

UNIVERSITÉ PARIS CITÉ

Faculté de Santé

UFR de Médecine

Année 2022

N°

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le : 20/10/2022

Par

Loïc VASSEUR

**Cinétique de la maladie résiduelle
dans les leucémies aiguës myéloïdes à Core Binding Factor**

Dirigée par M. le Professeur Raphaël ITZYKSON

JURY

M. le Professeur Nicolas BOISSEL	Président
M. Le Professeur Raphaël ITZYKSON	Directeur
M. Le Docteur Nicolas DUPLOYEZ	Membre du jury
Mme Le Docteur Juliette LAMBERT	Membre du jury
M. Le Docteur Jérôme LAMBERT	Membre du jury

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

UNIVERSITÉ PARIS CITÉ

Faculté de Santé

UFR de Médecine

Année 2022

N°

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le : 20/10/2022

Par

Loïc VASSEUR

**Cinétique de la maladie résiduelle
dans les leucémies aiguës myéloïdes à Core Binding Factor**

Dirigée par M. le Professeur Raphaël ITZYKSON

JURY

M. le Professeur Nicolas BOISSEL

Président

M. Le Professeur Raphaël ITZYKSON

Directeur

M. Le Docteur Nicolas DUPLOYEZ

Membre du jury

Mme Le Docteur Juliette LAMBERT

Membre du jury

M. Le Docteur Jérôme LAMBERT

Membre du jury

24/09/22

N. Boissel

Pr BOISSEL Nicolas

Service Hématologie Adolescents & Jeunes Adultes

Hôpital SAINT LOUIS - Coquelinot 3^{ème} Etage

1, Avenue Claude Vellefaux

75475 PARIS Cedex 10

Tél. : 01 42 49 96 43 / Fax : 01 42 38 51 31

N° RPPS : 10001560084

Remerciements

À mon directeur de thèse, M. le Professeur Raphaël Itzykson,

Merci beaucoup Raphaël d'avoir accepté de diriger ma thèse de médecine et de m'avoir aidé dans ce projet. Tes corrections donnent à cette thèse beaucoup de sa valeur. Merci de m'avoir ouvert la voie de la recherche et de m'avoir aidé à réaliser les travaux sur lesquels nous avançons actuellement. J'aurais eu beaucoup de difficultés à m'y lancer sans ton soutien sans faille et ta disponibilité. Je te dois beaucoup et tu m'as appris énormément. J'espère pouvoir continuer à travailler ensemble dans les années futures.

À mon président de thèse, M. le Professeur Nicolas Boissel,

Merci beaucoup Nicolas de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse. Mon travail s'inscrit dans la suite de l'ensemble des travaux que tu as réalisé dans ce domaine et tes conseils ont été très enrichissants. Merci pour ta grande aide et ton soutien bienveillant depuis déjà 4 ans, des activités cliniques aux travaux de recherche passés et futurs. Ton exemple en tant que médecin est très inspirant et je suis très heureux de pouvoir continuer à travailler ensemble dans les prochaines années.

À M. le Docteur Jérôme Lambert,

Merci beaucoup d'avoir accepté de diriger ma thèse pour les années à venir. Je te remercie beaucoup pour tes enseignements et pour ta disponibilité qui m'ont déjà permis de m'améliorer et d'avancer dans ce projet et comme dans les autres. Je suis ravi de pouvoir continuer à travailler ensemble pour les prochaines années et j'espère être à la hauteur de ce projet.

À M. le Docteur Nicolas Duployez,

Merci beaucoup d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Tes travaux dans les LAM CBF sont très intéressants et ont été pour moi un repère important. Je te remercie

aussi pour ton aide pour RétroCBF et pour les autres travaux que nous faisons ensemble avec toi et ton équipe.

À Mme le Docteur Juliette Lambert,

Merci beaucoup d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Je n'ai malheureusement pas eu la chance de travailler avec toi à Versailles quand j'étais jeune interne mais j'ai eu le plaisir d'échanger quand je revenais faire des gardes. Merci beaucoup de ton aide pour ce travail de recherche.

À tous ceux qui ont participé à l'étude RétroCBF

Merci à Karine pour ton grand travail sur la partie réglementaire et pour la coordination de ce travail multicentrique si important pour cette étude.

Merci aux médecins, ARC et infirmiers de recherche clinique qui ont inclus et réalisés le recueil des patients. Un grand merci en particulier au Dr Céline Berthon, au Dr Alexis Genthon, aux Dr Mael Heiblig et Dr Mohamed El-hamri, au Dr Matthieu Leclerc, à Anne-Marie, à Alexandre Iat, à Céline Philippon, au Dr Madalina Uzunov, au Dr Ambroise Marçais, au Dr Delphine Lebon, au Dr Jean-Baptiste Micol, au Pr Thorsten Braun, au Dr Sylvain Chantepie, au Dr Lauris Gastaud, à Emeline Dubief, à Louise Van Sante, à Amandine Hubert, à Issam Belhaj, à Catia Palminha, à Charlène Dupre.

Merci aux équipes d'hématologie biologique qui m'ont transmis les données de MRD, à Céline Decroocq, au Pr Emmanuelle Clappier, au Dr Fabizia Favale, au Dr Pierre Hirsch, à Eugénie Duroyon que nous regrettons beaucoup, au Dr Pierre Sujobert, au Dr Sihem Tarif, au Dr David Rizzo.

Merci à tous ceux qui y ont participé de près ou de loin à cette étude.

À tous ceux qui m'ont aidé et qui m'ont fait grandir pendant ces années de médecine

Merci à Matthieu pour ton aide précieuse depuis mon Master 2. Tu as essuyé tous mes débuts que ce soit en biologie cellulaire qu'en statistiques et gestion de base de données. Je te remercie de ton infinie patience et de tous les efforts que tu as fait pour me faire avancer avec la gentillesse qui te caractérise.

Merci à Justine, à Gaetano, à Renaldo pour votre aide pour cette année de M2, vous avez su tolérer ma maladresse et mon agitation et je vous remercie de m'avoir permis de réaliser ce travail dans une ambiance heureuse.

Merci à Diane, à Isabel, à Philippe, à Soso, à Anne-Laure, à Stéphan et à tous les autres. Je garde d'excellents souvenirs des mois passés avec vous. Vous m'avez beaucoup appris et surtout vous m'avez montré qu'il était possible de faire parfaitement de l'hématologie dans une ambiance heureuse et bienveillante.

Merci à Elodie pour ton aide et pour avoir accueilli parfois par surprise notre drôle de trio à Nîmes. Prépare-toi au prochain débarquement.

Merci à Ilhem, tu as été une CCA formidable, j'espère ne pas avoir trop été insupportable et ne pas avoir trop tapé. Tu as été très bienveillante et aidante pendant ces formidables 6 mois passés ensemble.

Merci à Nathalie pour ces moments de travail ensemble mais aussi pour tous ces moments en dehors du travail. Tu nous as permis de trouver si rapidement une place pendant ce stage. Ton humanité est d'une très grande richesse et merci de m'avoir aidé dans mes premiers travaux de recherche, toujours motivée, précise et patiente devant mes débuts statistiques.

Merci à Aurélie, à Florian, à Rachelle et à toute l'équipe soignante dont l'engagement permet la finesse de cette prise en charge.

Merci à Anne-Marie pour ces 6 mois avec toi. Tu m'as marqué par ta justesse et ta gentillesse qui restent pour moi un modèle. Merci aussi pour ton amitié et je n'exclue pas de faire un peu de télétravail statistique de ta cabane au fond du jardin.

Merci à Etienne pour tout ce que tu m'as appris. Merci beaucoup pour ton aide pour le projet de thèse, tu en as façonné les idées et il n'aurait probablement pas eu lieu sans ton aide.

Merci à Emmanuel. Ta bienveillance et ton attention pour les autres sont un exemple important pour moi. C'est grâce à tes efforts que ce service est un formidable lieu de soins avec une équipe si soudée.

Merci à Françoise, à Jean-Hugues, à Benoit, à Lou, à Mony, à Marion et à toute l'équipe pour ces intenses moments passés à vos côtés.

Merci à Stéphanie, à Clémentine, à Pierre, à Bedhis pour leurs cours autour du microscope multi-têtes mais aussi aussi à Wendy, à Giulia et à tous les autres du laboratoire. Merci à Bérénice pour ta maxi-énergie et toutes tes bonnes initiatives.

Merci à Matthieu, à Geoffroy, à Nathalie, à Inès, à Pauline et à tous les autres.

Merci à Felipe, à Morgane, à Maya, à Adrien, à Clémence, à Adrien, à Johanna, à Louise. Vous m'avez fait découvrir l'hématologie quand j'étais en D3 et vous m'avez donné envie de choisir cette voie. Après 2 autres passages dans le service, j'ai retrouvé toutes ces choses qui m'avaient plu, de l'excellence clinique à l'organisation paramédicale.

Merci à Juliette, à Rafael, à Lina pour ces 6 derniers mois qui étaient très intéressants et très agréables à passer avec vous. Vous êtes une super équipe et je serais ravi de pouvoir continuer à travailler avec vous dans le futur.

Merci à Yacine et à toute l'équipe de réanimation. Merci à Alexis Burnod et à l'équipe de soins palliatifs. Je remercie aussi tous les autres médecins que j'ai pu croiser au cours de toutes ces années de formation et qui ont été et restent des exemples pour moi aujourd'hui.

Merci à toutes les équipes soignantes avec qui j'ai pu travailler. Votre aide, votre accueil et votre bienveillance m'ont permis de trouver ma place dans l'hôpital et d'avoir envie de continuer à y travailler. Nous avons partagé des moments riches en émotions et bon nombre sont toujours gravés dans ma mémoire. Merci aussi pour ces rires partagés et tous ces instants de camaraderie qui ont été extrêmement importants pour moi.

À tous ceux qui m'entourent

Merci à Jean-Edouard. Nous avons fait un fameux binôme et j'en ai de précieux souvenirs. Cela a été un de mes semestres les plus heureux et tu y es pour beaucoup. Merci à Tristan, à Marco et à toute la formidable équipe de ces moments Zoco.

Merci aux formidables co-internes de Maladies infectieuses, Chloé, Mathieu, Antoine, Pierre et Alexis pour cette délicieuse alternance entre comique sans pitié et de sensible humanité.

Merci à la solide équipe de Robert Debré, Louise, Laurye-Anne, Lorie, Fanny et Manon. Vous aviez été un soutien formidable pendant ces 6 mois et votre amitié me rend toujours très heureux.

Merci à Sofiane pour ce formidable semestre à M3. Hâte de pouvoir travailler à nouveau avec toi.

Merci à Matthieu, à Hélène et tous ceux avec qui j'ai partagé des joyeux moments pendant l'internat.

