut mutationnel pour les gènes *TET2/IDH* et *SRSF2*

I. INTRODUCTION

1. Les syndromes myélodysplasiques

a. Définition et épidémiologie

Les Syndromes Myélodysplasiques (SMD) et la Leucémie Myélomonocytaire Chronique (LMMC) constituent un ensemble hétérogène d'hémopathies myéloïdes clonales, caractérisées par une hématopoïèse inefficace responsable de cytopénies et la présence de dysplasie, associées à un risque accru d'évolution en Leucémie Aiguë Myéloblastique (LAM).

Les SMD sont fréquents dans la population générale puisqu'on estime qu'il y a environ 4 nouveaux cas/100 000 habitants/an en Europe, tandis que les LMMC sont plus rares, avec une incidence annuelle de 4 nouveaux cas par millions d'habitants. La médiane d'âge au diagnostic des 2 hémopathies est similaire, et avoisine 70-75 ans.^{1,2} Le taux d'incidence est croissant avec l'âge des patients (**Figure 1**),³ et est en augmentation, coïncidant avec le vieillissement de la population et l'extension des méthodes diagnostiques.⁴ Il existe une légère prédominance chez l'homme, avec un ratio homme/femme aux alentours de 1.5, ainsi que dans la population caucasienne comparativement aux autres ethnies pour les SMD.^{5,6}

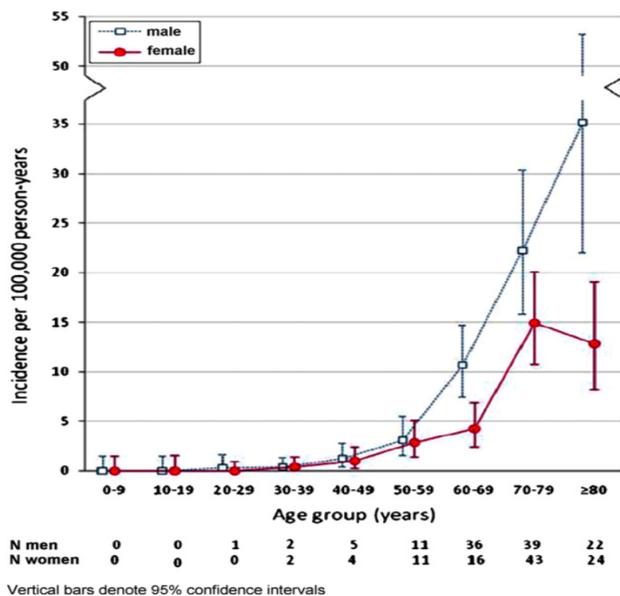


Figure 1 : Incidence croissante des SMD/LMMC en fonction de l'âge dans un registre allemand (Neukirchen *et al.*, 2011)

La classification actuelle de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) distingue différents groupes de SMD et les LMMC,⁷ dont les critères diagnostics dépendent du pourcentage de blastes médullaires, des cytopénies, la présence ou non de sidéroblastes en couronne (RS) et la dysplasie, soulignant l'hétérogénéité de ces hémopathies myéloïdes.

b. Étiologies et facteurs de risque

La grande majorité des cas de SMD/LMMC sont idiopathiques et surviennent *de novo*. Environ 10-15% des SMD sont secondaires à l'exposition à des produits myélotoxiques. Parmi les chimiothérapies pouvant induire des SMD, les agents alkylants, incluant le cyclophosphamide ou encore le melphalan, sont les premières dont la toxicité carcinogène a été rapportée.^{8,9} Ils induisent des cassures simples ou doubles brins dans l'ADN par liaison covalente, qui conduisent à l'apoptose cellulaire, et peuvent également recouvrir un potentiel oncogénique en cas de défaut de réparation de l'ADN.¹⁰ Le **Tableau I** résume les différentes chimiothérapies pouvant induire des hémopathies myéloïdes. Les SMD induits sont fréquemment associés à la présence d'anomalies cytogénétiques et moléculaires de mauvais pronostic (délétions ou perte des chromosomes 5 et 7, anomalies cytogénétiques complexes, mutations du facteur de transcription AML1/RUNX1, des gènes *RAS* et *TP53*).¹¹ Les patients porteurs de LMMC secondaires présentent quant à eux davantage d'anomalies cytogénétiques incluant notamment des caryotypes complexes et monosomaux, sans anomalies moléculaires spécifiques.¹²

Agents alkylants	Inhibiteurs de topo isomérase II	Analogues des purines
Busulfan	Daunorubicine	Fludarabine
Carboplatine	Doxorubicine	Analogues des purines
Carmustine	Etoposide	
Chlorambucil	Mitoxantrone	
Cisplatine	Razoxane	
Cyclophosphamide	Dactinomycine	
Dacarbazine		
Lomustine		
Melphalan		
Mitomycine C		

Tableau I : Chimiothérapies potentiellement inductrices de SMD/LMMC (d'après Adès *et al.*, 2014)

Par ailleurs, le suivi longitudinal de sujets exposés à des radiations ionisantes a montré une augmentation du taux d'incidence des SMD,¹³ également constaté chez les survivants de la bombe atomique à Nagasaki, avec des caractéristiques cytogénétiques et moléculaires spécifiques.^{14,15} D'autres facteurs environnementaux, tels que le benzène et autres solvants organiques et pesticides, ainsi que le tabagisme, ont également été rapportés comme facteurs favorisant le développement d'un SMD.¹⁶⁻¹⁸

Le **Tableau II** résume les syndromes génétiques prédisposant aux SMD, certains associés à d'autres atteintes hématologiques ou systémiques, incluant des syndromes polymalformatifs ou des anomalies cutanées et muqueuses.¹⁹

Syndromes	Gènes	Transmission
Familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancies (OMIM #601399)	RUNX1	AD
Thrombocytopenia-2 (OMIM #188000)	ANKRD26	AD
Familial AML with mutated DDX41 (OMIM #608170)	DDX41	AD
Thrombocytopenia-5 (OMIM #616216)	ETV6	AD
Familial MDS/AML with mutated GATA2 (OMIM #616216)	GATA2	AD
Familial aplastic anemia with SRP72 mutation (OMIM #614675)	SRP72	AD
Fanconi anemia (OMIM #227650)	FANC	AR, XL
Telomeropathies (dyskeratosis congenita) (OMIM #127550)	TERC, TERT, autres	AD, AR

Tableau II : Syndromes génétiques prédisposant aux SMD (d'après Bannon et Dinardo, 2016). AD : autosomique dominant ; AR : Autosomique Récessif ; XL : Lié au chromosome X.

Enfin, il a récemment été démontré que l'apparition de mutations somatiques dans le tissu hématopoïétique, dont l'incidence augmente également avec l'âge,²⁰ et désigné par le terme Hématopoïèse Clonale de Potentiel Indéterminé (CHIP), est associé à un risque accru de développement d'une hémopathie maligne. Ces mutations surviennent dans des gènes impliqués dans la régulation épigénétique, l'épissage des ARN messagers ou encore des facteurs de

transcription, les plus fréquentes étant les mutations dans les gènes *TET2*, *ASXL1*, *DNMT3a* et *TP53*.^{21,22}

Les premières grandes cohortes de patients avaient suggéré une association entre les CHIP et les maladies cardio-vasculaires,^{20,23} hypothèse ensuite confirmée dans un modèle murin montrant que les souris déficiente pour le gène *TET2* présentaient d'avantage d'athérosclérose.²⁴ Cette dernière étude démontrait pour la première fois une conséquence extra-hématologique de mutations dans le tissu hématopoïétique par le biais de l'inflammation.²⁴

c. Physiopathologie des SMD/LMMC

i. Les anomalies intrinsèques aux cellules SMD/LMMC

A partir d'un événement oncogénique survenant dans les Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH) initiatrices de SMD/LMMC,^{25,26} l'acquisition de nouvelles anomalies génétiques va promouvoir l'évolution clonale.

Les anomalies cytogénétiques sont observées dans près de 50% des patients SMD *de novo*, et dans 80% des cas secondaires. Les anomalies récurrentes concernent des délétions non aléatoires et suggèrent un mécanisme pathogénique basé sur la perte de gènes suppresseurs de tumeurs, ou une haplo-insuffisance de gènes régulateurs de l'hématopoïèse physiologique. Dans les SMD, elles incluent notamment le chromosome 7 (délétion 7q, monosomie 7) et le chromosome 5 (monosomie 5, délétion 5q). Dans les autres anomalies récurrentes, on retrouve la délétion 20q, la délétion 11q, la trisomie 8 et la perte du Y. Deux tiers des LMMC ont un caryotype normal, et les anomalies cytogénétiques les plus fréquemment observées concernent les anomalies du chromosome 7, la trisomie 8 et la délétion 20q.²⁷

Alors que les mutations somatiques chez les patients porteurs de CHIP sont généralement isolées et à un taux de fréquence allélique (VAF) faible, la génétique des SMD est plus complexe, et la plupart des patients ont plus de 2 gènes mutés avec des VAF plus élevées. Le **Tableau III** montre les gènes mutés de façon récurrente chez les patients SMD/LMMC. Ces mutations somatiques apparaissent dans des voies moléculaires impliquées dans la régulation épigénétique, des facteurs de transcription, de signalisation ou encore des anomalies du spliceosome.^{1,21}

L'avènement des techniques de séquençage à haut débit a permis de mettre en évidence des mutations récurrentes dans les SMD/LMMC, avec près de 80% des patients SMD présentant au moins une anomalie moléculaire.²⁸

Certaines associations de mutations sont fréquentes, tandis que d'autres sont exclusives, suggérant des mécanismes complémentaires de coopération en faveur de la survie et de l'expansion du clone. Ainsi, les mutations des différents gènes du spliceosome sont rarement présentes ensemble.²⁹ De la même façon, les mutations de *TET2* et les mutations des gènes *IDH1* ou *IDH2* sont mutuellement exclusives.³⁰ La mutation *SF3B1* est spécifique d'un sous-type des SMD avec RS et a récemment été proposée comme entité nosologique à part entière au sein du groupe des SMD.³¹

L'association des mutations *TET2* et *SRSF2* est fréquente et très spécifique des LMMC,³² tandis que les mutations de *TP53* sont rares.

Gènes	SMD	LMMC
<i>SF3B1</i>	15-30%	-
<i>TET2</i>	15-25%	60%
<i>ASXL1</i>	10-20%	40%
<i>RUNX1</i>	5-15%	15%
<i>TP53</i>	5-10%	1%
<i>DNMT3A</i>	5-10%	5%
<i>NRAS, KRAS</i>	5-10%	10-15%
<i>SRSF2</i>	5-10%	50%
<i>U2AF1</i>	5-10%	5-10%
<i>ZRSR2</i>	5%	5%
<i>EZH2</i>	3-7%	5%
<i>IDH1</i>	4-5%	1%
<i>IDH2</i>	4-5%	5-10%

Tableau III : Mutations récurrentes des SMD/LMMC (Adès et *al.*, 2014 ; Patnaik et *al.* 2018)

Les anomalies génétiques des SMD/LMMC entraînent une augmentation de la capacité d'auto-renouvellement des cellules clonales, leur conférant un avantage sélectif et prolifératif par rapport aux CSH non mutées. Les études sur cellules uniques et l'analyse des taux de VAF ont permis de mettre en place des modèles d'architecture clonale.³³ Ainsi, les mutations du spliceosome (*SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*) ainsi que les mutations dans les régulateurs épigénétiques *DNMT3A* et *TET2* apparaissent de façon précoce dans l'évolution des SMD, tandis que les mutations dans les facteurs de transcription *RUNX1* ou *GATA2* apparaissent plus tardivement.

Le modèle de leucémogénèse admis est basé sur l'acquisition de nouvelles anomalies génétiques conférant un avantage de prolifération, avec l'émergence de sous-clones en parallèle de l'évolution du SMD/LMMC, illustré sur le **Figure 2**. Ce phénomène est bien décrit dans les SMD 5q-. Des séquençages sur prélèvements médullaires séquentiels ont montré une stabilité du clone, corrélant avec une stabilité du phénotype clinique, puis la progression du SMD avec l'acquisition en parallèle de mutations notamment dans le gène *TP53*.³⁴

Il existe par ailleurs un biais de différenciation granulo-monocytaire dans les LMMC, associé à une hypersensibilité des progéniteurs au facteur de croissance GM-CSF, ce dernier étant responsable du caractère prolifératif et de l'hyperleucocytose.²

Il est à ce jour incertain si la dysplasie est la conséquence de l'acquisition d'une anomalie spécifique cytogénétique ou moléculaire, ou la résultante de la cumulation de plusieurs anomalies oncogéniques.

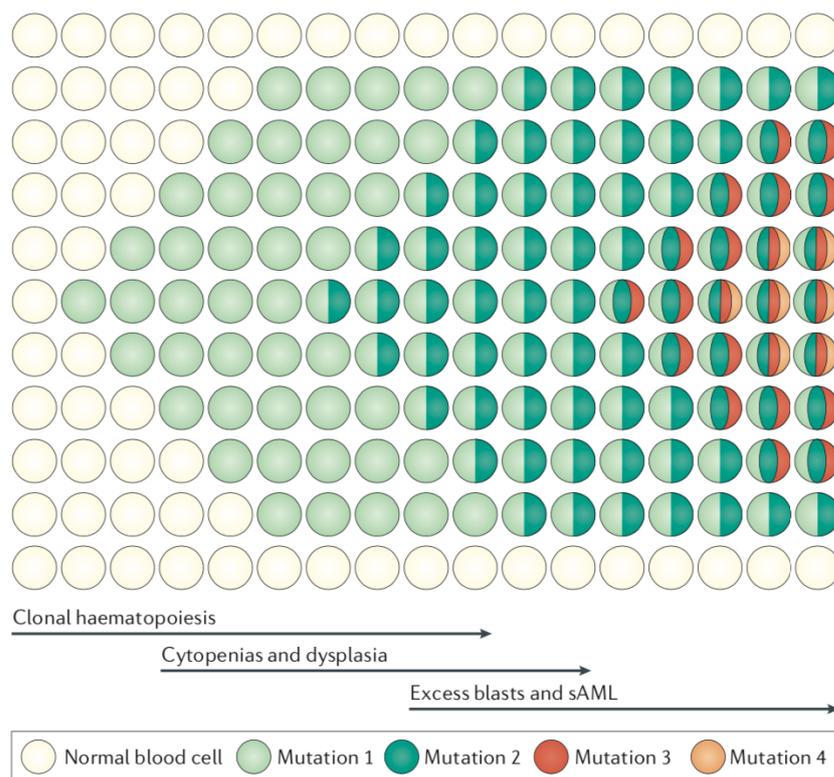


Figure 2 : Modèle d'évolution clonale dans les SMD/LMMC (Sperling *et al*, 2016). Les mutations précoces favorisent le renouvellement cellulaire, ainsi que l'expansion du clone muté et le développement d'une hématopoïèse clonale. L'acquisition secondaire de nouvelles mutations entraîne l'apparition de sous clone, et l'évolution vers une hémopathie constituée (SMD, LMMC, LAM).

L'hématopoïèse inefficace dans les SMD/LMMC résulte de la susceptibilité accrue des progéniteurs myéloïdes à l'apoptose, responsable de cytopénies malgré la présence d'une moelle de richesse normale. Les anomalies génétiques et cytogénétiques entraînent une activation de l'apoptose

par des mécanismes intrinsèques tels que les protéines de la famille BCL2³⁵, tandis que le microenvironnement tumoral est responsable de l'apoptose par le biais de facteurs extrinsèques tels que le TNF,³⁶ FAS³⁷ et autres cytokines myélosuppressives comme le TGF- β .³⁸

ii. Anomalies extrinsèques aux cellules SMD/LMMC

Rôle du microenvironnement

Le microenvironnement médullaire des SMD/LMMC comporte en particulier les cellules stromales mésenchymateuses, des cellules péri-vasculaires, des fibres nerveuses (cellules de Schwann), des macrophages ou encore des adipocytes, influant dans la maintenance de l'homéostasie hématopoïétique, et contrôlant la quiescence des CSH, leur prolifération et leur migration. Le rôle du microenvironnement dans la pathogénie de ces hémopathies était déjà suspectée il y a 40 ans, en observant l'inhibition *in vitro* du potentiel clonogénique des CSH en présence de cellules appartenant à l'environnement médullaire,³⁹ suggérant l'influence du microenvironnement tumoral dans la genèse des SMD/LMMC. En accord avec cette hypothèse, les biopsies ostéomédullaires de modèles murins de SMD montraient des anomalies anatomopathologiques, avec notamment des anomalies architecturales trabéculaires osseuses.⁴⁰ Enfin, les observations de patients ayant développé un SMD dérivé de cellules de donneur dans un contexte d'aHSCT constituaient un argument supplémentaire.⁴¹ L'impact du microenvironnement a été le mieux montré dans les modèles de souris transgéniques NHD13 présentant une hématopoïèse altérée et une macrocytose, évoluant vers la leucémie aiguë, et représentant ainsi un bon modèle de myélodysplasie. Dans cette étude, après transplantation de CSH de souris NHD13, il y avait une baisse du risque de transformation en leucémie et une amélioration de la survie chez les souris receveuses non mutées comparées aux souris receveuses NHD13, soulignant une fois de plus le rôle fondamental de l'environnement tumoral dans la progression du SMD.^{42,43}

Les différentes perturbations du microenvironnement dans les SMD/LMMC incluent notamment des anomalies phénotypiques et fonctionnelles des cellules mésenchymateuses avec un effet négatif sur l'hématopoïèse,⁴⁴ et une augmentation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et pro-apoptotiques (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TGF- β),⁴⁵ ainsi qu'une susceptibilité accrue à l'apoptose.⁴⁶

Dérégulations immunes

Les anomalies des cellules immunitaires rencontrées chez les patients SMD/LMMC concernent l'immunité adaptative et innée. D'une part, le compartiment lymphocytaire T est profondément impacté avec l'augmentation des populations Th17 pro-inflammatoires, participant à l'inhibition de l'hématopoïèse. Les populations T régulatrices (Treg) sont augmentées dans les SMD de haut risque, corrélant avec la progression de l'hémopathie favorisée par la baisse de l'immuno-surveillance anti-tumorale.^{47,48} D'autre part, les cellules myéloïdes suppressives ont également été retrouvées en nombre augmenté dans les SMD, corrélant avec des anomalies de la myélopoïèse.⁴⁹ Les lymphocytes Natural Killer montrent quant à eux des anomalies phénotypiques avec une baisse de l'expression des récepteurs activateurs, associées avec des défauts de cytotoxicité *in vitro*,⁵⁰ favorisant également la progression de l'hémopathie. Le rôle des macrophages, des cellules dendritiques et des lymphocytes B a été moins étudié dans les SMD/LMMC.

Ensemble, ces arguments plaident en faveur de la présence de connexions étroites entre les différentes cellules immunes, le microenvironnement médullaire et les cellules hématopoïétiques chez les patients SMD/LMMC, chacune participant à la genèse et l'évolution clonale des SMD/LMMC. La physiopathologie des SMD/LMMC est résumée dans la **Figure 3**.

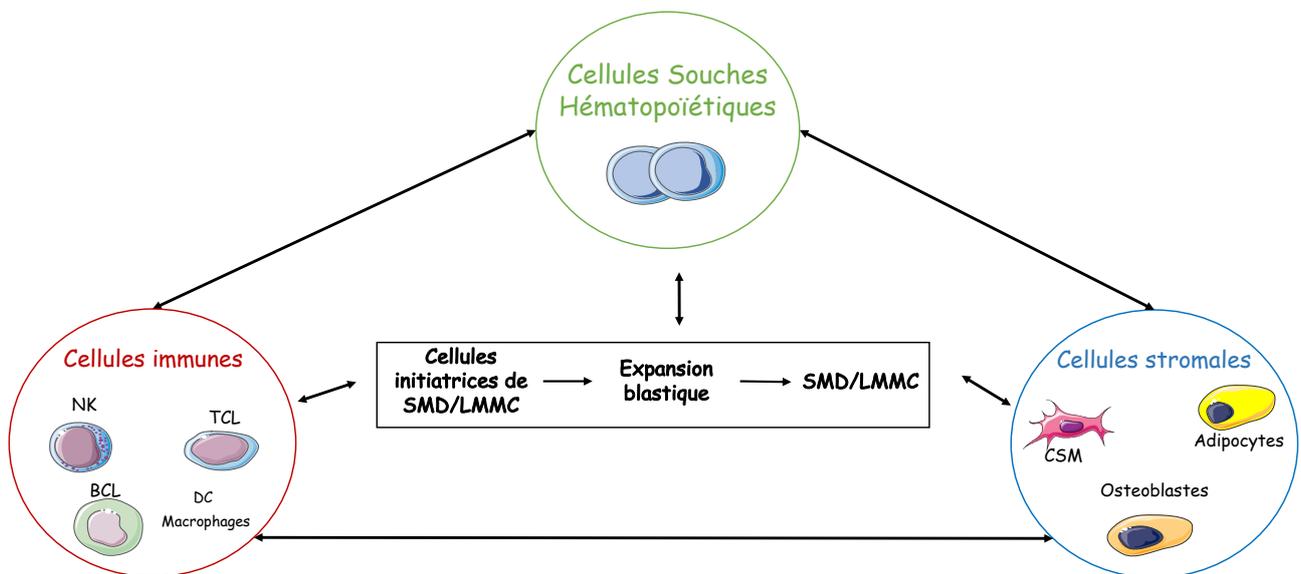


Figure 3 : Physiopathologie des SMD/LMMC. Les cellules immunes, les cellules souches hématopoïétiques ainsi que les cellules stromales interagissent avec les cellules initiateuses de l'hémopathie, favorisant l'expansion clonale et l'évolution vers un SMD/LMMC. TCL : lymphocytes T ; BCL : lymphocytes B ; NK : Cellules Natural Killer ; DC : Cellules Dendritiques ; CSM : Cellules Mésoenchymateuses Stromales

d. Diagnostic

Le diagnostic des SMD repose sur la présence de signes de dysplasie sur les lignées hématopoïétiques au frottis médullaire, illustrés sur la **Figure 4**, associés à des cytopénies à l'hémogramme, conséquences de l'hématopoïèse inefficace. Dans le cadre des LMMC, le diagnostic est posé devant la présence d'une monocytose (>10% des leucocytes, > 1G/L) persistante (> 3 mois) à l'hémogramme. La présence de dysplasie médullaire est inconstante, et la cytométrie en flux sur monocytes sanguins aide au diagnostic en montrant une augmentation de la fraction des monocytes classiques.⁵¹

Les cytopénies d'installation progressive sont le principal motif de consultation amenant au diagnostic de SMD/LMMC. L'anémie est responsable d'une asthénie, la thrombopénie expose au risque de saignement et la neutropénie au risque d'infection.

