

**UNIVERSITÉ DE PARIS**

Faculté de Santé

**UFR de Médecine**

**Année 2021**

**N°**

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

Présentée et soutenue publiquement le 4 octobre 2021

Par

**Matthieu JESTIN**

**Impact pronostique de la répartition  
des sous-populations monocytaires évaluée par cytométrie en flux  
dans la leucémie myélomonocytaire chronique**

**JURY**

Président : M. le Professeur Raphaël ITZYKSON

Directrice : Mme le Professeur Oriane WAGNER-BALLON

Membres : M. le Professeur Thomas CLUZEAU

Mme le Docteur Eolia BRISSOT

Mme le Docteur Dorothée SELIMOGLU-BUET

## **AVERTISSEMENT**

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2 - L 335.10

## Remerciements

---

### ***Aux membres de mon jury dont je suis très fier pour sa diversité***

**À M le Professeur Raphaël Itzykson**, pour me faire l'honneur de présider mon jury de thèse avec toute son expertise de la LMMC et avec qui j'aurai la chance de travailler durant mon clinicat.

**À Mme le Docteur Dorothee Selimoglu-Buet**, pour nous avoir accompagnés tout au long de ce projet et pour avoir apporté tant de pistes de réflexion et de perspectives. Merci pour ta disponibilité et ton esprit critique.

**À Mme le Docteur Eolia Brissot**, pour toute sa gentillesse et sa bienveillance lors de mon premier stage d'internat. Cela me tenait particulièrement à cœur que tu fasses partie de ce jury.

**À M le Professeur Thomas Cluzeau**, pour avoir accepté de rejoindre mon jury de thèse avec toute sa connaissance des syndromes myélodysplasiques.

**À Mme le Professeur Orianne Wagner-Ballon**, pour m'avoir encadré tout au long de ce travail. Je suis ravi que ce projet de recherche soit devenu ma thèse de médecine pour sa transversalité clinico-biologique qui caractérise l'Hématologie. Je n'aurais pu espérer meilleure directrice de thèse. Merci pour ta confiance, le temps que tu as toujours su m'accorder et ta joie de vivre.

### ***Aux personnes qui ont largement participé à ce travail***

**Au Professeur Eric Solary**, pour sa relecture experte ayant permis l'aboutissement de ce projet de recherche.

**Au Docteur Sihem Tarfi**, pour ton aide précieuse dans ce projet que tu connais si bien. Merci également à toute l'équipe du laboratoire d'Hématologie biologique de l'Hôpital Henri-Mondor.

**Au Docteur Matthieu Duchmann**, pour avoir accepté de faire les statistiques de notre étude. J'espère sincèrement continuer à mieux te connaître à l'avenir.

### ***Aux personnes que j'ai rencontrées et qui ont contribué à ma formation***

**A mes co-internes**, Viviane, Tony, Jean-Edouard, Carmen, Simona, Nicole, Amandine, Jérémy, Juliette, Nicolas, Julien, Thomas, Justine, Naëlle, Quentin, Ilaria, Lina, Marco, Livia, Marie, Clothilde, Caroline, Pierre-Edouard, Juliette, Vincent, Alice, Alexandre, Romain, Maya, Amélie, Rémi et Guillaume, avec qui ça a toujours été un plaisir de travailler et souvent bien plus que ça.

**A mes chefs**, les meilleurs qu'on puisse avoir, Giorgia, Anna-Lisa, Fédérica, Nabaz, Alexis, Ilhem, Aurélie, Bouchra, Adrien, Yannick, Jean-Jacques, Clémence, Adrien, Anne, Alexandra, Claire et Emmanuel pour m'avoir appris l'exercice de la médecine dans la bonne humeur. Mention spéciale à Nathalie pour avoir osé me faire expérimenter la ponction médullaire.

**Au Professeur Nicolas Boissel**, de m'accueillir dans son service d'Adolescents Jeunes Adultes dont l'esprit et la dynamique m'ont tant plu. Je suis très heureux de rejoindre à nouveau cette belle équipe.

**Au Professeur Paul Coppo, au Docteur Nathalie Dhédin et au Docteur Sandrine Valade** pour m'avoir donné l'opportunité de travailler avec eux sur des projets de recherche dans l'intérêt des patients. Merci également à Sandrine Malot pour son investissement sans faille.

**Aux Professeurs Mohamad Mohty, Bertrand Arnulf, Lara Zafrani, Elie Azoulay, Olivier Hermine, Fanny Lanternier et Olivier Lortholary** pour leurs enseignements tant sur le plan médical qu'humain.

**A toute l'équipe du laboratoire du Professeur Sophie Caillat-Zucman** pour m'avoir accompagné lors de mes premiers pas dans le monde de la recherche et en particulier au Pr Sophie Caillat-Zucman pour toute sa gentillesse et sa bienveillance, et à Marie et Armelle pour leur confiance, leur patience et leur bonne humeur.

**A tout le personnel para-médical, aux infirmières, aux secrétaires, aux assistantes sociales et aux aides soignantes** que j'ai pu rencontrer au cours de mes différents stages d'interne et qui m'ont également beaucoup apporté. Je pense particulièrement à Francine, Nadia, Joséphine, Amandine, Christelle, Tania, Camille, Anne-Sophie, Jessica, Liliane et Laurence.

**Aux patients et à leur famille.**

### **A mon entourage personnel qui m'a accompagné pendant toutes ses années**

**A mes copains d'enfance, de lycée et de fac, Madeleine, Nicolas, Clara, Floriane, Clémentine, Pauline, Tiphaine, Marianne, Maxime, Laurélie, Nicolas, Jeanne-Lucie, Claire, Fanny, Marc, Vincent, Camille, Florian, Arthur, Julien, Alban, Fanny, Liza, Iona, Brendan, Eloi, Arnaud, Eymeric, Pauline, Juliette, Ségolène, Lucie, Sonia et Virginie.**

**A mes amis les plus proches, Chloé, Romain, Marine, Victor, Antoine, Séverin, Angéline, Priscille, Julien, Pierre-André, Gwladys et Nathalie** que j'ai la chance d'avoir et qui m'aident à être la personne que je suis.

**A Corentin,** pour m'avoir accompagné ces dernières années. Merci pour toutes ces choses ce que tu m'as apportées et qui me restent encore aujourd'hui.

**A Dikélé,** la plus belle rencontre de mon internat et qui est maintenant bien plus que ça.

**A Yasmine,** pour avoir été ma plus fidèle camarade d'études. Merci d'être toujours là pour moi. Je réalise la chance que j'ai de faire partie de tes amis.

**A Catherine, Sébastien et Lucille** qui font maintenant partie de la famille.

**A mes oncles, tantes, cousins et cousines** d'avoir suivi mon parcours de près avec fierté.

**A mes grands-parents, Mamoun et Papoun,** auprès de qui j'ai eu la chance de passer mes six premières années d'études et à Mamy et Papy, qui m'ont transmis la fibre de la médecine. Je mesure la chance que j'ai de vous avoir encore tous les 4 à mes côtés. Merci de m'avoir inculqué vos valeurs.

**A mes parents, Catherine et Philippe et à mes frères et sœur, Geoffroy, Martin et Clémence,** pour l'amour qu'ils m'apportent au quotidien et pour m'avoir soutenu à chaque étape de ma vie. Grâce à vous, j'ai le plus bel exemple du sens de la famille.

**Résumé :**

Une accumulation relative de monocytes classiques (MO1, CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>) ≥94% des monocytes totaux circulants, déterminée par cytométrie en flux, permet de distinguer la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) des autres étiologies de monocytose périphérique. Pour évaluer l'impact pronostique de la répartition des sous-populations monocytaires, nous avons étudié le devenir de 107 patients atteints de LMMC, diagnostiquée selon les critères de la classification OMS révisée en 2017, dans quatre centres. Une accumulation de MO1 ≥94% était retrouvée comme attendu chez 98 patients (92%) tandis que les neuf patients restants (8%) présentaient un profil phénotypique dit inflammatoire avec un aspect en bulbe et un pourcentage de MO1 <94%. Après un suivi médian de 26,7 mois [IQR, 13,3 - 35,5], 38% des patients étaient décédés, le plus souvent en raison d'une évolution en leucémie aiguë. En analyse multivariée, le profil phénotypique dit inflammatoire était associé à une moins bonne survie globale (HR = 3,86, [IC95%, 1,65 – 9,05], p=0,0019), indépendamment du statut mutationnel d'*ASXL1*, du taux de leucocytes, d'hémoglobine et de plaquettes. En médiane, la survie globale des patients avec profil phénotypique dit inflammatoire était de 13,7 mois [2,2 - 18,6] contre 42,2 mois [28,6 - NA] pour les autres patients. Ce travail montre l'intérêt pronostique de l'immunophénotypage monocyttaire puisqu'il permet d'identifier dès le diagnostic de LMMC une catégorie de patients présentant un profil phénotypique dit inflammatoire associé à un pronostic défavorable.

**Spécialité :**

Hématologie clinique

**Mots clés français :**

Leucémie myélomonocytaire chronique ; cytométrie en flux ; monocytes classiques ; pronostic ; inflammation

**Forme ou Genre :**

Dissertation universitaire

Rameau : Thèses et écrits académiques

**Abstract:**

Peripheral blood monocyte repartition assessed by flow cytometry is currently used for chronic myelomonocytic leukemia (CMML) diagnosis supported by a relative increase in classical monocyte (cMo) fraction  $\geq 94\%$  of total monocytes. The present study explores the prognostic value of this monocyte subset distribution with the follow-up of 107 CMML patients diagnosed according to the 2017 WHO criteria in four centers. A cMo percentage  $\geq 94\%$  was detected in 98 patients whereas the nine remaining patients displayed a cMo  $< 94\%$  due to the intermediate monocyte fraction increase, showing an easily-recognized bulbous aspect on flow cytometry profiles, characteristic of an inflammatory state associated to CMML. The median follow-up was 26.7 months [IQR, 13.3 – 35.5], 38% of patients died, mainly from acute myeloid leukemia progression. In a multivariate Cox model, the flow-defined inflammatory CMML predicts poorer overall survival (OS) (HR=3.86, [95CI 1.65-9.05],  $p=0.0019$ ), independently of ASXL1 mutational status, white blood cell count, hemoglobin level and platelet count. Median OS was 13.7 months [2,2 - 18,6] for inflammatory CMML patients compared to 42.2 months [28,6 - NA] for other patients. These results emphasize the usefulness of flow cytometry analysis of peripheral blood cells at CMML diagnosis and demonstrate that monocyte subset distribution at diagnosis delineates a small subgroup of patients with a very poor outcome.

**English keywords:**

Chronic myelomonocytic leukemia; flow cytometry; prognosis; inflammation

**Publication type:**

Academic dissertation

## Liste des abréviations

---

- AMM : Autorisation de mise sur le marché
- CPSS : *CMML-specific prognostic scoring system*
- CRP : *C-reactive protein*
- CSH : Cellules souches hématopoïétiques
- EBMT : *European Society for Blood and Marrow Transplantation*
- EHA : *European Hematology Association*
- ELN : *European LeukemiaNet*
- FAB : *French-American-British*
- FISH : *Fluorescent in situ hybridation*
- GFM : Groupe francophone des myélodysplasies
- LMC : Leucémie myéloïde chronique
- LMMC : Leucémie myélo-monocytaire chronique
- LMMC-MD : LMMC myélodysplasique
- LMMC-MP : LMMC myéloproliférative
- NMP : Néoplasie myéloproliférative
- NMP/SMD : Néoplasie myéloproliférative / Syndrome myélodysplasique
- OMS : Organisation mondiale de la santé
- SARS-Cov-2 : *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2*
- SMD : Syndrome myélodysplasique

# Table des matières

---

<b>Remerciements</b> .....	<b>3</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>7</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>8</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>9</b>
Généralités sur la leucémie myélo-monocytaire chronique .....	9
Epidémiologie, diagnostic et classification .....	9
Présentation clinico-biologique .....	11
Caractéristiques cytogénétiques et moléculaires .....	12
Scores pronostiques et stratification du risque .....	14
Prise en charge thérapeutique .....	17
Etude de la répartition des sous-populations monocytaires par cytométrie en flux .....	21
Intérêt au diagnostic .....	21
LMMC associée à un état inflammatoire .....	24
<b>Objectif de l'étude</b> .....	<b>27</b>
<b>Résultats principaux</b> .....	<b>28</b>
Critères d'inclusion des patients .....	28
Résumé des résultats .....	28
<b>Résultats complémentaires</b> .....	<b>34</b>
Rationnel de la seconde étude .....	34
Critères d'inclusion des patients .....	35
Présentation des résultats .....	36
<b>Discussion</b> .....	<b>41</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>46</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>47</b>
<b>Table des figures</b> .....	<b>53</b>
<b>Table des tableaux</b> .....	<b>54</b>

# Introduction

---

## Généralités sur la leucémie myélo-monocytaire chronique

### **Epidémiologie, diagnostic et classification**

La leucémie myélo-monocytaire chronique (LMMC) est une hémopathie maligne rare dont l'incidence est de 1 pour 100 000 habitants par an (1). Elle touche majoritairement les sujets âgés de plus de 60 ans avec un âge médian au diagnostic de 77 ans et une prédominance masculine (2,3). Il s'agit d'une pathologie très hétérogène rattachée au groupe des formes frontières néoplasies myéloprolifératives/syndromes myélodysplasiques (NMP/SMD), pouvant présenter des caractéristiques communes à ces deux entités (1).

Selon la classification de l'organisation mondiale de la santé (OMS) révisée en 2017 (4), le diagnostic de la LMMC repose sur la présence d'une monocytose absolue, supérieure ou égale à 1 G/L sur l'hémogramme, et relative, représentant au moins 10% des leucocytes du sang périphérique. Afin d'exclure le diagnostic de leucémie aiguë, en particulier à composante monocytaire, le pourcentage de blastes sanguins et médullaires, incluant les promonocytes (5), doit être inférieur à 20%. La présence de signes de dysplasie sur au moins une lignée myéloïde n'est pas indispensable au diagnostic en cas de persistance de la monocytose de plus de trois mois et/ou d'une anomalie clonale acquise cytogénétique et/ou moléculaire. Enfin, les autres causes de monocytoses doivent être éliminées, en particulier celles associées aux néoplasies myéloprolifératives (NMP) dites « classiques ». La recherche du réarrangement de BCR-ABL est recommandée pour éliminer une leucémie myéloïde chronique (LMC), pouvant être associée à une monocytose (6). L'association d'une

monocytose et d'une hyperéosinophilie doit faire rechercher un réarrangement de *PDGFRA*, *PDGFRB*, *FGFR1* ou le transcrit de fusion *PCM1-JAK2*. Le **tableau 1** résume ces critères diagnostiques.