Merci à Romane pour avoir été une formidable co-M2, nous faisons une joyeuse équipe et tu as été centrale dans les bons moments que j'ai passé pendant cette année.

Merci à Clem et Clara, notre trio de choc de douceur et de gentillesse me réjouit à chaque fois qu'on se retrouve.

Merci à Nicolas dont ta douce et solide amitié, tu m'as soutenu dans les moments de doute et je t'en remercie.

Merci à Marie-Anne, Ludo et Chloé. Vous êtes trois plus anciens amis avec qui j'ai l'impression d'avoir grandi. Je suis ravi de vous avoir toujours auprès de moi.

Merci à Elara et Lise pour nos fous rires sonores, nos meilleurs plans toujours intrépides et vos inspirantes réflexions qui m'ont permis d'avancer.

Merci à Jean et Laetitia, vous êtes toujours là pour m'épauler, rire et partager tant de moments ensemble. Vous êtes très importants pour moi et je vous dois énormément.

Merci à Jeanne, mon double médical. Avec toi, j'ai eu l'impression d'avoir créé un formidable binôme, joyeux et surprenant, partageant à la fois les absurdités comiques et les doutes existentiels (j'ai d'ailleurs encore quelques efforts à faire pour ne pas boire du jus de poubelle). Je te remercie l'attention que tu me portes.

Merci à Alexis. Tu as été un formidable soutien pendant ces années et je te dois beaucoup dans les changements qui ont fait de moi ce que je suis maintenant.

Merci à Anna, à Giulio, à Thibaut, à Stéphane et à tous les merveilleux amis qui me donnent tant de bonheur.

Merci à tous les autres qui m'ont accompagné pendant ces années et dont nos chemins se sont éloignés. Ces moments de vie partagés ont été riches et intenses.

Merci à Paul, à mes cousins et à toute ma famille Vasseur et Paumelle dont la bienveillance et la douceur m'ont permis de grandir dans un environnement heureux.

Merci à Alice et Pierre. Je suis heureux que nous soyons aussi proches. Votre amitié fraternelle a toujours été un important repère pour moi et le restera.

Merci à mes parents pour votre soutien et votre amour. Vous m'avez transmis ce goût du travail et de l'effort qui m'a permis de réaliser toutes ces études et je vous dois énormément. Votre soutien pendant ces douze années a été continu et m'a permis de vivre plus léger et de pouvoir avoir le loisir de m'intéresser à mon travail. Merci du fond du cœur.

Résumé et indexation en français

Titre de la thèse : Cinétique de la maladie résiduelle dans les leucémies aiguës myéloïdes à Core Binding Factor

Résumé :

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) avec t(8;21) et inv(16)/t(16;16) ont été identifiées comme un groupe de risque favorable depuis plus de 20 ans. Néanmoins, avec les traitements intensifs actuels, les patients rechutent dans 30 à 50% des cas, ce qui induit une mortalité importante. La cohorte RetroCBF du groupe coopératif ALFA a inclus rétrospectivement 439 patients traités par chimiothérapie intensive pour une LAM t(8;21) ou inv(16)/t(16;16). Nous avons associé cette cohorte avec les patients du protocole français CBF2006 qui a inclus prospectivement 198 patients âgés de 18 à 60 ans. La maladie résiduelle (MRD) avait été évaluée par la quantification en RT-PCR pour 442 (69.4%) sur les 637 au total. Pendant le traitement, la différence entre la MRD dans la moelle osseuse (MO) et dans le sang périphérique (SP) était plus élevée dans les inv(16)/t(16;16) dans les t(8;21). Dans la MO, la MRD après l'induction était associée à la survie sans rechute (DFS) et à la survie globale (OS) dans les t(8;21) ($p < 0.001$ pour la DFS) mais pas pour les inv(16)/t(16;16). Au contraire, la MRD dans le SP était corrélée à la DFS et à l'OS dans les inv(16)/t(16;16) ($p < 0.001$ pour la DFS) mais pas à l'OS dans les t(8;21)). Dans les deux sous-types, la persistance d'une MRD positive dans le SP à la fin des cures de consolidation était associée à une DFS diminuée mais la persistance de la MRD dans la MO n'était pas associée à une DFS différente chez les patients avec une MRD négative dans le SP. Les cinétiques de MRD sont différentes pour les t(8;21) et pour les inv(16)/t(16;16) et leurs profils spécifiques permettent de déterminer le pronostic.

Spécialité : Hématologie clinique

Mots clés français : Leucémie aiguë myéloïde, maladie résiduelle, biologie moléculaire

Forme ou Genre : fMeSH : Dissertation universitaire, Rameau : Thèses et écrits académiques

Résumé et indexation en anglais

Title: Measurable residual disease kinetics in core binding factor acute myeloid leukemias

Abstract:

Acute myeloid leukemias (AML) with t(8;21) and inv(16)/t(16;16) have been identified as a favorable risk group for more than 20 years. Yet, with current intensive chemotherapy regimens, relapse occurs in 30 to 50% of patients inducing a significant mortality. The RetroCBF cohort of the ALFA cooperative group retrospectively included 439 patients treated with intensive chemotherapy for a t(8;21) or inv(16)/t(16;16) AML between December 2010 and December 2021 in 25 French centres. We combined this cohort with patients of the CBF2006 trial that included prospectively 198 patients from 18 to 60 ans. Measurable residual disease (MRD) data was obtained for 442 patients on the 637 total patients (69.4%). During treatment, there was more difference between bone marrow (BM) and peripheral blood (PB) MRD in inv(16)/t(16;16) than in t(8;21). In BM, MRD after induction was associated with disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) in t(8;21) ($p < 0.001$ for DFS) but not in inv(16)/t(16;16). On the contrary, MRD in PB was correlated with DFS and OS in inv(16)/t(16;16) ($p < 0.001$ for DFS) but not in t(8;21). In both subtypes, positive MRD in PB at the end of consolidation courses was associated with reduced DFS but persistence of MRD in BM was not associated with a different DFS in patients with a negative PB MRD. MRD kinetics are different in t(8;21) and inv(16)/t(16;16) and identify specific patterns that allow risk stratification.

English keywords: Acute myeloid leukemia, measurable residual disease, molecular biology

Publication type: MeSH : Academic Dissertation

Liste des abréviations

- allo-HCT : allogreffe de cellules hématopoïétiques
- CBF : core binding factor
- CD : cluster de differentiation
- CIR : incidence cumulée de rechute
- CMF : cytométrie en flux
- DFS : disease free survival
- GO : gemtuzumab ozogamycin
- IC 95% : intervalle de confiance à 95%
- LAM : Leucémie aiguë myéloïde
- MFI : intensité médiane d'expression
- MO : moelle osseuse
- MRD : measurable residual disease
- MRD-LL : measurable residual disease at low level
- OS : survie globale
- RC : rémission complete
- RT-PCR : quantitative reverse transcription polymerase chain reaction
- SMD : syndrome myélodysplasique
- SP : sang périphérique

Table des matières

1. CONTEXTE

1.1 ONCOGENESE.....	18
1.1.1 Anomalies fondatrices.....	18
1.1.2 Acquisition de mutations additionnelles.....	19
1.2 PRESENTATION INITIALE ET PRONOSTIC.....	20
1.2.1 Présentation clinique et cytologique.....	20
1.2.2 Incidence et pronostic global.....	24
1.2.3 Anomalies cytogénétiques.....	27
1.2.4 Mutations géniques.....	29
1.2.5 LAM secondaires.....	35
1.3 TRAITEMENT.....	36
1.3.1 Chimiothérapie d'induction.....	36
1.3.2 Chimiothérapie de consolidation.....	37
1.3.3 Greffe de cellules hématopoïétiques.....	38
1.3.4 Sujets âgés.....	40
1.3.5 Traitements ciblés.....	41
1.4 MALADIE RESIDUELLE.....	46
1.4.1 Techniques.....	46
1.4.2 Analyse dans la LAM.....	48
1.4.3 Impact dans les LAM CBF.....	49
1.4.3 Rechute moléculaire.....	53

2. ARTICLE

ABSTRACT.....	56
INTRODUCTION.....	57

METHODS	58
<i>Patients and treatment</i>	58
<i>Measurable residual disease</i>	59
<i>Definitions</i>	59
<i>Statistical analyses</i>	60
METHODS	60
<i>Baseline clinical characteristics</i>	60
<i>Associated cytogenetic findings</i>	61
<i>Survival analysis</i>	61
<i>Prognosis impact of associated cytogenetic findings</i>	62
<i>First line treatments</i>	63
<i>Allogenic hematopoietic cell transplantation in first remission</i>	65
<i>Survival after relapse</i>	66
<i>Quantification of measurable residual disease</i>	67
<i>Fusion transcripts at diagnosis</i>	68
<i>MRD kinetics in t(8;21) and inv(16)/t(16;16)</i>	69
<i>Impact of therapies on MRD kinetics</i>	70
<i>Prognosis impact of fusion transcripts during treatment</i>	70
<i>End of treatment MRD</i>	73
DISCUSSION	75
TABLES	79
FIGURES	85
SUPPLEMENTARY.....	91

3. PERSPECTIVES

3.1 TRAITEMENTS DANS L'ETUDE RETRO-CBF	98
3.2 CINETIQUE DE LA MRD	100
3.3 MRD ET STRATEGIE THERAPEUTIQUE	103

Introduction

Regroupées depuis plus de 20 ans dans le groupe cytogénétique de pronostic favorable, les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) t(8;21) et inv(16), dites à « Core Binding Factor » car associées à des remaniements des gènes codant pour ce facteur de transcription cardinal de l'hématopoïèse, partagent de nombreux mécanismes physiopathologiques et une importante chimiosensibilité (1,2). Néanmoins les patients rechutent dans 30 à 40% des cas et la survie globale n'est que de 70-80% (3-5). Malgré cela, les traitements utilisés dans ces LAM sont restés globalement inchangés au cours des 20 dernières années. Ils reposent sur la chimiothérapie intensive qui permet d'obtenir dans la quasi-totalité des cas une rémission complète après l'induction mais aussi pour la majorité des patients une rémission sur le long terme (3,6). Les doses de chimiothérapie à l'induction ont été adaptées en s'orientant vers des doses plus élevées d'anthracyclines et de cytarabine, avec parfois l'ajout de gemtuzumab-ozogamycin (3-5). Plusieurs études ont permis de démontrer l'absence de bénéfice de l'allogreffe de cellules hématopoïétiques (allo-HCT) en première rémission complète (7,8). La réalisation d'une allogreffe dans ce groupe est bien associée à une diminution du risque de rechute (7,8). Cependant la mortalité associée à cette thérapeutique contre-balance le bénéfice attendu en terme de réduction du risque de rechute et cette approche est donc rarement utilisée en première rémission complète. A l'inverse, les patients qui rechutent après la chimiothérapie de première ligne ont une indication d'allogreffe. En effet, contrairement à de nombreux autres types de LAM, les LAM CBF restent le plus souvent sensibles à la chimiothérapie intensive au moment de la rechute et l'obtention d'une deuxième rémission complète est possible dans la plupart des cas (9). Les patients en rechute peuvent donc souvent être conduits à l'allo-HCT avec un contrôle de la maladie satisfaisant. Cette stratégie permet d'avoir un pronostic globalement bon en rechute avec une survie globale à 3.5 ans de 50% dans l'étude française (9). Lorsque le risque de rechute est très élevé en première ligne, il est probable que l'allogreffe devient alors bénéfique. La prédiction du risque de rechute est donc centrale dans la décision d'allogreffe chez ces patients, notamment en première rémission complète.