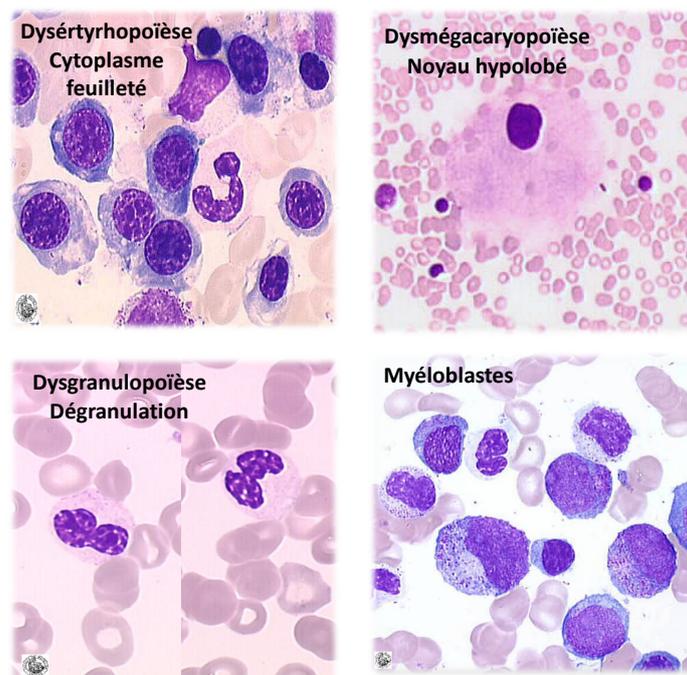


Figure 4 : Signes de dysplasie médullaire sur les lignées érythroïde, mégacaryocytaire et granuleuse

La dysplasie est évaluée sur un prélèvement médullaire. L'analyse cytologique du myélogramme associée à l'hémogramme reste donc le test de référence pour le diagnostic de SMD/LMMC. Des examens à visée diagnostique sur prélèvements sanguins ont été développés, dérivés de la cytologie ou de la cytométrie en flux, mais dont la sensibilité et la spécificité restent imparfaits et ne permettent donc pas de suppléer à l'évaluation médullaire.^{52,53} Enfin, le

myélogramme permet également d'effectuer les analyses cytogénétique et mutationnelle, affinant l'évaluation non seulement diagnostique mais également pronostique des SMD/LMMC.

La classification diagnostique initiale des SMD et LMMC, proposée en 1976 par le groupe coopérateur Français-Américain-Britannique, distinguait les anémies réfractaires avec excès de blastes et les LMMC. La **Figure 5** montre l'évolution des classifications diagnostiques des SMD/LMMC avec l'amélioration des outils diagnostics et la compréhension de leur pathogénèse

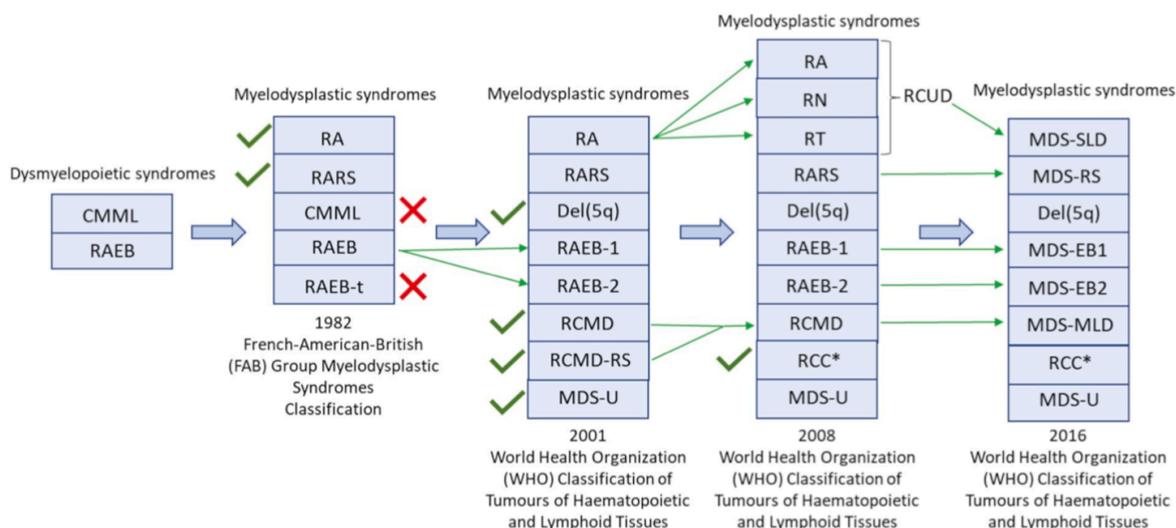


Figure 5 : Évolution des classifications diagnostiques des SMD/LMMC (Zeidan *et al.*, 2019)

Récemment mise à jour, la classification diagnostique de l'OMS distingue différents groupes de SMD et LMMC en fonction du pourcentage de blastes médullaires et périphériques, de la dysplasie médullaire, de la présence ou non de sidéroblastes et des anomalies cytogénétiques (**Tableau IV et V**).⁷

Name	Dysplastic lineages	Cytopenias*	Ring sideroblasts as % of marrow erythroid elements	BM and PB blasts	Cytogenetics by conventional karyotype analysis
MDS with single lineage dysplasia (MDS-SLD)	1	1 or 2	<15%/<5%†	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	Any, unless fulfills all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS with multilineage dysplasia (MDS-MLD)	2 or 3	1-3	<15%/<5%†	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	Any, unless fulfills all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS with ring sideroblasts (MDS-RS)					
MDS-RS with single lineage dysplasia (MDS-RS-SLD)	1	1 or 2	≥15%/≥5%†	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	Any, unless fulfills all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS-RS with multilineage dysplasia (MDS-RS-MLD)	2 or 3	1-3	≥15%/≥5%†	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	Any, unless fulfills all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS with isolated del(5q)	1-3	1-2	None or any	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	del(5q) alone or with 1 additional abnormality except -7 or del(7q)
MDS with excess blasts (MDS-EB)					
MDS-EB-1	0-3	1-3	None or any	BM 5%-9% or PB 2%-4%, no Auer rods	Any
MDS-EB-2	0-3	1-3	None or any	BM 10%-19% or PB 5%-19% or Auer rods	Any
MDS, unclassifiable (MDS-U)					
with 1% blood blasts	1-3	1-3	None or any	BM <5%, PB = 1%,‡ no Auer rods	Any
with single lineage dysplasia and pancytopenia	1	3	None or any	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	Any
based on defining cytogenetic abnormality	0	1-3	<15%§	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	MDS-defining abnormality
Refractory cytopenia of childhood	1-3	1-3	None	BM <5%, PB <2%	Any

*Cytopenias defined as: hemoglobin, <10 g/dL; platelet count, <100 × 10⁹/L; and absolute neutrophil count, <1.8 × 10⁹/L. Rarely, MDS may present with mild anemia or thrombocytopenia above these levels. PB monocytes must be <1 × 10⁹/L.

†If *SF3B1* mutation is present.

‡One percent PB blasts must be recorded on at least 2 separate occasions.

§Cases with ≥15% ring sideroblasts by definition have significant erythroid dysplasia, and are classified as MDS-RS-SLD.

Tableau IV : Classification et critères diagnostics OMS des SMD (Arber *et al.*, 2016)

CMML diagnostic criteria

- Persistent PB monocytosis ≥1 × 10⁹/L, with monocytes accounting for ≥10% of the WBC count
 - Not meeting WHO criteria for *BCR-ABL1*⁺ CML, PMF, PV, or ET*
 - No evidence of *PDGFRA*, *PDGFRB*, or *FGFR1* rearrangement or *PCM1-JAK2* (should be specifically excluded in cases with eosinophilia)
 - <20% blasts in the blood and BM†
 - Dysplasia in 1 or more myeloid lineages. If myelodysplasia is absent or minimal, the diagnosis of CMML may still be made if the other requirements are met and
 - An acquired clonal cytogenetic or molecular genetic abnormality is present in hemopoietic cells‡
- or
- The monocytosis (as previously defined) has persisted for at least 3 mo and
 - All other causes of monocytosis have been excluded

Tableau V : Critères diagnostics OMS des LMMC (Arber *et al.*, 2016)

e. Pronostic

L'évolution des SMD est lente dans la majorité des cas, associée à une aggravation progressive des cytopénies. Toutefois, environ 30% des patients vont présenter une évolution plus rapide avec une accumulation des blastes médullaires et une transformation en LAM. Différents

scores pronostics ont été proposés pour tenter d'identifier les patients SMD/LMMC à haut risque de progression.

L'International Pronostic Scoring System (IPSS), établi sur la survie globale (OS) et le risque de transformation en LAM, classe les patients SMD en 4 différents groupes pronostics, en fonction du pourcentage de blastes médullaires, du nombre de cytopénies ainsi que des anomalies caryotypiques,⁵⁴ et a été validé sur des cohortes externes.⁵⁵ Le score IPSS ne tient pas compte de l'évolution dynamique des SMD et n'inclue pas les LMMC prolifératives (leucocytes >12 G/L). Le Groupe Français des Myélodysplasies a étudié les facteurs pronostics de réponse du traitement par azacytidine (AZA) chez les patients IPSS haut risque.⁵⁶ En analyse multivariée, les facteurs pronostics étaient le performance status, la cytogénétique IPSS, la dépendance transfusionnelle et la présence ou non de blaste circulant. Ce score pronostic a été confirmé sur une cohorte de validation indépendante.⁵⁷ Afin d'affiner le score IPSS, les données de 7012 patients présentant un SMD ont été analysées afin d'établir le score IPSS révisé (R-IPSS) sur la base de 5 groupes pronostics, précisant en particulier les groupes cytogénétiques, la profondeur des cytopénies et le pourcentage de blastes médullaires (< ou =2, 3-4, 5-10, > 10%).⁵⁸

Le score Chronic Myelomonocytic Leukaemia Pronostic Scoring System, publié en 2011, établit des critères pronostics spécifiques aux LMMC.⁵⁹ En analyse multivariée, les principales variables associées à l'OS étaient la dépendance transfusionnelle, les anomalies cytogénétiques de mauvais pronostic et le caractère prolifératif.

D'autres paramètres biologiques, tels que la ferritine, le taux de LDH, la β 2 microglobuline, ou encore des paramètres et marqueurs en cytométrie de flux (forward/side scatter, CD13, CD33, CD45) ont également prouvé leur intérêt pronostic.⁶⁰

Enfin, Bejar *et al.* ont montré pour la première fois le pronostic négatif de la présence de mutations dans les gènes *TP53*, *EZH2*, *ETV6*, *RUNX1* et *ASXL1*.⁶¹ Plus récemment, Haferlach *et al.* se sont basés sur les données moléculaires de 944 patients pour établir un nouveau modèle pronostic avec l'incorporation de 14 gènes (*ASXL1*, *CBL*, *ETV6*, *EZH2*, *KRAS*, *LAMB4*, *NCOR2*, *NF1*, *NPM1*, *NRAS*, *PRPF8*, *RUNX1*, *TET2*, et *TP53*) et de données clinico-biologiques (âge, sexe, R-IPSS, cytopénies, pourcentage de blastes médullaires et anomalies cytogénétiques),⁶² soulignant le poids des anomalies moléculaires sur le pronostic des patients.

f. Traitement

Le traitement des SMD/LMMC est basé sur le pronostic de chaque patient. Ainsi, dans les hémopathies de bas risque, les objectifs principaux de traitement sont l'amélioration de la qualité de vie, la prévention des complications comme les saignements et les infections. La simple surveillance est une alternative raisonnable en l'absence de symptôme relatif à l'hémopathie. Pour le traitement de l'anémie, les options thérapeutiques reposent sur l'utilisation des agents stimulants l'érythropoïèse, ou encore le lenalidomide en particulier chez les patients présentant un SMD avec délétion 5q. Les agonistes du récepteur à la thrombopoïétine peuvent également être utilisés, toujours dans un objectif d'amélioration des cytopénies et de prévention du risque hémorragique.⁶³

L'objectif principal chez les patients à haut risque est de ralentir l'évolution vers une LAM et l'amélioration de la survie. Le traitement repose alors principalement sur l'utilisation des agents hypométhylants (HMA), incluant l'AZA, et l'Allogreffe de Moelle Osseuse (aHSCT), ayant démontré une amélioration de l'OS associée à une réduction du risque d'acutisation en LAM.⁶⁴

De nouvelles stratégies thérapeutiques intéressantes sont en cours de développement, incluant notamment les agents modulateurs de l'érythropoïèse (luspatercept, sotatercept),⁶⁵ les associations intégrant les HMA,⁶⁶ ou encore les agents modulateurs de TP53.⁶⁷

2. Les Maladies Auto-Immune et Systémiques associées au SMD/LMMC

Environ 20-25% des patients porteurs de SMD/LMMC présentent également des manifestations auto-immunes. À l'inverse, la présence d'une Maladie Auto-Immune et Systémique (SIAD) augmente le risque de SMD/LMMC.⁶⁸ Les liens physiopathologiques entre ces associations ne sont pas clairs à ce jour.

a. Spectre des manifestations cliniques des SIAD associés aux SMD

Le spectre des phénotypes cliniques des SIAD associés aux SMD/LMMC est très varié. Parmi les vascularites inflammatoires prédominent la maladie de Horton, les vascularites leucocytoclasiques, la péri-artérite noueuse et la maladie de Behçet.⁶⁹⁻⁷¹ Dans une étude récente rétrospective rapportant la plus grande série de vascularites associées à un SMD/LMMC (n=70), la maladie de Horton (24/70, 34%) et la maladie de Behçet (11/70, 20%) étaient les deux vascularites les plus fréquentes.⁷⁰ La combinaison d'un SMD/LMMC à une vascularite était associée à un risque accru de transformation en LAM, sans impact sur l'OS. La présentation de la maladie de Behçet est atypique, avec des critères diagnostics souvent incomplets justifiant le terme de « pseudo-Behçet ». L'atteinte digestive est fréquente, et souvent compliquée de perforations digestives, tandis que les pseudo-folliculites, l'atteinte neurologique et ophtalmologique sont peu représentées (**Figure 6A**).⁷² La péri-artérite noueuse, ainsi que les vascularites leucocytoclasiques sont également fréquentes.⁷³ Le pronostic de la péri-artérite noueuse associée aux SMD/LMMC reste sombre avec 7/8 décès dans la série d'Hamidou *et al.* et une atteinte rénale constante (**Figure 6B**).⁷⁴ Enfin, les vascularites à ANCA, les vascularites à IgA, les vascularites cryoglobulinémiques ou la maladie de Takayasu sont rarement rapportées comme étant associées aux SMD/LMMC.⁷⁵

Les arthropathies inflammatoires sont surtout représentées par la polyarthrite rhumatoïde et la pseudo-polyarthrite rhizomélique. Comparés aux patients SMD/LMMC sans SIAD, les patients atteints de syndrome RS3PE sont plus souvent corticodépendants.⁷⁶ Les arthropathies inflammatoires non classées représentent une fraction importante dans ce groupe de SIAD.

La polychondrite atrophiante est une pathologie rare, et environ 10% des cas sont associés à un SMD sous-jacent. La présentation clinique est classiquement représentée par des épisodes inflammatoires touchant les structures cartilagineuses, avec une évolution marquée par des rechutes fréquentes (**Figure 6C**).⁷⁷ Elle représente la majorité des cas de connectivites (~60%) associées aux SMD/LMMC, et la présentation clinique est similaire entre les patients ayant ou non une hémopathie

associée. Par ailleurs, les autres connectivites fréquemment rapportées regroupent le lupus érythémateux disséminé, le syndrome de Gougerot-Sjögren, et plus rarement, des sclérodermies systémiques.⁷⁸

Les atteintes cutanées inflammatoires liées aux SMD/LMMC associent d'une part des manifestations liées à la présence de cellules clonales dans les lésions cutanées, dénommées Myelodysplasia Cutis,⁷⁹ et d'autre part des manifestations cutanées satellites inflammatoires.⁸⁰ Parmi ces dernières, prédominent les dermatoses neutrophiliques, comprenant le syndrome de Sweet (**Figure 6D**), le pyoderma gangrenosum et l'érythema elevatum diutinum, histologiquement représentés par la présence d'infiltrats à neutrophiles sans cellule blastique. Les lésions cutanées peuvent précéder l'apparition du SMD/LMMC, avec notamment, l'apparition d'un infiltrat lymphocytaire T CD3⁺ prédictif de l'installation du syndrome de Sweet et de l'hémopathie.^{81,82} L'aspect histologique de l'érythema elevatum diutinum retrouve une vascularite leucocytoclasique avec infiltrat dermal composé de neutrophiles, dont la topographie prédomine au niveau des membres supérieurs, sous la forme de nodules symétriques à la face dorsale des mains. Enfin, le pyoderma gangrenosum correspond à des lésions ulcéreuses douloureuses, classiquement au niveau des membres inférieurs. Dans une revue récente de la littérature, les SMD/LMMC étaient la deuxième cause la plus fréquente de pyoderma associé à des hémopathies (n=103).⁸³

Enfin, les cytopénies auto-immunes, incluant le purpura thrombopénique immunologique (PTI) et l'anémie hémolytique auto-immune (AHAI), sont également plus rarement rapportées comme étant associées aux SMD/LMMC.

Une revue de la littérature systématique retrouve les vascularites (isolées ou systémiques) comme étant le SIAD le plus fréquemment associé aux SMD/LMMC (40%), suivi par les arthrites séronégatives (27%), et le syndrome de Sweet (10%).⁸⁴

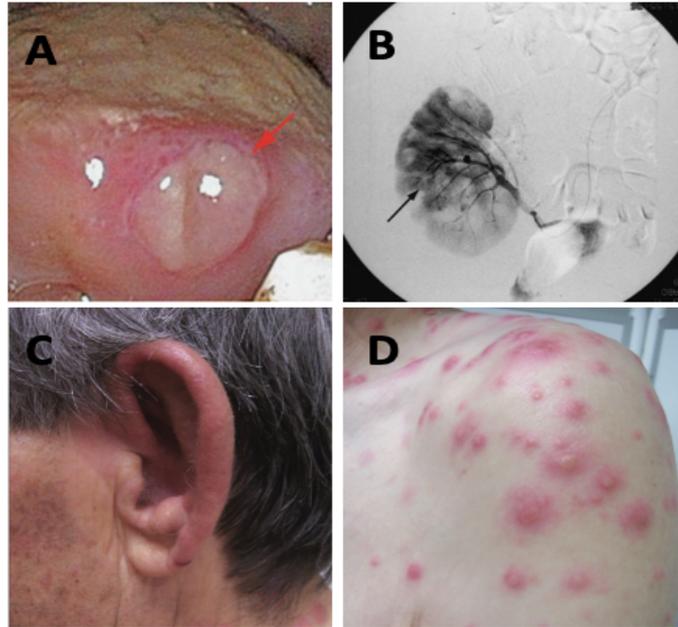


Figure 6 : SIAD associés aux SMD/LMMC (Koguchi-Yoshioka *et al.*, 2014 ; Hamidou *et al.*, 2001 ; Calistru *et al.*, 2011). (A) Aphte buccal chez un patient atteint de la maladie de Behçet (B) Artériographie montrant des micro anévrysmes chez un patient de 58 ans présentant une vascularite des vaisseaux de moyen calibre associé à une LMMC (C) Chondrite de l'oreille gauche et (D) Syndrome de Sweet chez un patient avec un diagnostic antérieur de SMD de bas risque

b. Les associations clinico-biologiques

Les patients porteurs de SMD/LMMC et de SIAD ont tendance à être plus jeunes que les patients SMD/LMMC sans SIAD, avec une médiane d'âge avoisinant 66 ans. La prédominance masculine dans les SMD/LMMC semble disparaître chez les patients présentant un SIAD associé.^{75,85}

Mékinian *et al.* ont montré une prévalence significativement plus basse des SMD RS chez les patients présentant des SMD/LMMC associés à des SIAD.⁷⁵ Par ailleurs, il existe une association entre les LMMC et les vascularites systémiques,^{73,75} et il est retrouvé de façon inconstante une association entre la présence d'une monosomie du chromosome 7 et la polychondrite atrophiante.⁸⁶ Les SMD avec délétion 5q ont été également associés aux dermatoses neutrophiliques, avec un impact négatif sur le pronostic de l'hémopathie.⁸⁷

Une association constamment rapportée dans la littérature est la présence d'une trisomie 8 et la maladie de Behçet,^{72,74,75,88} suggérant une physiopathologie commune. La trisomie 8 est associée à une expansion de lymphocytes cytotoxiques CD8⁺ avec un rôle potentiellement suppresseur de l'hématopoïèse, ainsi qu'à une surexpression de *WT1*, suggérant un rôle de cet antigène dans le déclenchement d'une réponse T médiée.^{89,90} La bonne réponse au traitement immunosuppresseur (IS) chez ces patients est en faveur de cet hypothèse.⁹¹ Par ailleurs, les analyses transcriptomiques faites

sur cellules CD34⁺ de patients SMD avec trisomie 8 révèlent une augmentation de l'expression de gènes pro-inflammatoires TGFβ, IL-1, IL-6, IL-7, également impliqués dans la pathogénie de la maladie de Behçet.⁹²

La temporalité de l'association SIAD et SMD/LMMC diffère elle selon les études, le diagnostic de SIAD étant établi dans un tiers des cas avant ou après le diagnostic de SMD/LMMC, ou encore de façon concomitante, avec un intervalle médian de 8 mois entre les 2 diagnostics.⁹³

Par ailleurs, un nombre non négligeable de SIAD présente des critères diagnostics incomplets. Ainsi, dans une étude rétrospective française multicentrique, 29 (24%) et 21 (17%) des patients avaient respectivement un SIAD inclassé,⁷⁵ suggérant des mécanismes de pathogénèse au moins partiellement différents comparés aux SIAD non associés aux SMD/LMMC.