---

1. Monocytose persistante > 1 G/L avec monocytose représentant au moins 10 % des cellules de la formule sanguine
2. Absence de critères évoquant une LMC BCR-ABL1 positive, une splénomégalie myéloïde, une polyglobulie de Vaquez ou une thrombocytémie essentielle
3. Absence de réarrangements de <i>PDGFRA</i> , <i>PDGFRB</i> , <i>FGFR1</i> ou <i>PCM1-JAK2</i> (doivent être spécifiquement exclus dans les cas avec éosinophilie)
4. Moins de 20 % de blastes dans le sang et la moelle
5. Au moins l'un des critères suivants : – dysplasie sur au moins 1 lignée myéloïde ; si la dysplasie est absente ou minimale, les autres critères doivent être présents et une anomalie cytogénétique ou moléculaire doit être présente – monocytose présente depuis au moins 3 mois sans autre cause de monocytose (infection, inflammation, cancer)
LMMC-0 : < 2 % de blastes dans le sang et < 5 % de blastes dans la moelle
LMMC-1 : 2-4 % de blastes dans le sang et 5-9 % de blastes dans la moelle
LMMC-2 : 5-19 % de blastes dans le sang et 10-19 % de blastes dans la moelle (ou présence de corps d'Auer quel que soit le pourcentage de blastes)

---

**Tableau 1 - Critères diagnostiques de la LMMC selon l'OMS 2017.**  
*D'après Gelsi-Boyer et al., Correspondances en onco-hématologie, 2020.*

Historiquement, la classification *French-American-British* (FAB) permet de séparer les LMMC en deux groupes selon le taux de leucocytes sanguins (7). Une hyperleucocytose inférieure à 13 G/L définit les formes myélodysplasiques (LMMC-MD) tandis que les formes myéloprolifératives (LMMC-MP) sont caractérisées par une leucocytose supérieure à 13 G/L. Ces dernières formes sont associées à un plus mauvais pronostic (8).

Plus récemment, l'OMS a affiné la classification des LMMC selon le pourcentage de blastes sanguins et médullaires (4) (**Tableau 1**). La LMMC-0, nouvellement individualisée, est caractérisée par la présence de moins de 2% de blastes sanguins et de moins de 5% de blastes médullaires ; la LMMC-1 par la présence de 2 à 4% de blastes sanguins et/ou de 5 à

9% de blastes médullaires et la LMMC-2 par la présence de 5 à 19% de blastes sanguins, de 10 à 19% de blastes médullaires et/ou la présence de corps d'Auer. Cette classification sépare les patients en 3 groupes de pronostic différent, du plus favorable pour les LMMC-0 au moins favorable pour les LMMC-2 (9).

Il faut noter que certaines formes de LMMC-MP avec une forte hyperleucocytose ne remplissent pas le nouveau critère de l'OMS révisée de 2017, à savoir une monocytose sanguine relative supérieure à 10% des leucocytes totaux circulants (10). Cependant, la présence d'une monocytose médullaire et d'anomalies moléculaires associées doit les faire considérer comme d'authentiques LMMC. Enfin, certaines LMMC peuvent survenir lors de l'évolution de syndromes myélodysplasiques (SMD) (10,11).

## **Présentation clinico-biologique**

La présentation clinique des LMMC dépend principalement de leur forme définie par la classification FAB. En cas de LMMC-MD, les symptômes rencontrés sont le plus souvent en lien avec la présence de cytopénies éventuelles : syndrome anémique, hémorragique et/ou infectieux. En cas de LMMC-MP, des signes généraux sont plus fréquemment retrouvés comme une altération de l'état général, parfois associée à des sueurs nocturnes, un prurit aquagénique et des douleurs osseuses. Un syndrome tumoral extra-médullaire est également possible dans les formes MP avec une splénomégalie ou plus rarement une hépatomégalie et des atteintes cutanées ou des séreuses (12).

Cependant, le plus souvent, le diagnostic de LMMC est évoqué devant la présence sur l'hémogramme d'une monocytose persistante. Outre cette monocytose, une anémie

modérée normo- ou macrocytaire arégénérative est fréquemment retrouvée, ainsi qu'une thrombopénie dans 50% des cas et rarement une neutropénie. Une polynucléose neutrophile est parfois présente et peut s'accompagner d'une myélémie qui reste inférieure à 10% (à la différence de la LMC atypique). Le myélogramme met en évidence une hyperplasie granulo-monocytaire au détriment des lignées érythroblastique et mégacaryocytaire. La présence de signes de dysplasie peut concerner une (ou plusieurs) lignée(s) myéloïde(s) mais n'est pas systématique tout comme la dysplasie monocytaire. De nombreuses anomalies phénotypiques ont été décrites sur les monocytes de LMMC, notamment l'expression diminuée des marqueurs CD13, CD14, CD15, CD36, CD64, HLA-DR et CD11c ainsi que l'expression aberrante des marqueurs CD56 et CD2 sans toutefois qu'aucune de ses anomalies ou de leurs associations ne soient spécifiques de cette hémopathie (13–18).

## Caractéristiques cytogénétiques et moléculaires

Selon les dernières recommandations de l'*European Hematology Association* (EHA) et de l'*European LeukemiaNet* (ELN) (1), une analyse cytogénétique est désormais indispensable au diagnostic de LMMC avec étude d'au moins 20 mitoses, éventuellement associée à une analyse par hybridation fluorescente in situ (FISH pour *Fluorescent In Situ Hybridation*). Des anomalies cytogénétiques récurrentes sont retrouvées chez 30 à 40% des patients, mais aucune d'elles n'est spécifique de la LMMC (19). Les anomalies les plus fréquemment retrouvées sont la trisomie 8 et la monosomie Y alors que la présence d'un caryotype complexe est plus rare (19,20). Une stratification espagnole a permis de différencier trois groupes d'anomalies cytogénétiques selon leur impact sur le risque

d'évolution en leucémie aiguë et sur la survie globale : favorable (caryotype normal ou perte isolée du chromosome Y), défavorable (trisomie 8, monosomie 7 et caryotype complexe) et intermédiaire (toutes les autres anomalies) (21).

Sur le plan moléculaire, l'élargissement des connaissances et l'avènement du séquençage haut débit ont permis de mieux comprendre la physiopathologie de la LMMC qui repose sur l'évolution clonale d'une cellule souche hématopoïétique (CSH), liée à l'âge, et aboutissant à l'expansion du compartiment granulomonocytaire médullaire et sanguin (22,23). Trois principales familles de mutations récurrentes peuvent être impliquées : celles touchant l'épigénétique (*TET2*, *ASXL1*, *EZH2*, *IDH*, *DNMT3A*), celles touchant le spliceosome (*SRSF2*, *ZRSR2*, *SF3B1*, *U2AF1*) et celles touchant les voies de signalisation (*NRAS*, *KRAS*, *JAK2*, *CBL*) (24).

Avec l'âge, l'accumulation progressive de mutations touchant des gènes de l'épigénétique (*TET2*, *ASXL1*) et du spliceosome (*SRSF2*) puis des voies de la signalisation (voie RAS) peut être à l'origine d'une hématopoïèse clonale de potentiel indéterminé (CHIP) ou liée à l'âge (ARCH) (25–27). Puisque ces mutations sont fréquemment retrouvées dans la LMMC, pathologie touchant particulièrement les sujets âgés, cela suggère que ces CHIP ou ARCH pourraient être des états pré-LMMC (16,23,25). D'autres facteurs, comme une inflammation chronique ou des processus physiopathologiques liés à l'âge, pourraient entraîner la sélection et l'expansion d'un clone malin et l'apparition d'une LMMC (16,28).

Le séquençage de 20 gènes permet de détecter une mutation clonale somatique chez 90% des patients (29). Les trois gènes les plus fréquemment mutés sont *TET2*, *SRSF2* et *ASXL1*, respectivement dans 60%, 50% et 40% des cas (24,29). Tout comme les anomalies cytogénétiques, aucune de ces mutations n'est spécifique bien qu'une association fréquente

de *TET2* et *SRSF2* ait été rapportée (29). Une mutation d'*ASXL1*, présente chez près de 40% des patients (29), est associée à la présence d'une hyperleucocytose, d'une localisation extra-médullaire (29) et à un impact pronostique péjoratif (30). Une mutation de *SETBP1*, retrouvée dans 6% des cas, est associée à une mutation d'*ASXL1* dans 67% des cas et confère également un mauvais pronostic (31).

Les autres mutations retrouvées concernent les gènes : *RUNX1*, mutation associée à la présence d'une thrombopénie (29), *NRAS*, mutation associée aux formes myéloprolifératives (29,32), *CBL* et *DNMT3A* (12). Entre 10 et 20 mutations somatiques sont habituellement retrouvées chez les patients atteints de LMMC (22).

Outre l'impact pronostique éventuel, la présence de mutations au sein de ces gènes représente également une aide au diagnostic de LMMC en particulier en l'absence de signes francs de dysplasie et d'anomalie cytogénétique informative (4,33).

En pratique, l'EHA et l'ELN recommande l'analyse de 20 gènes chez tous les patients éligibles à un traitement actif et au moins pour les quatre gènes suivants, *ASXL1*, *NRAS*, *RUNX1* et *SETBP1*, si le patient est éligible à une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) car le statut mutationnel participe à la stratification du risque (1).

## Scores pronostiques et stratification du risque

Une fois le diagnostic et les caractéristiques de la maladie établis, il convient d'évaluer le risque associé à l'hémopathie et au patient lui-même avant d'envisager tout traitement.

Les facteurs liés à la maladie en elle-même permettent d'établir des scores pronostiques rendant compte du risque de progression de la maladie voire de décès. Actuellement, le score pronostique communément utilisé pour poser l'indication éventuelle d'un traitement est le score *CMML-specific prognostic scoring system* (CPSS) (8). En fonction des classifications FAB et OMS, de la dépendance transfusionnelle ou non (ou du taux d'hémoglobine le cas échéant) et du score cytogénétique (21), ce score permet de distinguer quatre groupes de patients (de risque faible, intermédiaire-1, intermédiaire-2 ou élevé) ayant des pronostics différents avec une survie globale médiane variant de 5 à 72 mois. Récemment, ce score a été agrémenté des données moléculaires pour constituer le score *CPSS-mol* (34). Les gènes à étudier sont *ASXL1*, *NRAS*, *RUNX1* et *SETBP1*, tous associés à un mauvais pronostic en cas de présence de mutations (29–31,34). Ce nouveau score moléculaire départage également les patients en quatre groupes avec une survie globale médiane allant de 17 à 70 mois (34).

Le Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM) a également développé un score pronostique intégrant les résultats de biologie moléculaire en particulier le statut mutationnel du gène *ASXL1* (29). En effet, une mutation *nonsense* ou *frameshift* d'*ASXL1* est associée à un mauvais pronostic en terme de survie globale et de survie sans leucémie aiguë (29,30,34,35). Le score GFM permet de répartir les patients en trois groupes selon le statut mutationnel d'*ASXL1*, le taux d'hémoglobine ( $\pm 10$  g/dL chez la femme et  $\pm 11$  g/dL chez l'homme), le taux de leucocytes ( $\pm 15$  G/L), le taux de plaquettes ( $\pm 100$  G/L) et l'âge ( $\pm 65$  ans) avec une survie médiane allant de 14 à 60 mois selon les groupes (29).

D'autres scores pronostiques incluant des paramètres clinico-biologiques, cytogénétiques et moléculaires ont également été validés et sont détaillés dans le **tableau 2**.

Score	GFM	CPSS-mol	Mayo Molecular Model	CPSS	MDAPS
Données cliniques	Âge	Dépendance transfusionnelle en CG	Non	Dépendance transfusionnelle en CG	Non
Cytologie	GB, Hb, plaquettes	Pourcentage de blastes, GB	Monocytose, blastes, Hb, plaquettes	Pourcentage de blastes, GB	Hb, lymphocytes, myélémie, pourcentage de blastes
Cytogénétique	Non	Oui	Non	Oui	Oui
Données moléculaires	<i>ASXL1</i>	<i>ASXL1, NRAS, RUNX1, SETBP1</i>	<i>ASXL1</i>	Non	Non
Nombre de groupes de risque	3	4	4	4	4
Survie médiane (mois)	14-60	17-70	16-97	5-72	5-26

CG: culots globulaires; GB: globules blancs; GFM: Groupe francophone des myélodysplasies; Hb: hémoglobine.

**Tableau 2 - Scores pronostiques utilisés dans la LMMC.**  
*D'après Gelsi-Boyer et al., Correspondances en onco-hématologie 2020.*

Il convient de noter que ces scores pronostiques ont été établis et validés chez des patients ayant un âge médian de 70 ans dont l'espérance de vie n'est pas uniquement impacté par la LMMC à la différence des sujets plus jeunes dont l'espérance de vie plus longue est potentiellement plus impactée par la LMMC et les traitements utilisés en particulier lorsqu'ils sont intensifs (1). Les facteurs associés à une moins bonne survie chez les sujets de moins de 65 ans sont : l'anémie, la présence de blastes circulants, les anomalies cytogénétiques de haut risque et les mutations des gènes *ASXL1* et *SRSF2* (36).

Par ailleurs, les LMMC secondaires aux traitements par radio-chimiothérapie représentent environ 10% des LMMC. Ces formes sont plus fréquemment associées à un haut risque cytogénétique et une moins bonne réponse aux agents hypométhylants (37,38). Elles sont donc associées à un pronostic défavorable, en terme de survie globale et de survie sans évènements et ce, indépendamment du score GFM (37).

En plus du pronostic de la maladie établi à partir des scores disponibles, il convient d'évaluer les facteurs liés au patient lui-même influençant sa capacité à recevoir un traitement et donc le devenir de la maladie. Parmi ces facteurs, l'âge, l'état général selon le

*Performans status* et la présence éventuelle de comorbidités sont les plus importants à évaluer. En effet, l'âge élevé présente un impact pronostique majeur et indépendant, y compris après traitement par hypométhylants ou allogreffe de CSH (29,36). Plus que l'âge réel, c'est l'âge fonctionnel qui importe. Plusieurs scores existent pour évaluer les comorbidités du patient parmi lesquels le score général de *Charlson Comorbidity Index* ou le *MDS-specific comorbidity index*, spécifiquement établi pour les SMD (39,40). Parmi les autres facteurs à étudier, sont à prendre en compte l'état nutritionnel, l'état cognitif, le désir du patient et sa qualité de vie.

## Prise en charge thérapeutique

Une abstention thérapeutique est possible si le patient est peu ou pas symptomatique en particulier en l'absence de signes cliniques de myéloprolifération (splénomégalie symptomatique ou atteinte extra-médullaire) et en l'absence de cytopénies significatives et d'excès de blastes.

En cas d'indication à un traitement, le choix du traitement repose donc actuellement sur le risque lié à l'hémopathie évalué en routine par le score CPSS et sur l'état général et les comorbidités éventuelles du patient, en particulier si une allogreffe de CSH est envisagée (41).