La quantification du risque de rechute repose sur les caractéristiques au diagnostic (hyperleucocytose, anomalies cytogénétiques et génétiques associées) mais surtout sur la cinétique de la maladie résiduelle (Measurable Residual Disease, MRD). Cette évaluation est réalisable chez ces patients par la quantification en PCR quantitative (RQ-PCR) du transcrit de fusion RUNX1::RUNX1T1 ou CBFβ::MYH11. La mesure du transcrit est spécifique et présente une sensibilité très élevée pouvant détecter une copie du transcrit de fusion sur 10⁵ copies du gène de ménage. Après une première vague d'études portant sur le rôle pronostique (qui demeure le plus souvent controversé) des anomalies cytogénétiques additionnelles (10,11), ou des mutations géniques fréquemment associées aux LAM CBF en général (mutations de gènes de signalisation, impliquant notamment le récepteur de cytokine *KIT*) (12,13), ou plus spécifiques aux t(8;21) (mutations de régulateurs chromatinien) (12,14), de nombreuses études ont démontré l'impact pronostique de la maladie résiduelle (3,15–17). A ce jour, seul un tout petit nombre d'études ont intégré l'impact pronostique des anomalies génétiques et la MRD (3,18,19). Si la MRD a été adoptée dans la prise en charge de ces deux types de LAM, son interprétation reste difficile. Il y a pour chaque patient de nombreuses mesures successives dans le sang périphérique et dans la moelle osseuse et il existe pour les interpréter plusieurs seuils (3,16,19). D'autre part, savoir dans quelle mesure la décroissance de la MRD est semblable dans ces deux types de LAM n'est pas encore parfaitement clair.

Progressivement, la MRD a été utilisée, non plus à titre pronostique, mais comme biomarqueur prédictif (« théranostique ») de la réponse à telle ou telle stratégie thérapeutique. Elle est devenue le principal déterminant pour l'indication d'allogreffe en RC1, bien qu'il n'y ait pas de données randomisées ou même de grandes études rétrospectives permettant de supporter cette approche. Cette stratégie décisionnelle a été implémentée en pratique clinique mais il est difficile de savoir l'impact de ce changement sur le pronostic des patients. D'autre part, à la fin du traitement, le suivi rapproché de la quantification du transcrit dans le sang permet d'identifier précocement la réapparition de la maladie avant la rechute cytologique (15). Devant plusieurs points de MRD en augmentation, la rechute a été montrée comme quasiment systématique (15,20). C'est pourquoi le début d'un traitement avant que celle-ci soit symptomatique peut être envisagé. Néanmoins il n'existe quasiment pas de

données sur les résultats d'un traitement en rechute moléculaire. Depuis plus de 10 ans, l'impact pronostique de la MRD est devenu clairement démontré et son utilisation nécessaire dans la prise en charge des LAM CBF. Les patients traités depuis la fin du protocole prospectif CBF2006 ont donc été suivis par la quantification de la MRD et des adaptations thérapeutiques basées sur la MRD ont été implémentées sans codification ni évaluation. L'objectif de cette étude est de décrire la cinétique de la MRD et d'analyser son interaction avec le pronostic et les traitements en première ligne dans une cohorte rétrospective multicentrique de patients en vie réelle.

Nous présentons ici les résultats de l'étude rétrospective RétroCBF du groupe collaborateur ALFA (clinicaltrials.gov : NCT05070208) portant sur les patients de 18 ans et plus diagnostiqués avec une LAM CBF entre décembre 2010 et décembre 2020 dans 25 centres. Elle intègre les informations cliniques avec le suivi des MRD. Nous décrivons d'abord la cohorte puis analysons la survie des patients en fonction des traitements en première ligne et en rechute. Ensuite nous avons associé cette cohorte avec les patients traités dans le protocole CBF2006 afin de pouvoir analyser les données de MRD. Nous étudions la cinétique de la MRD dans les deux types de LAM CBF et son interaction avec le pronostic. Nous identifions des seuils afin de pouvoir analyser le pronostic des patients.

1 : CONTEXTE

1.1 ONCOGENESE

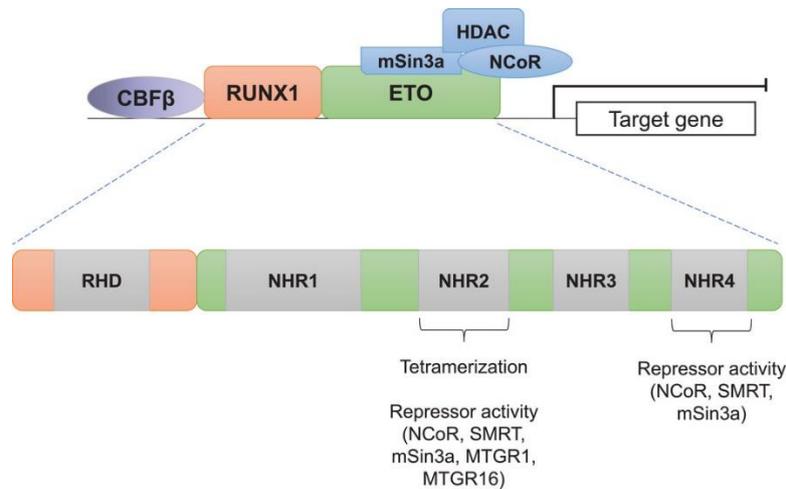
1.1.1 Anomalies fondatrices

Les LAM t(8;21) et inv(16)/t(16;16) sont caractérisées par la présence de deux types de translocations chromosomiques équilibrées impliquant des gènes codant pour des sous-unités du complexe Core Binding Factor (CBF) (21). Le complexe CBF est un facteur de transcription hétérodimérique associant le CBF β avec une protéine de la famille RUNX et en particulier RUNX1 (également appelé AML1). Il joue un rôle majeur dans la régulation des cellules souches hématopoïétiques et dans la différenciation hématopoïétique par l'activation de la transcription de nombreux gènes. Dans les LAM CBF, la translocation t(8;21) entraîne la fusion des gènes *RUNX1* (*AML1*) et *RUNX1T1* (anciennement *ETO*) alors que la seconde inv(16)/t(16;16) fusionne les gènes *CBFB* et *MYH11*. Les protéines chimériques induites ont dans les deux cas un effet dominant négatif sur le complexe CBF sauvage. Dans les LAM t(8;21), la protéine de fusion RUNX1-RUNX1T1 entre en compétition avec RUNX1 dans son interaction avec CBF β et induit le recrutement de corépresseurs entraînant une diminution de l'expression de certains gènes (**Figure 1**) (22–25). La différenciation myéloïde est notamment inhibée par la répression de la transcription du facteur de transcription clé de la différenciation myéloïde *CEBPA*, tandis qu'inversement, des gènes comme *SOX4* impliqués dans l'auto-renouvellement des cellules souches hématopoïétiques voient leur expression augmentée par des mécanismes moléculaires encore mal élucidés (26,27). Dans la LAM avec inv(16)/t(16;16), la protéine de fusion CBF β -MYH11 a une affinité plus élevée pour *RUNX1* que la protéine CBF β normale et entre donc en compétition avec cette dernière. Elle empêche ainsi la dimérisation de CBF β en se fixant à RUNX1. Par différents mécanismes comme le recrutement de répresseurs transcriptionnels ou la séquestration de la protéine RUNX1 dans le cytoplasme, CBF β -MYH11 inhibe la signature transcriptionnelle de RUNX1. Chacune des protéines chimériques possède également des mécanismes oncogéniques indépendants de l'activité du complexe CBF (28). La protéine chimérique issue du transcrit de fusion RUNX1-RUNX1T1

entraîne par exemple une modification de l'épissage dans la cellule leucémique, avec des conséquences fonctionnelles résultant de ces variants d'épissage (29).

Figure 1 : Structure de la protéine de fusion RUNX1-RUNX1T1 et ses partenaires.

La fusion de la protéine RUNX1 avec RUNX1T1 induit la formation d'un répresseur transcriptionnel via le recrutement du complexe mSin3a/NCOR/HDAC. Le domaine permettant la fixation à l'ADN est conservé. La protéine RUNX1T1 interagit avec le complexe répresseur via les domaines nervy homology domains (NHR) 2 à 4



Source : Chin, P. S. & Bonifer, C. Modelling t(8;21) acute myeloid leukaemia - What have we learned? MedComm 1, 260–269 (2020).

1.1.2 Acquisition de mutations additionnelles

Les fusions CBF sont considérées comme des événements fondateurs pour les LAM à CBF. Elles ne sont néanmoins pas suffisantes à la transformation leucémique des cellules souches ou des progéniteurs humains ou murins normaux. Premièrement, ces translocations semblent être des événements précoces, survenant possiblement *in utero*, comme le démontrent la détection rétrospective de la translocation à la naissance chez certains enfants atteints d'une LAM CBF. Dans une étude publiée en 2002, le transcrit de fusion RUNX1::RUNX1T1 était détectable sur 5/10 tests de Guthrie, alors que l'âge médian au diagnostic de la LAM y était

de 6 ans (30,31). Par ailleurs, certains patients en rémission complète d'une LAM avec t(8;21) gardent un faible niveau de transcrit RUNX1::RUNX1T1 détectable, sans rechute cytologique de la LAM à distance (15,16). De plus, dans au moins un quart des LAM CBF, on observe plusieurs mutations de signalisation dans des clones différents ce qui suggère que leur acquisition apporte un important avantage sélectif (32). La coopération entre les translocations CBF et les mutations de signalisation est aussi supportée par des modèles murins (33,34) (35–37). Un modèle d'oncogénèse multi-étapes simplifié a pu ainsi être proposé pour rendre compte de ces observations, dit leucémogénèse en 2 étapes (38) : une atteinte de la différenciation et une activation de la prolifération cellulaire. Les mutations de signalisation sont retrouvées dans 66% à 73% des cas selon les cohortes et impliquent des gènes codant pour des récepteurs à activité Tyrosine Kinase dont *KIT* et *FLT3* ou pour des médiateurs intracellulaires comme les gènes de la voie RAS/MAPK : *NRAS*, *KRAS*, *NF1* (12,13). Par ailleurs, d'autres anomalies moléculaires en dehors des mutations de signalisation sont retrouvées dans les LAM CBF. On retrouve aussi des mutations dans les gènes codant pour des régulateurs chromatinien, plus fréquentes dans les t(8;21) que dans les inv(16)/t(16;16) (44% vs 4% (13)). La mutation du gène *ASXL2* en particulier est retrouvée quasi exclusivement dans les t(8;21) (12,39).