Enfin, des anomalies biologiques telles que la présence d'anticorps (FAN, test direct à l'antiglobuline, sérologie anti-phospholipide, ANCA sans spécificité, anticorps anti tissus) et autres perturbations biologiques immunologiques (dysgammaglobulinémies) ont été retrouvées chez les patients SMD/LMMC porteurs de SIAD, sans expression clinique.^{94,95} Leur valeur prédictive et pronostique demeure incertaine.

c. Impact sur le pronostic

L'impact de l'association des SIAD avec les SMD/LMMC reste débattu. Certaines séries ont suggéré un effet négatif en raison d'un plus haut taux d'infection et de progression en LAM,^{96,97} tandis que d'autres ne retrouvent pas de différence d'OS ou de survie sans progression (PFS) entre les patients ayant ou non un SIAD associé à une hémopathie myéloïde (**Tableau VI**).^{75,85,94,98} Chez 123 patients SMD/LMMC avec SIAD récemment rapportés dans une étude multicentrique française, comparés à 665 patients témoins SMD/LMMC sans SIAD, les médianes de survie globale étaient de 72 et 75 mois respectivement ($p=0.02$), avec des taux de transformation également similaires.⁷⁸

Authors, year of publication	Patients	Patients with autoimmune manifestations	Type of study	Impact on survival
(Okamoto et al., 1997)	153	19 (12%)	retrospective	negative
(Zhao et al., 2002)	117	19 (16%)	retrospective	negative
(de Hollanda et al., 2011)	235	46 (20%)	retrospective	negative
(Lee et al., 2016)	201	67 (33%)	retrospective randomized	negative
(Montoro et al., 2018)	142	68 (48%)	retrospective	negative
(Giannouli et al., 2004)	70	13 (19%)	prospective	absent
(Marisavljević et al., 2006)	284	32 (11%)	retrospective	absent
(Mekinian et al., 2016)	788	123 (16%)	retrospective	absent
(Komrokji et al., 2016)	1408	391 (28%)	retrospective	positive
(Seguier et al., 2019)	801	88 (11%)	retrospective	positive

Tableau VI : Impact des SIAD sur la survie globale chez les patients porteurs de SMD/LMMC (Fozza *et al.*, 2019)

L'hétérogénéité des critères d'inclusion des SIAD dans ces études explique au moins partiellement les différences observées dans les résultats d'analyse de survie. Dans l'étude de Komrokji *et al.*, les patients présentant des dysthyroïdites avaient été inclus, et les analyses de survie, contradictoires avec les données préexistantes, rapportaient une médiane de survie de 60 mois dans la cohorte SMD/LMMC avec SIAD comparée à 45 mois dans le groupe sans SIAD ($p < 0,01$).⁸⁵

d. Physiopathologie de l'association entre SMD/LMMC et SIAD

i. Des arguments en faveur d'une imputabilité des SIAD dans la genèse des SMD/LMMC

La stimulation immunitaire chronique

Anderson *et al.* ont montré dans une étude cas témoins sur plus de 13000 sujets atteints d'hémopathies que la présence d'un SIAD préexistant était corrélée à un risque accru d'hémopathies myéloïdes, avec un odd ratio (OR) pour le SMD était de 1.5 $_{95\%IC}[1.35-1.66]$.⁶⁸ De la même manière, une étude épidémiologique réalisée en Suède montrait un risque accru de développer un SMD chez les patients ayant un antécédent de SIAD (OR=1.7, $_{95\%IC}[1.5-1.9]$) ou un antécédent d'infection (OR=1.3, $_{95\%IC}[1.1-1.5]$).⁹⁹ Enfin, une autre étude menée aux États-Unis a montré un risque accru de SMD en cas d'antécédent de SIAD de plus de 10 ans.¹⁰⁰ Ensemble, ces données suggèrent un rôle de l'inflammation et de la stimulation antigénique chronique dans la pathogenèse des SMD/LMMC.

Les traitements immunosuppresseurs inducteurs de SMD/LMMC

Les traitements IS utilisés dans les SIAD sont potentiellement inducteurs de SMD/LMMC, incluant notamment le cyclophosphamide, l'azathioprine et le méthotrexate.^{101,102}

Ainsi, dans une étude longitudinale avec un suivi de 7 ans chez des patients traités par cyclophosphamide pour une granulomatose avec polyangéite, Reinhold-Keller *et al.* ont rapporté les observations de 11/142 (8%) patients ayant développé des SMD, avec un effet dose cumulatif.¹⁰² De la même façon, Mc Carthy *et al.* ont publié les données de 8 patients ayant été traités pour un rhumatisme inflammatoire, avec un suivi médian de 7 ans, et ayant développé des SMD, présentant tous des anomalies cytogénétiques incluant les chromosomes 5 ou 7.¹⁰³ Le temps médian entre le début du traitement et le développement du SMD était de 8.3 ans [2-19]. Kwon *et al.* ont rapporté la toxicité de l'azathioprine chez 56 patients traités pour un SIAD ou dans le cadre d'une immunosuppression post-transplantation, et ayant développé un SMD ou un LAM secondaire. La durée médiane de traitement était de 5.4 ans, tandis que la dose médiane d'azathioprine reçue était de 146g [19-750]. Parmi ces 56 patients, une très grande majorité avait également des anomalies cytogénétiques spécifiques, du chromosome 7 (22/33, 66%) en particulier.

La réponse des SMD/LMMC aux traitements IS

Baumann *et al.* ont montré que la déplétion lymphocytaire T chez les patients porteurs de SMD restaure l'hématopoïèse *in vitro*,¹⁰⁴ suggérant le rôle suppresseur des lymphocytes T sur l'hématopoïèse. Enright *et al.* ont rapporté les observations de 30 patients porteurs de SIAD (dont 4/6 avec des vascularites inflammatoires) et de SMD/LMMC, dont 6 présentaient une réponse hématologique au traitement IS.⁹⁷ Ces traitements IS incluaient les stéroïdes, le cyclophosphamide, l'azathioprine, et la sulfasalazine. Dans le même sens, des traitements IS comme le sérum anti-lymphocytaire, la ciclosporine¹⁰⁵ ou encore l'alemtuzumab,¹⁰⁶ des molécules anti-lymphocytaire T, ont montré des réponses chez les patients porteurs de SMD, corrélées avec l'âge jeune des patients, la présence d'une moelle hypocellulaire, d'une trisomie 8 et la positivité de l'HLA-DR15. Ainsi, l'hématopoïèse inefficace ainsi que les cytopénies sont en partie secondaires à une activation immunitaire non contrôlée.

ii. Des arguments en faveur d'une imputabilité des SMD/LMMC dans la genèse des SIAD

Dérégulations immunes dans les SMD/LMMC

L'homéostasie lymphocytaire T est profondément perturbée chez les patients porteurs de SMD, particulièrement dans le compartiment T CD8⁺, avec une expansion des cellules effectrices CD8⁺ CD57⁺ CD28⁻ et un profil T helper (Th) 17 suggérant une réponse potentiellement auto-immune.¹⁰⁷ Il existe également une diminution paradoxale des lymphocytes Treg dans les SMD de faible risque, favorisant les mécanismes auto-immuns.⁴⁷ Enfin, une augmentation de la sécrétion de diverses cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-8, TNF α et le TGF) est fréquemment observée dans le SMD, nombreuses de ces cytokines jouant également un rôle dans la pathogenèse des SIAD.

Les cellules immunes appartenant au clone tumoral

L'analyse du TCR des lymphocytes de patients SMD montre un répertoire restreint oligoclonal. Par ailleurs, la présence de mutations somatiques dans les lymphocytes T triés de patients SMD, et autres cellules immunes chez les patients porteurs de CHIP,¹⁰⁸ viennent confirmer l'appartenance de certaines cellules immunes au clone tumoral.¹⁰⁹ Ces résultats viennent renforcer l'hypothèse selon laquelle les anomalies immunes rencontrées au cours des SMD peuvent être la conséquence d'une expansion clonale dans le compartiment lymphoïde, elles-mêmes entraînant des conséquences fonctionnelles qui, bien qu'inconnues à ce jour, pourraient favoriser la progression des SMD/LMMC et l'émergence des SIAD.

e. Traitement

La prise en charge des SIAD dans le contexte des SMD/LMMC est difficile et doit tenir compte des cytopénies sous-jacentes, des thérapies immunosuppressives potentiellement cytotoxiques et des risques accrus d'infection dans cette population déjà à haut risque septique. La première ligne de traitement IS reste la corticothérapie systémique. Cependant, de nombreuses observations rapportent le caractère corticodépendant à haute dose des SIAD dans le contexte d'association aux SMD/LMMC, nécessitant l'introduction d'un épargneur de corticoïde, potentiellement inducteur de cytopénies et augmentant le risque infectieux.^{71,73} Dans l'étude de Mékinian *et al.*, le traitement IS de première ligne permettait d'obtenir une réponse globale chez 92 (83%) patients, incluant 59 (52%) réponses complètes (RC) et 35 (31%) réponses partielles (RP).

Une seconde ligne de traitement avait été nécessaire pour corticodépendance à haut niveau ou rechute chez 53/111 (48%) patients. Au total, la rémission du SIAD était obtenue chez 59% des patients, et 21% des patients étaient restés corticodépendant. La réponse au traitement IS n'était pas associée à un sous-groupe diagnostique de SMD/LMMC. De façon notable, 41/61 patients (67%) avaient été hospitalisés pour un sepsis (grade ≥ 3).

Une autre étude française a rapporté l'efficacité et la tolérance de l'utilisation des agents IS dans une cohorte rétrospective de 29 patients atteints de SIAD associés aux SMD/LMMC.⁷¹ L'utilisation du rituximab était associée au taux de réponse sur le SIAD le plus élevé (66%) comparativement aux autres traitements, et à une meilleure réponse chez les patients présentant une vascularite inflammatoire. Vingt patients (70%) avaient présenté au cours du suivi une infection grade ≥ 3 , soulignant encore une fois la susceptibilité importante aux infections dans cette population de patients.

Dans ce contexte, de nombreuses observations ont montré l'effet positif de l'AZA sur l'hémopathie et le SIAD de façon concomitante.¹¹⁰⁻¹¹² Al Ustwani *et al.* ont rapporté l'observation d'un patient de 44 ans avec un diagnostic de lupus et une atteinte dermatologique et articulaire, développant un SMD avec excès de blastes.¹¹³ Un traitement par AZA avait permis une rémission des manifestations cutanées. De façon intéressante, l'évolution clinique du SIAD était corrélée à une baisse des CD4⁺ FOXP3⁺ T reg circulants, suggérant au moins un effet de l'AZA sur l'homéostasie cellulaire T. Dans l'étude de Mékinian *et al.*,⁷¹ 10 patients avaient été traités par AZA, ce qui avait permis une rémission chez 5/7 (71%) (n=3 non évaluables) et une baisse de la dose de corticothérapie quotidienne bien que non statistiquement significative. Dans cette étude, le nombre médian de lignes de traitement IS était de 4, et la corticodépendance, définie par une dose d'équivalent prednisone ≥ 20 mg/j, était la principale raison de changement de ligne d'IS, avec 67% des patients qui restaient corticodépendants malgré une première ligne d'IS. Enfin, plus récemment, Fraison *et al.* ont rapporté la plus grande série de patients à ce jour traités par HMA pour un SIAD dans un contexte de SMD/LMMC, permettant un RC et une RP chez 16/22 (73%) et 2/22 (14%) des patients respectivement, ainsi qu'une réduction significative de la dose journalière d'équivalent prednisone, soulignant une fois de plus l'efficacité de l'AZA sur l'hémopathie et le SIAD.¹¹⁴

Au total, les données actuelles montrent l'efficacité de la corticothérapie permettant chez la majorité des patients une rémission du SIAD à court terme. Une grande proportion des patients restera cependant corticodépendante à haute dose, faisant discuter le choix des IS comme épargneur

de corticoïdes, en tenant compte des cytopénies et du risque infectieux. Les études rétrospectives suggèrent une efficacité dans ce contexte des HMA. Très peu de données sont disponibles à ce jour concernant l'efficacité d'autres thérapies dirigées contre l'hémopathie (aHSCT, lenalidomide) sur le SIAD de façon concomitante.

II. OBJECTIFS DE L'ETUDE

Il n'y a à ce jour que très peu de données concernant le paysage mutationnel des SMD/LMMC associées aux SIAD. Ces éléments pourraient permettre de mettre en évidence des voies moléculaires impliquées dans la physiopathologie de l'association entre les SMD/LMMC d'une part, et les SIAD d'autre part.

L'objectif de cette étude était de :

- Comparer les anomalies moléculaires présentes chez les patients porteurs de SMD/LMMC et SIAD à une cohorte témoin de patients SMD/LMMC sans SIAD
- Mettre en évidence des voies moléculaires impliquées dans la pathogénie des SMD/LMMC avec SIAD
- Analyser l'impact du génotype sur le phénotype clinique

III. PATIENTS ET METHODES

1. Cohorte de patients

Cette étude unicentrique a été menée dans le service d'Hématologie Séniors de l'hôpital Saint-Louis à Paris (Pr Fenaux, Pr Adès). Les données des patients, cliniques et biologiques, ont été recueillies de façon rétrospective à partir de logiciels informatisés (MIDDLECARE, ORBIS, STARE, GLIMS). Les données manquantes ont été recueillies à partir des dossiers médicaux des patients et en contactant les médecins correspondants.

Nous avons recueilli les données des patients adressés en consultation entre janvier 2012 et décembre 2017 pour un SMD ou une LMMC. Les critères d'inclusion étaient :

- Diagnostic établi de SMD ou de LMMC selon les critères OMS 2016⁷ ;
- Analyse mutationnelle effectuée par séquençage haut débit Next Generation Sequencing (NGS).

La recherche des patients ayant un SIAD avait été conduite par extraction de données à partir de la cohorte totale de patient suivi durant cette période, en utilisant des mots clefs en référence au diagnostic des SIAD.

Les SIAD ont été classés selon des critères précédemment publiés.⁷⁸ En résumé, le diagnostic de SIAD a été porté sur des critères cliniques et biologiques internationaux (American Collège of Rheumatology criteria pour le diagnostic de Lupus érythémateux disséminé,¹¹⁵ Classification Chapel Hill pour les vascularites,¹¹⁶ Critères internationaux pour la Maladie de Behçet,¹¹⁷ Classification de l'American Collège of Rheumatology pour la Polyarthrite Rhumatoïde,¹¹⁸ critères revisités de Dermatose Neutrophilique.¹¹⁹ Le PTI était défini selon les critères diagnostics internationaux,¹²⁰ par la présence d'une thrombopénie < 100 G/L d'allure périphérique, avec une réponse (augmentation plaquettaire ≥ 50 G/L) à la corticothérapie systémique, aux immunoglobulines intraveineuses ou autres traitements IS. Le diagnostic d'AHAI reposait sur la présence d'une anémie avec des stigmates d'hémolyse et un test direct à l'antiglobuline positif.

Nous avons exclu les patients présentant des pathologies auto-immunes spécifiques d'organes, telles que les dysthyroïdies auto-immunes, le diabète auto-immun, les hépatites auto-immunes ou encore le vitiligo. Les SIAD étaient considérés comme « non classés » en cas de manifestations systémiques insuffisantes selon les critères diagnostics.

Les diagnostics de l'hémopathie et des SIAD étaient considérés concomitants si l'intervalle séparant les dates des diagnostics était inférieur à 6 mois, durée considérée nécessaire pour établir le diagnostic en consultation des SMD/LMMC et SIAD.

Concernant les traitements relatifs à l'hémopathie et au SIAD, les patients étaient considérés comme ayant reçu le traitement si ce dernier avait été administré pendant une durée ≥ 2 mois.

Les analyses cytologiques et cytogénétiques ont été effectuées dans le laboratoire d'Hématologie de l'hôpital Saint-Louis (Pr Soulier). Une coloration de Perls était effectuée pour tous les SMD avec un pourcentage de blaste $< 5\%$.

Les patients ont été classés selon le score pronostic R-IPSS,⁵⁸ les patients de faible risque étant définis comme R-IPSS « Very-Low » et « Low », tandis que les patients à haut risque étaient définis comme R-IPSS « Intermediate », « High » et « Very-High ».

L'évolution des SMD/LMMC a été établie selon les critères de l'International Working Group 2006,¹²¹ prenant en compte le pourcentage de blastes médullaires, et les cytopénies dans l'évolution des SMD/CMML (**Tableau VII**).

Category	Response criteria (responses must last at least 4 wk)
Disease progression	For patients with: Less than 5% blasts: $\geq 50\%$ increase in blasts to $> 5\%$ blasts 5%-10% blasts: $\geq 50\%$ increase to $> 10\%$ blasts 10%-20% blasts: $\geq 50\%$ increase to $> 20\%$ blasts 20%-30% blasts: $\geq 50\%$ increase to $> 30\%$ blasts Any of the following: At least 50% decrement from maximum remission/response in granulocytes or platelets Reduction in Hgb by ≥ 2 g/dL Transfusion dependence
Survival	Endpoints: Overall: death from any cause Event free: failure or death from any cause PFS: disease progression or death from MDS DFS: time to relapse Cause-specific death: death related to MDS

Tableau VII : Critères d'évolution des SMD/LMMC (selon Cheson et al., 2006)

2. Analyses mutationnelles

Les analyses mutationnelles ont été effectuées dans les laboratoires d'Hématologie de l'hôpital Saint-Louis, Paris (Pr Soulier) et du Centre Hospitalier Universitaire de Lille (Pr Preudhomme). Les cellules mononuclées médullaires ou de sanguines ont été isolées par gradient Ficoll et cryopréservées jusqu'à extraction de l'ADN. Un séquençage ciblé a été réalisé sur échantillons sanguins ou médullaires, utilisant un panel de 80 gènes mutés de façon récurrente dans

les SMD/LMMC (**Tableau VIII**), et analysé par NGS (Illumina, San Diego, CA, USA). Les bibliothèques ont été préparées à partir de 200ng d'ADN en utilisant des sondes pour la capture des toutes les séquences codantes (SureSelect, Agilent, Santa Clara, CA, USA). Les données moléculaires ont été analysées selon un algorithme interne, qui permettait de sélectionner les mutations à forte probabilité de pathogénie, en éliminant les possibles variants et polymorphismes non pathogéniques.

Gènes analysés en NGS			
<i>ASXL1</i>	<i>DDX41</i>	<i>KMT2A/MLL</i>	<i>RPL5</i>
<i>ASXL2</i>	<i>DKC1</i>	<i>KMT2D/MLL2</i>	<i>RTEL1</i>
<i>ATM</i>	<i>DNAJC21</i>	<i>KRAS</i>	<i>RUNX1</i>
<i>ATRX</i>	<i>DNMT3A</i>	<i>LIG4</i>	<i>SAMD9</i>
<i>BCOR</i>	<i>EP300</i>	<i>MDM4</i>	<i>SAMD9L</i>
<i>BCORL1</i>	<i>ERCC6L2</i>	<i>MECOM</i>	<i>SBDS</i>
<i>BRAF</i>	<i>ETNK1</i>	<i>MPL</i>	<i>SETBP1</i>
<i>BRCA1</i>	<i>ETV6</i>	<i>MYC</i>	<i>SF1</i>
<i>BRCA2</i>	<i>EZH2</i>	<i>NF1</i>	<i>SF3B1</i>
<i>BRCC3</i>	<i>FLT3</i>	<i>NPM1</i>	<i>SMC1A</i>
<i>CALR</i>	<i>GATA2</i>	<i>NRAS</i>	<i>SMC3</i>
<i>CBL</i>	<i>GSKIP</i>	<i>PARN</i>	<i>SRP72</i>
<i>CDAN1</i>	<i>HRAS</i>	<i>PHF6</i>	<i>SRSF2</i>
<i>CEBPA</i>	<i>IDH1</i>	<i>PPM1D</i>	<i>STAG2</i>
<i>CHEK2</i>	<i>IDH2</i>	<i>PRPF8</i>	<i>TET2</i>
<i>CREBBP</i>	<i>IRF1</i>	<i>PTEN</i>	<i>TP53</i>
<i>CSF3R</i>	<i>JAK2</i>	<i>PTPN11</i>	<i>U2AF1</i>
<i>CTC1</i>	<i>KDM5A</i>	<i>RAD21</i>	<i>U2AF2</i>
<i>CTCF</i>	<i>KDM6A</i>	<i>RIT1</i>	<i>WT1</i>
<i>CUX1</i>	<i>KIT</i>	<i>RPL11</i>	<i>ZRSR2</i>

Tableau VIII : Liste des 80 gènes analysés en NGS dans les 2 cohortes

3. Analyses statistiques

Les données descriptives sont décrites en médianes avec leur intervalle interquartile concernant les variables continues, et en nombres avec leur pourcentage correspondant pour les variables catégorielles. L'analyse des données a été effectuée par le test du χ^2 et le test exact de

Fisher en fonction des effectifs, ou le test t de Student pour comparer les variables catégorielles ou continues respectivement. Le test de Mann-Whitney a été utilisé pour comparer les données continues non paramétriques. Une analyse par régression logistique univariée a été utilisée pour identifier les variables associées à la présence de SIAD, qui ont été ensuite incluses dans un modèle multivarié.