### - LMMC de bas risque

En cas de risque faible ou intermédiaire-1 selon le score CPSS, l'approche thérapeutique est proche de celle des syndromes myélodysplasiques, c'est-à-dire la gestion des cytopénies.

En cas d'anémie inférieure à 10 g/dL, un traitement par agents stimulants l'érythropoïèse peut être instauré. Les taux de réponse sont les mêmes que pour les syndromes myélodysplasiques de faible risque mais avec des réponses de plus courtes durées (12,42). Un faible taux d'érythropoïétine sérique (inférieur à 500 UI /L) et l'absence de transfusions préalables sont des facteurs prédictifs d'une bonne réponse (42). Celle-ci est associée à une meilleure survie (42). En cas d'anémie profonde (inférieure à 8 g/dL) ou symptomatique, la transfusion itérative est indiquée et sera associée à une chélation du fer dès que la ferritine dépasse 1000 ng/mL ou à partir de 25 culots globulaires transfusés.

En cas de thrombopénie inférieure à 30 G/l ou associée à un syndrome hémorragique, l'utilisation d'agonistes de la thrombopoïétine n'est actuellement possible que dans le cadre d'essais thérapeutiques. Des cures courtes de corticothérapie sont possibles si une part auto-immune est suspectée devant le caractère profond et isolé de la thrombopénie sans anémie ni excès de blastes médullaires (1).

En cas de formes myéloprolifératives (hyperleucocytose, splénomégalie symptomatique et/ou de signes généraux), une cytoréduction par hydroxyurée est indiquée, en particulier en l'absence de cytopénies majeures ou d'excès de blastes (12,43).

#### - LMMC de haut risque

En cas de risque intermédiaire-2 ou élevé selon le score CPSS, il existe un fort risque de progression et de décès à long terme. Le traitement a donc pour but de ralentir la progression de l'hémopathie.

Une allogreffe de CSH, seul traitement potentiellement curatif, peut être proposée aux patients de moins de 70 ans en bon état général, si un donneur compatible est disponible.

Celle-ci sera réalisée d'emblée en cas de blastose médullaire inférieure à 10% ou après l'utilisation d'agents hypométhylants en cas de blastose médullaire supérieure à 10% et de cytogénétique défavorable afin de diminuer le risque de rechute post-allogreffe (1,44). Une chimiothérapie d'induction peut être proposée comme alternative aux agents hypométhylants en cas de forte masse tumorale et en l'absence de profil cytogénétique défavorable (1). Dans certains cas de LMMC de risque faible ou intermédiaire-1 mais présentant des critères de mauvais pronostic (cytopénies profondes symptomatiques, blastose médullaire supérieure à 15%, cytogénétique défavorable ou mutations des gènes *ASXL1*, *RUNX1*, *SETBP1* ou *NRAS*), une allogreffe de CSH peut se discuter en cas de patient jeune et en bon état général (1). En pratique, seulement 5% des patients atteints de LMMC sont allogreffés en raison de l'âge souvent élevé des patients et des comorbidités associées. Dans une étude de registre de l'*European Society for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT), la survie globale médiane était de 33% à 4 ans, expliquée par une morbi-mortalité importante et un risque de rechute persistant après l'allogreffe (44,45).

En cas d'inéligibilité à l'allogreffe, un traitement par agents hypométhylants de type 5-azacytidine est proposé aux patients présentant une LMMC-2 avec un taux de leucocytes inférieur à 13 G/L, conformément à l'autorisation de mise sur le marché (AMM) européenne (46). Leur utilisation repose sur la mise en évidence d'une hyperméthylation de l'ADN dans la LMMC (47,48) et permettrait une restauration de l'hématopoïèse. En monothérapie, les agents hypométhylants permettent des taux de réponse globale de l'ordre de 30-40% avec une survie globale de 20 mois (49). Un traitement par agents hypométhylants peut également être proposé hors AMM aux patients présentant une LMMC-1 de forme myéloproliférative ou des cytopénies profondes (50). L'association *TET2* muté / *ASXL1* sauvage semble associée à une meilleure réponse aux agents hypométhylants sans bénéfice

de survie tandis que la présence d'une mutation d'*ASXL1*, *RUNX1* ou *CBL* serait associée à une moins bonne survie (51). En revanche, l'utilisation des agents hypométhylants n'impacte pas la charge mutationnel du clone tumoral expliquant le caractère transitoire de la réponse et l'effet suspensif du traitement nécessitant son maintien jusqu'à progression (22).

Plus récemment, certaines thérapies ciblant *FLT3* et *IDH1-2* ont montré un intérêt dans la prise en charge de la LMMC justifiant la recherche d'anomalies au niveau de ces gènes par biologie moléculaire (1).

## Etude de la répartition des sous-populations monocytaires par cytométrie en flux

### **Intérêt au diagnostic**

Le diagnostic de LMMC est parfois difficile face aux autres causes de monocytose, en particulier réactionnelle ou associée à une autre hémopathie, pouvant remplir les critères diagnostiques de l'OMS 2017 (4). Dans ce cas, l'étude des sous-populations monocytaires au sein des monocytes totaux sanguins périphériques par cytométrie en flux a montré son intérêt.

Trois sous-populations monocytaires circulantes sont à présent caractérisées par le niveau d'expression de deux marqueurs antigéniques de surface : le CD14, récepteur du lipopolysaccharide bactérien, et le CD16, récepteur de faible affinité du fragment Fc des immunoglobulines (récepteur Fcγ-III) (52). Les monocytes classiques (cMo ou MO1), sous-population majoritaire représentant environ 85% des monocytes totaux chez un sujet sain, sont CD14<sup>++</sup>/CD16<sup>-</sup>. Les monocytes intermédiaires (iMo ou MO2) sont CD14<sup>++</sup>/CD16<sup>+</sup> tandis que les monocytes non classiques (ncMo ou MO3) sont CD14<sup>faible à négatif</sup>/CD16<sup>+</sup> et représentent respectivement environ 5 et 10% des monocytes circulants (**Figure 1A**). Il semblerait que les MO2 soit une sous-population de transition entre les MO1 et les MO3. En effet, il s'agit de la première sous-population monocyttaire à augmenter sous l'effet du GM-CSF ou à l'occasion d'une infection, suivie par les MO3 (52). Cette subdivision a ensuite été validée par des analyses fonctionnelles et d'expression génique de ces sous-populations (53,54). Outre leurs différences immunophénotypiques, ces trois sous-populations sont également caractérisées par des fonctions différentes résumées dans le **tableau 3** (53).

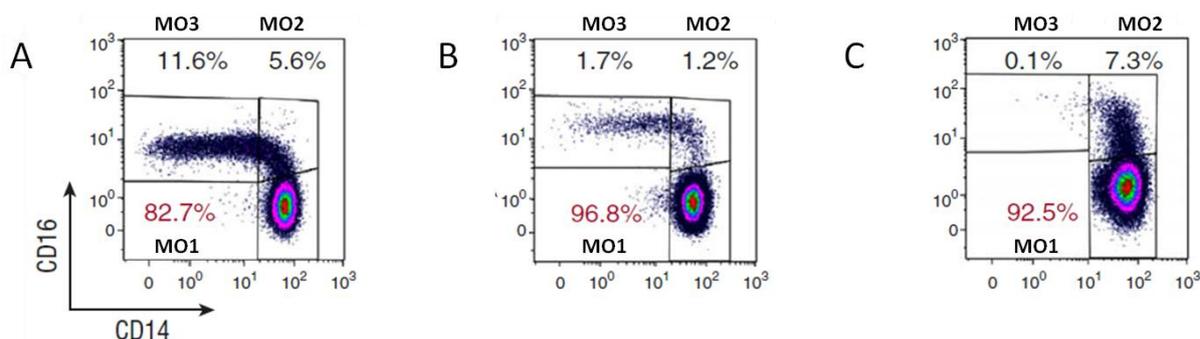


Figure 1 - Dot plots montrant la répartition des sous-populations monocytaires chez un sujet sain (A), chez un patient atteint de LMMC avec un profil phénotypique classique (B) et chez un patient atteint de LMMC associée à un profil phénotypique inflammatoire (C). Adaptée de Selimoglu-Buet et al., Blood 2017.

	Monocytes classiques	Monocytes intermédiaires	Monocytes non classiques
<b>Immunophénotype</b>	CD14 <sup>++</sup> CD16 <sup>-</sup>	CD14 <sup>++</sup> CD16 <sup>+</sup>	CD14 <sup>faible/négatif</sup> CD16 <sup>+</sup>
<b>Proportion relative</b> (parmi les monocytes totaux)	85 %	5 %	10 %
<b>Marqueurs de surface exprimés</b>	CD42L, CCR2, CLEC4D, CLEC5A, IL-13Rα1, CXCR1, CXCR2	CD74, HLA-DR, Tie-2 (CD202B), ENG (CD105)	Siglec10, CD43, slan (sous-population)
<b>Marqueurs de surface non exprimés</b>	CX3CD1, CD123, P2PX1, Siglec10	CD62L, CXCR1, CXCR2, CLEC4D, IL-13Rα1	CCR5, CD62L, CXCR1, CXCR2, CD163, CLEC4D, IL-13Rα1
<b>Réponses préférentielles au lipopolysaccharide</b>	IL-10, G-CSF, CCL2, RANTES, IL-2, IL-8	IL-6, IL-8	TNFα, IL-1β, IL-6, IL-8
<b>Fonctions décrites</b>	Fort potentiel de phagocytose	Prolifération et stimulation des lymphocytes T Production de ROS* Angiogenèse (sous-population Tie-2+)	Prolifération et stimulation des lymphocytes T (sous-population slan+) Rôle dans la surveillance in situ des tissus et au niveau des vaisseaux
<b>Signatures géniques définies</b>	Cicatrisation et coagulation Protéines S-100 Récepteurs scavenger Récepteurs de la lectine de type C Antiapoptotique Réponse aux stimuli	Présentation de l'antigène par les CMH de classe II	Réarrangement du cytosquelette Composants du complément Proapoptotique Régulation négative de la transcription

\* ROS (reactive oxygen species) : espèces réactives de l'oxygène.

Tableau 3 - Caractéristiques immunophénotypiques et fonctionnelles des 3 sous-populations monocytaires circulantes. D'après Wagner-Ballon et al., Correspondances en onco-hématologie 2020.

L'étude de la répartition des trois sous-populations monocytaires circulantes par cytométrie en flux utilise une stratégie d'exclusion négative des cellules matures circulantes. Par comparaison à des sujets sains et à des patients présentant une monocytose réactionnelle, les patients porteurs d'une LMMC présentent une accumulation relative des monocytes classiques MO1 aux dépens des deux autres sous-populations monocytaires, MO2 et MO3 (**Figure 1B**) (55). Plus précisément, une accumulation de plus de 94% de MO1 au sein des monocytes totaux permet de distinguer les patients atteints de LMMC des

monocytoses réactionnelles avec une sensibilité de 94,1% et une spécificité de 92,8% (10,55). La sensibilité de ce test diagnostique augmente avec le sous-type selon la classification OMS, jusqu'à 100% dans le cas des LMMC-2 (10). Cette accumulation de MO1 est indépendante de la valeur de la monocytose sanguine, du sous-type de LMMC selon les classifications FAB et OMS, du risque cytogénétique, du statut mutationnel et des scores pronostiques validés (55,56). Ce test diagnostique phénotypique a ensuite été validé par d'autres équipes (56,57) et permet également de différencier les LMMC des NMP classiques avec monocytose (58).

Sur le plan physiopathologique, cette accumulation de monocytes classiques MO1 serait liée à un blocage de différenciation des MO1 en MO3, dû à l'hyperméthylation du promoteur de Mir-150, spécifique de la lignée myéloïde, au sein des monocytes (55,59). Celle-ci entraînerait une sous-expression de ce microARN dans les MO1 et l'hyper-expression de la protéine TET3 empêchant leur transition en MO2 puis en MO3 (55,59). De façon intéressante, l'utilisation d'agents hypométhylants réduit l'hyperméthylation du promoteur de Mir-150, restaure l'expression du miARN et diminue l'expression de TET3 permettant la transition des MO1 en MO2 et MO3 et le retour à un profil phénotypique classique.

Ce profil phénotypique caractéristique reste stable dans le temps en l'absence de traitement (55). En revanche, l'utilisation d'agents hypométhylants s'associe, en cas de réponse au traitement, à une normalisation de la monocytose sanguine et à un retour à une répartition normale des sous-populations monocytaires, à la différence des patients non répondeurs et des patients traités par hydroxyurée (11,55). A l'inverse, en cas de rechute ou de progression de l'hémopathie après une réponse initiale au traitement, le profil phénotypique

caractéristique de la LMMC réapparaît (55). Ce test diagnostique pourrait également trouver son intérêt dans le suivi de patients traités par agents hypométhylants.

### **LMMC associée à un état inflammatoire**

L'utilisation croissante de ce test diagnostique a entraîné la mise en évidence de cas de faux négatifs (10,60). En effet, certains patients atteints de LMMC présentent, au diagnostic, un état inflammatoire associé (10). Or, il a été montré qu'en cas d'inflammation, la fraction des monocytes intermédiaires MO2 augmente (52). Ces patients présentent alors un profil immunophénotypique particulier caractérisé par une augmentation de la fraction des MO2 entraînant une diminution relative de la fraction des monocytes classiques MO1 en dessous du seuil établi de 94% et à l'origine d'un aspect « en bulbe » (**Figure 1C**) (10). Ces LMMC sont dites « associées à un profil phénotypique inflammatoire ».

Dans cette situation, la persistance de la diminution des monocytes non classiques MO3 permettrait de distinguer ces LMMC associées à un profil phénotypique inflammatoire des monocytozes réactionnelles (10,60,61). Un seuil de MO3 inférieur à 1,13% a été proposé par une équipe pour affirmer le diagnostic de LMMC (62). Cependant, le manque de robustesse de la délimitation précise des deux sous-populations MO2 et MO3, limite l'intérêt diagnostique de ce critère.

Récemment, l'utilisation de marqueurs supplémentaires a permis une discrimination plus précise de monocytes non classiques MO3. La P-sélectine slan (l'une des modifications du résidu carbohydrate de la glycoprotéine P-selectin ligand 1) est un marqueur quasi-exclusivement restreint aux monocytes, en particulier non classiques, au sein des leucocytes (11,63). Environ 50% des monocytes non classiques MO3 expriment slan et correspondent

aux MO3 avec l'expression la plus faible de CD14 (11). Les patients atteints de LMMC, en particulier ceux associés à un profil phénotypique inflammatoire, présentent une fraction de MO3 slan<sup>+</sup> significativement inférieure aux sujets sains et aux patients présentant une monocytose réactionnelle ( $0,4 \pm 0,5\%$  versus  $5,7 \pm 3,3\%$  et  $4,3 \pm 3,0\%$ , respectivement) (11). La combinaison du pourcentage de MO1 et du pourcentage de MO3 slan<sup>+</sup>, avec un seuil établi à 1,7%, permet d'augmenter la sensibilité du test phénotypique à 100% tout en conservant une spécificité de 94% (11). L'apport de slan a permis de développer un algorithme diagnostique de la LMMC par cytométrie en flux en 2 étapes (**Figure 2**). Tout comme le pourcentage de MO1, le pourcentage MO3 slan<sup>+</sup> est stable dans le temps en l'absence de traitement (11). A l'inverse, chez les patients répondeurs aux agents hypométhylants, la répartition des sous-populations monocytaires se normalise avec l'augmentation des MO3 slan<sup>+</sup> au-dessus du seuil de 1,7%, parallèlement à la diminution des MO1 (11).