1.2 PRESENTATION INITIALE ET PRONOSTIC

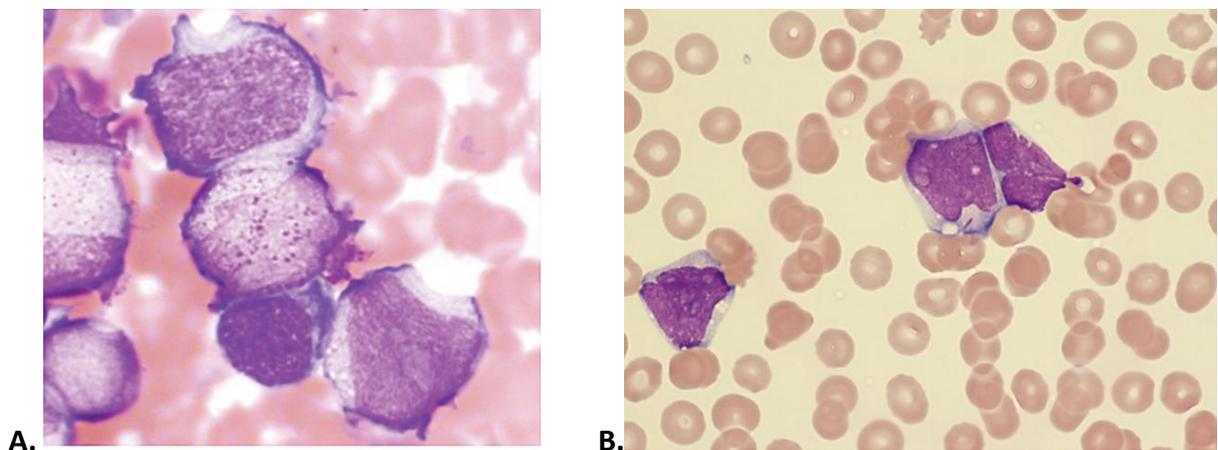
1.2.1 Présentation clinique et cytologique

Les LAM avec t(8;21) sont associées à une fréquence accrue d'atteinte extra-médullaire. Les inv(16)/t(16;16) sont souvent associées à des adénopathies, une atteinte de la peau et des muqueuses mais aussi à des atteintes neuroméningées (40). L'hyperleucocytose est plus fréquente dans les inv(16)/t(16;16) que dans les t(8;21).

Sur le plan cytologique, la LAM avec t(8;21) se présente habituellement comme une LAM avec maturation (sous-type morphologique M2 de la classification French-American-British, FAB). Les blastes sont souvent de grande taille avec un cytoplasme abondant et un contour bleuté autour du cytoplasme (Figure 2A). Ils peuvent présenter des grains cytoplasmiques de très grande taille, les grains de pseudo-Chediak-Higashi. Certains blastes, surtout moins immatures, peuvent contenir des corps d'Auer parfois orientés vers le noyau (Figure 2B). Les cellules myéloïdes restantes sont présentes à différents stades de maturation et présentent des signes de dysplasie avec des anomalies de segmentation nucléaires ou des anomalies de coloration du cytoplasme. On retrouve des éosinophiles sans anomalie morphologique, dont la richesse peut parfois être augmentée. Il n'y a pas de signe de dysplasie sur la lignée érythroïde ou mégacaryocytaire (41).

Figure 2 : Aspect cytologique des LAM avec t(8;21)

- A. Blastes d'une leucémie aiguë myéloïde avec t(8;21) avec un cytoplasme avec de nombreuses granulations de grande taille et un contour bleuté péri-cytoplasmique (41).**
B. Blastes de leucémie aiguë myéloïde avec t(8;21) avec des corps d'Auer.



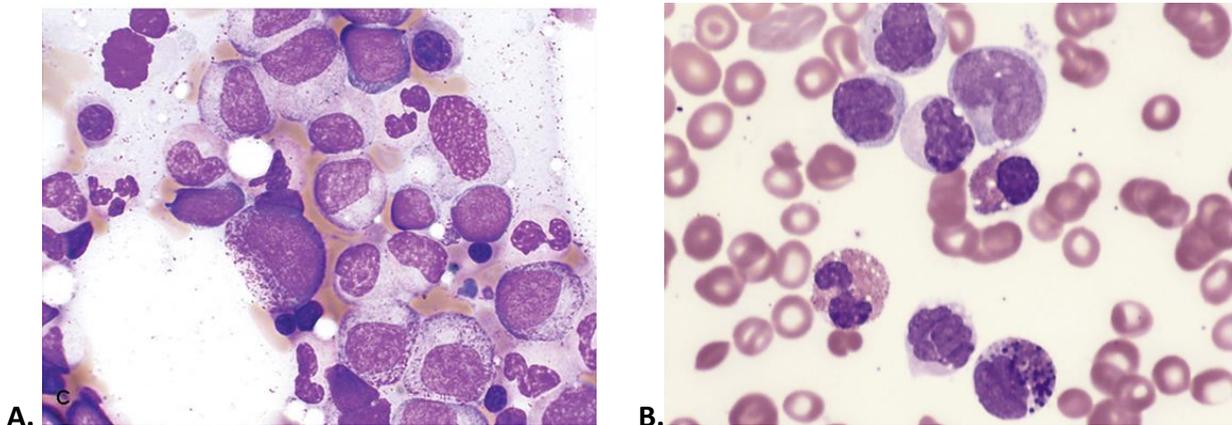
Source : Sangle, N. A. & Perkins, S. L. Core-binding factor acute myeloid leukemia. Arch Pathol Lab Med 135, 1504–1509 (2011). Bain, B. J. & Béné, M. C. Morphological and Immunophenotypic Clues to the WHO Categories of Acute Myeloid Leukaemia. AHA 141, 232–244 (2019).

Les LAM avec $inv(16)/t(16;16)$ induisent le plus souvent une leucémie aiguë myélomonocytaire avec des éosinophiles anormaux. Parfois la LAM avec $inv(16)/t(16;16)$ peut se présenter comme une LAM avec maturation (M2 FAB) ou une leucémie aiguë monoblastique (M5 FAB). On retrouve en général un excès d'éosinophiles à tous les stades de maturation. Ils présentent des granulations immatures qui sont particulièrement visibles au stade de promyélocyte et de myélocyte (**Figure 3A**). Ces grains sont de taille augmentée, avec une couleur violette et peuvent parfois recouvrir le noyau (**Figure 3B**).

Figure 3 : Aspect cytologique des LAM avec $inv(16)/t(16;16)$

A. Blastés de LAM avec $inv(16)/t(16;16)$ avec des précurseurs éosinophiles.

B. Blastés de LAM avec $inv(16)/t(16;16)$ avec précurseurs éosinophiles avec grains de grande taille.



Source : Sangle, N. A. & Perkins, S. L. Core-binding factor acute myeloid leukemia. Arch Pathol Lab Med 135, 1504–1509 (2011). Bain, B. J. & Béné, M. C. Morphological and Immunophenotypic Clues to the WHO Categories of Acute Myeloid Leukaemia. AHA 141, 232–244 (2019).

En immunophénotypage, on retrouve dans les LAM avec $t(8;21)$ l'expression de marqueurs d'immaturité CD34 et CD117 associé aux marqueurs myéloïdes CD13 et CD33 (42). Une partie des cellules leucémiques peut porter des marqueurs de différenciation vers la lignée granulocytaire neutrophile tels que CD15 ou CD65, mais rarement CD11b. Les cellules leucémiques $t(8;21)$ peuvent exprimer des marqueurs lymphoïdes B tels que CD19 et PAX5. PAX5 est un facteur de transcription impliqué dans la lymphopoïèse B qui bloque la différenciation myéloïde. L'expression de PAX5 est normalement réprimée dans les

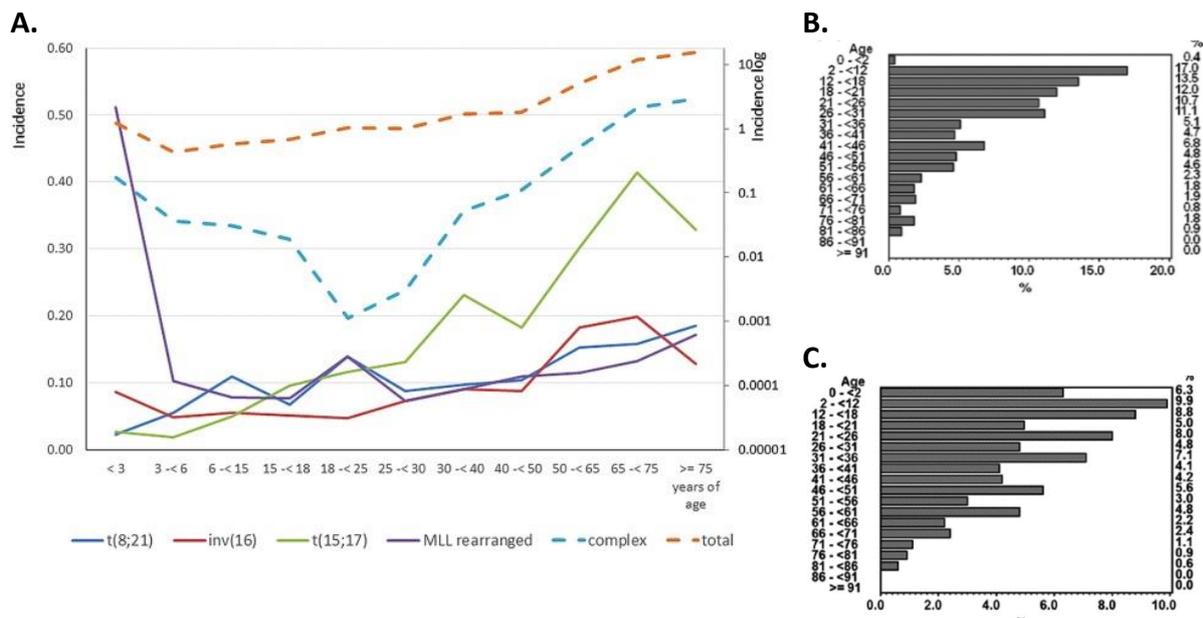
progéniteurs myéloïdes mais est activée de façon aberrante via la voie des MAP kinases dans les cellules leucémiques t(8;21) (43). CD19 est une cible transcriptionnelle de PAX5 (44). L'expression aberrante du CD56 est aussi retrouvée dans la LAM avec t(8;21) et a été décrite comme un marqueur de mauvais pronostic (45). Dans les LAM avec inv(16)/t(16;16), on retrouve souvent des marqueurs monocytaires CD4, CD36 et CD38. Une part de la population blastique peut aussi exprimer des marqueurs de différenciation de la lignée neutrophile avec CD15, CD65 mais aussi CD11b. Le CD2 peut être exprimé.