Concernant les analyses de survie, tous les événements ont été obtenus à partir de la date du diagnostic de SMD/LMMC. L'OS a pris en compte les décès et les patients perdus de vue, et la Survie Sans Progression (PFS) a été calculée en fonction des critères de progression selon l'IWG 2006¹²¹, en considérant le décès comme un événement compétitif, utilisant la méthode de Kaplan Meier et le test du Log Rank pour comparaison. Les patients étaient censurés à la date de l'aHSCT.

Une valeur de $p < 5\%$ était considérée comme significative. L'analyse ainsi que la représentation des données ont été effectuées avec l'aide des logiciels R v3.6.1, GraphPad Prism v8.2.0, Circos.ca (version en ligne) et Cbioportal (version en ligne).

IV. RESULTATS

Entre Janvier 2012 et Décembre 2017, un total de 404 patients porteurs de SMD/LMMC ayant bénéficié d'un NGS ont été inclus dans l'étude. Parmi eux, 85/404 (21%) étaient également porteurs de SIAD et ont été inclus dans la cohorte « SIAD ». Les autres, 319/404 (79%), constituaient la cohorte « témoin ». La **Figure 7** montre le Flow Chart des patients inclus dans l'analyse finale.

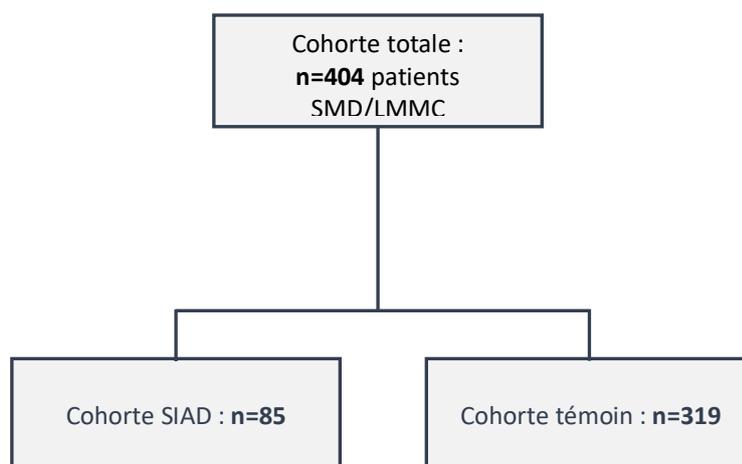


Figure 7 : Flow Chart des 2 cohortes de patients inclus

1. Description comparative des cohortes

a. Description des SMD/LMMC

Le **Tableau IX** reprend les caractéristiques générales des SMD/LMMC au diagnostic. L'âge médian au diagnostic était de 71.4 ans [66.0-80.7] et 72.5 ans [65.5-79.1] et dans les cohortes SIAD et témoin respectivement. Les deux cohortes étaient semblables pour les cytopénies au diagnostic des SMD/LMMC, à l'exception du taux de neutrophiles qui étaient significativement plus élevé dans la cohorte SIAD ($p=0.02$), avec une médiane de 3.4 G/L [1.7-5.2] et de 3.2 G/L [1.3-3.9] dans le groupe SIAD et témoin respectivement.

Le pourcentage moyen de blastes médullaires au diagnostic était significativement plus bas dans le groupe SIAD (3% comparé à 5%, $p<0.01$). Il existait par ailleurs une tendance non significative à une surreprésentation des SMD avec dysplasie uni ou multilignée dans la cohorte

SIAD (36/85, 42% contre 98/319, 31% ; $p=0.05$), et davantage de patients présentant un SMD RS dans la cohorte témoin (37/319 (12%) contre 4/85 (5%), $p=0.07$). La prévalence des LMMC était similaire dans les 2 groupes (20/85 (24%) dans la cohorte SIAD et 61/319 (19%) dans la cohorte témoin ($p=0.36$).

Quarante-sept patients (55%) dans la cohorte SIAD avaient des SMD/LMMC de faible risque comparé à 126/319 (39%) patients dans la cohorte témoin ($p<0.01$). La majorité des patients dans les deux cohortes avaient des caryotypes normaux (51/85 (60%) dans le groupe SIAD et 181/319 (57%) dans le groupe témoin, $p=0.90$), et le nombre médian d'anomalies cytogénétiques dans les deux cohortes étaient de 1 [0-2]. Par ailleurs, les anomalies cytogénétiques touchant le chromosome 5, le chromosome 7, et le nombre de patients ayant un caryotype complexe ou monosomal étaient similaires entre les 2 cohortes.

Enfin, à la date des dernières nouvelles, le nombre médian de lignes de traitement était de 1 [0-1] et 1 [0-2], et 29/85 (34%) patients et 103/319 (32%) patients avaient reçu des HMA dans les cohortes SIAD et témoin respectivement.

Variables	Cohorte SIAD (n=85)	Cohorte Témoin (n=319)	p value
Age au diagnostic SMD/LMMC	71.4 [66.0-80.7]	72.5 [65.5-79.1]	
% Femme	45.00%	45.00%	
Hémogramme (au diagnostic)			
Hémoglobine	10.6 [9.1-12.3]	10.6 [9.0-12.2]	
VGM	92 [85-101]	94 [87.2-101.0]	
Plaquettes	116 [67-219]	132 [63-234]	
Leucocytes	5.3 [3.2-8.1]	5.9 [2.9-6.7]	
Neutrophiles	3.4 [1.7-5.2]	3.2 [1.3-3.9]	0.02
Myélogramme			
SLD/MLD	36 (42%)	98 (31%)	0.05
Sidéroblastes en couronne	4 (5%)	37 (12%)	0.07
EB1	13 (15%)	45 (14%)	
EB2	4 (5%)	36 (11%)	
LMMC	20 (24%)	61 (19%)	
Autres SMD/SMP	3 (4%)	6 (2%)	
5q	3 (4%)	18 (6%)	
Non classés	2 (2%)	18 (6%)	
Blastes médullaires (%)	3 [1-5]	3 [2-7]	<0.01
IPSS-R			
	(n=1 manquant)	(n=16 manquant)	
Very Low	12 (14%)	25 (8%)	

Low	35 (41%)	101 (32%)	
Int	26 (31%)	138 (43%)	0.02
High	10 (12%)	30 (9%)	
Very High	1 (1%)	9 (3%)	
Score	3 [2-4]	3.5 [2.5-4]	
Caryotype	(n=1 manquant)	(n=16 manquant)	
Normal	51 (60%)	181 (57%)	
Complexe	5 (6%)	21 (7%)	
Monosomal	3 (4%)	16 (5%)	
Anomalies 5	12 (14%)	40 (13%)	
Anomalies 7	5 (6%)	25 (8%)	
Trisomie 8	9 (11%)	25 (8%)	
Nombre d'anomalies	1 [1-2]	1 [1-2]	
Traitements			
Nombre de ligne de traitement	1 [0-1]	1 [0-2]	
HMA	29 (34%)	103 (32%)	
IMiD	7 (8%)	48 (15%)	
Évolution			
aHSCT	4 (5%)	23 (7%)	
Évolution (IWG 2006)	16 (19%)	70 (22%)	
Suivi (mois)	30.9 [18.6-48.5]	31.7 [15.1-50.8]	
Décès	21 (25%)	79 (25%)	

Tableau IX : Caractéristiques cliniques des SMD/LMMC. Les valeurs représentent des médianes avec les intervalles interquartiles ou le nombre (%). SMD: Syndromes Myélodysplasiques; LMMC: Leucémie Myéloïde Chronique; SIAD: Maladie Systémique Inflammatoire ou Auto-Immune; Hb: Hémoglobine; VGM: Volume Globulaire Moyen; SLD: Dysplasie Unilignée; MLD: Dysplasie Multilignée; EB1: Excès de blastes type 1; EB2: Excès de blastes type 2; IPSS-R: International Prognosis Scoring System révisé; HMA: Agents Hypométhylants; IMiD: Agents immunomodulateurs Imid; aHSCT: Allogreffe de Moelle Osseuse

b. Description des SIAD

Les diagnostics des SIAD sont représentés dans **le Tableau X**. Parmi les 85 patients de la cohorte SIAD, 18/85 (21%) avaient au moins deux SIAD. Au total, 104 SIAD ont été classés dans les groupes arthropathies inflammatoires (n=35, 34%), vascularites systémiques (n=20, 19%), cytopénies auto-immunes (n=15, 15%), connectivites (n=15, 15%), dermatoses neutrophiliques (n=9, 9%), maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (n=6, 6%), ou SIAD non classés (n=3, 3%).

Groupes	n (%)	Type, n
Arthropathies inflammatoires	35 (34%)	Polyarthrite rhumatoïde, 13 Indifférencié, 10 Pseudo-polyarthrite rhizomélique, 9 Spondylarthropathie, 2 RS3PO, 1
Vascularites systémiques	20 (19%)	Maladie de Horton, 7 Indifférencié, 6 Maladie de Behçet, 3 Granulomatose avec polyangéite, 3 Cryoglobulinémie, 1
Cytopénies auto-immunes	16 (15%)	Purpura thrombopénique immunologique, 9 Anémie hémolytique auto-immune, 7
Connectivites	15 (14%)	Syndrome de Sjögren, 7 Polychondrite atrophiante, 3 Lupus érythémateux disséminé, 3 Myosite, 1 Sclérodermie systémique, 1
Dermatoses neutrophiliques	9 (9%)	Syndrome de Sweet, 6 Pyoderma Gangrenosum, 3
Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin	6 (6%)	
Non classés	3 (3%)	

Tableau X : SIAD associées aux SMD/LMMC (n=85 patients, regroupant 104 SIAD)

Le groupe des arthropathies inflammatoires était le plus représenté, incluant 13/35 (37%) polyarthrites rhumatoïdes, 9/35 (26%) pseudo-polyarthrites rhizoméliques, 2/35 (6%) spondylarthropathies et 1 (3%) syndrome RS3PE. Dans ce groupe, 10/35 (29%) patients présentaient des manifestations inflammatoires dont les caractéristiques cliniques étaient insuffisantes pour les classer avec un diagnostic précis.

Les diagnostics des vascularites systémiques étaient également hétérogènes, regroupant la maladie de Horton (n=7/20, 35%), les vascularites non classées (n=6/20, 30%), la maladie de Behçet (n=3/20, 15%), les granulomatoses avec polyangéite (n=3/20, 15%) et 1 seul (5%) diagnostic de vascularite cryoglobulinémique de type 3.

Nous avons inclus au total 9/16 (56%) patients présentant un diagnostic de PTI et 7/16 (44%) patients avec un diagnostic d'AHAI.

Le groupe des connectivites regroupait 7/15 (50%) syndromes de Gougerot-Sjögren, 3/15 (20%) polychondrites atrophiantes, 3/15 (20%) lupus, 1/15 (7%) myosite et 1/15 (7%) sclérodémie systémique, tandis qu'il existait 6/9 (67%) syndrome de Sweet et 3/9 (33%) pyoderma gangrenosum dans le groupe des dermatoses neutrophiliques. Il existait par ailleurs 6 diagnostics de MICI.

La majorité des patients porteurs de SIAD avaient un caryotype normal (51/84, 60%). Neuf (11%) patients avaient un caryotype de mauvais ou très mauvais pronostic selon l'IPSS-R, et 5/85 (6%), 5/85 (6%) et 3/85 (4%) patients avaient respectivement des caryotypes complexes, des caryotypes incluant une anomalie du chromosome 7 et un caryotype monosomal.

Quarante-cinq (53%) des patients de la cohorte SIAD avaient un diagnostic de SIAD antérieur à celui de l'hémopathie, et le délai médian au diagnostic de SMD/LMMC était de 3.7 ans [2.8-6.8]. Par ailleurs, 26/85 (31%) avaient un diagnostic de SIAD et de l'hémopathie de façon concomitante, tandis que 13/85 (15%, 1 manquant) avait un diagnostic de SMD/LMMC qui précédait celui du SIAD, avec un intervalle médian de 2.2 ans [0.8-3.5].

Le nombre médian de lignes de traitement IS dans la cohorte SIAD était de 1 [1-2], incluant les stéroïdes (n=52), le méthotrexate (n=10), l'hydroxychloroquine (n=7), l'azathioprine (n=6), la ciclosporine (n=5), le rituximab (n=3), les anti-TNF α (n=2), la disulone (n=2), les agonistes du récepteur de la thrombopoïétine (n=2), la splénectomie (n=2) et le cyclophosphamide (n=1). Vingt-neuf patients (34%) dans la cohorte SIAD avait reçu plus d'une ligne de traitement IS.

Parmi les 15 patients ayant reçus du méthotrexate, du cyclophosphamide ou de l'azathioprine (1 patient avait reçu à la fois du méthotrexate et de l'azathioprine), il y avait 4/15 polyarthrites rhumatoïdes (27%), 4/15 (27%) MICI, 2/15 (13%) maladie de Horton, 1/15 (7%) granulomatose avec polyangéite, 1/15 (7%) syndrome de Gougerot-Sjögren, 1/15 (7%) spondylarthropathie, 1/15 (7%) polychondrite atrophiante et 1/15 (7%) polyarthrite indifférenciée. Douze de ces 15 patients (80%) avait un diagnostic de SIAD précédant celui de l'hémopathie, et la durée médiane entre le diagnostic du SIAD et celui du SMD/LMMC était de 4.4 ans [2.9-6.4]. La majorité de ces patients avait un caryotype favorable selon le score R-IPSS avec 6/12 (50%) patients ayant un caryotype normal, 2/12 (17%) une perte du chromosome Y, et 1/12 (8%) patient avec une délétion 20q. Par ailleurs, 1 patient avait un caryotype complexe incluant une trisomie 8 et 1 autre patient avait une délétion 9q (1 caryotype manquant).

2. Analyses mutationnelles

Avec une durée médiane entre le diagnostic de SMD/LMMC et la réalisation du NGS de 2.9 mois [0-24.3] dans la cohorte globale, le nombre médian de mutations somatiques par patient était de 2 [1-4] dans les 2 cohortes (ns). La **figure 8** représente le paysage mutationnel des patients SMD/LMMC dans les deux cohortes pour des gènes mutés de façon récurrente.

Les mutations du gène *TET2* ont été retrouvées dans 39/45 (46%) patients de la cohorte SIAD comparativement à 108/319 (34%) des patients de la cohorte témoin ($p=0.04$). Au total, 62 différentes mutations de *TET2* ont été retrouvées dans la cohorte SIAD contre 139 mutations dans la cohorte témoin, incluant respectivement 27/62 (44%) et 76/139 (55%) mutations avec décalage du cadre de lecture, 27/139 (19%) et 12/62 (19%) mutations faux-sens, 36/139 (26%) et 23/62 (37%) mutations non-sens (ns). Vingt-et-un patients (54%) de la cohorte SIAD et 46/108 (43%) des patients de la cohorte témoin avaient plus d'une mutation de *TET2* (ns). Les taux de fréquence allélique (VAF) n'étaient pas différents entre les 2 cohortes pour *TET2* (29% dans le groupe SIAD contre 32% dans le groupe témoin, $p=0.44$).

Les mutations des gènes *IDH1* ou *IDH2* (ci-après nommées mutations *IDH*) étaient également significativement plus fréquentes dans la cohorte SIAD (12/85 (14%), contre 14/319 (4%), $p<0.01$). Les mutations touchant le codon 132 du gène *IDH1* étaient les plus fréquentes dans la cohorte SIAD (5/5, 100%) et témoin (4/6), et toutes les mutations *IDH2* touchaient le codon 140. La VAF moyenne pour les mutations *IDH* était significativement plus élevée chez les patients SMD/CMML avec SIAD (38% contre 26%, $p=0.04$). *TET2* et *IDH* sont 2 enzymes agissant sur la même voie de la méthylation, et leurs mutations sont mutuellement exclusives.¹²² En considérant ensemble les gènes *TET2* et *IDH*, leurs mutations étaient également plus fréquemment retrouvées dans la cohorte SIAD que dans la cohorte témoin (51/85 (60 %) contre 122/319 (38%), $p<0.01$).

Parmi les gènes codants pour les facteurs d'épissage, les mutations de *SRSF2* étaient les plus fréquentes dans les 2 groupes, et également significativement plus fréquentes dans la cohorte SIAD (26/85, 31% vs 47/319, 15% ; $p<0.01$). Les taux médians de VAF pour *SRSF2* étaient similaires dans les cohortes SIAD (39%, [27.0-45.0]) et témoin (37%, [25-43.5] ; $p=0.76$).

Témoïn

SIAD

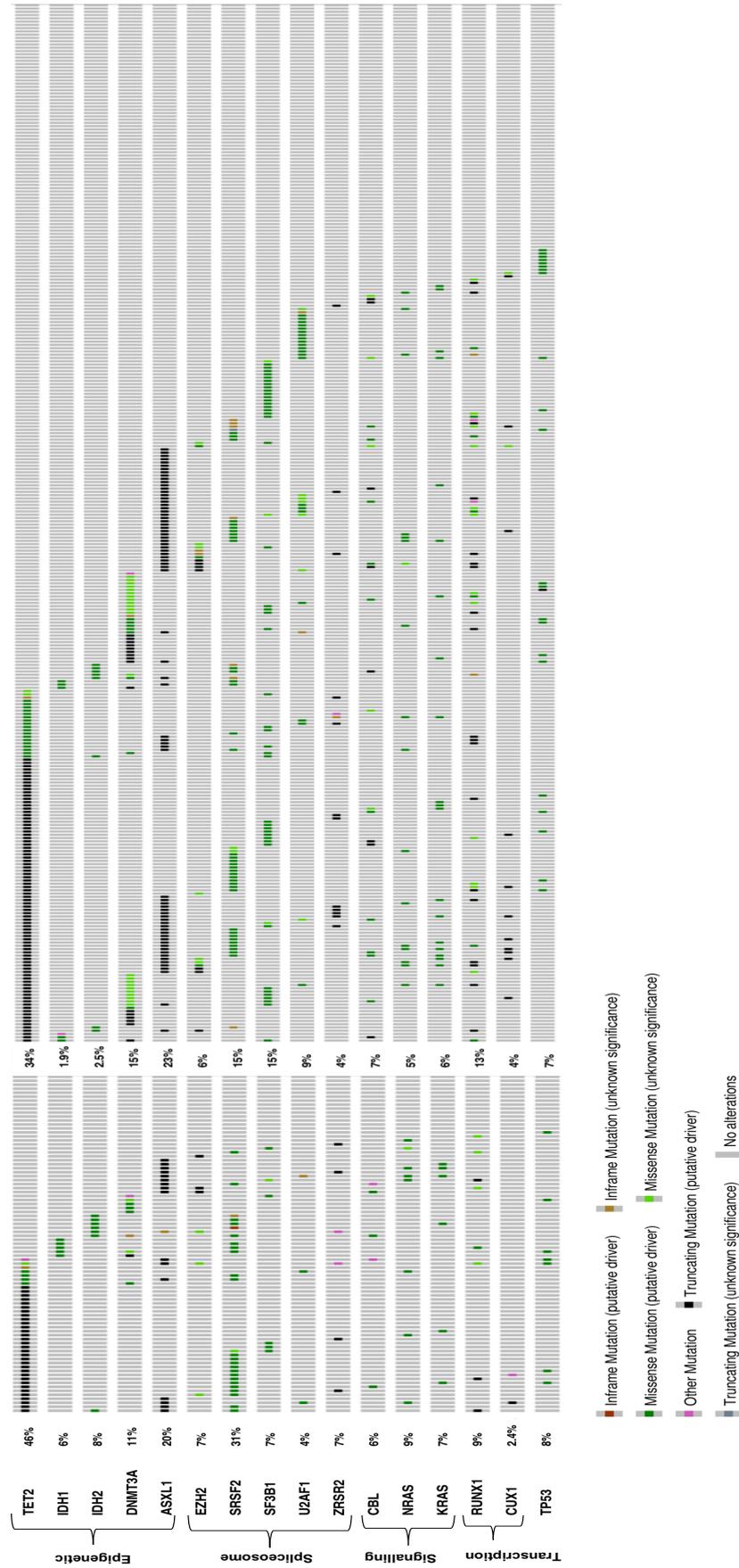


Figure 8 : Mutations récurrentes dans les cohortes SIAD (n=85) et témoin (n=319)

La **Figure 9A** représente le Forest plot des valeurs d'OR concernant la présence de mutations somatiques en faveur de la présence d'un SIAD, ainsi que les associations préférentielles de mutations dans la cohorte SIAD. La présence de la mutation *SRSF2* était significativement corrélée avec la présence de la mutation de *TET2* ou d'*IDH*, dans les 2 cohortes ($p < 0.01$) (**Figure 9B**).