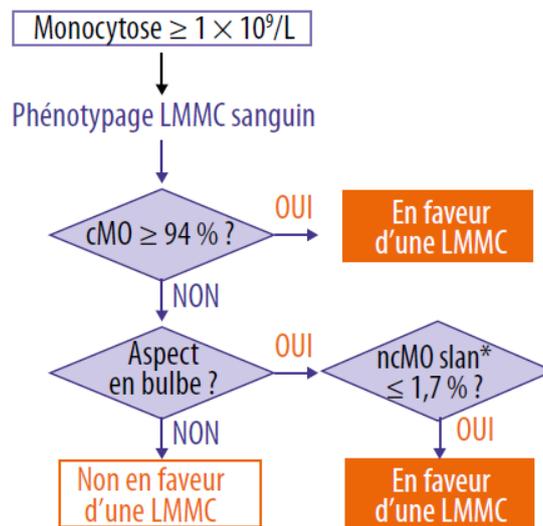


Figure 2 - Algorithme diagnostique de la LMMC par cytométrie en flux en 2 étapes.  
D'après Wagner-Ballon et al., *Correspondances en onco-hématologie* 2020.

Ce profil phénotypique particulier est retrouvé chez des patients atteints de LMMC présentant un état inflammatoire allant du simple syndrome inflammatoire biologique isolé à la pathologie clinique inflammatoire ou auto-immune.

Selon les études, entre 10 et 30% des patients atteints de LMMC présentent une pathologie inflammatoire associée (12,64–67). Il s'agit le plus souvent d'une vascularite systémique, d'atteintes rhumatologiques (mono/polyarthrites), d'un psoriasis ou d'une thrombopénie auto-immune (12,64–67). Chez la majorité des patients, la pathologie inflammatoire est déjà connue au moment du diagnostic de la LMMC mais peut également apparaître de manière concomitante ou au cours du suivi de la LMMC (64–66). Un syndrome inflammatoire biologique est le plus souvent présent avec une C-reactive protein (CRP) autour de 80 mg/l, associée à une hypergammaglobulinémie polyclonale, reflet de taux élevés de cytokines inflammatoires (12,65,66). Certaines équipes rapportent des caractéristiques biologiques défavorables chez ces patients en particulier un nombre plus important de blastes médullaires et un profil cytogénétique défavorable sans différence en terme de survie (65,66). Selon la pathologie associée, le traitement repose le plus souvent sur la corticothérapie en première ligne avec des taux de réponse de l'ordre de 80% (12,64–66). Un traitement hématologique (hydroxyurée ou agents hypométhylants) de seconde ligne est nécessaire chez 50% des patients en cas de cortico-dépendance ou de rechute à l'arrêt de la corticothérapie avec des taux de réponse allant de 60 à 80% (12,64–66,68).

De façon intéressante, le contrôle de la pathologie inflammatoire permet un retour à un profil phénotypique typique de LMMC avec disparition de l'aspect en bulbe (10,12).

## Objectif de l'étude

---

La mise en évidence par cytométrie en flux d'une accumulation de MO1  $\geq$  94% des monocytes totaux circulants, aux dépens des MO2 et des MO3, est désormais largement utilisée en routine en France comme outil diagnostique dans la LMMC. L'apport de ce test diagnostique en pratique clinique nous a amené à nous interroger sur l'impact pronostique de la répartition des sous-populations monocytaires chez les patients atteints de LMMC. Pour répondre à cette question, nous avons réalisé une première étude rétrospective, multicentrique, s'intéressant au devenir des patients inclus dans les études précédemment publiées par notre équipe en collaboration avec l'équipe de l'Institut Gustave Roussy en 2015 et 2017 (10,55). Les résultats principaux de cette première étude ont été publiés en 2020 dans le journal *Leukemia*. Cette même année, nous avons montré l'apport du marqueur slan dans le diagnostic de la LMMC, en particulier des formes associées à un profil phénotypique inflammatoire (11). Forts de nos premiers résultats et de l'expérience acquise avec l'utilisation du marqueur slan, nous avons décidé de réaliser une seconde étude prospective sur l'impact pronostique de la répartition des sous-populations monocytaires chez les patients atteints de LMMC pour lesquels les données de cytométrie en flux comprenaient le marqueur slan. Ces résultats complémentaires sont présentés dans la seconde partie du manuscrit.

## Résultats principaux

---

### Critères d'inclusion des patients

Parmi les patients de deux études précédemment publiées en 2015 et 2017 (10,55), les patients présentant une LMMC dont le diagnostic a été revu selon les critères de la classification OMS révisée en 2017 et pour lesquels un immunophénotypage monocytaire avait été réalisé dans les 3 mois du diagnostic pouvaient être inclus. Les critères d'exclusion étaient l'absence de myélogramme au diagnostic, un délai de plus de trois mois entre le diagnostic de LMMC et l'immunophénotypage monocytaire et l'absence de données de suivi. Conformément aux critères diagnostiques OMS 2017, les patients présentant une LMMC avec un pourcentage de monocytes sanguins inférieur à 10% des leucocytes totaux étaient exclus (4).

### Résumé des résultats

Au total, 107 patients ont été inclus entre juin 2012 et mars 2017 dans quatre centres français (Hôpital Henri Mondor à Créteil, Institut Gustave Roussy à Villejuif, Hôpital Saint-Louis à Paris, Hôpital Avicenne à Bobigny). L'âge médian était de 75 ans [IQR, 67–83] avec une prédominance masculine (*sex ratio* : 2,2). Selon la classification OMS révisée en 2017 (4), les patients étaient classés en 43 LMMC-0 (40%), 48 LMMC-1 (45%) et 16 LMMC-2 (15%), avec 79 formes dysplasiques (74%). Le calcul du score CPSS, possible dans 101 cas (94%), a permis de différencier les patients en catégorie pronostique « *Low* » (44%), « *Intermediate-1* » (28%), « *Intermediate-2* » (27%) et « *High* » (1%) (8). Parmi les 62 patients évaluable, 18

(29%) présentaient une mutation du gène *ASXL1*. Ainsi, selon le score GFM, 55% des patients étaient considérés de faible risque, 39% de risque intermédiaire et 6% de haut risque (29).

Comme attendu, 98 patients (92%) avaient un pourcentage de MO1  $\geq 94\%$  tandis que les 9 patients restants (8%) présentaient un profil phénotypique inflammatoire avec un aspect en bulbe entraînant une diminution du pourcentage relatif de MO1 sous le seuil diagnostique de 94%. Ces derniers présentaient un discret syndrome inflammatoire biologique (CRP médiane, 8mg/L [IQR, 3-8]) sans pathologie clinique inflammatoire associée. Le suivi médian de 26,7 mois [IQR, 13,3-35,5] a permis de relever que 21 patients (20%) ont reçu des agents hypométhylants et trois ont bénéficié d'une allogreffe de CSH. La survie globale médiane était de 40,3 mois [IQR, 24,0-NA] et la survie sans leucémie de 40,1 mois [IQR, 21,5-NA].

En analyse multivariée, le profil phénotypique inflammatoire était associé à un mauvais pronostic, indépendamment du statut mutationnel d'*ASXL1*, du taux de leucocytes, d'hémoglobine et de plaquettes, autres paramètres associés au devenir des patients dans notre étude. La médiane de survie globale et la médiane de survie sans leucémie des patients avec profil phénotypique inflammatoire étaient de 13,7 [IQR, 2,2-18,6] et 11,2 mois [IQR, 2,2-18,6], respectivement, contre 42,2 [IQR, 28,6-NA] et 40,3 mois [IQR, 26,2-NA] pour les autres patients. Ce profil phénotypique inflammatoire était associé à un risque cytogénétique plus élevé et à des scores pronostiques (CPSS et GFM) plus péjoratifs.

Ce travail montre l'intérêt pronostique de l'immunophénotypage monocyttaire puisqu'il permettrait d'identifier au diagnostic une catégorie de patients atteints de LMMC et présentant un profil phénotypique inflammatoire associé à un pronostic défavorable.



Myelodysplastic syndrome

## Prognostic value of monocyte subset distribution in chronic myelomonocytic leukemia: results of a multicenter study

Matthieu Jestin<sup>1</sup> · Sihem Tarfi<sup>1,2</sup> · Matthieu Duchmann<sup>3,4</sup> · Bouchra Badaoui<sup>1</sup> · Nicolas Freynet<sup>1</sup> ·  
Violaine Tran Quang<sup>1,2</sup> · Ivan Sloma<sup>1,2</sup> · Nathalie Droin<sup>5</sup> · Margot Morabito<sup>5</sup> · Mathieu Leclerc<sup>6</sup> ·  
Sébastien Maury<sup>6</sup> · Pierre Fenaux<sup>7</sup> · Eric Solary<sup>5,8,9</sup> · Dorothée Selimoglu-Buet<sup>5</sup> · Oriane Wagner-Ballon<sup>1,2</sup> · on  
behalf of the Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM)

Received: 8 March 2020 / Revised: 14 June 2020 / Accepted: 25 June 2020  
© Springer Nature Limited 2020

### To the Editor:

According to the World Health Organization (WHO) classification, chronic myelomonocytic leukemia (CMML) diagnosis requires both a persistent peripheral blood monocyte count  $>1 \times 10^9/L$  and monocytes accounting for  $\geq 10\%$  of the total white blood cell count (WBC) [1]. We

and others have shown that a relative increase in the classical monocyte fraction (cMo;  $CD14^{++}CD16^{-}$ )  $\geq 94\%$  of total peripheral blood monocytes, as measured by flow cytometry, rapidly distinguishes a CMML from other causes of monocytosis, mostly reactive monocytosis, with high specificity and sensitivity [2–6]. Importantly, this characteristic feature can be identified in most patients, whatever their leukocyte, monocyte, and bone marrow blast counts and whatever the somatic mutations detected in their leukemic cells [2]. However, this diagnostic tool can be challenged by the co-occurrence of an inflammatory disease [7, 8] as it increases the fraction of intermediate monocytes (iMo;  $CD14^{++}CD16^{+}$ ) and lowers the cMo fraction that may not reach the diagnostic cut-off of 94% [5]. Notably, these patients still demonstrate a decrease in their non-classical monocyte fraction (ncMo;  $CD14^{-}CD16^{+}$ ) and their flow cytometric profile adopts a characteristic bulbous shape made of cMo and iMo (Fig. 1a). We recently reported that, in such a situation, evidencing a decrease in the fraction of slan-positive ncMo  $<1.7\%$  could support CMML diagnosis [9].

A number of prognostic scores with similar performance have been proposed in CMML [10]. Among them is the CMML-specific prognostic scoring system (CPSS), which relies on French–American–British and WHO CMML subtypes, red blood cell transfusion dependency, or hemoglobin count, and the Spanish cytogenetic risk stratification system [11]. *ASXL1* mutations, which have been invariably associated with a poor outcome, were the first molecular events incorporated in prognostication tools, including the Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM) score and others [12–14]. By contrast, the prognostic value of the distribution of monocyte subset in the peripheral blood of CMML patients has not been explored so far.

In the present study, after local ethical committee's agreement, we updated in June 2019 the outcome of 107

Members of the Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM) are listed at the end of paper.

**Supplementary information** The online version of this article (<https://doi.org/10.1038/s41375-020-0955-1>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Oriane Wagner-Ballon  
orianne.wagnerballon@aphp.fr

<sup>1</sup> AP-HP, Hôpitaux Universitaires Henri-Mondor, Département d'Hématologie et Immunologie Biologiques, 94010 Créteil, France

<sup>2</sup> Univ Paris Est Créteil, INSERM, IMRB, Equipe 9, 94010 Créteil, France

<sup>3</sup> Univ Paris, INSERM U944, Institut de Recherche Saint-Louis, 75010 Paris, France

<sup>4</sup> AP-HP, Hôpital Saint-Louis, Laboratoire d'Hématologie, 75010 Paris, France

<sup>5</sup> Univ Paris-Saclay, INSERM U1287, Gustave Roussy Cancer Center, 94800 Villejuif, France

<sup>6</sup> AP-HP, Hôpitaux Universitaires Henri-Mondor, Service d'Hématologie Clinique, 94010 Créteil, France

<sup>7</sup> AP-HP, Hôpital Saint-Louis, Service d'Hématologie Clinique, 75010 Paris, France

<sup>8</sup> Univ Paris-Sud, Faculté de Médecine, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France

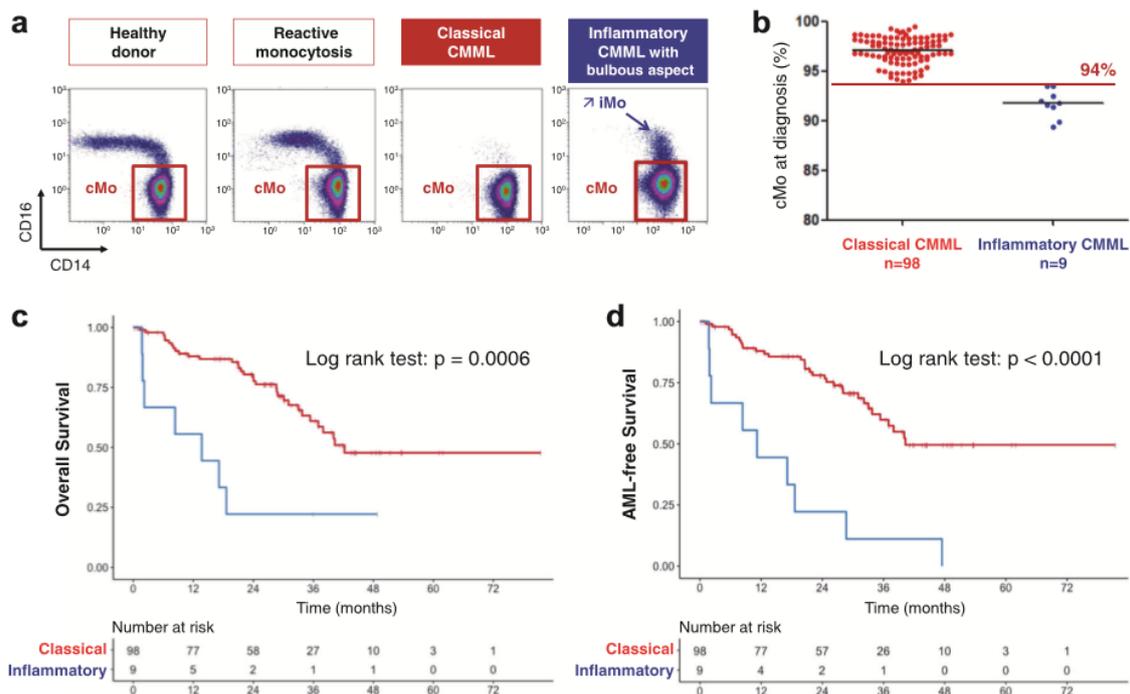
<sup>9</sup> Gustave Roussy Cancer Center, Department of Clinical Hematology, 94800 Villejuif, France