Figure 4 : Incidence en fonction de l'âge des LAM CBF

A. Incidence en fonction de l'âge des groupes cytogénétiques dans la LAM.

B. Proportion de LAM avec inv(16)/t(16;16) en fonction de l'âge.

C. Proportion de LAM avec t(8;21) en fonction de l'âge.



Source : Creutzig, U. et al. Changes in cytogenetics and molecular genetics in acute myeloid leukemia from childhood to adult age groups. Cancer 122, 3821–3830 (2016).

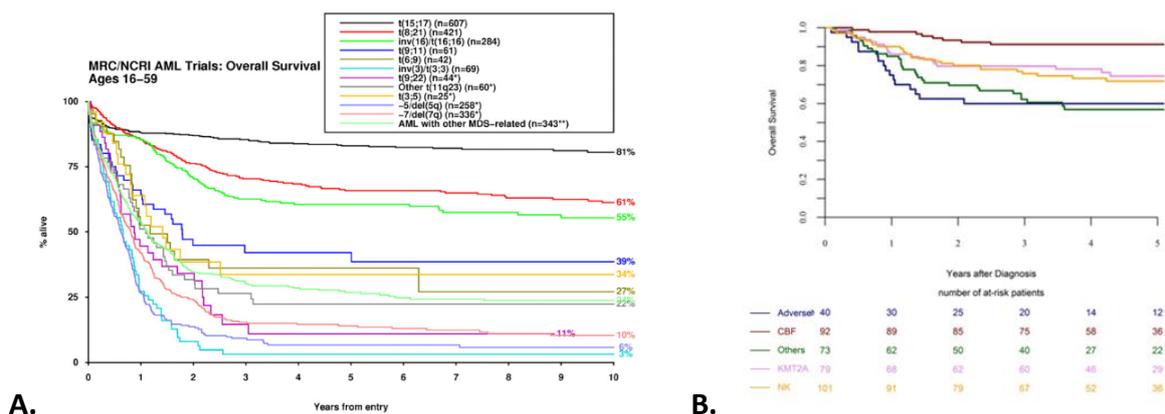
1.2.2 Incidence et pronostic global

Les LAM représentent environ 25% des LAM de l'enfant et 15% des LAM de l'adulte (**Figure 4B et 4C**). Chez les enfants, la proportion des LAM CBF est plus importante du fait de l'incidence relativement stable avec l'âge des LAM CBF et l'augmentation progressive avec l'âge des LAM des autres sous-groupes génétiques (**Figure 4A**) (*NPM1* muté, LAM avec des anomalies associés aux SMD) (46).

Le bon pronostic des LAM avec t(8;21) et inv(16)/t(16;16) a été décrit depuis la fin des années 1990. Depuis l'édition 2010 des recommandations de l'European LeukemiaNet (ELN), elles sont regroupées dans la catégorie des LAM de pronostic favorable (2). Dans les études du groupe coopérateur britannique MRC conduites entre 1988 et 2009 incluant des 5876 patients adultes âgés de 18 à 59 ans (médiane : 44 ans), 7% des patients étaient porteurs d'une t(8;21) (n=421) et 5% (n=284) d'une inv(16)/t(16;16) (47). Par rapport aux patients à cytogénétique normale, l'hazard-ratio (HR) était de 0.26 (IC 95% : 0.12-0.56) pour la survie globale (OS) pour les t(8;21) et de 0.81 (IC 95% : 0.41-1.44) pour les inv(16)/t(16;16) par rapport au LAM à caryotype normal (**Figure 5A**).

Figure 5 : Pronostic global des LAM CBF

- A. Survie globale en fonction du groupe cytogénétique dans les études MRC.**
- B. Survie globale en fonction du groupe cytogénétique dans le protocole ELAM02.**



Source : Grimwade, D. et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia. *Blood* 116, 354–365 (2010). Marceau-Renaut, A. et al. Molecular Profiling Defines Distinct Prognostic Subgroups in Childhood AML: A Report From the French ELAM02 Study Group. *Hemisphere* 2, e31 (2018).

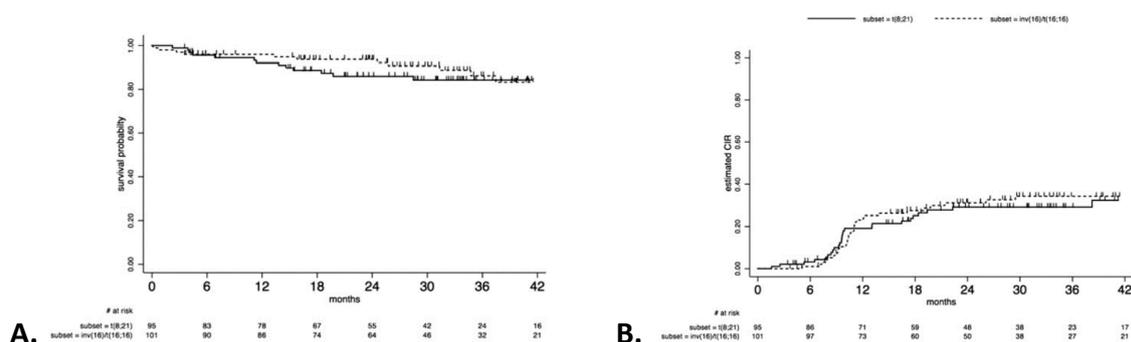
Dans l'étude pédiatrique française ELAM02 portant sur 385 patients âgés de moins de 18 ans, une t(8;21) et une inv16/t(16;16) étaient retrouvées dans 15% et 7% des cas respectivement (48). Dans cette étude, le pronostic des patients atteints de LAM CBF était supérieur à celui des autres LAM avec une survie globale à 3 ans de 91.2% contre 76.1% dans la cohorte totale (Figure 5B).

L'étude prospective CBF2006 a inclus en France 198 patients de 18 à 60 ans entre 2007 et 2010 (3). Elle a randomisé l'utilisation de deux types d'induction, une indication fractionnée et d'une induction classique. De plus, elle a permis d'analyser l'impact des mutations génétiques au diagnostic et de la maladie résiduelle. Le pronostic des LAM t(8;21) et inv(16)/t(16;16) était similaire avec une survie sans rechute (DFS) à 36 mois de 68% (IC 95% : 57-76%) pour les t(8;21) et 61% (IC 95% : 49-70%) pour les inv(16)/t(16;16) (p = 0.53). Les comparaisons de la survie globale (Figure 6A) et de l'incidence cumulée de rechute ne retrouvaient pas de différence statistiquement significative entre les t(8;21) et les inv(16)/t(16;16), malgré une tendance à un risque accru de rechute dans les LAM inv(16)/t(16;16) par rapport aux LAM t(8;21) avec 34% (IC 95% : 25-45%) vs 29% (IC 95% : 21-40) (p = 0.71) (Figure 6B).

Figure 6 : Pronostic dans l'étude CBF2006

A. Survie globale en fonction du groupe cytogénétique.

B. Incidence cumulée de rechute estimée en fonction du groupe cytogénétique.



Source : Jourdan, E. et al. Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. Blood 121, 2213–2223 (2013).

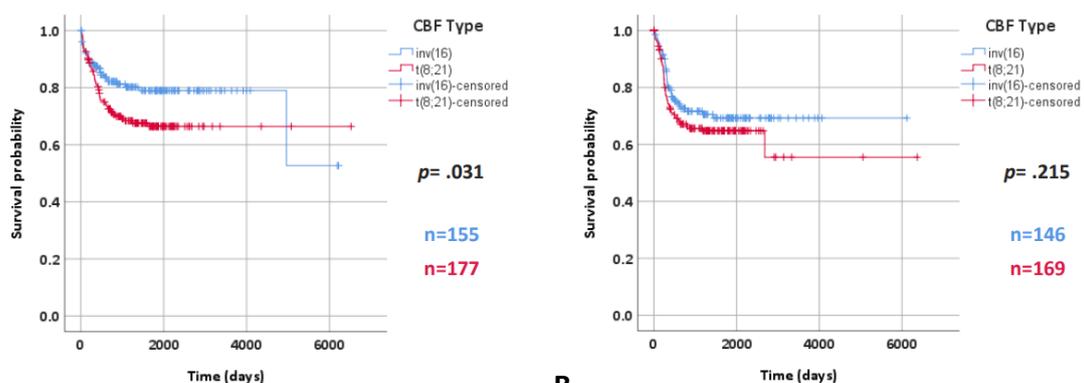
Une étude allemande récente a repris 350 patients de 18 à 81 ans (médiane = 50 ans) inclus dans les essais de première ligne du groupe AMLSG de 1993 aux années 2020 (49). En analyse univariée, cette étude retrouve une diminution de la survie globale dans les t(8;21) comparée aux inv(16)/t(16;16) ($p = 0.031$) (**Figure 7A**) qui est confirmé dans l'analyse multivariée avec un modèle de Cox avec une régression par lasso. Cette différence est moins importante mais reste retrouvée en analyse multivariée en survie sans rechute (HR : 1.70) (**Figure 7B**). Dans cette analyse, les patients sont traités avec une chimiothérapie intensive de type ICE-HAM sans allogreffe dans la plupart des cas (9% d'allogreffe en RC1). Du dasatinib a été ajouté à la chimiothérapie pour 25% et 36% des patients avec une LAM t(8;21) et inv(16)/t(16;16) respectivement.

On retrouve dans les différentes études un pronostic très favorable des LAM CBF, globalement meilleur que dans les autres LAM. Les résultats de la comparaison entre les LAM t(8;21) et inv(16)/t(16;16) restent contradictoires entre les différentes études.