Il y avait une tendance vers une fréquence plus faible des mutations *SF3B1* dans la cohorte SIAD, bien que non statistiquement significative (6/85 (7%) contre 48/85 (15%), $p = 0.07$). En revanche, il n'y avait aucune différence concernant la prévalence des mutations dans les autres facteurs d'épissage, y compris *ZRSF2* ($p = 0.12$) et *U2AF1* ($p = 0.12$), et il n'y avait pas de différence entre les 2 cohortes concernant la fréquence des mutations des gènes impliqués dans la signalisation cellulaire incluant *CBL* ($p = 0.81$), *NRAS* ($p = 0.35$) et *KRAS* ($p = 0.80$), ou encore dans les gènes *RUNX1* ($p = 0.46$) et *TP53* ($p = 0.82$).

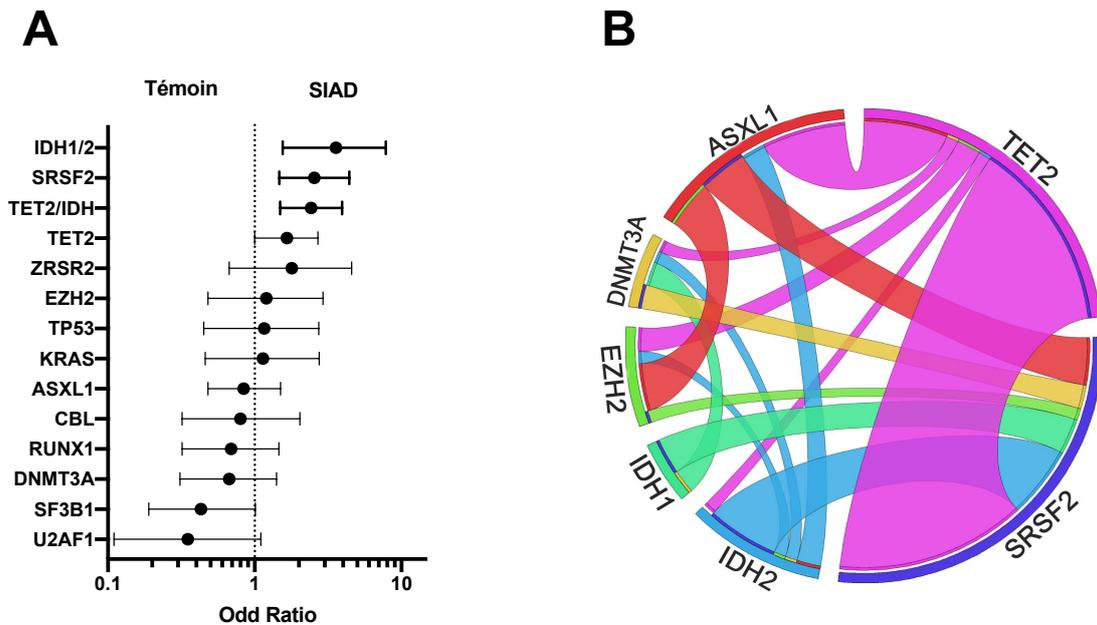


Figure 9 : (A) Forest plot des mutations somatiques pour les cohortes SIAD et témoin ; (B) Circos plot montrant les associations de gènes mutés de façon récurrente dans la cohorte SIAD.

Il n'y avait pas de différence dans les taux de mutation des autres gènes régulateurs épigénétiques comme *DNMT3A* (9/85 (11%) contre 48/319 (15%), $p = 0.38$), *ASXL1* (17/85 (20%) contre 73/319 (23%), $p = 0.67$) ou *EZH2* (6/85 (7%) contre 19/319 (6%), $p = 0.80$) dans les groupes SIAD et témoin respectivement. Au total, des mutations des gènes régulateurs épigénétiques étaient présents chez 65/85 (76%) et 184/319 (58%) patients dans les cohortes SIAD et témoin respectivement ($p < 0.01$).

Enfin, il n’y avait pas de différence dans la présence de mutation dans les autres gènes inclus dans le panel NGS. Douze (14%) et 54/319 (17 %) des patients des cohortes de SIAD et témoin n’avaient aucune mutation sur l’ensemble du panel moléculaire.

En excluant les patients avec un diagnostic de LMMC dans les 2 groupes, la différence de prévalence de mutations *TET2/IDH* restait significativement plus élevée dans la cohorte SIAD (36/65, 55% comparé à 75/258, 29% ; $p<0.01$). De la même manière, *SRSF2* était également plus fréquemment muté dans la cohorte SIAD (16/65, 25%) comparé à (23/235, 9%), ($p<0.01$) en excluant les LMMC.

En analyse de régression logistique univariée, comparant les cohortes SIAD et témoin, les variables significatives étaient : le taux de neutrophiles (OR 1.06, $CI_{95\%}[1.01-1.12]$) ; le pourcentage de blastes au diagnostic (OR 0.87, $CI_{95\%}[0.80-0.94]$) ; la présence d’une mutation *TET2/IDH* (OR 2,50, $CI_{95\%}[1.53-4.07]$) ; la présence d’une mutation *SRSF2* (OR 2,55, $CI_{95\%}[1.46-4.45]$). Les sous-groupes diagnostics de SMD/LMMC et les anomalies cytogénétiques n’étaient pas spécifiquement associé à la présence de SIAD. En intégrant ces variables dans notre modèle multivarié, le pourcentage de blastes et la présence de mutations dans les gènes *TET2/IDH* et *SRSF2* étaient retenus comme étant significativement associées à la présence de SIAD, comme indiqués dans le **Tableau XI**.

Variabiles	OR	95% CI	pval
Neutrophiles au diagnostic	1.05	[0.99; 1.12]	0.12
Blastes médullaires (%)	0.86	[0.78; 0.93]	<0.01
<i>TET2/IDH</i>	1.87	[1.08; 3.2]	0.02
<i>SRSF2</i>	2.21	[1.14; 4.28]	0.02

Tableau XI : Régression logistique multivariée avec odd ratio en faveur de la présence d’un SIAD

Nous avons alors stratifié les patients sur le statut mutationnel *TET2/IDH* et *SRSF2* au sein de la cohorte SIAD, dont les caractéristiques sont résumées dans le **Tableau XII**.

Les patients *TET2/IDH*^{mut} présentaient un taux d’hémoglobine au diagnostic supérieur aux patients *TET2/IDH*^{wt} (11.0 [9.2-13.4] contre 9.8 [9.0-11.4], $p=0.02$), et les patients *TET2/IDH*^{mut} et *SRSF2*^{mut} avaient une thrombopénie plus marquée au diagnostic des SMD/LMMC ($p=0.04$). Il y avait une tendance, bien que non statistiquement significative, à une surreprésentation des LMMC dans le groupe des patients *SRSF2*^{mut} (10/26, 38% comparé à 10/59, 17% ; $p=0.05$).

Par ailleurs, on observait une prévalence plus élevée de caryotypes normaux chez les patients *TET2/IDH*^{mut} (35/50 (70%) contre 15/35 (44%), $p=0.01$). La présence des mutations *TET2/IDH* et *SRSF2* n'était pas associée à un sous-type diagnostique de SMD/LMMC. En revanche, de façon intéressante, il y avait moins de vascularites inflammatoires dans les 2 groupes de patients mutés *TET2/IDH* et *SRSF2* comparés aux patients non mutés, respectivement 7/50 (14%) patients comparés à 13/35 (37%) ($p=0.02$), et 2/26 (8%) patients comparé à 18/59 (31%). Enfin, il y avait une tendance non statistiquement significative à une prévalence plus élevée d'arthropathies inflammatoires dans le groupe des patients *TET2/IDH*^{mut} (25 (50%) contre 10 (29%), $p=0.07$).

Variables	TET2/IDH		<i>p val</i>	SRSF2		<i>p val</i>
	Muté (n=50)	Non muté (n=35)		Muté (n=26)	Non muté (n=59)	
Age au diagnostic SMD/LMMC	70.8 [78.9-66.0]	72.8 [81.55-67.3]		70.6 [64.1-82.5]	71.8 [66.3-79.9]	
% Femmes	22 (44%)	16 (46%)		10 (38%)	28 (47%)	0.49
Hémogramme (au diagnostic)						
Hémoglobine	11.00 [9.2-13.4]	9.8 [9.0-11.4]	0.02	10.8 [9.10-13.1]	10.6 [9.2-12.2]	
VGM	91.50 [86.0-100.0]	93.00 [83.5-102.50]		88.0 [84.0-92.6]	94.0 [88.0-102.0]	
Plaquettes	113.5 [66.5-196.2]	151.0 [78.5-331.0]	0.04	76.0 [53.5-159.2]	143.0 [90.0-275.0]	0.04
Leucocytes	4.4 [3.1-7.5]	7.0 [3.6-8.9]		5.1 [3.6-8.0]	5.3 [3.0-8.2]	
Neutrophiles	2.2 [1.6-4.2]	4.6 [2.2-5.6]		3.1 [1.7-6.5]	3.5 [1.7-5.2]	
Myélogramme						
SLD/MLD	20 (40%)	16 (46%)		8 (31%)	28 (47%)	
Sidéroblastes en couronne	3 (6%)	1 (3%)		2 (8%)	2 (4%)	
EB1	7 (14%)	6 (17%)		5 (19%)	8 (14%)	
EB2	2 (4%)	2 (6%)		1 (4%)	3 (5%)	
LMMC	14 (28%)	6 (17%)	0.3	10 (38%)	10 (17%)	0.05
5q	1 (2%)	2 (6%)		0 (0%)	3 (5%)	
Blastes médullaires (%)	3 [1.0-5.0]	2.0 [1.0- 4.0]		3 [2.0-6.0]	2.0 [1.0- 4.0]	
IPSS-R						
Very Low	9 (18%)	3 (9%)		3 (12%)	9 (15%)	
Low	19 (38%)	16 (46%)		10 (38%)	25 (42%)	
Int	17 (34%)	9 (26%)		10 (38%)	16 (27%)	
High	5 (10%)	5 (14%)		3 (12%)	7 (12%)	
Very High	0 (0%)	1 (3%)		0 (0%)	1 (2%)	
Score	3 [2-4]	3 [2.5-4]		2.0 [1.0- 4.0]	3 [2-4]	
Caryotype						
Normal	35 (70%)	15 (44%)	0.01	19 (73%)	31 (53%)	0.45
Complexe	1 (2%)	4 (12%)		0 (0%)	5 (9%)	

Monosomal	0 (0%)	3 (9%)		0 (0%)	3 (5%)	
Anomalies 5	4 (8%)	8 (24%)		1 (4%)	11 (19%)	
Anomalies 7	3 (6%)	2 (6%)		1 (4%)	4 (7%)	
Trisomie 8	3 (6%)	6 (18%)	0.15	0 (0%)	9 (16%)	0.05
Nombre d'anomalies	0 [0-1]	1 [0-1]		0 [0-1]	0 [0-1]	
Traitements						
Nombre de ligne de traitements reçus	1 [0-1]	1 [0-1]		1 [1-2]	1 [1-2]	
HMA	16 (32%)	13 (37%)		8 (31%)	21 (36%)	
IMiD	4 (8%)	3 (9%)		0 (0%)	7 (12%)	
Évolution						
aHSCT	4 (50%)	0 (0%)		2 (8%)	2 (3%)	
Évolution (IWG 2006)	13 (26%)	3 (9%)		8 (31%)	8 (14%)	
Suivi (mois)	33.0 [20.7-58.0]	25.2 [10.0-35.4]		36.5 [22.7-57.0]	27.3 [14.8-41.2]	
Décès	13 (26%)	8 (23%)		7 (27%)	14 (24%)	
SIAD						
Arthropathies inflammatoires	25 (50%)	10 (29%)	0.07	14 (54%)	21 (36%)	0.15
Vascularites	7 (14%)	13 (37%)	0.02	2 (8%)	18 (31%)	0.03
Connectivites	8 (19%)	6 (17%)		6 (23%)	8 (14%)	0.34
Dermatoses neutrophiliques	6 (12%)	3 (9%)		4 (15%)	5 (9%)	
MICI	1 (2%)	5 (35%)		1 (4%)	5 (9%)	
Non classé	2 (4%)	1 (3%)		0 (0%)	3 (5%)	

Tableau XII : Caractéristiques des patients de la cohorte SIAD selon le statut mutationnel pour les gènes *TET2/IDH* et *SRSF2*

3. Données de survie

Avec un suivi médian de 30.9 mois [18.6-48.5] et 31.7 mois [15.1-50.8] respectivement dans les cohortes SIAD et témoin, 21/85 (25%) et 79/319 (25%) patients étaient décédés. Les décès dans la cohorte SIAD étaient liés à un sepsis (n=8), à la progression de l'hémopathie (n=6), à une hémorragie (n=5), à la maladie du greffon contre l'hôte (aGVHD) (n=1) et à la progression du SIAD chez seulement 1 patient, tandis que les décès dans la cohorte témoin étaient liés à la progression de l'hémopathie chez 44 patients, à un sepsis chez 20 patients, à une hémorragie chez 6 patients. La probabilité médiane d'OS était de 95.7 mois $_{95\%CI}[60.7\text{-non estimable}]$ comparée à 101.0 mois $_{95\%CI}[70.8\text{-non estimable}]$ ($p=0.97$) dans les cohortes SIAD et témoin respectivement (**Figure 10A**).

Par ailleurs, l'association SIAD et SMD/LMMC n'avait pas d'impact sur la PFS selon les critères IWG 2006, avec une médiane de PFS de 63.9 mois $_{95\%CI}[58.0\text{-}79.8]$ dans le groupe SIAD et de 67.9 mois $_{95\%CI}[60.1\text{-not estimable}]$ ($p=0.84$) (**Figure 10B**).

Enfin, la médiane d'OS était de 135.3 mois $_{95\%CI}[86.3\text{-non estimable}]$ et de 65.9 mois $_{95\%CI}[65.4\text{-non estimable}]$ chez les patients ayant un SMD/LMMC de faible et haut risque respectivement ($p<0.01$), tandis que la PFS était de 69.2 mois $_{95\%CI}[64.3\text{-}135.3]$ et de 48.5 mois $_{95\%CI}[38.8\text{-}70.8]$ pour ces mêmes groupes ($p<0.01$).

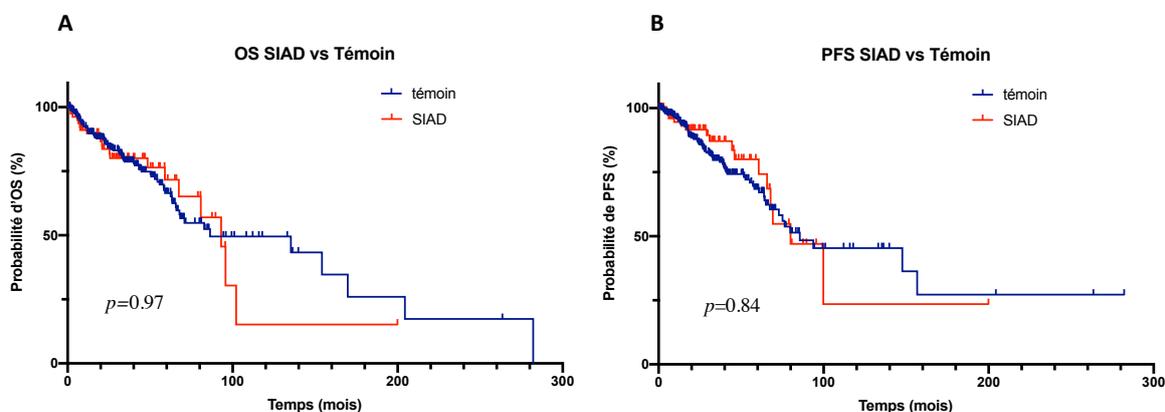


Figure 10 : (A) Survie globale (OS) et (B) survie sans progression (PFS) des patients dans les groupes témoin et SIAD.

Dans le groupe SIAD, l'OS était comparable selon le statut $TET2/IDH^{mut}$, avec une médiane de survie dans le groupe non muté de 93.0 mois $_{95\%CI}[80.7\text{-non estimable}]$, et de 95.7 mois $_{95\%CI}[67.4\text{-non estimable}]$ dans le groupe muté ($p=0.52$) (**Figure 11A**). Le statut mutationnel $TET2/IDH$ de modifiait pas non plus la PFS, avec une médiane à 80.0 mois $_{95\%CI}[80.0\text{-non estimable}]$ dans le groupe non muté, et de 67.4 mois $_{95\%CI}[48.5\text{-non estimable}]$ dans le groupe muté ($p=0.14$) (**Figure 11B**).

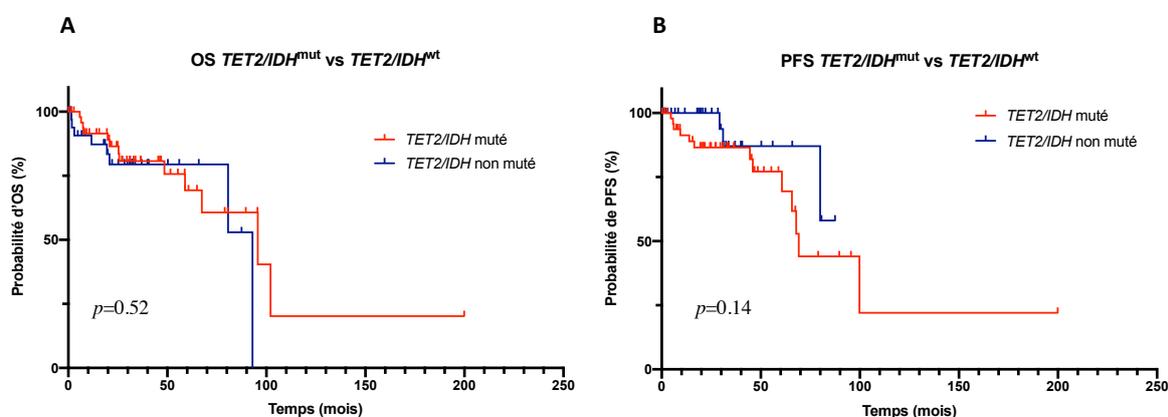


Figure 11 : (A) Survie globale (OS) et (B) survie sans progression (PFS) selon le statut mutationnel pour $TET2/IDH$, dans la cohorte SIAD.

Enfin, toujours dans le groupe SIAD, le statut mutationnel pour le gène *SRSF2* ne modifiait pas l'OS, avec une médiane de survie dans le groupe non muté de 93.0 mois $_{95\%CI}[70.8\text{-non estimable}]$, et de 95.7 mois dans le groupe muté $_{95\%CI}[52.9\text{-non estimable}]$ ($p=0.60$) (**Figure 12A**). Le statut mutationnel *SRSF2* ne modifiait pas non plus la PFS, avec une médiane à 80.0 mois $_{95\%CI}[65.7\text{-non estimable}]$ dans le groupe non muté, et de 60.7 mois $_{95\%CI}[46.0\text{-non estimable}]$ dans le groupe muté ($p=0.14$) (**Figure 12B**).

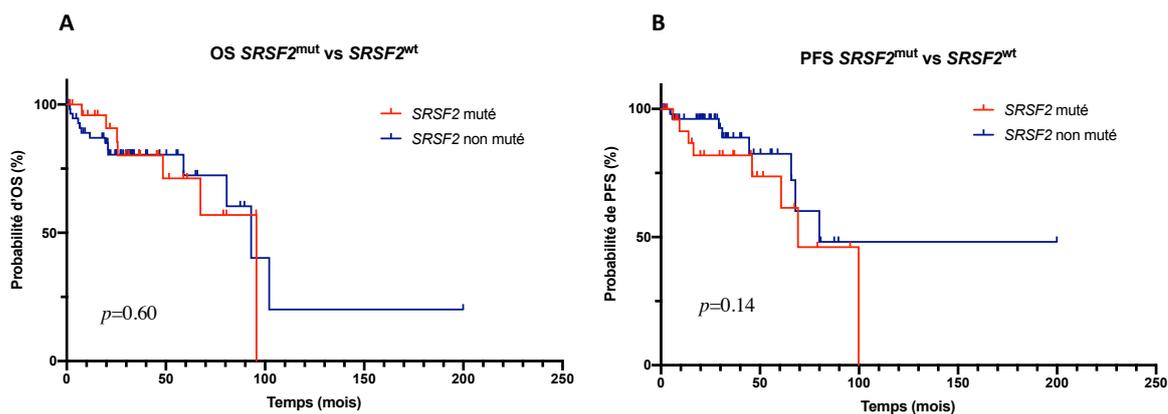


Figure 12 : (A) Survie globale (OS) et (B) survie sans progression (PFS) selon le statut mutationnel pour *SRSF2*, dans la cohorte SIAD.

V. DISCUSSION

Notre étude montre l'association de mutations de gènes régulateurs épigénétiques *TET2* et *IDH1/2*, ainsi que du gène *SRSF2* chez patients présentant un SIAD associée à un SMD/LMMC, et décrit pour la première fois le paysage mutationnel de ces patients.