CMML patients (median age: 75 years [interquartile range, 67–83], sex ratio: 2.2) included between June 2012 and March 2017 in our previous studies by four centers [2, 5]. Flow cytometric analysis of peripheral blood monocyte subsets had been performed at diagnosis, i.e.,  $\pm 3$  months from initial bone marrow examination. According to 2017 WHO criteria [1], this series included 43 CMML-0 (40%), 48 CMML-1 (45%), and 16 CMML-2 (15%) (Supplementary Table 1). Seventy-nine patients (74%) displayed a dysplastic form of the disease, 6 (6%) had therapy-related CMML, and 10 (9%) had evolved from a previous myelodysplastic syndrome. Median WBC, hemoglobin level, and platelet count were  $9.3 \times 10^9/L$  [5.9–13.6], 11.8 g/dL [9.7–13.2], and  $120 \times 10^9/L$  [70–209], respectively. The karyotype was normal in 70% of the 101 patients (94%) with available information. Hence, their CPSS score was low (44%), intermediate-1 (28%), intermediate-2 (27%), and high (1%). A frame-shift or non-sense mutation in *ASXL1* gene was identified in 18 of the 62 (29%) patients with available information at diagnosis, stratifying them as

low (55%), intermediate (39%), or high (6%) risk patients according to the GFM score. Among patients with available next-generation sequencing analyses ( $n = 47$ ), mutations in *NRAS*, *RUNX1*, and *SETBP1* genes, which are included in the CPSS-Mol [14], were detected in 5 (11%), 4 (9%), and 2 (4%) patients, respectively.

Flow cytometric data collected at diagnosis were centrally reanalyzed in a blind fashion (by two skilled operators, OW-B and DS-B). The median cMo fraction was 96.9% [95.8–98.1], and 98 patients (92%) displayed a cMo fraction  $>94\%$ , as expected. In the remaining 9 patients (median cMo fraction 91.8% [91.4–92.5]), the flow cytometric profile of peripheral blood monocyte subsets showed a characteristic bulbous aspect (Fig. 1a, b). Since this aspect was shown to be associated with inflammatory diseases [5], these cases were thereafter referred to as “flow cytometry-defined inflammatory CMML” (Fig. 1b).

In the WHO-defined CMML (0/1/2) subgroups, the median peripheral blood monocyte count was  $1.6 \times 10^9/L$  [1.3–2.1] vs  $1.8 \times 10^9/L$  [1.5–3.0] vs  $1.8 \times 10^9/L$  [1.2–3.6]



**Fig. 1** Flow cytometric profiles and outcome of patients with classical CMML and flow cytometry-defined inflammatory CMML. **a** Representative dot plots of monocyte subset repartition (CD14/CD16) of healthy donor, patient with a reactive monocytosis, patient with a classical CMML displaying a typical profile (cMo  $>94\%$ ), and patient with a flow cytometry-defined inflammatory CMML patient with cMo  $<94\%$  and a “bulbous aspect.” **b** Percentages of cMo among total circulating monocytes in the 98 patients with classical CMML (red) and the 9 patients with flow cytometry-defined inflammatory CMML (blue); median is indicated by a black dash; the

94% diagnosis threshold is indicated in red. **c, d** Kaplan–Meier survival estimates of **c** overall survival (OS) and **d** AML-free survival in patients with classical CMML ( $n = 98$ , red) and flow cytometry-defined inflammatory CMML ( $n = 9$ , blue). Survival between groups was compared using the Kaplan–Meier estimator. Univariate analyses were performed with Log Rank test and are reported for each curve. CMML chronic myelomonocytic leukemia, cMo classical monocytes (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>), iMo intermediate monocytes (iMo, CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>), AML acute myeloid leukemia.

**Table 1** Variables associated with overall survival and AML-free survival in multivariate (Cox model) analysis.

	Overall survival		AML-free survival	
	HR [95% CI]	<i>p</i> Value	HR [95% CI]	<i>p</i> Value
<i>ASXL1</i> mutated	2.15 [1.08–4.26]	<i>p</i> = 0.029	2.24 [1.15–4.36]	<i>p</i> = 0.018
Hb level	0.84 [0.73–0.96]	<i>p</i> = 0.013	0.82 [0.72–0.94]	<i>p</i> = 0.0054
WBC count (log <sub>10</sub> )	3.00 [0.89–10.1]	<i>p</i> = 0.076	3.37 [1.01–11.2]	<i>p</i> = 0.048
Platelet count (log <sub>10</sub> )	0.19 [0.08–0.44]	<i>p</i> = 0.0002	0.14 [0.06–0.33]	<i>p</i> < 0.0001
Flow cytometry-defined inflammatory CMML	3.86 [1.65–9.05]	<i>p</i> = 0.0019	4.45 [2.00–9.89]	<i>p</i> = 0.0002

HR hazard ratio, CI confidence interval, Hb hemoglobin, WBC white blood cell, CMML chronic myelomonocytic leukemia.

(*p* = ns) and the median fraction of cMo was 96.8% [95.5–98.1] vs 97.2% [96.2–97.9] vs 96.9% [96.4–98.1] (*p* = ns), respectively. The absolute count of cMo could be measured by combining flow cytometric assessment of cMo fraction and the absolute monocyte count provided by the complete blood count. The cMo fraction was similar in proliferative and dysplastic CMML (96.8% [95.6–98.4] vs 96.9% [95.8–98.1], *p* = 0.88) but the absolute counts of both total monocytes ( $4.2 \times 10^9/L$  [2.6–6.2] vs  $1.6 \times 10^9/L$  [1.2–2.0], *p* < 0.001) and cMo ( $4.1 \times 10^9/L$  [2.5–6.1] vs  $1.5 \times 10^9/L$  [1.2–1.9], *p* < 0.001) were higher in proliferative CMML. Finally, the absolute count of cMo was similar between flow cytometry-defined inflammatory ( $1.6 \times 10^9/L$  [1.2–1.9]) and classical ( $1.8 \times 10^9/L$  [1.3–2.6], *p* = 0.65) CMML.

With a median follow-up of 26.7 months [13.3–35.5], 45 (42%) patients received at least one of the following treatments: hydroxycarbamide (*n* = 25), hypomethylating agents (*n* = 21), thrombopoietin receptor agonist (*n* = 10), and lenalidomide (*n* = 4). Three patients (3%) underwent allogeneic stem cell transplantation. During this period, 18 patients (17%) progressed to acute myeloid leukemia (AML) and 40 patients (38%) died, mainly from AML progression (*n* = 16) and sepsis (*n* = 8). Median overall survival (OS) was 40.3 months [24.0–NR (not reached)] and median AML-free survival (AMLFS), defined as time between diagnosis and AML transformation, death, or last follow-up, was 40.1 months [21.5–NR].

To investigate the prognostic value of the flow cytometry-defined inflammatory CMML pattern on OS and AMLFS, we included this parameter in a lasso penalized regression with *ASXL1* mutational status, CPSS-defined risk categories [11], and clinical variables, including age, sex, therapy-related status, WBC, platelets, hemoglobin, lymphocytes, absolute neutrophil count, absolute monocyte count, immature granulocytes, peripheral blasts, bone marrow blasts, and high-risk karyotype [11]. Hence, the five selected variables were then included in a multivariate Cox model. A flow cytometry-defined inflammatory profile predicted poorer OS (hazard ratio (HR) = 3.86, [95% confidence interval (CI), 1.65–9.05], *p* = 0.0019),

independently of *ASXL1* mutational status (HR = 2.15, [95% CI, 1.08–4.26], *p* = 0.029), higher WBC (log-transformed, HR = 3.00, [95% CI, 0.89–10.1], *p* = 0.076), hemoglobin level (HR = 0.84 [95% CI, 0.73–0.96], *p* = 0.013), and platelet count (log-transformed, HR = 0.19, [95% CI, 0.08–0.44], *p* = 0.0002) (Table 1). Median OS for CMML with a flow cytometry-defined inflammatory profile was 13.7 months [2.2–18.6] compared to 42.2 months [28.6–NR] for other patients (Fig. 1c). A similar impact on AMLFS was observed (11.2 months [2.2–18.6] compared to 40.3 months [26.2–NR]) (Table 1, Fig. 1d). Given the low number of CMML patients with flow cytometry-defined inflammatory profile, the prognostic significance of this pattern will be enforced if validated in a future, independent cohort.

This important prognostic value of the flow cytometry-defined inflammatory CMML pattern highlights the importance of a better delineation of these forms of the disease. Systemic auto-immune/inflammatory disorders are detected in up to 20% of CMML patients [8], but none of our 9 flow cytometry-defined inflammatory CMML patients had such coexisting disorder, yet displayed a mild biological inflammatory syndrome (Supplementary Table 2). Indeed, inflammation markers were available at diagnosis in 7 out of 9 CMML patients with flow cytometry-defined inflammatory profile and 44 out of 98 patients with classical CMML. Median C-reactive protein was 8 mg/L (IQR, 3.0–8.0) and 6.0 mg/L (IQR, 2.1–37.7), respectively (*p* = 0.95). Median fibrinogen was 4.8 g/L (IQR, 3.5–5.0) and 3.8 g/L (IQR, 3.0–4.4), respectively (*p* = 0.84). Three variables were associated with the flow cytometry-defined inflammatory profile: poorer cytogenetic risk (*p* = 0.023, Kendall correlation test), CPSS score (*p* = 0.028, Kendall correlation test), and GFM score (*p* = 0.014, Kendall correlation test) (Supplementary Table 1).

Altogether, the peripheral blood monocyte subset distribution at diagnosis delineates a small subgroup of CMML patients with a very poor outcome, including shorter OS and AMLFS. An extended assessment of inflammation markers may further enforce the link between the described profile and local or systemic inflammation. Identification of this

flow cytometric profile can be further refined by incorporating an ncMo-specific marker, such as slan, in the panel to demonstrate a decrease in the ncMo fraction to distinguish a CMML from a non-clonal reactive monocytosis [9, 15]. These results emphasize the usefulness of flow cytometric analysis of peripheral blood cells in CMML, as, in addition to facilitating disease recognition, it may contribute to disease risk stratification. Further analyses may prospectively validate these results and explore the underlying pathophysiological mechanisms involved.

**Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM)** P. Fenaux<sup>7</sup>, N. Vey<sup>10</sup>, L. Adès<sup>7</sup>, A. Guerci<sup>11</sup>, F. Chermat<sup>7</sup>, M. Fontenay<sup>12</sup>, S. Raynaud<sup>13</sup>, C. Preudhomme<sup>14</sup>, E. Solary<sup>5,8,9</sup>, T. Braun<sup>15</sup>, O. Beynerauzy<sup>16</sup>, R. Itzykson<sup>7</sup>, S. Park<sup>17</sup>, O. Kosmider<sup>12</sup>, T. Cluzeau<sup>13</sup>, A. Renneville<sup>14</sup>

<sup>10</sup>Hôpital Paoli-Calmettes, Marseille, France; <sup>11</sup>CHU Nancy-Brabois, Vandœuvre, France; <sup>12</sup>AP-HP, Hôpital Cochin, Paris, France; <sup>13</sup>CHU Nice, Nice, France; <sup>14</sup>CHU Lille, Lille, France; <sup>15</sup>AP-HP, Hôpital Avicenne, Bobigny, France; <sup>16</sup>UCT, Toulouse, France; <sup>17</sup>CHU Grenoble, Grenoble, France

**Author contributions** MJ collected clinical and biological annotations on patients, drew the figures, and helped writing the paper. ST, BB, NF, VTQ, and DS-B performed and analyzed the experiments. MD performed statistical analysis. IS and ND performed mutational analysis. MM prepared samples. ML, SM, PF, and ES provided patient samples. ES obtained the grants and critically reviewed the article. DS-B helped conceiving the study, analyzed data, and helped writing the paper. OW-B conceived the study, analyzed data, and wrote the paper. All authors revised and approved the manuscript.

### Compliance with ethical standards

**Conflict of interest** OW-B, DS-B, ND, and ES have a patent issued, relevant to the work. The other authors declare no conflict of interest.

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

### References

- Orazi A, Bennett JM, Germing U, Brunning RD, Bain BJ, Cazzola M, et al. Chronic myelomonocytic leukemia. In: WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2017. p. 81–6.
- Selimoglu-Buet D, Wagner-Ballon O, Saada V, Bardet V, Itzykson R, Bencheikh L, et al. Characteristic repartition of monocyte subsets as a diagnostic signature of chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 2015;125:3618–26.
- Talati C, Zhang L, Shaheen G, Kuykendall A, Ball M, Zhang Q, et al. Monocyte subset analysis accurately distinguishes CMML from MDS and is associated with a favorable MDS prognosis. *Blood*. 2017;129:1881–3.
- Patnaik MM, Timm MM, Vallapureddy R, Lasho TL, Ketterling RP, Gangat N, et al. Flow cytometry based monocyte subset analysis accurately distinguishes chronic myelomonocytic leukemia from myeloproliferative neoplasms with associated monocytosis. *Blood Cancer J*. 2017;7:e584.
- Selimoglu-Buet D, Badaoui B, Benayoun E, Toma A, Fenaux P, Quesnel B, et al. Accumulation of classical monocytes defines a subgroup of MDS that frequently evolves into CMML. *Blood*. 2017;130:832–5.
- Hudson CA, Burack WR, Leary PC, Bennett JM. Clinical utility of classical and nonclassical monocyte percentage in the diagnosis of chronic myelomonocytic leukemia. *Am J Clin Pathol*. 2018;150:293–302.
- Solary E, Itzykson R. How I treat chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 2017;130:126–36.
- Zahid MF, Barraco D, Lasho TL, Finke C, Ketterling RP, Gangat N, et al. Spectrum of autoimmune diseases and systemic inflammatory syndromes in patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2017;58:1488–93.
- Tarfi S, Badaoui B, Freynet N, Morabito M, Lafosse J, Toma A, et al. Disappearance of slan-positive non-classical monocytes for diagnosis of chronic myelomonocytic leukemia with associated inflammatory state. *Haematologica*. 2020;105:e147–52.
- Padron E, Garcia-Manero G, Patnaik MM, Itzykson R, Lasho T, Nazha A, et al. An international data set for CMML validates prognostic scoring systems and demonstrates a need for novel prognostication strategies. *Blood Cancer J*. 2015;5:e333.
- Such E, Germing U, Malcovati L, Cervera J, Kuendgen A, Della Porta MG, et al. Development and validation of a prognostic scoring system for patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 2013;121:3005–15.
- Itzykson R, Kosmider O, Renneville A, Gelsi-Boyer V, Meggendorfer M, Morabito M, et al. Prognostic score including gene mutations in chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2013;31:2428–36.
- Patnaik MM, Padron E, LaBorde RR, Lasho TL, Finke CM, Hanson CA, et al. Mayo prognostic model for WHO-defined chronic myelomonocytic leukemia: ASXL1 and spliceosome component mutations and outcomes. *Leukemia*. 2013;27:1504–10.
- Elena C, Galli A, Such E, Meggendorfer M, Germing U, Rizzo E, et al. Integrating clinical features and genetic lesions in the risk assessment of patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 2016;128:1408–17.
- Hofer TP, van de Loosdrecht AA, Stahl-Hennig C, Cassatella MA, Ziegler-Heitbrock L. 6-Sulfo LacNAc (slan) as a marker for non-classical monocytes. *Front Immunol*. 2019;10:2052.