Figure 7 : Pronostic dans l'étude du groupe AMLSG

A. Survie globale en fonction du groupe cytogénétique.

B. Survie sans rechute en fonction du groupe cytogénétique.



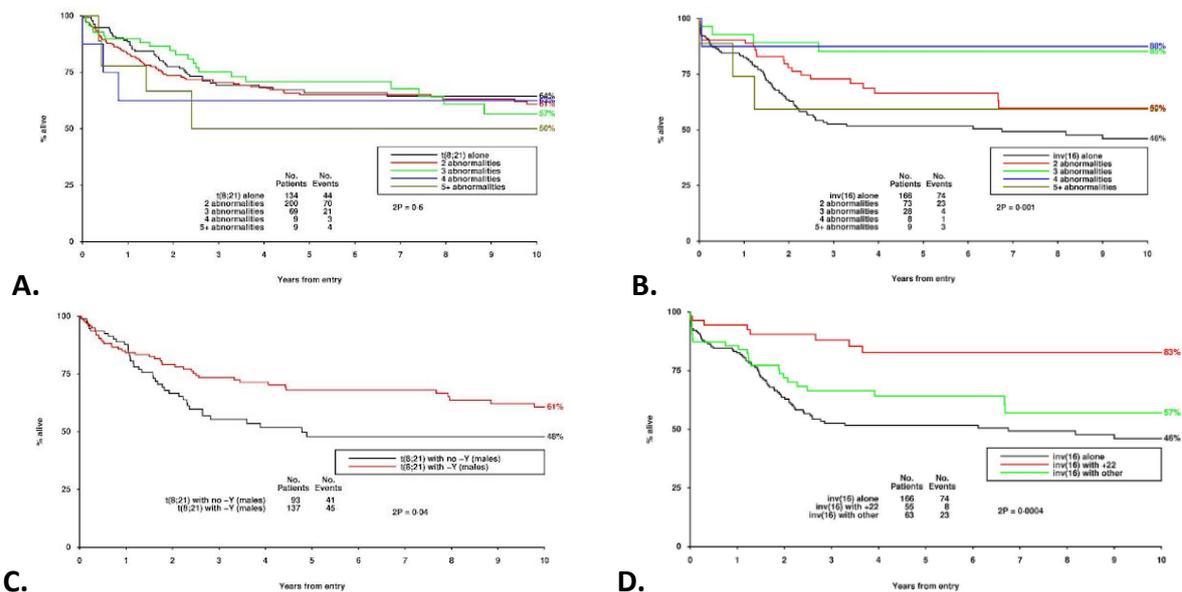
Source : Jahn, N. et al. Genomic heterogeneity in core-binding factor acute myeloid leukemia and its clinical implication. Blood Adv 4, 6342–6352 (2020).

1.2.3 Anomalies cytogénétiques

Les anomalies cytogénétiques additionnelles détectées par le caryotype conventionnel sont retrouvées dans environ 70% des t(8;21) et 40% des inv(16). Les LAM CBF sont associées à un profil d'anomalies cytogénétiques additionnelles spécifiques. Dans les deux groupes, on retrouve de manière commune l'association avec la trisomie 8 et la del(7q) avec respectivement pour les LAM t(8;21) et inv(16)/t(16;16) une incidence de 11% et 6% pour la trisomie 8 et 9% et 10% pour la del(7q) dans l'étude française (12). D'autres anomalies sont spécifiques d'un sous-type. La LAM t(8;21) est associée à une perte d'un gonosome dans 51% des cas et à la del(9q) dans 15% des cas. Dans la LAM avec inv(16)/t(16;16), on retrouve dans 11% des cas la trisomie 22 qui n'est pas retrouvée dans la LAM t(8;21).

Figure 8 : Pronostic en fonction des anomalies cytogénétiques additionnelles

Survie globale dans les LAM inv(16)/t(16;16) en fonction de la présence d'anomalies cytogénétiques additionnelles (A) ou d'une trisomie 22 (B).
Survie globale dans les LAM t(8;21) en fonction de la présence d'anomalies cytogénétiques additionnelles (C) et en particulier de la perte du gonosome Y (D)

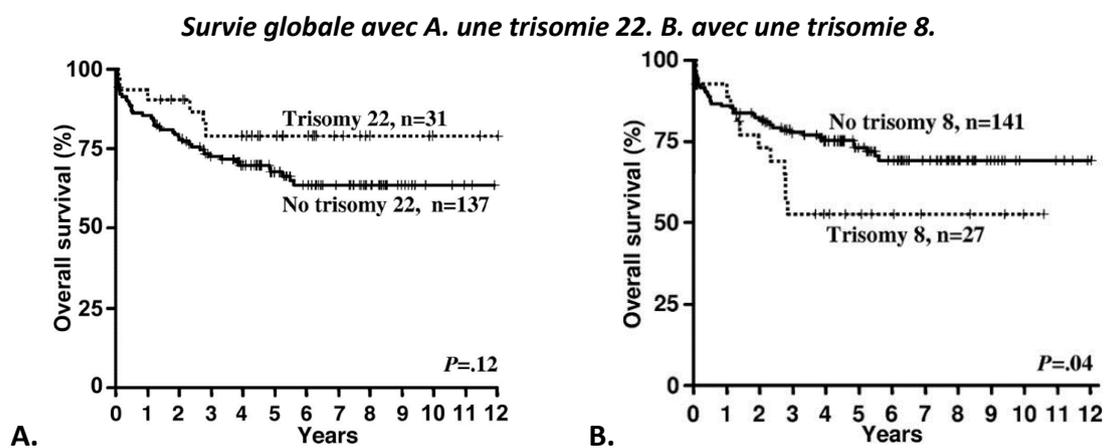


Source : Grimwade, D. et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities. Blood 116, 354–365 (2010).

Dans la grande étude reprenant des patients jeunes traités au Royaume-Uni avec 421 LAM CBF (47), il n'y a pas d'impact des anomalies cytogénétiques additionnelles dans les t(8;21) (**Figure 8A**). Dans les LAM t(8;21), la perte du gonosome Y chez les sujets masculins est associée à une augmentation de la survie globale ($p = 0.04$) (**Figure 8B**). Dans les inv(16)/t(16;16), les anomalies additionnelles et en particulier la trisomie 22 donnent un pronostic plus favorable (**Figure 8C**). A noter que les LAM avec une trisomie 22 se présentaient souvent avec un taux de leucocytes plus faible au diagnostic (médiane : 18.9 G/L vs 44.6 G/L, $p < 0.001$) (**Figure 8D**).

D'autres études ont analysé les facteurs pronostiques cytogénétiques dans les LAM CBF. Le groupe AMLSG a analysé 176 patients avec une LAM inv(16)/t(16;16) du protocole AML HD93 au protocole AMLSG 06-04 (10). Ils confirment le pronostic plus favorable des trisomies 22 ($n = 31$, 18%, DFS à 6 ans : 70% vs 43%, $p = 0.02$) (**Figure 9A**). La trisomie 8 est associée à une survie globale réduite ($n = 27$, 17%, OS à 6 ans : 53% vs 69%, $p = 0.04$) mais la survie sans rechute n'est pas différente ($n = 27$, 17%, DFS à 6 ans : 50% vs 49%, $p = 0.89$) (**Figure 9B**).

Figure 9 : Pronostic en fonction de la présence de trisomie dans les inv(16)/t(16;16)

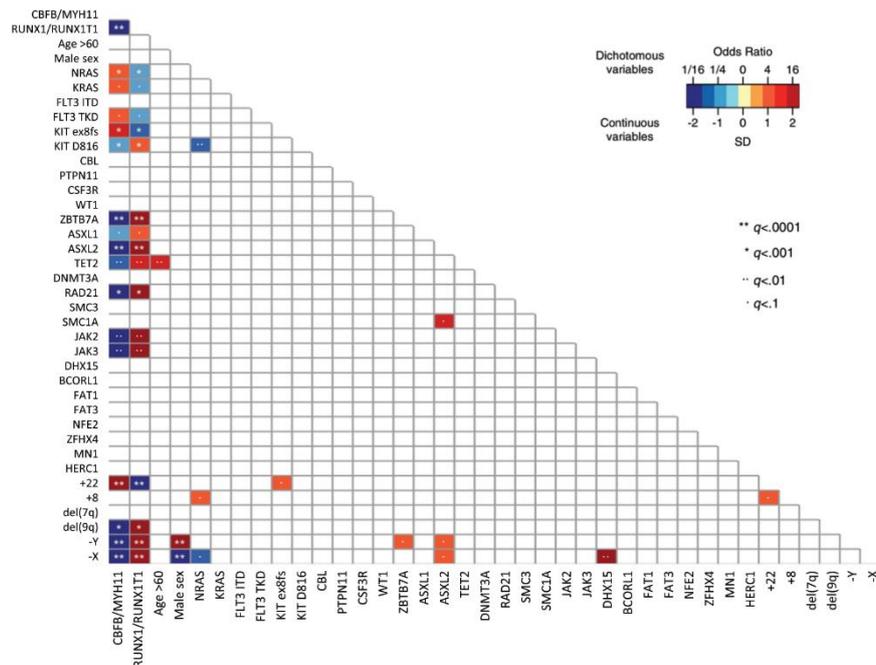


Source : Paschka, P. et al. Secondary genetic lesions in acute myeloid leukemia with inv(16) or t(16;16): a study of the German-Austrian AML Study Group (AMLSG). *Blood* 121, 170–177 (2013).

1.2.4 Mutations géniques

Selon le panel de gènes étudiés et la méthodologie de séquençage employée, on retrouve dans 85 à 97% des cas au moins une mutation génique somatique secondaire dans les LAM CBF (12). Les principales mutations retrouvées dans les LAM CBF sont des mutations de signalisation affectant notamment les gènes *KIT*, *FLT3* et *NRAS/KRAS*. Des mutations de *JAK2*, *CBL* et de *PTPN11* ont aussi été retrouvées. Des mutations de *NF1* sont également récurrentes, mais le séquençage est moins souvent réalisé compte-tenu de contraintes techniques. On retrouve aussi des mutations touchant des régulateurs épigénétiques (*ASXL2*, *ASXL1*), les gènes codant pour les sous-unités du complexe des cohésines ou des facteurs de transcription.