Les points forts de notre étude sont l'ampleur de la taille de notre cohorte, les critères de sélection des SIAD ainsi que l'exhaustivité de notre recueil de données avec l'établissement d'un large groupe témoin de patients représentatifs des SMD/LMMC.

Le principal point faible est le caractère rétrospectif et monocentrique de notre étude qui limite la validité externe de nos résultats.

1. Comparaison des cohortes et analyse des résultats

a. Analyse de la population SMD/LMMC

Les patients inclus dans notre étude étaient similaires entre les deux cohortes concernant le phénotype de l'hémopathie.

Nos deux groupes étaient semblables concernant le nombre de diagnostics de LMMC. Les mutations de *TET2* et *SRSF2* sont fréquentes dans les LMMC, et leur association est hautement spécifique de ce sous-groupe diagnostique.³² La comparaison des taux de mutations *TET2/IDH* et *SRSF2* en excluant les patients LMMC dans les 2 cohortes ne modifiait pas nos résultats. Par ailleurs, l'analyse de régression logistique confirmait que les mutations *TET2/IDH* et *SRSF2* étaient bien associées aux SIAD indépendamment du diagnostic de l'hémopathie sous-jacente.

Si les patients du groupe SIAD avaient en majorité des caryotypes normaux, un pourcentage de blastes médullaires inférieur et un taux de neutrophiles plus élevé comparé à notre cohorte témoin, suggérant dans notre cohorte que les SIAD étaient associés à un phénotype plus « indolent » de SMD/LMMC, les groupes étaient comparables concernant le risque IPSS-R et la survie globale et sans progression.

Les résultats de la littérature hétérogènes et contradictoires sur ce point^{85,93} laissent penser que les facteurs associés à l'établissement des scores pronostics ne jouent pas un rôle majeur dans la pathogénèse des SMD/LMMC, et que d'autres éléments en dehors du pourcentage de blastes médullaires et des anomalies cytogénétiques rentrent en jeu pour expliquer l'inflammation systémique.

Il faut néanmoins noter que ce fort taux d'hémopathies de bas risque dans nos 2 cohortes suggère un biais de recrutement, notre étude ayant inclus uniquement les patients vus en consultation, excluant les patients suivis en hospitalisation.

La prévalence plus faible de SMD RS dans notre groupe SIAD, bien que non significative, est en accord avec les résultats des études précédentes dans lesquelles la fréquence des SMD RS allait de 0 à 14%.^{71,123} Dans l'étude de Mekinian *et al.*, rapportant la plus grande cohorte française de patients porteurs de SMD/LMMC et SIAD à ce jour, il n'y avait qu'un seul patient présentant un diagnostic de SMD RS dans le groupe SIAD, comparé à 57/665 (9%) dans le groupe témoin. En accord avec ces résultats, la prévalence des patients *SF3BI*^{mut} était également inférieure dans notre groupe SIAD, bien que non statistiquement significative. Les SMD avec mutation de *SF3BI* ont récemment été proposés comme entité nosologique pour définir un sous-groupe diagnostique de SMD, devenant potentiellement le deuxième groupe de SMD défini par une altération génétique après les SMD Del5q.³¹ Le gène *SF3BI* code pour un facteur d'épissage appartenant au complexe nucléaire ribonucléique U2 du spliceosome. Les mutations somatiques de *SF3BI* sont précoces et initiatrices de l'oncogenèse, responsables d'un phénotype particulier de SMD associant une dysérythropoïèse et une anémie plus marquée au diagnostic, comparativement aux autres SMD.¹²⁴ La présence de la mutation *SF3BI* est hautement spécifique de la présence de RS.¹²⁵ Ensemble, ces données suggèrent que les mutations des *SF3BI*, bien que participant à l'inflammation par le biais de l'activation de NF-κB, ne jouent pas un rôle majeur dans la physiopathologie des SMD/LMMC avec SIAD.¹²⁶

Nous n'avons pas retrouvé d'anomalie cytogénétique associée à un phénotype inflammatoire particulier, probablement limité par la taille des sous-groupes diagnostiques de SIAD malgré l'ampleur globale de notre cohorte.

b. Analyse des SIAD

En dépit de l'hétérogénéité de notre population de SIAD, la sélection de nos patients était une des forces de notre étude. Nous avons exclu les patients présentant des manifestations auto-immunes spécifiques d'organe avec l'hypothèse pour ces dernières d'une pathogénie probablement différente. La plus grande cohorte mondiale rapportée à ce jour a inclus 391 patients porteurs de SIAD associé à un SMD/LMMC, dont 171 (44%) avait une hypothyroïdie.⁸⁵ La médiane élevée d'OS dans cette étude comparativement aux autres études est le probable reflet de l'inclusion de ces patients qui ne nécessitaient pas de traitement IS.

Le diagnostic de SIAD avait été porté sur des critères internationaux. Cependant, 3/85 de nos patients avaient un SIAD non classés, ainsi que 10 patients dans le groupe arthropathie inflammatoire, et 6 patients dans le groupe vascularite systémique avait également des manifestations systémiques indifférenciées. Ces résultats, associés aux données des précédentes études,^{72,75} sont en faveur d'une pathogénèse différente entre les SIAD associés ou non aux hémopathies.

Dans notre cohorte, les SIAD les plus fréquents étaient les arthropathies inflammatoires. A l'inverse, seulement 3 patients avec une polychondrite atrophiante avaient été inclus, contrastant avec l'association fréquente avec les SMD rapportée dans la littérature et suggérant un biais de recrutement.⁷⁷ Parmi ces trois patients, deux n'avaient pas de mutation somatique retrouvée sur le NGS, et le dernier patient avait une mutation de *TP53*, *KRAS*, *SRSF2* et 2 mutations de *TET2*. Il serait intéressant d'étudier les anomalies moléculaires dans une cohorte plus large de patients ayant une polychondrite atrophiante associée à un SMD, notre effectif ne permettant pas d'établir d'associations.

De façon intéressante, notre étude a mis en évidence une sous-représentation des mutations épigénétiques *TET2/IDH* dans le groupe des vascularites systémiques, représentées principalement par la maladie de Horton (n=7) et la maladie de Behçet (n=3).

La maladie de Behçet est fréquemment associée à la présence d'une trisomie 8.⁷² Dans notre cohorte, 2/3 (66%) patients (incluant un SMD SLD, un SMD MLD et un SMD EB2) atteints de maladie de Behçet avait une trisomie 8 au caryotype médullaire. Aucun de ces 2 patients n'était muté pour *TET2/IDH* ou *SRSF2*. Une des patientes avait 89 ans au diagnostic du SMD SLD sans mutation retrouvée sur le panel NGS, tandis que la deuxième était une patiente de 74 avec un diagnostic initial de thrombocytemie essentielle *JAK2 V617F* muté, ayant évolué vers un SMD avec trisomie 8. Ces résultats, associés aux données de la littérature rapportant des maladies de Behçet chez des patients ayant une trisomie 8 constitutionnelle,¹²⁷ suggèrent que *TET2/IDH* ou *SRSF2* ne joue probablement pas un rôle majeur dans leur pathogénèse commune. Il n'existe à ce jour aucune autre étude ayant analysé les données moléculaires des patients atteints de SMD/LMMC et maladie de Behçet ou de maladie de Horton.

La majorité de nos patients avait eu un diagnostic de SIAD qui précédait celui de l'hémopathie (45/85, 53%), faisant discuter la possibilité d'hémopathies malignes induites par les IS,

dont la physiopathologie est probablement différente des autres SMD/LMMC associés aux SIAD. Cependant, un faible nombre de patients au total avait reçu des traitements potentiellement myélotoxiques (n=12). L'intervalle séparant le début du traitement IS et le diagnostic de SMD était court, et la quasi-totalité de ces patients n'étaient pas porteurs d'anomalies cytogénétiques ou moléculaires en faveur d'un SMD/LMMC secondaire (un seul avait une mutation de *TP53*).

Enfin, n'ayant pas recueilli les données nécessaires au suivi des patients, l'évaluation de la réponse au traitement n'était pas possible dans notre cohorte.

c. Analyses des données de survie

Dans notre étude, l'association d'un SIAD à un SMD/LMMC ne modifiait ni l'OS ni la PFS. Ces résultats sont en accord avec ceux des grandes séries récemment publiées.^{93,123} De façon importante, la grande majorité des patients dans les 2 cohortes étaient décédés des suites d'une hémopathie, confirmant le fait que la prise en charge de cette dernière reste l'objectif thérapeutique principal.

Par ailleurs, le nombre de décès secondaires à une infection n'était pas différent dans les 2 cohortes, suggérant également que les traitements IS ne conféraient pas un risque accru de mortalité dans cette population de patients déjà immunodéprimés. Cependant, les données des cohortes rétrospectives récemment publiées rapportant un nombre important d'infections dans cette population de patients nous invite à rester prudent sur ce dernier point.⁷¹

Les résultats de PFS étaient également rassurants dans notre étude, ne montrant pas de différence de progression entre les 2 groupes, suggérant que les traitements IS n'influaient pas sur l'échappement immunitaire et la progression clonale des SMD/LMMC.

La médiane de survie globale était élevée, de 95.7 mois dans le groupe SIAD et de 101.0 mois dans le groupe témoin, concordant avec le fait que nous avons principalement inclus des patients présentant des hémopathies de bas risque et avec un IPSS-R intermédiaire.

Au sein de notre cohorte SIAD, nous nous sommes intéressés à l'impact de la présence de mutation dans les gènes *TET2/IDH* et *SRSF2* sur les données de survie globale et sans progression, et avons montré que le statut mutationnel pour ces gènes n'impactait ni l'OS ni la PFS. Ces résultats sont également concordants avec ceux de la littérature dans les SMD/LMMC, où l'impact pronostic de ces mutations reste controversé.^{109,128}

2. Analyses mutationnelles et apport dans la physiopathologie des SIAD associés aux SMD/LMMC

a. Analyse des anomalies moléculaires

Notre étude souligne l'association des mutations de la voie épigénétique *TET2/IDH* et *SRSF2*. Ces résultats confirment sur une large cohorte ceux d'une étude coréenne récemment publiée et retrouvant également une association statistiquement significative entre la présence de la mutation *TET2* et la présence d'un SIAD chez des patients atteints d'un SMD.¹²⁹ En effet, dans l'étude de Oh *et al.*, 16 patients porteurs de SIAD avaient été comparés à un groupe témoin de 57 patients ayant des SMD sans SIAD. La mutation *TET2* était présente chez 5/16 (31%) patients dans le groupe SIAD, et 3/57 (5%) patients dans le groupe témoin ($p=0.01$). Le faible échantillon de patients dans cette étude, associé à la sous-représentation des patients ayant une mutation *TET2* dans leur cohorte témoin venaient limiter la validité externe de ces résultats.

Par ailleurs, une autre étude française a récemment rapporté la présence de mutation *TET2* chez 4/25 (16%) patients présentant une vascularite associée aux SMD/LMMC, sans cohorte comparative.⁷⁰ Ces derniers résultats vont également dans le sens d'une plus faible prévalence des mutations *TET2* dans le groupe des vascularites inflammatoires.

A ce jour, ces études sont les 2 seules dans la littérature ayant rapporté des analyses moléculaires chez les patients atteints de SIAD associé à des hémopathies myéloïdes. Il n'existe pas de données reliant la présence de mutations *IDH* ou de *SRSF2* et les SIAD.

Nos résultats permettent d'émettre des hypothèses la physiopathologie encore mal connue liant les hémopathies et les SIAD.

b. Apport de nos résultats dans la compréhension de la physiopathologie des SMD/LMMC associés au SIAD

TET2 est une enzyme catalysant l'hydroxylation des résidus 5-méthylcytosine liés à l'ADN en 5-hydroxyméthylcytosine (5hmC), impliqués dans divers mécanismes de déméthylation de l'ADN. Cette réaction est dépendante en α -ketoglutarate, métabolite produit par la décarboxylation de l'isocitrate par les enzymes *IDH1* et *IDH2* (**Figure 13**).^{30,130}

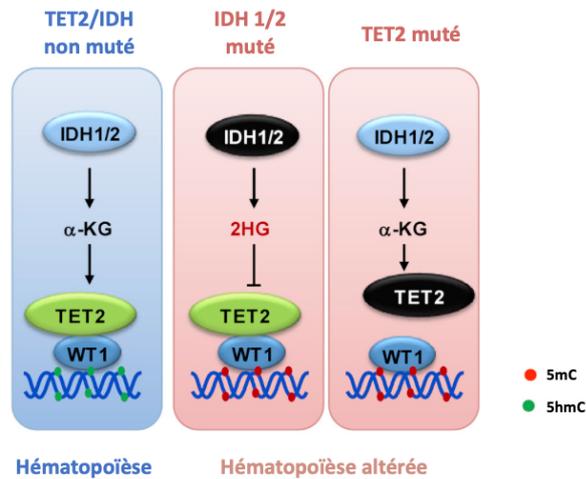


Figure 13 : Mécanisme d'action des enzymes TET2 et IDH1/2 et impact sur l'hématopoïèse (Wang et al., 2015). Les enzymes IDH1 et IDH2 catalysent la décarboxylation de l'isocitrate pour produire l' α -KG. Ce dernier métabolite est nécessaire à TET2, recruté par WT1 pour catalyser l'hydroxylation des résidus 5mC en 5hmC, impliqué dans la régulation épigénétique. Les mutations dans les gènes IDH1/2 et TET2 entraînent des défauts de déméthylation du génome à des locus spécifiques incluant de nombreux gènes impliqués dans l'hématopoïèse. TET2 : Ten Eleven Translocation 2 ; IDH : Isocitrate Deshydrogenase ; WT1 : Wilm's Tumor 1 ; 5mC : 5-methylcytosine ; 5hmC : 5-hydroxymethylcytosine ; α -KG : α -ketoglutarate

Le gène *TET2* est situé sur le bras long du chromosome 4. Il représente le second gène le plus fréquemment muté chez les patients porteurs de CHIP, et environ 25% et 50% des patients SMD et LMMC respectivement présentent des mutations de *TET2*, entraînant une perte de fonction de la protéine.¹³¹ Les mutations d'*IDH1/2* surviennent chez environ 5% des patients porteurs de SMD.¹³² Il existe 3 mutations connues d'*IDH*, mutuellement exclusives et ayant un rôle néomorphique, IDH1-R132, IDH2-R140 et IDH2-R172.¹³³ *TET2* et *IDH1/2* sont ainsi des régulateurs épigénétiques agissant sur la même voie de la méthylation, et leurs mutations sont mutuellement exclusives dans les SMD.¹³⁴ Les mutations de *TET2* et *IDH1/2* sont des mutations pertes de fonction. Nous avons donc considéré les mutations *TET2* et *IDH1/2* ensemble, et avons montré que leur présence était significativement associée aux SMD/LMMC avec SIAD.

Ko *et al.* ont montré une corrélation entre le faible taux de 5hmC, une altération de l'hématopoïèse et le statut mutationnel *TET2*, suggérant l'hypothèse selon laquelle les mutations de *TET2* entraînent des altérations de méthylation dans des régions importantes pour la régulation de l'hématopoïèse.¹³⁵ Une délétion de *TET2* dans des modèles murins augmente le renouvellement des CSH, entraîne des biais de différenciation vers la lignée myéloïde et une évolution fatale en hémopathie myéloïde.^{136,137} Les souris *IDH*^{mut} partagent un phénotype similaire.¹³⁸

Par ailleurs, *TET2* a été impliqué dans différents processus inflammatoires et régulateurs de l'immunité. De façon intéressante, les premières grandes cohortes rapportant les sujets avec CHIP constataient une augmentation des maladies vasculaires associées à la présence de l'hématopoïèse

clonale, incluant les cardiopathies et les accidents vasculaires ischémiques.¹³⁹ Suivant ces observations, deux équipes ont montré dans des modèles mutins que les souris *TET2*^{null} avaient une progression athéromateuse plus rapide, expliquée par augmentation de l'activation de l'inflammasome et du recrutement de monocytes/macrophages dans les plaques d'athérome.^{24,140} Dans ce sens, de nombreuses études se sont intéressées à la fonction de *TET2* dans la régulation des cellules immunitaires, en particulier des lymphocytes T. *TET2* régule l'homéostasie cellulaire T, la sécrétion de cytokines par les lymphocytes T CD4⁺ et donc leur différenciation dans les lignées Th1, Th2, Th17 et Treg.¹⁴¹ Une délétion de *TET2* entraîne des manifestations inflammatoires notamment digestives dans des modèles murins parallèlement à une dérégulation des lymphocytes Treg.¹⁴²

Ensemble ces données sont en faveur de l'apparition de mécanismes inflammatoires faisant intervenir différentes cellules immunes, et d'un potentiel accru de renouvellement cellulaire en présence d'une mutation *TET2*. L'impact des mutations d'*IDH* sur le répertoire immunitaire, qui pourrait mimer le phénotype *TET2* car agissant sur la même voie épigénétique, a été moins étudié à ce jour.

Si les mutations du gène *SRSF2* entraînent des modifications transcriptionnelles de l'expression de cytokines pro-inflammatoires comme S100A8/A9, ainsi qu'une augmentation de l'activation de l'inflammasome dans les SMD,^{126,143} aucune observation n'a été rapportée à ce jour liant *SRSF2* et les SIAD. De la même façon, il existe très peu de données concernant l'impact des mutations de *SRSF2* sur le répertoire immunitaire.

Ensemble, ces résultats pourraient suggérer une nouvelle hypothèse concernant la physiopathologie des SMD/LMMC associée aux SIAD, fondée sur une susceptibilité génétique commune. L'apparition d'une mutation *TET2/IDH* ou *SRSF2* dans le compartiment médullaire entraîne une augmentation du potentiel de renouvellement des CSH, et l'expansion du clone entraîne l'apparition d'une hémato-poïèse clonale. Par ailleurs, ces mutations favorisent un phénotype inflammatoire responsable de SIAD. Les mécanismes additionnels déclenchant ou favorisant l'apparition du SMD/LMMC ou le phénotype inflammatoire du SIAD, ou encore l'association des deux, restent inconnus à ce jour, de même que le rôle précis de *SRSF2* et les facteurs influençant l'ordre chronologique d'apparition du SMD/LMMC et du SIAD. Cette hypothèse est résumée dans la **Figure 14**.

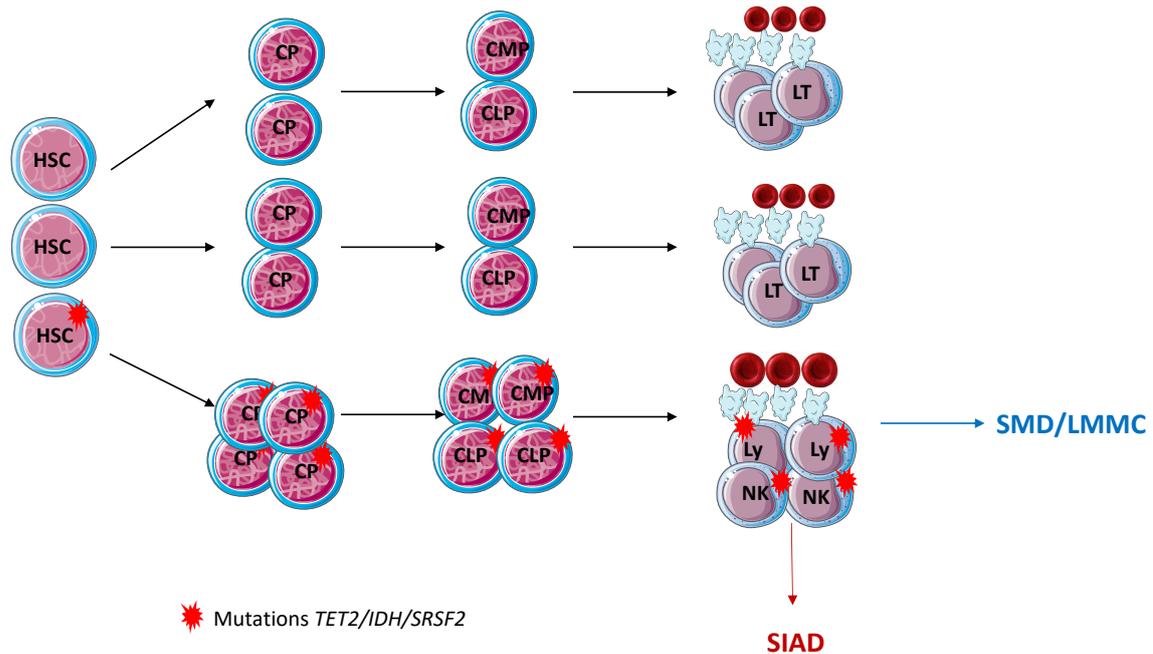


Figure 14 : Mécanisme physiopathologique hypothétique de l'implication des mutations dans les gènes *TET2*, *IDH* et *SRSF2* sur la genèse des hémopathies myéloïdes et des SIAD. Une mutation dans le compartiment progéniteur apparaît, entraînant un avantage sélectif. Cette mutation est transmise dans les compartiments progéniteurs communs lymphoïdes et myéloïdes, et aux cellules immunes. L'augmentation de la taille du clone sera responsable de l'évolution vers une hémopathie myéloïdes SMD/LMMC constituée. En parallèle de l'évolution clonale apparaît une augmentation de l'inflammation par des mécanismes qui restent inconnus à ce jour, responsable de l'installation du SIAD. HSC : progéniteurs hématopoïétiques ; CP : progéniteur commun ; CMP : progéniteur myéloïde commun ; CLP : progéniteur lymphoïde commun. Ly : lymphocyte ; NK : Natural Killer

Un premier argument en faveur de cette hypothèse est la mise en évidence récente de CHIP associé au SIAD. Ainsi, Savola *et al.* ont rapporté la première série de patients atteints de polyarthrites rhumatoïdes et porteurs d'hématopoïèse clonale. La mutation *TET2* était la seconde mutation la plus fréquemment observée dans leur étude.¹⁴⁴ La même équipe a également montré, dans la polyarthrite rhumatoïde, la présence de cellules T clonales porteuses de mutations de gènes impliqués dans des mécanismes immuns, renforçant l'idée de l'imputabilité des mutations somatiques dans les cellules effectrices immunes sur le phénotype clinique. De même, la présence d'une hématopoïèse clonale était associée chez les patients atteints d'une sclérodémie systémique à un âge plus jeune de développement du SIAD, également en faveur d'un rôle du clone muté dans la genèse de la sclérodémie systémique.¹⁴⁵

Enfin, un dernier argument en faveur de notre hypothèse est l'efficacité souvent observée des HMA sur le SMD/LMMC, dont l'efficacité supérieure a été montrée chez les patients SMD *TET2*^{mut} comparés au patient SMD *TET2*^{wt},¹²⁸ et sur le SIAD de façon concomitante.^{113,114}

3. Perspectives : impact des mutations *TET2/IDH* sur le phénotype des lymphocytes T dans les SMD/LMMC associés au SIAD

Nous avons par la suite testé l'hypothèse d'une dérégulation immunitaire induite par la présence d'une mutation somatique chez les patients atteints de SIAD associé à un SMD/LMMC. L'impact des mutations *SRSF2* étant peu décrit, nous nous sommes intéressés à l'impact de la présence d'une mutation *TET2/IDH* sur le compartiment lymphocytaire T.