## Résultats complémentaires

---

### Rationnel de la seconde étude

La première étude publiée dans *Leukemia* en 2020 souligne l'impact pronostique potentiel de la répartition des sous-populations monocytaires circulantes dans la LMMC. Plus précisément, les patients avec une LMMC associée à un profil phénotypique inflammatoire, défini dans cette étude par un aspect en bulbe entraînant un pourcentage de MO1 <94%, présentent un pronostic particulièrement défavorable. En effet, leur survie est significativement inférieure à celle des patients atteints de LMMC associées à un profil phénotypique typique avec accumulation de MO1  $\geq 94\%$ .

L'année de la publication de cette étude, nous avons rapporté l'intérêt du marqueur slan dans le diagnostic de la LMMC. En effet, les patients atteints de LMMC, en particulier ceux associés à un profil phénotypique inflammatoire, présentent une fraction de MO3 exprimant le marqueur slan (MO3 slan<sup>+</sup>) significativement diminuée par rapport aux sujets sains et aux patients présentant une monocytose réactionnelle (11). La combinaison de l'étude du pourcentage de MO1 et du pourcentage de MO3 slan<sup>+</sup>, avec un seuil établi à 1,7%, permet donc d'augmenter les performances de ce test diagnostique et de mieux discriminer les patients associés à un profil phénotypique inflammatoire, catégorie de pronostic défavorable dans notre première étude (11).

Pour confirmer les résultats de notre première étude, nous avons décidé de poursuivre cette étude pronostique chez des patients LMMC pour lesquels les données

immunophénotypiques intégraient le marqueur slan. Nous avons donc réalisé une seconde étude, prospective et multicentrique.

### Critères d'inclusion des patients

Tous les patients présentant une LMMC pour lesquels un immunophénotypage monocytaire incluant le marqueur slan avait été réalisé dans les six mois du diagnostic étaient éligibles, à condition qu'ils n'aient pas reçu d'agents hypométhylants au préalable. Contrairement à la première étude présentée dans ce manuscrit, les patients avec une LMMC de type MP et un pourcentage de monocytes inférieur à 10% des leucocytes totaux circulants étaient inclus, si la recherche du transcrite *BCR-ABL* était négative. En plus des critères d'exclusion précédemment décrits, les patients sous corticothérapie au moment de la réalisation de l'immunophénotypage monocytaire étaient exclus, celle-ci pouvant modifier la répartition des sous-populations monocytaires (10). Conformément à l'algorithme diagnostique par cytométrie en flux proposé par Tarfi et ses collaborateurs (11), le diagnostic de LMMC n'était pas retenu pour les patients présentant un pourcentage de MO1 inférieur à 94% sans aspect de bulbe et avec des MO3 slan+ supérieur à 1,7%. De plus, il a été récemment démontré que l'infection par le virus SARS-Cov-2 pouvait modifier la répartition des sous-populations monocytaires (69). Pour éviter ce biais potentiel, et pour permettre un suivi des patients non influencé par la pandémie, la fin de période d'inclusion de cette seconde étude a été fixée au 31 janvier 2020, date à partir de laquelle les premiers cas d'infection par le SARS-CoV-2 ont été rapportés en France.

## Présentation des résultats

Au total, 66 patients ont été inclus entre décembre 2017 et janvier 2020 dans sept centres français (Hôpital Henri Mondor à Créteil, Institut Gustave Roussy à Villejuif, Hôpital Saint-Louis à Paris, Hôpital Avicenne à Bobigny, Hôpital Cochin à Paris, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers et Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux). L'âge médian des patients était de 72 ans [IQR, 68 – 80] avec un *sex ratio* à 2,9. Sept patients (11%) présentaient une LMMC secondaire à un traitement par radio-chimiothérapie et 9 (14%) étaient suivis pour un SMD avant le diagnostic de LMMC. Les caractéristiques des patients sont résumées dans le **tableau 4**.

N (%) or Médiane (IQR)	Tous (n=66)	LMMC associées à un profil phénotypique classique (n=56)	LMMC associées à un profil phénotypique inflammatoire (n=10)
Age au diagnostic, années	77 (68-80)	69 (68-74)	72 (68-81)
Sexe masculin	49 (74)	42 (75)	7 (70)
Hémoglobine, g/dL	12.2 (10.5-13.6)	12.3 (10.9-13.6)	10.6 (8.9-13.2)
Plaquettes, x10 <sup>9</sup> /L	119 (73-195)	128 (80-202)	106 (57-164)
Leucocytes, x10 <sup>9</sup> /L	7.2 (5.2-15.8)	7.0 (5.2-14.1)	9.6 (5.0-31.0)
Polynucléaires neutrophiles, x10 <sup>9</sup> /L	3.6 (1.9-8.7)	3.6 (2.1-8.5)	4.6 (1.7-20.4)
Monocytes, x10 <sup>9</sup> /L	1.8 (1.4-3.3)	1.8 (1.3-3.0)	3.2 (1.8-3.5)
Monocytes, %	24 (20-30)	24 (21-28)	35 (16-41)
MO1, %	97.0 (94.9-97.7)	97.2 (95.9-97.9)	90.6 (88.4-92.4)
CRP, mg/L	7.1 (1.5-12.5)	4.1 (1.5-1.0)	23.0 (5.1-32.2)
<b>FAB</b>			
Données disponibles	65 (98)	55 (98)	10 (100)
MD	46 (71)	40 (73)	6 (60)
MP	19 (29)	15 (27)	4 (40)
<b>OMS-2017</b>			
LMMC-0	27 (41)	22 (39)	5 (50)
LMMC-1	30 (45)	28 (50)	2 (20)
LMMC-2	9 (14)	6 (11)	3 (30)
<b>Cytogénétique</b>			
Données disponibles	62 (94)	53 (95)	9 (90)
Risque faible	53 (85)	46 (87)	7 (78)
Risque intermédiaire	5 (8)	5 (9)	0
Risque élevé	4 (7)	2 (4)	2 (22)
<b>Score CPSS</b>			
Données disponibles	61 (92)	52 (93)	9 (90)
Risque faible	33 (54)	30 (58)	3 (33)
Risque intermédiaire-1	16 (26)	14 (27)	2 (22)
Risque intermédiaire-2	11 (18)	8 (15)	3 (33)
Risque élevé	1 (2)	0	1 (11)
<b>Statut mutationnel d'ASXL1</b>			
Données disponibles	47 (71)	39 (70)	8 (80)
Muté	17 (36)	12 (31)	5 (63)
<b>Score GFM</b>			
Données disponibles	45 (68)	37 (66)	8 (80)
Risque faible	29 (64)	26 (70)	3 (38)
Risque intermédiaire	9 (20)	6 (16)	3 (38)
Risque élevé	7 (16)	5 (14)	2 (24)

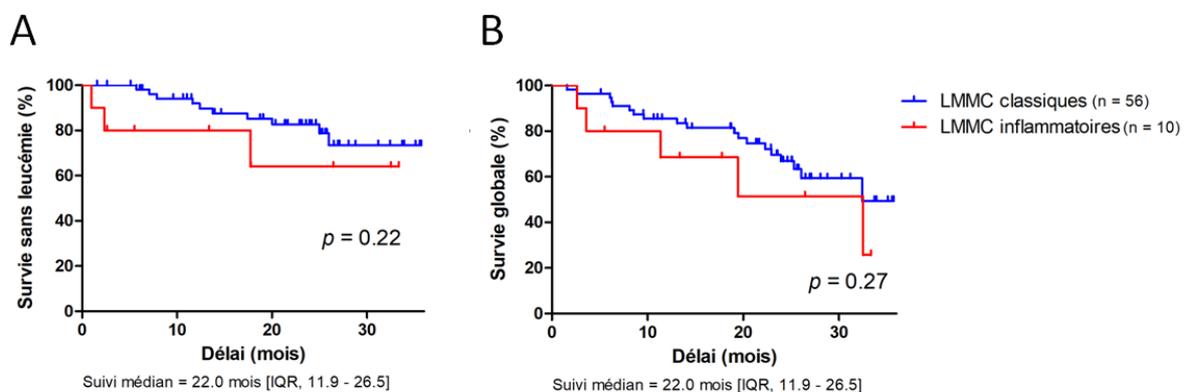
**Tableau 4 - Caractéristiques des 66 patients étudiés incluant les paramètres cliniques et biologiques.**

Parmi les 66 patients inclus, 10 patients (15%) présentaient un profil phénotypique inflammatoire associant un pourcentage de MO1 inférieur à 94%, un aspect en bulbe et un pourcentage de MO3 slan+ < 1,7%. Le pourcentage médian de MO1 était de 90,6% [IQR, 88,4-92,4] dans ce groupe de patients contre 97,2% [IQR, 95,9-97,9] chez les patients avec profil phénotypique typique de LMMC. Parmi ces 10 patients, six présentaient un syndrome inflammatoire biologique sur les huit avec une donnée disponible (CRP médiane : 23,0 [IQR, 5,1 – 32,2]). En revanche, seulement un patient présentait une pathologie inflammatoire clinique de type pseudo-polyarthrite rhizomélique diagnostiquée 14 mois avant le diagnostic de LMMC et traitée par corticothérapie pendant 12 mois. Le traitement par corticothérapie avait été arrêté plusieurs semaines avant la réalisation de l'immunophénotypage monocyttaire. La corticothérapie a été secondairement réintroduite chez ce patient en raison d'une maladie de Horton et d'une thrombopénie d'allure auto-immune. Parmi les 9 patients restants, aucune manifestation clinique pouvant être responsable d'un syndrome inflammatoire biologique n'a été retrouvée, en particulier pas de thrombose veineuse profonde, de cancer actif ou d'infection évolutive.

A l'inverse, parmi les 56 patients avec une LMMC et un profil phénotypique typique, cinq présentaient une maladie inflammatoire de type thrombopénie auto-immune (n=2), polyarthrite d'étiologie indéterminée (n=1), maladie de Horton (n=1) et pemphigoïde bulleuse (n=1). Le diagnostic a été posé avant celui de la LMMC chez trois patients, de façon concomitante chez un patient et ultérieurement au diagnostic de LMMC chez un autre patient. La CRP médiane était de 10,2 mg/l [IQR, 7,1 – 12,7]. Trois de ces cinq patients ont reçu un traitement par corticothérapie tandis qu'un patient a reçu un traitement par Méthotrexate. Le dernier de ces patients, qui présentait une polyarthrite d'étiologie indéterminée, n'a reçu aucun traitement à visée anti-inflammatoire mais a été traité

d'emblée par 5-Azacitidine. Aucun d'entre eux n'avait de traitement en cours au moment de l'immunophénotypage monocyttaire.

Après un suivi médian de 22,0 mois [IQR, 11,9 – 26,5], 24 patients (36%) ont reçu au moins un traitement parmi les suivants : hydroxyurée (n = 12), agents hypométhylants (n = 8), majoritairement 5-azacitidine, allogreffe de CSH (n = 2), agonistes de la thrombopoïétine (n = 1), inhibiteurs de *FLT3* (n = 1) et inhibiteurs de *JAK2* (n = 1). Au total, 13 patients (20%) ont progressé en leucémie aiguë et 24 (36%) sont décédés, notamment en lien avec l'acutisation (n = 9) ou un sepsis (n = 6). La survie globale médiane était de 32,5 mois [IQR, 19,5 – NA] et la survie sans leucémie médiane était non atteinte [IQR, 25,0 – NA]. Contrairement à notre précédente étude, aucune différence significative en termes de survie globale et de survie sans leucémie n'a été mise en évidence entre les patients avec profil phénotypique inflammatoire et les autres (**Figure 3**).



**Figure 3 - Courbes de survie sans leucémie (A) et de survie globale (B) selon Kaplan-Meier comparant les patients avec une LMMC associée à un profil phénotypique inflammatoire (n=10, courbes rouges) aux patients avec une LMMC avec un profil phénotypique classique (n=56, courbes bleues)**

Pour trois des 10 patients avec un profil phénotypique inflammatoire, un suivi de l'immunophénotypage monocyttaire était disponible. De façon intéressante, un patient ayant

reçu de l'hydroxyurée a conservé son profil phénotypique inflammatoire tandis que deux patients, ayant reçu respectivement un agent hypométhylant et un inhibiteur de *FLT3*, ont retrouvé un profil phénotypique typique de LMMC.

## Discussion

---

L'intérêt de l'immunophénotypage monocytaire dans le diagnostic de la LMMC a aujourd'hui été validé par plusieurs études (56,57). En effet, une accumulation relative des monocytes classiques MO1 (supérieure ou égale à 94%) au sein des monocytes totaux circulants permet de distinguer la LMMC des autres étiologies de monocytose, notamment réactionnelle. Dès lors, la question de l'impact pronostique de cette accumulation de MO1 s'est posée en pratique clinique. Les résultats de nos études appuient l'intérêt de l'étude par cytométrie en flux des sous-populations monocytaires circulantes dans la LMMC, à la fois comme outil diagnostique mais également à visée pronostique.