Figure 10 : Corrélation entre les altérations génétiques et le sous-type génétique dans les leucémies aiguës myéloïdes à Core Binding factor



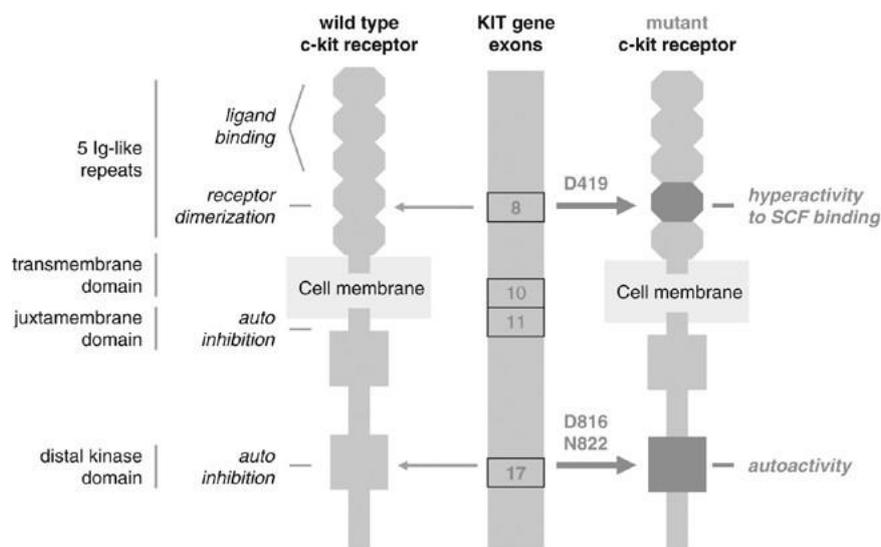
Source : Opatz, S. et al. The clinical mutatosome of core binding factor leukemia. *Leukemia* 34, 1553–1562 (2020).

La répartition des mutations est différente entre les deux types de LAM CBF (50) (**Figure 10**). Les mutations de signalisation ne sont pas les mêmes dans les deux groupes avec une fréquence plus élevée de mutations *KRAS*, *NRAS* et *FLT3*-TKD dans les *inv*(16)/*t*(16;16) alors qu'il y a plus de mutation *KIT* D816 dans les *t*(8;21). Les mutations touchant la régulation épigénétique sont plus fréquentes dans les *t*(8;21) tout comme les mutations touchant les cohésines.

1.2.4.1 Mutations de KIT

Le gène *KIT* code pour le récepteur à tyrosine kinase SCFR (mast/stem cell growth factor receptor) identifié par le marqueur CD117. C'est un récepteur de tyrosine kinase de type III qui s'active par sa dimérisation et entraîne l'autophosphorylation de ses résidus tyrosine. Il active ensuite la signalisation intracellulaire via PI3K, JAK-STAT et la voie MAPK. On retrouve deux types principaux de mutations dans les LAM : les mutations de l'exon 8 et de l'exon 17.

Figure 11 : Récepteurs c-kit sauvage et muté avec présence des mutations retrouvées dans les leucémies aiguës myéloïdes à Core Binding Factor et de leur impact fonctionnel



Source : Becker, H. et al. Two cell lines of *t*(8;21) acute myeloid leukemia with activating *KIT* exon 17 mutation: models for the 'second hit' hypothesis. *Leukemia* 22, 1792–1794 (2008).

On retrouve une mutation de *KIT* dans 40% des LAM avec t(8;21) et 33% des LAM avec inv(16)/t(16;16). Plusieurs types de mutations sont retrouvées (**Figure 11**) :

- les mutations de l'exon 8 qui sont des insertions ou des délétions qui induisent une modification du codon D419 touche la zone de liaison du ligand SCF. Elles modifient la stabilité du récepteur lors de la dimérisation autour du SCF (51).
- les mutations ponctuelles dans l'exon 17 touchant principalement le codon D816 et N822. Elles sont situées dans la boucle d'activation du domaine kinase et en particulier le domaine phospho-transférase (52). La mutation induit une activation du récepteur indépendante du ligand.
- on peut aussi retrouver des mutations plus rares dans les exons 11, 10, 9 ou 13 touchant les zones d'auto-inhibition du récepteur permettant de maintenir un état inactivé (53).

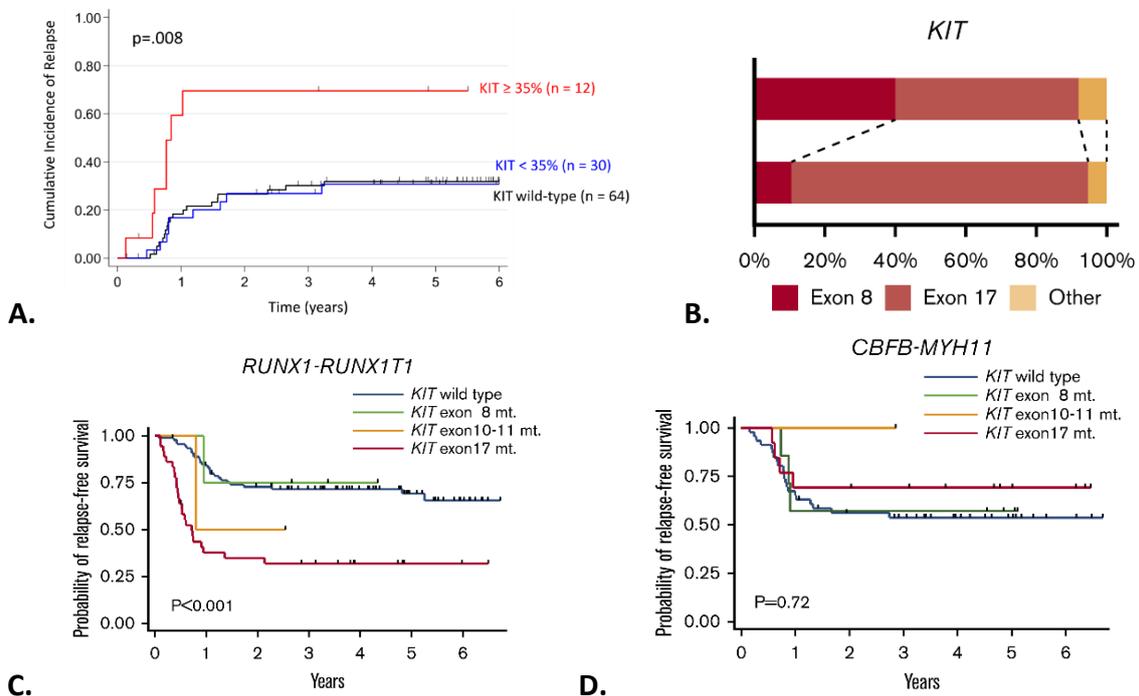
Les mutations D419 de l'exon 8 sont retrouvées dans 34% des LAM t(8;21) et 56% des LAM inv(16)/t(16;16) alors que les mutations D816 sont retrouvée dans 39% des LAM t(8;21) et 33% des LAM avec inv(16)/t(16;16). Les mutations sont plus fréquentes dans les LAM pédiatriques avec 50% des LAM avec inv(16)/t(16;16) de l'enfant portant une mutation de *KIT* contre 27% chez les adultes ($p = 0.24$) (12).

On retrouve dans la plupart des études un plus mauvais pronostic des LAM CBF avec mutation de *KIT*. A l'instar des travaux sur *FLT3*, certaines études ont mis en évidence un rôle pronostique de la proportion d'allèle variant des mutations de *KIT* avec un seuil à 25-35%, une charge allélique élevée étant associée à un pronostic plus réservé (12,54). Dans l'étude française, une mutation de *KIT* avec une VAF supérieure à 35% dans les LAM t(8;21) était associée à une incidence cumulée de rechute de 69.4% à 5 ans contre 30.7% et 31.9% chez les patients avec une LAM t(8;21) avec une mutation de *KIT* d'une VAF inférieure à 35% ou sans mutation de *KIT* respectivement (**Figure 12A**) (12). Les mutations de *KIT* sont associées à une hyperleucocytose plus marquée au diagnostic mais conserve une valeur pronostique indépendante de la leucocytose. D'autres part, les deux types de mutations (exon 8 vs exon 17) semblent avoir un impact pronostique différent. Dans l'étude japonaise prospective

JALSG-AML209-KIT rapportant 199 patients avec une LAM CBF (18), seules les mutations de l'exon 17 avaient un impact pronostique. Sur 63 patients (31.7%) avec une mutation de *KIT*, les mutations de l'exon 17 étaient les plus fréquentes (73.5% des mutations de *KIT*) suivies par les mutations de l'exon 8 (37.5%) (**Figure 12B**). Seules les mutations dans l'exon 17 de *KIT* avaient un impact pronostique sur la survie sans rechute (**Figure 12C**) (HR en univarié : 2.30, IC 95% : 1.45-3.64, $p < 0.001$). Cet impact pronostique était confiné aux LAM avec t(8;21) (**Figure 12D**). Dans les inv(16)/t(16;16), l'impact sur le risque de rechute semble aussi plus modeste dans l'analyse du groupe AMLSG ($n = 65$, 37%) avec une DFS diminuée en cas de mutation de *KIT* (DFS à 6 ans : 38% vs 60%, $p = 0.01$) sans impact significatif sur l'OS (OS à 6 ans : 61% vs 70%, $p = 0.49$) (10). Cette valeur pronostique était restreinte aux mutations de l'exon 8.

Figure 12 : Pronostic en fonction des mutations de *KIT*

- A. Incidence cumulée de rechute en fonction de la fraction allélique de la mutation de *KIT*.**
B. Proportion de chaque type de mutation de *KIT* en fonction du sous-groupe génétique.
C-D. Survie sans rechute en fonction du type de mutation *KIT* dans les t(8;21) (C.) et les inv(16)/t(16;16) (D.).



Source : Duployez, N. et al. Comprehensive mutational profiling of core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood* 127, 2451–2459 (2016). Ishikawa, Y. et al. Prospective evaluation of prognostic impact of *KIT* mutations on acute myeloid leukemia with *RUNX1-RUNX1T1* and *CBFβ-MYH11*. *Blood Adv* 4, 66–75 (2020).

1.2.4.2 Mutations de *FLT3*

Les mutations *FLT3* induisent de la même manière une activation constitutionnelle du récepteur à activité tyrosine kinase FLT3. La signalisation en aval de FLT3 induit une activation de la prolifération, un blocage de la différenciation et une résistance à l'apoptose (55). Les mutations les plus fréquentes dans les LAM CBF sont les mutations ponctuelles du domaine tyrosine kinase (TKD) qui touchent surtout le codon D835. Elles sont plus fréquentes dans les LAM avec *inv(16)/t(16;16)* avec 22% contre 4% dans les *t(8;21)* dans l'étude française (12). Les duplications en tandem *FLT3*-ITD sont retrouvées aussi à une fréquence plus faible par rapport aux *FLT3*-TKD avec 4% dans les *inv(16)/t(16;16)* et 10% dans les *t(8;21)*. Les mutations de *FLT3* sont elles-aussi associées à un mauvais pronostic (56). L'utilisation d'un seuil de charge allélique pour identifier des patients de plus mauvais pronostic a aussi été proposé. Une étude a proposé un seuil de 10% pour les mutations de *FLT3*-TKD, retrouvant une augmentation de l'incidence cumulée de rechute à 5 ans pour les patients porteurs d'une *FLT3*-TKD de charge allélique > 10% par rapport aux patients avec *FLT3*-TKD < 10% ou sans *FLT3*-TKD (12).