Pour cela, nous avons recueilli avec le consentement des patients des échantillons sanguins provenant de 28 patients porteurs de SMD/LMMC, incluant 17 patients *TET2/IDH*^{mut} et 12 également atteints de SIAD. Les caractéristiques des patients sont résumées dans l'**Annexe 1**. Les cellules mononuclées sanguines ont été isolées sur gradient Ficoll®, congelées avec du diméthylsulfoxyde et stockés en azote liquide avant analyse. Après décongélation et marquage par eFluor 506 pour tester la viabilité cellulaire, les lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ ont été marqués pour déterminer les sous-types cellulaires et leur niveau d'activation (CCR7, CDR45RA, CD27 and CD95), ainsi que l'expression de checkpoint immuns (CTLA-4, PD-1, Lag-3, TIM-3 and CD96), avant d'être analysés par cytométrie en flux (BD Fortessa X20).

De façon intéressante, l'homéostasie du compartiment lymphocytaire T CD8⁺ était profondément perturbée, avec une augmentation des sous-populations effectrices mémoires ($p < 0.01$), ainsi qu'une réduction des compartiments progéniteurs mémoires ($p = 0.02$), centraux mémoires ($p < 0.01$) et transitionnels mémoires ($p = 0.01$), chez les patients *TET2/IDH*^{mut} comparés aux patients *TET2/IDH*^{wt} (**Figure 15A**). Par ailleurs, l'étude de l'expression des récepteurs de checkpoint montrait chez les patients *TET2/IDH*^{mut} une diminution de l'expression de CD96, sans altération de l'expression des autres récepteurs LAG3, TIM-3, CTLA-4 et PD-1 (**Figure 15B**) dans les lymphocytes T CD8⁺.

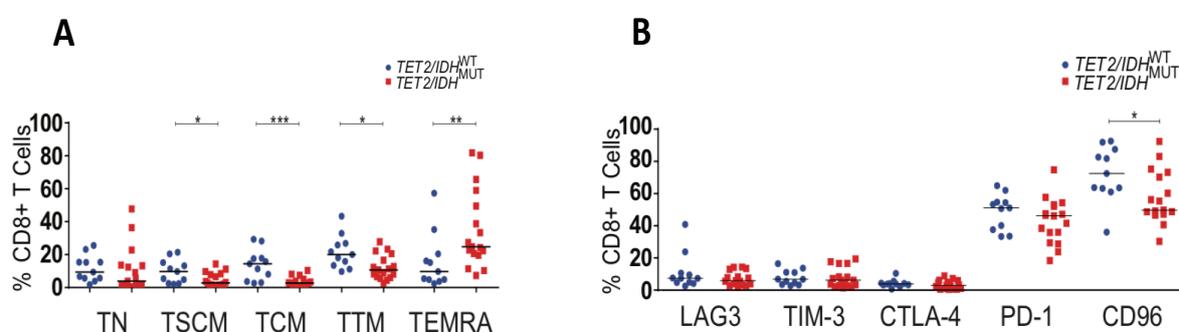


Figure 15: (A) Répartition des sous populations lymphocytaires T et (B) étude de l'expression des récepteur de checkpoint immunitaire dans les lymphocytes T CD8⁺ selon le statut mutationnel T. TN : T naïf ; TSCM : progéniteur T mémoire ; TCM : T central mémoire ; TEMRA : T effecteur mémoire.

Le statut mutationnel pour le gène *SRSF2* n'avait pas d'impact majeur sur l'homéostasie cellulaire T, ou encore l'expression à leur surface des récepteurs de checkpoint.

Ensemble, ces résultats montrent une perturbation profonde de l'homéostasie cellulaire T chez les patients *TET2/IDH^{mut}*, associée à un phénotype T activé avec potentiellement une réduction du contrôle contre l'auto-immunité. Ces résultats sont en faveur de notre hypothèse suggérant un rôle des mutations somatiques de la voie *TET2/IDH* dans la genèse des pathologies inflammatoires, en partie médiée par une dérégulation du compartiment lymphocytaire T favorisant l'auto-immunité.

D'autres études sont nécessaires afin de déterminer les mécanismes impliquant *TET2/IDH* sur les altérations phénotypiques observées dans les lymphocytes T.

Conclusion

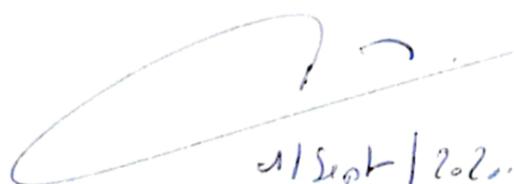
Notre étude montre une fréquence plus élevée de mutations dans les gènes *TET2*, *IDH* et *SRSF2* chez les patients présentant un SIAD associé à un SMD/LMMC, comparée à des patients présentant l'hémopathie seule.

L'association d'un SIAD à un SMD/LMMC, de même que le statut mutationnel pour les gènes *TET2/IDH* et *SRSF2* n'avait pas d'impact sur la survie globale ou sans progression.

Notre étude est la première à décrire le paysage mutationnel dans patients présentant une hémopathie myéloïde SMD/LMMC associée à un SIAD, permettant de mieux appréhender la physiopathologie associant ces deux pathologies.

Nos résultats nécessitent d'être confirmés sur des cohortes externes, et d'autres études sont nécessaires afin de comprendre le mécanisme d'action précis de ces mutations et leur rôle dans l'inflammation systémique.

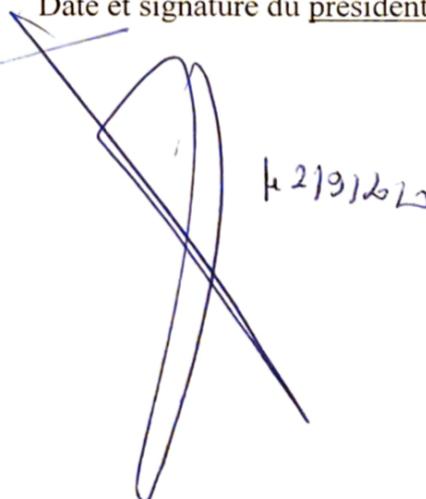
Date et signature du directeur de thèse :



21 Sept / 2020

Pr Lionel ADES
Hématologie Séniors
Hôpital Saint Louis
1, Av. Claude VELLEFAUX
75475 Paris cedex 10
Secrétariat Tél. : 01 71 20 70 18 ou 70 19
Fax : 01 71 20 70 17
N° FINESS 750100075

Date et signature du président de thèse :



12/9/2020

Bibliographie

1. Adès L, Itzykson R, Fenaux P. Myelodysplastic syndromes. *The Lancet*. 2014;383(9936):2239–2252.
2. Itzykson R, Duchmann M, Lucas N, Solary E. CMML: Clinical and molecular aspects. *Int. J. Hematol*. 2017;105(6):711–719.
3. Neukirchen J, Schoonen WM, Strupp C, et al. Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: Data from the Düsseldorf MDS-registry. *Leukemia Research*. 2011;35(12):1591–1596.
4. Germing U, Strupp C, Kundgen A, et al. No increase in age-specific incidence of myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2004;89(8):905–910.
5. Neukirchen J, Schoonen WM, Strupp C, et al. Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Düsseldorf MDS-registry. *Leuk. Res*. 2011;35(12):1591–1596.
6. Zeidan AM, Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X. Epidemiology of myelodysplastic syndromes: Why characterizing the beast is a prerequisite to taming it. *Blood Rev*. 2019;34:1–15.
7. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391–2405.
8. Smit CG, Meyler L. Acute myeloid leukaemia after treatment with cytostatic agents. *Lancet*. 1970;2(7674):671–672.
9. Karchmer RK, Amare M, Larsen WE, Mallouk AG, Caldwell GG. Alkylating agents as leukemogens in multiple myeloma. *Cancer*. 1974;33(4):1103–1107.
10. Sill H, Olipitz W, Zebisch A, Schulz E, Wölfler A. Therapy-related myeloid neoplasms: pathobiology and clinical characteristics. *British Journal of Pharmacology*. 2011;162(4):792–805.
11. Eichenauer DA, Thielen I, Haverkamp H, et al. Therapy-related acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in patients with Hodgkin lymphoma: a report from the German Hodgkin Study Group. *Blood*. 2014;123(11):1658–1664.
12. Patnaik MM, Vallapureddy R, Yalniz FF, et al. Therapy related-chronic myelomonocytic leukemia (CMML): Molecular, cytogenetic, and clinical distinctions from de novo CMML. *Am. J. Hematol*. 2018;93(1):65–73.
13. Cardis E, Vrijheid M, Blettner M, et al. Risk of cancer after low doses of ionising radiation: retrospective cohort study in 15 countries. *BMJ*. 2005;331(7508):77.
14. Iwanaga M, Hsu W-L, Soda M, et al. Risk of myelodysplastic syndromes in people exposed to ionizing radiation: a retrospective cohort study of Nagasaki atomic bomb survivors. *J. Clin. Oncol*. 2011;29(4):428–434.
15. Taguchi M, Mishima H, Shiozawa Y, et al. Genome analysis of myelodysplastic syndromes among atomic bomb survivors in Nagasaki. *Haematologica*. 2020;105(2):358–365.
16. Aksoy M. Malignancies due to occupational exposure to benzene. *Am. J. Ind. Med*. 1985;7(5–6):395–402.
17. Nisse C, Haguenoer JM, Grandbastien B, et al. Occupational and environmental risk factors of the myelodysplastic syndromes in the North of France. *Br. J. Haematol*. 2001;112(4):927–935.
18. Rigolin GM, Cuneo A, Roberti MG, et al. Exposure to myelotoxic agents and myelodysplasia: case–control study and correlation with clinicobiological findings. *British Journal of Haematology*. 1998;103(1):189–197.
19. Bannon SA, DiNardo CD. Hereditary Predispositions to Myelodysplastic Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2016;17(6):.
20. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-Related Clonal Hematopoiesis Associated with Adverse Outcomes. *New England Journal of Medicine*. 2014;371(26):2488–2498.

21. Sperling AS, Gibson CJ, Ebert BL. The genetics of myelodysplastic syndrome: from clonal haematopoiesis to secondary leukaemia. *Nature Reviews Cancer*. 2016;17(1):5–19.
22. Jaiswal S, Ebert BL. Clonal hematopoiesis in human aging and disease. *Science*. 2019;366(6465):.
23. Bonnefond A, Skrobek B, Lobbens S, et al. Association between large detectable clonal mosaicism and type 2 diabetes with vascular complications. *Nat Genet*. 2013;45(9):1040–1043.
24. Fuster JJ, MacLauchlan S, Zuriaga MA, et al. Clonal hematopoiesis associated with TET2 deficiency accelerates atherosclerosis development in mice. *Science*. 2017;355(6327):842–847.
25. Woll PS, Kjällquist U, Chowdhury O, et al. Myelodysplastic syndromes are propagated by rare and distinct human cancer stem cells in vivo. *Cancer Cell*. 2014;25(6):794–808.
26. Mian SA, Rouault-Pierre K, Smith AE, et al. SF3B1 mutant MDS-initiating cells may arise from the haematopoietic stem cell compartment. *Nat Commun*. 2015;6:.
27. Such E, Cervera J, Costa D, et al. Cytogenetic risk stratification in chronic myelomonocytic leukemia. *Haematologica*. 2011;96(3):375–383.
28. Walter MJ, Shen D, Shao J, et al. Clonal diversity of recurrently mutated genes in myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2013;27(6):1275–1282.
29. Gerstung M, Pellagatti A, Malcovati L, et al. Combining gene mutation with gene expression data improves outcome prediction in myelodysplastic syndromes. *Nat Commun*. 2015;6(1):1–11.
30. Inoue S, Lemonnier F, Mak TW. Roles of IDH1/2 and TET2 mutations in myeloid disorders. *International Journal of Hematology*. 2016;103(6):627–633.
31. Malcovati L, Stevenson K, Papaemmanuil E, et al. SF3B1-mutant MDS as a distinct disease subtype: a proposal from the International Working Group for the Prognosis of MDS. *Blood*. 2020;136(2):157–170.
32. Meggendorfer M, Roller A, Haferlach T, et al. SRSF2 mutations in 275 cases with chronic myelomonocytic leukemia (CMML). *Blood*. 2012;120(15):3080–3088.
33. Silva-Coelho P da, Kroeze LI, Yoshida K, et al. Clonal evolution in myelodysplastic syndromes. *Nat Commun*. 2017;8(1):1–11.
34. Lodé L, Ménard A, Flet L, et al. Emergence and evolution of TP53 mutations are key features of disease progression in myelodysplastic patients with lower-risk del(5q) treated with lenalidomide. *Haematologica*. 2018;103(4):e143–e146.
35. Parker JE, Mufti GJ, Rasool F, et al. The role of apoptosis, proliferation, and the Bcl-2-related proteins in the myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia secondary to MDS. *Blood*. 2000;96(12):3932–3938.
36. Kerbauy DB, Deeg HJ. Apoptosis and anti-apoptotic mechanisms in the progression of MDS. *Exp Hematol*. 2007;35(11):1739–1746.
37. Claessens Y-E, Bouscary D, Dupont J-M, et al. In vitro proliferation and differentiation of erythroid progenitors from patients with myelodysplastic syndromes: evidence for Fas-dependent apoptosis. *Blood*. 2002;99(5):1594–1601.
38. Bhagat TD, Zhou L, Sokol L, et al. miR-21 mediates hematopoietic suppression in MDS by activating TGF- β signaling. *Blood*. 2013;121(15):2875–2881.
39. Ershler WB, Ross J, Finlay JL, Shahidi NT. Bone-marrow microenvironment defect in congenital hypoplastic anemia. *N. Engl. J. Med*. 1980;302(24):1321–1327.
40. Weidner H, Rauner M, Trautmann F, et al. Myelodysplastic syndromes and bone loss in mice and men. *Leukemia*. 2017;31(4):1003–1007.
41. Flynn CM, Kaufman DS. Donor Cell Leukemia: Insight into cancer stem cells and the stem cell niche. *Blood*. 2006;blood-2006-07-021980.
42. Balderman SR, Li AJ, Hoffman CM, et al. Targeting of the bone marrow microenvironment improves outcome in a murine model of myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2016;127(5):616–625.
43. Li AJ, Calvi LM. The microenvironment in myelodysplastic syndromes: Niche-mediated disease initiation and progression. *Exp. Hematol*. 2017;55:3–18.

44. Poon Z, Dighe N, Venkatesan SS, et al. Bone marrow MSCs in MDS: contribution towards dysfunctional hematopoiesis and potential targets for disease response to hypomethylating therapy. *Leukemia*. 2018;
45. Wetzler M, Estrov Z, Talpaz M, et al. Leukemia inhibitory factor in long-term adherent layer cultures: increased levels of bioactive protein in leukemia and modulation by IL-4, IL-1 beta, and TNF-alpha. *Cancer Res*. 1994;54(7):1837–1842.
46. Zang DY, Goodwin RG, Loken MR, Bryant E, Deeg HJ. Expression of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, Apo2L, and its receptors in myelodysplastic syndrome: effects on in vitro hemopoiesis. *Blood*. 2001;98(10):3058–3065.
47. Kordasti SY, Ingram W, Hayden J, et al. CD4+CD25high Foxp3+ regulatory T cells in myelodysplastic syndrome (MDS). *Blood*. 2007;110(3):847–850.
48. Kordasti SY, Afzali B, Lim Z, et al. IL-17-producing CD4+ T cells, pro-inflammatory cytokines and apoptosis are increased in low risk myelodysplastic syndrome. *British Journal of Haematology*. 2009;145(1):64–72.
49. Chen X, Eksioglu EA, Zhou J, et al. Induction of myelodysplasia by myeloid-derived suppressor cells. *J. Clin. Invest*. 2013;123(11):4595–4611.
50. Epling-Burnette PK, Bai F, Painter JS, et al. Reduced natural killer (NK) function associated with high-risk myelodysplastic syndrome (MDS) and reduced expression of activating NK receptors. *Blood*. 2007;109(11):4816–4824.
51. Selimoglu-Buet D, Wagner-Ballon O, Saada V, et al. Characteristic repartition of monocyte subsets as a diagnostic signature of chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 2015;125(23):3618–3626.
52. Cherian S, Moore J, Bantly A, et al. Peripheral blood MDS score: a new flow cytometric tool for the diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Cytometry B Clin Cytom*. 2005;64(1):9–17.
53. Raskovalova T, Berger MG, Jacob M-C, et al. Flow cytometric analysis of neutrophil myeloperoxidase expression in peripheral blood for ruling out myelodysplastic syndromes. A diagnostic accuracy study. *Haematologica*. 2019;
54. Schanz J, Tüchler H, Solé F, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J. Clin. Oncol*. 2012;30(8):820–829.
55. Pfeilstöcker M, Reisner R, Nösslinger T, et al. Cross-validation of prognostic scores in myelodysplastic syndromes on 386 patients from a single institution confirms importance of cytogenetics. *Br. J. Haematol*. 1999;106(2):455–463.
56. Itzykson R, Thépot S, Quesnel B, et al. Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. *Blood*. 2011;117(2):403–411.
57. Itzykson R, Thépot S, Quesnel B, et al. Long-term outcome of higher-risk MDS patients treated with azacitidine: an update of the GFM compassionate program cohort. *Blood*. 2012;119(25):6172–6173.
58. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(12):2454–2465.
59. Such E, Germing U, Malcovati L, et al. Development and validation of a prognostic scoring system for patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 2013;121(15):3005–3015.
60. Della Porta MG, Picone C, Tenore A, et al. Prognostic significance of reproducible immunophenotypic markers of marrow dysplasia. *Haematologica*. 2014;99(1):e8–10.
61. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, et al. Clinical Effect of Point Mutations in Myelodysplastic Syndromes. *New England Journal of Medicine*. 2011;364(26):2496–2506.
62. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2014;28(2):241–247.
63. Platzbecker U. Treatment of MDS. *Blood*. 2019;133(10):1096–1107.