Notre première étude montre que l'immunophénotypage monocytaire permet d'identifier une catégorie de patients, représentant 8% de la cohorte, présentant un profil phénotypique inflammatoire associant un pourcentage de MO1 < 94% et un aspect en bulbe. Ce profil inflammatoire était associé à un mauvais pronostic puisque ces patients avaient une survie globale et une survie sans leucémie significativement inférieures à celles des patients présentant une LMMC avec un profil phénotypique classique. En raison de leur présentation inflammatoire, ces formes de LMMC étaient jusqu'à maintenant difficiles à différencier des monocytoses réactionnelles entraînant un retard diagnostique possible. Bien que ces patients présentaient un risque plus élevé selon le score CPSS, seul un des 9 patients (11%) avait reçu un traitement par agents hypométhylants contre 19 parmi les 98 autres patients (19%). Malgré le faible effectif de la cohorte, ce mauvais pronostic pourrait donc être expliqué à la fois par un retard diagnostique et par un retard de traitement. Cela nous incite donc à identifier précocement cette catégorie de patients par cytométrie en flux afin de leur

proposer une prise en charge rapide lorsque celle-ci est indiquée et d'améliorer leur pronostic. Pour cela, une généralisation de l'utilisation de la cytométrie en flux dans la LMMC est nécessaire. A l'échelle nationale, le groupe CytHem-LMMC, au sein de l'association de cytométrie hématologique francophone CytHem, participe à l'élaboration et la diffusion de protocoles « clés en main » adaptés aux différents cytomètres utilisés en routine dans les laboratoires français afin d'harmoniser les pratiques. A l'échelle internationale, l'étude des sous-populations monocytaires circulantes par cytométrie en flux dans le diagnostic de la LMMC a maintenant été validée à plusieurs reprises et fait désormais partie des dernières recommandations de l'EHA et de l'ELN (1).

Neuf scores pronostiques sont actuellement validés dans la LMMC combinant des facteurs associés aux SMD (cytopénies, blastose médullaire, caryotype) et des facteurs associés aux NMP (leucocytose, myélémie, syndrome tumoral). Parmi eux, le CPSS est celui utilisé actuellement en routine pour discuter l'indication d'un traitement chez les patients atteints de LMMC. Récemment, les résultats de biologie moléculaire ont été intégrés à ces scores pronostiques, en particulier le statut mutationnel du gène *ASXL1*, faisant partie du score du GFM. Dans notre étude, le profil phénotypique inflammatoire était associé à des scores CPSS et GFM de risque plus élevé. Ainsi, l'immunophénotypage monocyttaire, dont les résultats sont disponibles en quelques heures, pourrait permettre de prédire les résultats différés de cytogénétique et de biologie moléculaire, intégrés dans les scores CPSS et GFM. Des études dédiées sont nécessaires pour déterminer la place de l'étude des sous-populations monocytaires circulantes au sein des différents outils pronostiques déjà disponibles dans la prise en charge de la LMMC.

Notre seconde étude, agrémentée de l'utilisation de l'expression du marqueur slan par les MO3, ne confirme pas nos premiers résultats. Le plus faible effectif et la moindre durée de suivi peuvent en partie expliquer ces données. De plus, dans cette seconde cohorte, les patients avec un profil phénotypique inflammatoire représentent 15% de la cohorte globale contre 8% dans notre première étude. Cette donnée appuie l'intérêt de l'utilisation du marqueur slan pour isoler les LMMC associées à un profil phénotypique inflammatoire avec une sensibilité très élevée. L'identification de ces formes, basée uniquement sur l'aspect en bulbe sur le profil phénotypique, d'interprétation subjective, pourrait expliquer la moindre proportion de ce type de LMMC dans notre première cohorte entraînant un biais de sélection.

La plupart des patients étudiés avec un profil phénotypique dit inflammatoire présentaient un syndrome inflammatoire biologique, évalué par le dosage de la CRP. Dans ce contexte, l'augmentation de la sous-population des monocytes intermédiaires (MO2) explique la baisse relative du pourcentage de MO1 en dessous du seuil diagnostique de 94% et l'aspect caractéristique en bulbe. Néanmoins, un seul des 19 patients avec ce profil phénotypique dit inflammatoire dans nos 2 études présentait une pathologie clinique associée. Aucune autre cause d'inflammation n'a été retrouvée chez les autres patients. A l'inverse, certains patients avec une LMMC de profil phénotypique classique présentaient une authentique pathologie clinique inflammatoire. Ce profil phénotypique dit inflammatoire semble donc plutôt en lien avec un état inflammatoire biologique, indépendamment de l'expression clinique. L'association entre ces formes de LMMC et les pathologies cliniques attendues est donc remise en cause. Une étude prospective évaluant à titre systématique et de manière conjointe l'histoire clinique des patients et les marqueurs biologiques d'inflammation permettrait d'affirmer ou d'infirmer cette association. En plus des pathologies auto-

immunes, la recherche des autres pathologies associées à un syndrome inflammatoire biologique comme les thromboses, les cancers et les infections évolutives permettrait d'étendre le spectre des pathologies pouvant être associées à ce type de profil. De même, l'évaluation systématique d'autres marqueurs d'inflammation que la CRP comme le fibrogène, la ferritine, l'haptoglobine voire certaines cytokines inflammatoires (Interleukine-1 $\beta$ , interleukine-6, TNF- $\alpha$ ), pourrait permettre de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques sous-jacents. Enfin, un suivi plus systématique et prolongé de l'immunophénotypage monocyttaire chez ces patients, corrélé à l'évolution clinique, serait également informatif.

En raison de l'association relativement fréquente entre LMMC et pathologie inflammatoire clinique, un certain nombre de patients reçoivent un traitement par corticothérapie au diagnostic de la LMMC ou dans les suites de leur prise en charge. Cela impacte la répartition des sous-populations monocytaires circulantes rendant difficile son interprétation tant sur le plan diagnostique que pronostique. Cela nous a incités à exclure les patients recevant une corticothérapie au moment de l'immunophénotypage monocyttaire dans notre seconde étude. Sur l'ensemble de 2 cohortes, 11 patients recevaient une corticothérapie, majoritairement pour une pathologie inflammatoire, et tous présentaient un profil phénotypique typique de LMMC. Ces données appuient l'hypothèse que la corticothérapie bloquerait la maturation des MO1 en MO2 puis MO3, maintenant ainsi un profil phénotypique classique. Bien qu'il soit difficile d'intégrer ces patients à l'un ou à l'autre des deux groupes du fait de la corticothérapie en cours, les patients sous corticothérapie présentaient une meilleure survie sans leucémie par rapport aux patients avec profil phénotypique inflammatoire sans corticothérapie, sans différence en termes de survie globale. A l'inverse, aucune différence de survie n'a été mise en évidence entre les patients

sous corticothérapie pour une maladie inflammatoire et les patients avec une histoire clinique de maladie inflammatoire sans corticothérapie au moment de l'immunophénotypage monocyttaire. Ces résultats ne permettent pas de conclure sur l'impact de la corticothérapie dans ce contexte et incitent à réaliser des études dédiées. En particulier, l'étude du suivi de l'immunophénotypage monocyttaire avant, pendant et après le traitement par corticothérapie permettrait d'établir plus précisément l'impact de la corticothérapie sur la répartition des sous-populations monocytaires et sur le devenir des patients atteints de LMMC qu'ils soient associés à un profil phénotypique inflammatoire et/ou à une pathologie clinique inflammatoire.

## Conclusion

---

L'étude des sous-populations monocytaires par cytométrie en flux, outre son intérêt diagnostique principal, pourrait avoir un impact pronostique chez les patients atteints de LMMC. En effet, 8 à 15% des patients présentent un profil phénotypique particulier, dit inflammatoire, associant un aspect caractéristique en bulbe et un pourcentage de MO1 inférieur à 94%. Ces patients ont une survie diminuée par rapport aux patients présentant une LMMC avec un profil phénotypique classique et un pourcentage de MO1 supérieur ou égal à 94%. Bien qu'un syndrome inflammatoire biologique soit le plus souvent retrouvé chez ces patients présentant un profil phénotypique particulier, seul un des 19 présentait une pathologie clinique inflammatoire avérée. Des études dédiées sont donc nécessaires pour affirmer ou infirmer l'association attendue entre ces formes phénotypiques dites inflammatoires de LMMC et les pathologies cliniques rapportées jusqu'ici. L'ensemble de ces résultats incitent à généraliser l'utilisation de la cytométrie en flux dans la LMMC tant à l'échelle nationale, grâce au groupe CytHem-LMMC, qu'à l'échelle internationale suite aux dernières recommandations des groupes d'experts. La place de l'immunophénotypage monocyttaire au sein des scores pronostiques déjà validés dans la LMMC reste néanmoins à définir.

## Bibliographie

---

1. Itzykson R, Fenaux P, Bowen D, Cross NCP, Cortes J, De Witte T, et al. Diagnosis and Treatment of Chronic Myelomonocytic Leukemias in Adults. *HemaSphere* [Internet]. 29 nov 2018 [cité 14 juin 2021];2(6). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6745959/>
2. Chan O, Renneville A, Padron E. Chronic myelomonocytic leukemia diagnosis and management. *Leukemia*. juin 2021;35(6):1552-62.
3. Roman E, Smith A, Appleton S, Crouch S, Kelly R, Kinsey S, et al. Myeloid malignancies in the real-world: Occurrence, progression and survival in the UK's population-based Haematological Malignancy Research Network 2004–15. *Cancer Epidemiol*. 1 juin 2016;42:186-98.
4. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 19 mai 2016;127(20):2391-405.
5. Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, Vallespi T, Brunning R, Mufti GJ, et al. Morphological evaluation of monocytes and their precursors. *Haematologica*. juill 2009;94(7):994-7.
6. Xubo G, Xingguo L, Xianguo W, Rongzhen X, Xibin X, Lin W, et al. The role of peripheral blood, bone marrow aspirate and especially bone marrow trephine biopsy in distinguishing atypical chronic myeloid leukemia from chronic granulocytic leukemia and chronic myelomonocytic leukemia. *Eur J Haematol*. oct 2009;83(4):292-301.
7. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick H, et al. The chronic myeloid leukaemias: guidelines for distinguishing chronic granulocytic, atypical chronic myeloid, and chronic myelomonocytic leukaemia. Proposals by the French-American-British Cooperative Leukaemia Group. *Br J Haematol*. août 1994;87(4):746-54.
8. Such E, Germing U, Malcovati L, Cervera J, Kuendgen A, Della Porta MG, et al. Development and validation of a prognostic scoring system for patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 11 avr 2013;121(15):3005-15.
9. Schuler E, Schroeder M, Neukirchen J, Strupp C, Xicoy B, Kündgen A, et al. Refined medullary blast and white blood cell count based classification of chronic myelomonocytic leukemias. *Leuk Res*. 1 déc 2014;38(12):1413-9.
10. Selimoglu-Buet D, Badaoui B, Benayoun E, Toma A, Fenaux P, Quesnel B, et al. Accumulation of classical monocytes defines a subgroup of MDS that frequently evolves into CMML. *Blood*. 10 août 2017;130(6):832-5.
11. Tarfi S, Badaoui B, Freynet N, Morabito M, Lafosse J, Toma A, et al. Disappearance of slan-positive non-classical monocytes for diagnosis of chronic myelomonocytic leukemia with an associated inflammatory state. *Haematologica*. 1 avr 2020;105(4):e147-52.
12. Solary E, Itzykson R. How I treat chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 13 juill 2017;130(2):126-36.

13. Lacronique-Gazaille C, Chaury M-P, Guyader AL, Faucher J-L, Bordessoule D, Feuillard J. A simple method for detection of major phenotypic abnormalities in myelodysplastic syndromes: expression of CD56 in CMML. *Haematologica*. 1 juin 2007;92(6):859-60.
14. Xu Y, McKenna RW, Karandikar NJ, Pildain AJ, Kroft SH. Flow Cytometric Analysis of Monocytes as a Tool for Distinguishing Chronic Myelomonocytic Leukemia From Reactive Monocytosis. *Am J Clin Pathol*. nov 2005;124(5):799-806.
15. Subirá D, Font P, Villalón L, Serrano C, Askari E, Góngora E, et al. Immunophenotype in chronic myelomonocytic leukemia: is it closer to myelodysplastic syndromes or to myeloproliferative disorders? *Transl Res*. 1 mai 2008;151(5):240-5.
16. Valent P, Orazi A, Savona MR, Patnaik MM, Onida F, Loosdrecht AA van de, et al. Proposed diagnostic criteria for classical chronic myelomonocytic leukemia (CMML), CMML variants and pre-CMML conditions. *Haematologica*. 1 oct 2019;104(10):1935-49.
17. Sojitra P, Gandhi P, Fitting P, Kini AR, Alkan S, Velankar MM, et al. Chronic Myelomonocytic Leukemia Monocytes Uniformly Display a Population of Monocytes With CD11c Underexpression. *Am J Clin Pathol*. 1 nov 2013;140(5):686-92.
18. Harrington AM, Schelling LA, Ordobazari A, Olteanu H, Hosking PR, Kroft SH. Immunophenotypes of Chronic Myelomonocytic Leukemia (CMML) Subtypes by Flow Cytometry: A Comparison of CMML-1 vs CMML-2, Myeloproliferative vs Dysplastic, De Novo vs Therapy-Related, and CMML-Specific Cytogenetic Risk Subtypes. *Am J Clin Pathol*. 1 août 2016;146(2):170-81.
19. Wassie EA, Itzykson R, Lasho TL, Kosmider O, Finke CM, Hanson CA, et al. Molecular and prognostic correlates of cytogenetic abnormalities in chronic myelomonocytic leukemia: a Mayo Clinic-French Consortium Study. *Am J Hematol*. 2014;89(12):1111-5.
20. Onida F, Kantarjian HM, Smith TL, Ball G, Keating MJ, Estey EH, et al. Prognostic factors and scoring systems in chronic myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis of 213 patients. *Blood*. 1 févr 2002;99(3):840-9.
21. Such E, Cervera J, Costa D, Solé F, Vallespi T, Luño E, et al. Cytogenetic risk stratification in chronic myelomonocytic leukemia. *Haematologica*. mars 2011;96(3):375-83.
22. Merlevede J, Droin N, Qin T, Meldi K, Yoshida K, Morabito M, et al. Mutation allele burden remains unchanged in chronic myelomonocytic leukaemia responding to hypomethylating agents. *Nat Commun [Internet]*. 24 févr 2016 [cité 14 juin 2021];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4770084/>
23. Itzykson R, Duchmann M, Lucas N, Solary E. CMML: Clinical and molecular aspects. *Int J Hematol*. 1 juin 2017;105(6):711-9.
24. Patnaik MM, Tefferi A. Cytogenetic and molecular abnormalities in chronic myelomonocytic leukemia. *Blood Cancer J*. févr 2016;6(2):e393.
25. Mason CC, Khorashad JS, Tantravahi SK, Kelley TW, Zabriskie MS, Yan D, et al. Age-related mutations and chronic myelomonocytic leukemia. *Leukemia*. avr 2016;30(4):906-13.
26. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, Manning A, Grauman PV, Mar BG, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med*. 25 déc 2014;371(26):2488-98.

27. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, Lindsley RC, Sekeres MA, Hasserjian RP, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2 juill 2015;126(1):9-16.
28. Elbæk MV, Sørensen AL, Hasselbalch HC. Chronic inflammation and autoimmunity as risk factors for the development of chronic myelomonocytic leukemia? *Leuk Lymphoma*. 2 août 2016;57(8):1793-9.
29. Itzykson R, Kosmider O, Renneville A, Gelsi-Boyer V, Meggendorfer M, Morabito M, et al. Prognostic score including gene mutations in chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 juill 2013;31(19):2428-36.
30. Patnaik MM, Itzykson R, Lasho TL, Kosmider O, Finke CM, Hanson CA, et al. ASXL1 and SETBP1 mutations and their prognostic contribution in chronic myelomonocytic leukemia: a two-center study of 466 patients. *Leukemia*. nov 2014;28(11):2206-12.
31. Damm F, Itzykson R, Kosmider O, Droin N, Renneville A, Chesnais V, et al. SETBP1 mutations in 658 patients with myelodysplastic syndromes, chronic myelomonocytic leukemia and secondary acute myeloid leukemias. *Leukemia*. juin 2013;27(6):1401-3.
32. Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Adélaïde J, Aceto N, Remy V, Pinson S, et al. Genome profiling of chronic myelomonocytic leukemia: frequent alterations of RAS and RUNX1 genes. *BMC Cancer*. 16 oct 2008;8:299.
33. Cargo C, Cullen M, Taylor J, Short M, Glover P, Van Hoppe S, et al. The use of targeted sequencing and flow cytometry to identify patients with a clinically significant monocytosis. *Blood*. 21 mars 2019;133(12):1325-34.
34. Elena C, Galli A, Such E, Meggendorfer M, Germing U, Rizzo E, et al. Integrating clinical features and genetic lesions in the risk assessment of patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 8 sept 2016;128(10):1408-17.
35. Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Roquain J, Adélaïde J, Carbuccia N, Esterni B, et al. ASXL1 mutation is associated with poor prognosis and acute transformation in chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol*. nov 2010;151(4):365-75.
36. Patnaik MM, Wassie EA, Padron E, Onida F, Itzykson R, Lasho TL, et al. Chronic myelomonocytic leukemia in younger patients: molecular and cytogenetic predictors of survival and treatment outcome. *Blood Cancer J*. 2 janv 2015;5:e270.
37. Patnaik MM, Vallapureddy R, Yalniz FF, Hanson CA, Ketterling RP, Lasho TL, et al. Therapy related-chronic myelomonocytic leukemia (CMML): Molecular, cytogenetic, and clinical distinctions from de novo CMML. *Am J Hematol*. janv 2018;93(1):65-73.
38. Takahashi K, Pemmaraju N, Strati P, Nogueras-Gonzalez G, Ning J, Bueso-Ramos C, et al. Clinical characteristics and outcomes of therapy-related chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 17 oct 2013;122(16):2807-11; quiz 2920.
39. Charlson M, Szatrowski TP, Peterson J, Gold J. Validation of a combined comorbidity index. *J Clin Epidemiol*. 1 nov 1994;47(11):1245-51.

40. Porta MGD, Kuendgen A, Malcovati L, Zipperer E, Pascutto C, Travaglino E, et al. Myelodysplastic Syndrome (MDS)-Specific Comorbidity Index for Predicting the Impact of Extra-Hematological Comorbidities on Survival of Patients with MDS. *Blood*. 16 nov 2008;112(11):2677.
41. Sorror ML, Storb RF, Sandmaier BM, Maziarz RT, Pulsipher MA, Maris MB, et al. Comorbidity-age index: a clinical measure of biologic age before allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 oct 2014;32(29):3249-56.
42. Xicoy B, Germing U, Jimenez M-J, Garcia O, Garcia R, Schemenau J, et al. Response to erythropoietic-stimulating agents in patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Eur J Haematol*. juill 2016;97(1):33-8.
43. Wattel E, Guerci A, Hecquet B, Economopoulos T, Copplestone A, Mahé B, et al. A randomized trial of hydroxyurea versus VP16 in adult chronic myelomonocytic leukemia. *Groupe Français des Myélodysplasies and European CMML Group. Blood*. 1 oct 1996;88(7):2480-7.
44. Symeonidis A, van Biezen A, de Wreede L, Piciocchi A, Finke J, Beelen D, et al. Achievement of complete remission predicts outcome of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in patients with chronic myelomonocytic leukaemia. A study of the Chronic Malignancies Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol*. oct 2015;171(2):239-46.
45. Park S, Labopin M, Yakoub-Agha I, Delaunay J, Dhedin N, Deconinck E, et al. Allogeneic stem cell transplantation for chronic myelomonocytic leukemia: a report from the Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire. *Eur J Haematol*. mai 2013;90(5):355-64.
46. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol*. mars 2009;10(3):223-32.
47. Figueroa ME, Skrabanek L, Li Y, Jiemjit A, Fandy TE, Paietta E, et al. MDS and secondary AML display unique patterns and abundance of aberrant DNA methylation. *Blood*. 15 oct 2009;114(16):3448-58.
48. Meldi K, Qin T, Buchi F, Droin N, Sotzen J, Micol J-B, et al. Specific molecular signatures predict decitabine response in chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Invest*. 1 mai 2015;125(5):1857-72.
49. Patnaik MM, Tefferi A. Chronic myelomonocytic leukemia: 2018 update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol*. 2018;93(6):824-40.
50. Subari S, Patnaik M, Alfakara D, Zblewski D, Hook C, Hashmi S, et al. Hypomethylating agents are effective in shrinking splenomegaly in patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. juill 2016;57(7):1714-5.
51. Duchmann M, Yalniz FF, Sanna A, Sallman D, Coombs CC, Renneville A, et al. Prognostic Role of Gene Mutations in Chronic Myelomonocytic Leukemia Patients Treated With Hypomethylating Agents. *EBioMedicine*. 25 avr 2018;31:174-81.
52. Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood*. 21 oct 2010;116(16):e74-80.

53. Wong KL, Tai JJ-Y, Wong W-C, Han H, Sem X, Yeap W-H, et al. Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. *Blood*. 4 août 2011;118(5):e16-31.
54. Zawada AM, Rogacev KS, Rotter B, Winter P, Marell R-R, Fliser D, et al. SuperSAGE evidence for CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes as a third monocyte subset. *Blood*. 22 sept 2011;118(12):e50-61.
55. Selimoglu-Buet D, Wagner-Ballon O, Saada V, Bardet V, Itzykson R, Bencheikh L, et al. Characteristic repartition of monocyte subsets as a diagnostic signature of chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 4 juin 2015;125(23):3618-26.
56. Talati C, Zhang L, Shaheen G, Kuykendall A, Ball M, Zhang Q, et al. Monocyte subset analysis accurately distinguishes CMML from MDS and is associated with a favorable MDS prognosis. *Blood*. 30 mars 2017;129(13):1881-3.
57. Tarfi S, Harrivel V, Dumezy F, Guy J, Roussel M, Mimoun A, et al. Multicenter validation of the flow measurement of classical monocyte fraction for chronic myelomonocytic leukemia diagnosis. *Blood Cancer J* [Internet]. 14 nov 2018 [cité 14 juin 2021];8(11). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6235983/>
58. Patnaik MM, Timm MM, Vallapureddy R, Lasho TL, Ketterling RP, Gangat N, et al. Flow cytometry based monocyte subset analysis accurately distinguishes chronic myelomonocytic leukemia from myeloproliferative neoplasms with associated monocytosis. *Blood Cancer J*. juill 2017;7(7):e584;
59. Selimoglu-Buet D, Rivière J, Ghamlouch H, Bencheikh L, Lacout C, Morabito M, et al. A miR-150/TET3 pathway regulates the generation of mouse and human non-classical monocyte subset. *Nat Commun*. 21 déc 2018;9(1):5455.
60. Pophali PA, Timm MM, Mangaonkar AA, Shi M, Reichard K, Tefferi A, et al. Practical limitations of monocyte subset repartitioning by multiparametric flow cytometry in chronic myelomonocytic leukemia. *Blood Cancer J* [Internet]. 16 août 2019 [cité 16 juin 2021];9(9). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6697701/>
61. Vuckovic S, Fearnley DB, Gunningham S, Spearing RL, Patton WN, Hart DNJ. Dendritic cells in chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 1999;105(4):974-85.
62. Hudson CA, Burack WR, Leary PC, Bennett JM. Clinical Utility of Classical and Nonclassical Monocyte Percentage in the Diagnosis of Chronic Myelomonocytic Leukemia. *Am J Clin Pathol*. 30 août 2018;150(4):293-302.
63. Hofer TP, van de Loosdrecht AA, Stahl-Hennig C, Cassatella MA, Ziegler-Heitbrock L. 6-Sulfo LacNAc (Slan) as a Marker for Non-classical Monocytes. *Front Immunol* [Internet]. 2019 [cité 5 août 2021];0. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02052/full>
64. Zahid MF, Barraco D, Lasho TL, Finke C, Ketterling RP, Gangat N, et al. Spectrum of autoimmune diseases and systemic inflammatory syndromes in patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 3 juin 2017;58(6):1488-93.
65. Grignano E, Mekinian A, Braun T, Liozon E, Hamidou M, Decaux O, et al. Autoimmune and inflammatory diseases associated with chronic myelomonocytic leukemia: A series of 26 cases and literature review. *Leuk Res*. août 2016;47:136-41.

66. Mekinian A, Grignano E, Braun T, Decaux O, Liozon E, Costedoat-Chalumeau N, et al. Systemic inflammatory and autoimmune manifestations associated with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia: a French multicentre retrospective study. *Rheumatol Oxf Engl.* févr 2016;55(2):291-300.
67. Peker D, Padron E, Bennett JM, Zhang X, Horna P, Epling-Burnette PK, et al. A Close Association of Autoimmune-Mediated Processes and Autoimmune Disorders with Chronic Myelomonocytic Leukemia: Observation from a Single Institution. *Acta Haematol.* 2015;133(2):249-56.
68. Fraison J-B, Mekinian A, Grignano E, Kahn J-E, Arlet J-B, Decaux O, et al. Efficacy of Azacitidine in autoimmune and inflammatory disorders associated with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia. *Leuk Res.* avr 2016;43:13-7.
69. Silvin A, Chapuis N, Dunsmore G, Goubet A-G, Dubuisson A, Derosa L, et al. Elevated Calprotectin and Abnormal Myeloid Cell Subsets Discriminate Severe from Mild COVID-19. *Cell.* 17 sept 2020;182(6):1401-1418.e18.

## Table des figures

---

**Figure 1** - Dot plots montrant la répartition des sous-populations monocytaires chez un sujet sain (A), chez un patient atteint de LMMC avec un profil phénotypique classique (B) et chez un patient atteint de LMMC associée à un profil phénotypique inflammatoire (C). *Adaptée de Selimoglu-Buet et al., Blood 2017.* ..... 22

**Figure 2** - Algorithme diagnostique de la LMMC par cytométrie en flux en 2 étapes. *D'après Wagner-Ballon et al., Correspondances en onco-hématologie 2020.* ..... 25

**Figure 3** - Courbes de survie sans leucémie (A) et de survie globale (B) selon Kaplan-Meier comparant les patients avec une LMMC associée à un profil phénotypique inflammatoire (n=10, courbes rouges) aux patients avec une LMMC avec un profil phénotypique classique (n=56, courbes bleues) ..... 39

## Table des tableaux

---

<b>Tableau 1</b> - Critères diagnostiques de la LMMC selon l'OMS 2017. <i>D'après Gelsi-Boyer et al., Correspondances en onco-hématologie, 2020.</i> .....	10
<b>Tableau 2</b> - Scores pronostiques utilisés dans la LMMC. <i>D'après Gelsi-Boyer et al., Correspondances en onco-hématologie 2020.</i> .....	16
<b>Tableau 3</b> - Caractéristiques immunophénotypiques et fonctionnelles des 3 sous-populations monocytaires circulantes. <i>D'après Wagner-Ballon et al., Correspondances en onco-hématologie 2020.</i> .....	22
<b>Tableau 4</b> - Caractéristiques des 66 patients étudiés incluant les paramètres cliniques et biologiques. ....	37

## Permis d'imprimer

---

Vu, le Président de thèse

Université de Paris

Professeur Raphaël ITZYKSON

Date :

*06/09/2021*  
**Docteur ITZYKSON Raphaël**  
Hématologue  
Service Hématologie Adultes  
Hôpital SAINT-LOUIS - Myosotis 3<sup>me</sup> étage  
1, avenue Claude Vellefaux  
75475 PARIS Cedex 10  
Tél. : 01 42 49 96 43 / Fax : 01 42 49 40 10  
N° RPPS : 10100529220

Vu, le Doyen de l'UFR de Médecine

Université de Paris

Professeur Philippe RUSZNIEWSKI



Vu, la Présidente d'Université de Paris

Professeure Christine CLERICI

Pour la Présidente et par délégation,

Le Doyen Philippe RUSZNIEWSKI



**Titre de la thèse :** Impact pronostique de la répartition des sous-populations monocytaires évaluée par cytométrie en flux dans la leucémie myélomonocytaire chronique

**Résumé :**

Une accumulation relative de monocytes classiques (MO1, CD14++CD16-)  $\geq 94\%$  des monocytes totaux circulants, déterminée par cytométrie en flux, permet de distinguer la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) des autres étiologies de monocytose périphérique. Pour évaluer l'impact pronostique de la répartition des sous-populations monocytaires, nous avons étudié le devenir de 107 patients atteints de LMMC, diagnostiquée selon les critères de la classification OMS révisée en 2017, dans quatre centres. Une accumulation de MO1  $\geq 94\%$  était retrouvée comme attendu chez 98 patients (92%) tandis que les neuf patients restants (8%) présentaient un profil phénotypique dit inflammatoire avec un aspect en bulbe et un pourcentage de MO1  $< 94\%$ . Après un suivi médian de 26,7 mois [IQR, 13,3 - 35,5], 38% des patients étaient décédés, le plus souvent en raison d'une évolution en leucémie aiguë. En analyse multivariée, le profil phénotypique dit inflammatoire était associé à une moins bonne survie globale (HR = 3,86, [IC95%, 1,65 – 9,05],  $p=0,0019$ ), indépendamment du statut mutationnel d'ASXL1, du taux de leucocytes, d'hémoglobine et de plaquettes. En médiane, la survie globale des patients avec profil phénotypique dit inflammatoire était de 13,7 mois [2,2 - 18,6] contre 42,2 mois [28,6 - NA] pour les autres patients. Ce travail montre l'intérêt pronostique de l'immunophénotypage monocyttaire puisqu'il permet d'identifier dès le diagnostic de LMMC une catégorie de patients présentant un profil phénotypique dit inflammatoire associé à un pronostic défavorable.

**Spécialité :**

Hématologie clinique

**Mots clés français :**

Leucémie myélomonocytaire chronique ; cytométrie en flux ; monocytes classiques ; pronostic ; inflammation

**Forme ou Genre :**

Dissertation universitaire

Rameau : Thèses et écrits académiques

**Université de Paris**  
**UFR de médecine– Site Bichat**  
**16, rue Henri Huchard 75018 Paris**