64. Itzykson R, Fenaux P. [Hypomethylating agents for the treatment of myelodysplastic syndromes]. *Bull Cancer*. 2011;98(8):927–934.
65. Fenaux P, Platzbecker U, Mufti GJ, et al. Luspatercept in Patients with Lower-Risk Myelodysplastic Syndromes. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(2):140–151.
66. Garcia-Manero G, Roboz G, Walsh K, et al. Guadecitabine (SGI-110) in patients with intermediate or high-risk myelodysplastic syndromes: phase 2 results from a multicentre, open-label, randomised, phase 1/2 trial. *The Lancet Haematology*. 2019;6(6):e317–e327.
67. Lehmann S, Bykov VJN, Ali D, et al. Targeting p53 in vivo: a first-in-human study with p53-targeting compound APR-246 in refractory hematologic malignancies and prostate cancer. *J. Clin. Oncol*. 2012;30(29):3633–3639.
68. Anderson LA, Pfeiffer RM, Landgren O, et al. Risks of myeloid malignancies in patients with autoimmune conditions. *Br. J. Cancer*. 2009;100(5):822–828.
69. Fain O, Hamidou M, Cacoub P, et al. Vasculitides associated with malignancies: analysis of sixty patients. *Arthritis Rheum*. 2007;57(8):1473–1480.
70. Roupie AL, Guedon A, Terrier B, et al. Vasculitis associated with myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia: French multicenter case-control study. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 2020;
71. Mekinian A, Dervin G, Lapidus N, et al. Biologics in myelodysplastic syndrome-related systemic inflammatory and autoimmune diseases: French multicenter retrospective study of 29 patients. *Autoimmun Rev*. 2017;16(9):903–910.
72. Wesner N, Drevon L, Guedon A, et al. Gastrointestinal Behcet’s-like disease with myelodysplastic neoplasms with trisomy 8: a French case series and literature review. *Leuk. Lymphoma*. 2018;1–7.
73. Fain O, Hamidou M, Cacoub P, et al. Vasculitides associated with malignancies: Analysis of sixty patients. *Arthritis Care & Research*. 2007;57(8):1473–1480.
74. Hamidou MA, Boumalassa A, Larroche C, et al. Systemic medium-sized vessel vasculitis associated with chronic myelomonocytic leukemia. *Semin. Arthritis Rheum*. 2001;31(2):119–126.
75. Mekinian A, Grignano E, Braun T, et al. Systemic inflammatory and autoimmune manifestations associated with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia: a French multicentre retrospective study. *Rheumatology (Oxford)*. 2016;55(2):291–300.
76. Paira S, Graf C, Roverano S, Rossini J. Remitting seronegative symmetrical synovitis with pitting oedema: a study of 12 cases. *Clin. Rheumatol*. 2002;21(2):146–149.
77. Dion J, Leroux G, Mouthon L, Piette J-C, Costedoat-Chalumeau N. Polychondrite atrophiant : actualités en 2017. *La Revue de Médecine Interne*. 2018;39(6):400–407.
78. Mekinian A, Grignano E, Braun T, et al. Systemic inflammatory and autoimmune manifestations associated with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia: a French multicentre retrospective study. *Rheumatology (Oxford)*. 2016;55(2):291–300.
79. Osio A, Battistella M, Feugeas J-P, et al. Myelodysplasia Cutis Versus Leukemia Cutis. *The Journal of investigative dermatology*. 2015;135:.
80. Wong T-Y, Suster S, Bouffard D, et al. Histologic Spectrum of Cutaneous Involvement in Patients with Myelogenous Leukemia Including the Neutrophilic Dermatoses. *International Journal of Dermatology*. 1995;34(5):323–329.
81. Vignon-Pennamen M-D, Juillard C, Rybojad M, et al. Chronic recurrent lymphocytic Sweet syndrome as a predictive marker of myelodysplasia: a report of 9 cases. *Arch Dermatol*. 2006;142(9):1170–1176.
82. Morioka N, Otsuka F, Nogita T, et al. Neutrophilic dermatosis with myelodysplastic syndrome: nuclear segmentation anomalies of neutrophils in the skin lesion and in peripheral blood. *J. Am. Acad. Dermatol*. 1990;23(2 Pt 1):247–249.
83. DeFilippis EM, Feldman SR, Huang WW. The genetics of pyoderma gangrenosum and implications for treatment: a systematic review. *Br. J. Dermatol*. 2015;172(6):1487–1497.

84. Al Ustwani O, Ford LA, Sait SJN, et al. Myelodysplastic syndromes and autoimmune diseases--case series and review of literature. *Leuk. Res.* 2013;37(8):894–899.
85. Komrokji RS, Kulasekararaj A, Al Ali NH, et al. Autoimmune diseases and myelodysplastic syndromes. *Am. J. Hematol.* 2016;91(5):E280-283.
86. Piette JC, Papo T, Chavanon P, et al. Myelodysplasia and relapsing polychondritis. *J. Rheumatol.* 1995;22(6):1208–1209.
87. Lee SJ, Park JK, Lee EY, et al. Certain Autoimmune Manifestations Are Associated With Distinctive Karyotypes and Outcomes in Patients With Myelodysplastic Syndrome: A Retrospective Cohort Study. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(13):e3091.
88. Tada Y, Koarada S, Haruta Y, et al. The association of Behçet’s disease with myelodysplastic syndrome in Japan: a review of the literature. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2006;24(5 Suppl 42):S115-119.
89. Sloand EM, Mainwaring L, Fuhrer M, et al. Preferential suppression of trisomy 8 compared with normal hematopoietic cell growth by autologous lymphocytes in patients with trisomy 8 myelodysplastic syndrome. *Blood.* 2005;106(3):841–851.
90. Sloand EM, Melenhorst JJ, Tucker ZCG, et al. T-cell immune responses to Wilms tumor 1 protein in myelodysplasia responsive to immunosuppressive therapy. *Blood.* 2011;117(9):2691–2699.
91. Sloand EM, Melenhorst JJ, Tucker ZCG, et al. T-cell immune responses to Wilms tumor 1 protein in myelodysplasia responsive to immunosuppressive therapy. *Blood.* 2011;117(9):2691–2699.
92. Chen G, Zeng W, Miyazato A, et al. Distinctive gene expression profiles of CD34 cells from patients with myelodysplastic syndrome characterized by specific chromosomal abnormalities. *Blood.* 2004;104(13):4210–4218.
93. Mekinian A, Grignano E, Braun T, et al. Systemic inflammatory and autoimmune manifestations associated with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia: a French multicentre retrospective study. *Rheumatology (Oxford).* 2016;55(2):291–300.
94. Marisavljevic D, Kraguljac N, Rolovic Z. Immunologic Abnormalities in Myelodysplastic Syndromes: Clinical Features and Characteristics of the Lymphoid Population. *Medical Oncology.* 2006;23(3):385–392.
95. Novaretti MC, Sopelete CR, Velloso ER, et al. Immunohematological findings in myelodysplastic syndrome. *Acta Haematol.* 2001;105(1):1–6.
96. Okamoto T, Okada M, Mori A, et al. Correlation between immunological abnormalities and prognosis in myelodysplastic syndrome patients. *Int. J. Hematol.* 1997;66(3):345–351.
97. Enright H, Jacob HS, Vercellotti G, et al. Paraneoplastic autoimmune phenomena in patients with myelodysplastic syndromes: response to immunosuppressive therapy. *British Journal of Haematology.* 1995;91(2):403–408.
98. Segulier J, Gelsi-Boyer V, Ebbo M, et al. Autoimmune diseases in myelodysplastic syndrome favors patients survival: A case control study and literature review. *Autoimmun Rev.* 2019;18(1):36–42.
99. Kristinsson SY, Björkholm M, Hulcrantz M, et al. Chronic immune stimulation might act as a trigger for the development of acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndromes. *J. Clin. Oncol.* 2011;29(21):2897–2903.
100. Wilson AB, Neogi T, Prout M, Jick S. Relative risk of myelodysplastic syndromes in patients with autoimmune disorders in the General Practice Research Database. *Cancer Epidemiol.* 2014;38(5):544–549.
101. Okamoto H, Teramura M, Kamatani N. Myelodysplastic syndrome associated with low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis. *Ann Pharmacother.* 2004;38(1):172–173.
102. Reinhold-Keller E, Beuge N, Latza U, et al. An interdisciplinary approach to the care of patients with Wegener’s granulomatosis: long-term outcome in 155 patients. *Arthritis Rheum.* 2000;43(5):1021–1032.

103. McCarthy CJ, Sheldon S, Ross CW, McCune WJ. Cytogenetic abnormalities and therapy-related myelodysplastic syndromes in rheumatic disease. *Arthritis Rheum.* 1998;41(8):1493–1496.
104. Baumann I, Scheid C, Koref MS, et al. Autologous lymphocytes inhibit hemopoiesis in long-term culture in patients with myelodysplastic syndrome. *Exp. Hematol.* 2002;30(12):1405–1411.
105. Sloan EM, Wu CO, Greenberg P, Young N, Barrett J. Factors affecting response and survival in patients with myelodysplasia treated with immunosuppressive therapy. *J. Clin. Oncol.* 2008;26(15):2505–2511.
106. Sloan EM, Olnes MJ, Shenoy A, et al. Alemtuzumab treatment of intermediate-1 myelodysplasia patients is associated with sustained improvement in blood counts and cytogenetic remissions. *J. Clin. Oncol.* 2010;28(35):5166–5173.
107. Fozza C, Longinotti M. Are T-cell dysfunctions the other side of the moon in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes? *Eur. J. Haematol.* 2012;88(5):380–387.
108. Arends CM, Galan-Sousa J, Hoyer K, et al. Hematopoietic lineage distribution and evolutionary dynamics of clonal hematopoiesis. *Leukemia.* 2018;32(9):1908–1919.
109. Smith AE, Mohamedali AM, Kulasekararaj A, et al. Next-generation sequencing of the TET2 gene in 355 MDS and CMML patients reveals low-abundance mutant clones with early origins, but indicates no definite prognostic value. *Blood.* 2010;116(19):3923–3932.
110. Pilorge S, Doleris LM, Dreyfus F, Park S. The autoimmune manifestations associated with myelodysplastic syndrome respond to 5-azacytidine: a report on three cases: Correspondence. *British Journal of Haematology.* 2011;153(5):664–665.
111. Tanaka H, Shimizu N, Tougasaki E, et al. Successful treatment by azacitidine therapy of intestinal Behçet's disease associated with myelodysplastic syndrome. *International Journal of Hematology.* 2013;97(4):520–524.
112. Ribera J-M. Leukaemic vasculitis from myelodysplastic syndrome in context. *The Lancet.* 2015;386(9992):502.
113. Al Ustwani O, Francis J, Wallace PK, Ambrus J, Wetzler M. Treating myelodysplastic syndrome improves an accompanying autoimmune disease along with a reduction in regulatory T-cells. *Leukemia Research.* 2011;35(5):e35–e36.
114. Fraison J-B, Mekinian A, Grignano E, et al. Efficacy of Azacitidine in autoimmune and inflammatory disorders associated with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia. *Leuk. Res.* 2016;43:13–17.
115. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis & Rheumatology.* 2019;71(9):1400–1412.
116. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, et al. 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis & Rheumatism.* 2013;65(1):1–11.
117. International Team for the Revision of the International Criteria for Behçet's Disease (ITR-ICBD), Davatchi F, Assaad-Khalil S, et al. The International Criteria for Behçet's Disease (ICBD): a collaborative study of 27 countries on the sensitivity and specificity of the new criteria. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* 2014;28(3):338–347.
118. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Annals of the Rheumatic Diseases.* 2010;69(9):1580–1588.
119. Nofal A, Abdelmaksoud A, Amer H, et al. Sweet's syndrome: diagnostic criteria revisited: Sweet's syndrome: revised criteria. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft.* 2017;15(11):1081–1088.
120. Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood.* 2009;113(11):2386–2393.
121. Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, et al. Clinical application and proposal for

- modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood*. 2006;108(2):419–425.
122. Waitkus MS, Diplas BH, Yan H. Biological Role and Therapeutic Potential of IDH Mutations in Cancer. *Cancer Cell*. 2018;34(2):186–195.
 123. Fain O, Braun T, Stirnemann J, Fenaux P. [Systemic and autoimmune manifestations in myelodysplastic syndromes]. *Rev Med Interne*. 2011;32(9):552–559.
 124. Damm F, Thol F, Kosmider O, et al. SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes: clinical associations and prognostic implications. *Leukemia*. 2012;26(5):1137–1140.
 125. Papaemmanuil E, Cazzola M, Boultonwood J, et al. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N. Engl. J. Med*. 2011;365(15):1384–1395.
 126. Sallman DA, List A. The central role of inflammatory signaling in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2019;133(10):1039–1048.
 127. Becker K, Fitzgerald O, Green AJ, et al. Constitutional trisomy 8 and Behçet syndrome. *Am. J. Med. Genet. A*. 2009;149A(5):982–986.
 128. Itzykson R, Kosmider O, Cluzeau T, et al. Impact of TET2 mutations on response rate to azacitidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia*. 2011;25(7):1147–1152.
 129. Oh Y-J, Shin D-Y, Hwang SM, et al. Mutation of ten-eleven translocation-2 is associated with increased risk of autoimmune disease in patients with myelodysplastic syndrome. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 2019;
 130. Wang Y, Xiao M, Chen X, et al. WT1 Recruits TET2 to Regulate Its Target Gene Expression and Suppress Leukemia Cell Proliferation. *Molecular Cell*. 2015;57(4):662–673.
 131. Feng Y, Li X, Cassady K, Zou Z, Zhang X. TET2 Function in Hematopoietic Malignancies, Immune Regulation, and DNA Repair. *Frontiers in Oncology*. 2019;9:.
 132. Shih AH, Abdel-Wahab O, Patel JP, Levine RL. The role of mutations in epigenetic regulators in myeloid malignancies. *Nature Reviews Cancer*. 2012;12(9):599–612.
 133. Medeiros BC, Fathi AT, DiNardo CD, et al. Isocitrate dehydrogenase mutations in myeloid malignancies. *Leukemia*. 2017;31(2):272–281.
 134. Inoue S, Lemonnier F, Mak TW. Roles of IDH1/2 and TET2 mutations in myeloid disorders. *Int. J. Hematol*. 2016;103(6):627–633.
 135. Ko M, Huang Y, Jankowska AM, et al. Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant TET2. *Nature*. 2010;468(7325):839–843.
 136. Quivoron C, Couronné L, Della Valle V, et al. TET2 inactivation results in pleiotropic hematopoietic abnormalities in mouse and is a recurrent event during human lymphomagenesis. *Cancer Cell*. 2011;20(1):25–38.
 137. Moran-Crusio K, Reavie L, Shih A, et al. Tet2 Loss Leads to Increased Hematopoietic Stem Cell Self-Renewal and Myeloid Transformation. *Cancer Cell*. 2011;20(1):11–24.
 138. Sasaki M, Knobbe CB, Munger JC, et al. IDH1(R132H) mutation increases murine haematopoietic progenitors and alters epigenetics. *Nature*. 2012;488(7413):656–659.
 139. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-Related Clonal Hematopoiesis Associated with Adverse Outcomes. *New England Journal of Medicine*. 2014;371(26):2488–2498.
 140. Sano S, Oshima K, Wang Y, et al. Tet2-Mediated Clonal Hematopoiesis Accelerates Heart Failure Through a Mechanism Involving the IL-1 β /NLRP3 Inflammasome. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2018;71(8):875–886.
 141. Ichihama K, Chen T, Wang X, et al. The Methylcytosine Dioxygenase Tet2 Promotes DNA Demethylation and Activation of Cytokine Gene Expression in T Cells. *Immunity*. 2015;42(4):613–626.
 142. Nakatsukasa H, Yoshimura A. TET2 and TET3 regulate stability and function of regulatory T cells. *The Journal of Immunology*. 2017;198(1 Supplement):212.7–212.7.
 143. Lee SC-W, North K, Kim E, et al. Synthetic Lethal and Convergent Biological Effects of

- Cancer-Associated Spliceosomal Gene Mutations. *Cancer Cell*. 2018;34(2):225-241.e8.
144. Savola P, Lundgren S, Keränen MAI, et al. Clonal hematopoiesis in patients with rheumatoid arthritis. *Blood Cancer Journal*. 2018;8(8):1–5.
145. Ricard L, Hirsch P, Largeaud L, et al. Clonal haematopoiesis is increased in early onset in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*.

Résumé

Titre : Les mutations de la voie épigénétique *TET2* et *IDH*, et *SRSF2* sont associées aux Syndromes Myélodysplasiques avec Maladies Auto-Immunes et Systémiques

Résumé :

Environ 25 % des Syndromes Myélodysplasiques (SMD) et des Leucémies Myélomonocytaires Chronique (LMMC) sont associés à des Maladies Inflammatoires et Auto-immunes Systémiques (SIAD). Dans cette étude française rétrospective unicentrique, nous avons décrit le paysage mutationnel des SMD/CMML avec SIAD. 85 patients atteints de SMD/LMMC avec SIAD ont été comparés à une cohorte témoin de 319 patients atteints de SMD/CMML sans SIAD. La présence de SIAD n'avait pas d'impact sur la survie globale ou sans progression du SMD/LMMC. Les mutations de *TET2* (39/85 (46%) contre 108/319 (34%), $p=0,04$), d'*IDH1/2* (12/85 (14%), contre 14/319 (4%), $p<0,01$) et de *SRSF2* (26/85 (31%) contre 47/319 (15%), $p<0,01$) étaient significativement plus fréquentes chez les patients atteints de SMD/CMML avec SIAD. Les mutations de *TET2/IDH* et de *SRSF2* étaient significativement moins fréquentes dans le groupe des vascularites systémiques. Le phénotypage des lymphocytes T en cytométrie de flux chez 28 patients atteints de SMD/LMMC (dont 12 avec SIAD) a montré une réduction significative de l'expression du récepteur de checkpoint CD96 sur les lymphocytes CD8+ T ($p<0,05$) chez les patients avec un SMD/LMMC *TET2/IDH*^{mut}, associée à une dérégulation majeure dans de l'homéostasie cellulaire T CD8+. Notre étude fournit une description moléculaire des SMD/LMMC associés au SIAD, et suggère que les régulateurs épigénétiques *TET2/IDH* peuvent jouer un rôle dans la pathogénie commune aux SMD/LMMC et aux SIAD. D'autres études sont nécessaires pour évaluer plus précisément la fonction de *TET2/IDH* dans la perturbation d'homéostasie de cellule T.

Mots clés : Syndromes myélodysplasiques, auto-immunité, maladies auto-immunes et systémiques, *TET2*, *IDH1*, *IDH2*, *SRSF2*

Title : Mutations in *TET2/IDH* and *SRSF2* in MDS/CMML patients are associated with Systemic and Inflammatory Autoimmune disorders

Abstract :

About 25% of Myelodysplastic Syndromes (MDS) and Chronic Myelomonocytic Leukemia (CMML) are associated with Systemic Inflammatory and Autoimmune Diseases (SIAD). In this French single center retrospective study, we described the mutational landscape of MDS/CMML patients with SIAD. 85 MDS/CMML patients with SIAD were compared to a control cohort of 319 MDS/CMML patients without SIAD. Presence of SIAD had no impact on MDS/CMML progression or survival. *TET2* mutations (39/85 (46%) versus 108/319 (34%), $p=0.04$), *IDH1/2* mutations (12/85 (14%), versus 14/319 (4%), $p<0.01$) and *SRSF2* mutations (26/85 (31%) versus 47/319 (15%), $p<0.01$) were significantly more frequent in MDS/CMML patients with SIAD. There was significantly less *TET2/IDH*^{mut} patients with systemic inflammatory vasculitis. T cells phenotyping in 28 MDS/CMML patients (n=12 of whom with SIAD) showed a significant reduction of a specific immune checkpoint regulator CD96 on CD8+ T lymphocytes ($p<0.05$) in *TET2/IDH*^{mut} MDS/CMML patients, and major dysregulation in CD8+ T cell phenotype.

Our study provides a molecular description of MDS/CMML associated with SIAD, and suggests that the epigenetic regulators *TET2/IDH* may play a role in the pathogenesis of both MDS/CMML and SIAD. Further studies are warranted to more precisely assess the function of *TET2/IDH* in T cell homeostasis disruption.

Keywords: Myelodysplastic Syndromes, Systemic and Inflammatory Autoimmune Diseases, *TET2*, *IDH1*, *IDH2*, *SRSF2*

Université Paris Descartes
Faculté de Médecine Paris Descartes
15, rue de l'École de Médecine
75270 Paris cedex 06

Annexes

Annexe 1 : Caractéristiques des patients inclus dans l'étude biologique (phénotypage T)

Patient	Sex	Age	MDS Diagnosis	R-IPSS	Karyotype	SIAD	Mutation
#1	f	74	MDS-MLD	low	normal	Maladie de Horton	<i>TET2</i>
#2	m	70	MDS-EB1	int	normal	PTI	<i>TET2, SRSF2</i>
#3	m	76	CMML	low	normal	Pseudo polyarthrite rhizomélique	<i>IDH2, SRSF2</i>
#4	m	77	MDS-MLD	low	normal	Pyoderma Gangrenosum	-
#5	m	78	CMML	int	normal	Polychondrite atrophiante	-
#6	f	73	CMML	low	normal	Polyarthrite rhumatoïde	<i>TET2, SRSF2</i>
#7	m	67	CMML	low	normal	Polyarthrite rhumatoïde	<i>TET2</i>
#8	m	78	MDS-MLD	very low	del(20q)	Polyarthrite rhumatoïde	-
#9	f	85	MDS-EB1	high	del(12)	Polyarthrite rhumatoïde	-
#10	f	76	MDS-EB1	low	del(5q)	Lupus érythémateux disséminé	<i>TET2</i>
#11	m	88	CMML	low	normal	Sclérodermie systémique	<i>IDH1, SRSF2</i>
#12	m	79	MDS-SLD	low	normal	Non classé	-
#13	m	69	CMML	int	normal	-	<i>TET2</i>
#14	f	83	MDS-EB1	low	normal	-	<i>TET2</i>
#15	f	78	MLD-RS	int	normal	-	<i>TET2</i>
#16	m	60	EB1	int	normal	-	<i>TET2</i>
#17	m	88	MLD-RS	low	-Y	-	<i>TET2</i>
#18	m	66	CMML	low	normal	-	<i>TET2, SRSF2</i>
#19	f	75	MDS-SLD	low	normal	-	-
#20	f	74	MDS-SLD	low	normal	-	-
#21	m	66	MDS-SLD-RS	low	normal	-	-
#22	f	62	MDS-SLD	int	normal	-	-
#23	m	73	MDS-SLD	int	normal	-	<i>TET2</i>
#24	m	85	CMML	low	normal	-	<i>TET2</i>
#25	f	73	MDS-EB1	int	normal	-	<i>TET2, SRSF2</i>
#26	m	63	MLD-RS	int	normal	-	<i>TET2</i>
#27	m	72	MDS-SLD-RS	int	del(7q)	-	-
#28	f	71	MDS-SLD-RS	int	t(1;14)	-	-