1.2.4.3 Mutations de *RAS*

Les mutations des gènes de la famille *RAS* (*NRAS* et *KRAS*) font partie des mutations les plus fréquentes dans les LAM CBF. Ces mutations activent la voie des MAP kinase (MAPK) qui est cruciale la prolifération et la survie cellulaire. Elles touchent des codons hot-spots spécifiques similaires pour *NRAS* et *KRAS* avec G12, G13 et Q61, mais des mutations plus rares, correspondant vraisemblablement à des oncogènes plus faibles, sont parfois détectés. Ces mutations hotspot induisent une diminution de l'hydrolyse du GTP induite par les protéines GAP. Cela entraîne une augmentation de la forme *RAS*-GTP qui est la forme active de la protéine. En associant les mutations de *NRAS* et *KRAS*, on retrouve 54% de mutations dans les *inv(16)/t(16;16)* et 26% dans les *t(8;21)* (12).

1.2.4.4 Mutations des régulateurs épigénétiques

Des mutations de gènes codant pour des régulateurs épigénétiques notamment *ASXL1* et *ASXL2* mais *EZH2*, *KMD6*, *BCOR* et *BCORL1* sont retrouvés principalement dans les LAM avec t(8;21) avec 42% des cas mais seulement dans 6% des inv(16)/t(16;16) (12). Les mutations de gènes impliqués directement ou indirectement dans la méthylation de l'ADN (*TET2*, *DNMT3A* et *IDH1/2*) sont également retrouvées de façon récurrente, mais plus rare avec une fréquence de 8% dans les t(8;21) et 2% dans les inv(16)/t(16;16) dans l'étude française (12).

ASXL1 est un régulateur épigénétique qui, en interagissant avec les protéines BAP1 (BAP1 histone H2A deubiquitinase), EZH2 (Polycomb repressive complex 2) ou encore NCOA1 modifie les marques épigénétiques des histones. Les mutations induisent une perte de fonction d'*ASXL1* et induisent par exemple une activation du cluster HOXA qui dérégule la différenciation hématopoïétique (57).

ASXL2 est retrouvé dans 17-23% des cas de LAM t(8;21) (14,39). Il est quasiment mutuellement exclusif avec *ASXL1*. Il partage avec RUNX1::RUNX1T1 une grande partie de ses gènes cibles et permet d'augmenter l'accessibilité de la chromatine pour RUNX1::RUNX1T1. Dans l'étude du groupe AMLSG, il n'y pas de différence pronostique dans les LAM t(8;21) des patients *ASXL2* mutés ou non (n=32).

1.2.4.5 Mutations des cohésines

Les mutations des cohésines sont retrouvées comme pour les régulateurs épigénétiques uniquement dans les LAM avec t(8;21) et de manière beaucoup plus rare dans les LAM avec inv(16)/t(16;16). 18% des LAM avec t(8;21) portent une mutations soit de *RAD21*, *STAG2*, *SMC1A* et *SMC3* (12).

1.2.5 LAM secondaires

Les translocations t(8;21) et inv(16), au même titre que les translocations t(15;17) ou les remaniements de *KMT2A* (*MLL*) peuvent parfois être induites par l'exposition à un stress génotoxique dans le cadre du traitement d'un cancer (ou d'une hémopathie, notamment lymphoïde) antérieur par chimiothérapie, notamment par des inhibiteurs de topoisomérase comme les anthracyclines ou les épidothylotoxines. Ces LAM dites « induites » (« therapy-related ») se développent en général dans les 2 à 5 ans après l'exposition à la chimiothérapie. Certaines observations ont rapporté des cas associés à une exposition antérieure à des agents alkylants ou à une radiothérapie seule, sans que le lien de causalité puisse être dans ces cas étayé par un mécanisme moléculaire précis (58). Sur le plan moléculaire, les LAM avec inv(16)/t(16;16) secondaires à une chimiothérapie ont plus souvent des points de cassure *CBFB::MYH11* atypiques (59) et sont associées à un taux de leucocytes plus faible au diagnostic (60,61).

Les LAM CBF induites résultent le plus souvent d'un mécanisme différent de celui décrit dans les autres LAM induites par des génotoxiques (sélection d'un clone *TP53* muté). Néanmoins elles sont elles-aussi souvent associées à un pronostic péjoratif, bien que les études prennent mal en compte l'impact pronostique du premier cancer (60–62). A contrario, une étude récente retrouve un pronostic similaire aux LAM CBF secondaires à la chimiothérapie par rapport aux autres LAM CBF mais la question n'est pas encore tranchée (49).

1.3 TRAITEMENT

1.3.1 Chimiothérapie d'induction

L'induction par 3+7 combinant une anthracycline avec la cytarabine reste le standard de traitement dans les LAM et en particulier dans les LAM CBF. Le taux de rémission complète est particulièrement élevé dans les LAM CBF avec plus de 90% dans les essais récents (3,63).

L'intensité de la chimiothérapie d'induction est une question centrale dans les LAM CBF. Plusieurs études ont randomisé des doses plus ou moins intensives de chimiothérapie dans l'ensemble des LAM et nous pouvons analyser rétrospectivement les résultats dans le sous-groupe des LAM CBF. Néanmoins ces études n'avaient pas été construites pour avoir la puissance suffisante pour démontrer une différence dans le sous-groupe des LAM CBF. Plusieurs doses d'anthracyclines, notamment de daunorubicine, ont été évaluées. L'étude du groupe HOVON retrouve chez des patients de 60 à 83 ans une amélioration non significative de l'EFS et de l'OS par une induction comportant une administration de daunorubicine 90 mg/m² pendant 3 jours par rapport à un schéma à 45 mg/m² dans le sous-groupe des LAM CBF (p = 0.09 en survie globale) (64). Dans l'étude du groupe ECOG-ACRIN faisant la même comparaison chez des patients de 17 à 69 ans, une induction par daunorubicine 90 mg/m² améliorait significativement la survie globale par rapport à un schéma à 45 mg/m², un résultat qui n'est pas confirmé par une étude coréenne similaire (4,65). Néanmoins la comparaison entre 60 mg/m² et 90 mg/m² de daunorubicine dans le sous-groupe des 111 patients avec une LAM CBF dans l'étude UK NCRI AML17 n'a pas montré de différence avec une tendance à plus de mortalité globale dans le groupe daunorubicine 90 mg/m² (66). Une induction séquentielle a été évaluée par l'inter-groupe français sans montrer de différence en survie globale par rapport à une induction avec de la daunorubicine 60 mg/m² (3).

1.3.2 Chimiothérapie de consolidation

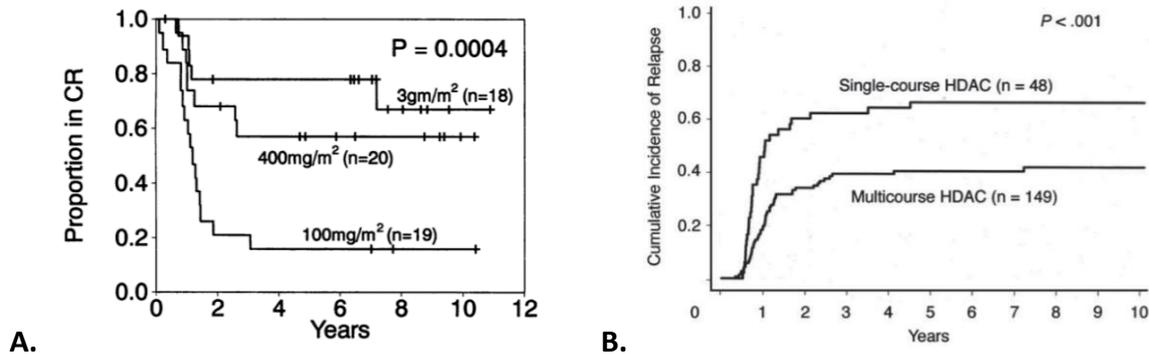
L'allogreffe en première rémission complète n'a pas montré son intérêt dans les LAM CBF. Parmi les patients atteints de LAM CBF, moins de 10% reçoivent une allogreffe en première rémission (3). La consolidation par chimiothérapie est donc le traitement de référence et a pour objectif d'éliminer les cellules leucémiques persistant après l'induction. Depuis plus d'une vingtaine d'années, elle repose sur l'administration de plusieurs cures de cytarabine haute dose administrée en bolus (3 g/m²/12h à J1, J3 et J5). L'étude publiée par le CALGB en 1994 a démontré la supériorité de cette stratégie en comparaison à de la cytarabine en administration continue à des doses plus faibles (100-400 mg/m² par jour pendant 5 jours) pour 4 cures (67). Cette étude randomisée retrouve un meilleur pronostic chez les patients avec une consolidation par cytarabine haute dose dans les LAM avec t(8:21) et inv(16)/t(16;16) avec une différence beaucoup plus importante par rapport aux autres types de LAM (**Figure 13A**) (68). Il y a peu de patients (n = 57) mais la différence est importante et statistiquement significative. Une étude japonaise avec plus de patients avec une LAM CBF (n = 218) a randomisé une consolidation par cytarabine haute dose avec une consolidation avec de la cytarabine à dose conventionnelle (200 mg/m² pendant 5 jours) avec des anthracyclines (69). La survie dans rechute est plus élevée avec 57% vs 39% (p = 0.05) dans le bras cytarabine à forte doses mais il y a seulement une tendance en survie globale avec 75% vs 66% (p = 0.174). Néanmoins il n'y a pas d'évidence d'une supériorité entre une dose de 3 g/m² et une dose de 1-1.5 g/m². Plusieurs études incluant des patients avec une LAM CBF ont comparé ces doses de consolidation sans montrer de différence en terme de rechute (70,71). Dans l'étude du HOVON, la cytarabine haute dose comparé à la cytarabine dose intermédiaire n'induisait pas de différence pour les patients avec une LAM CBF (n = 88) avec un HR à 1.03 pour l'OS (p = 0.94).

Une étude du groupe CALGB a comparé rétrospectivement les différents régimes de consolidations chez les patients avec une inv(16)/t(16;16) en associant 4 études différentes (n=58) (74). Les patients recevant 3 à 4 cures de cytarabine haute dose ont une incidence cumulée de rechute plus faible (DFS à 5 ans : 57% vs 30%, p = 0.06) que ceux recevant une

seule cure de cytarabine haute dose puis d'autres types de consolidation (VP16-cyclophosphamide, mitoxantrone...) (**Figure 13B**).

Figure 13 : Impact de la chimiothérapie de consolidation dans l'étude du CALGB.

- A. Survie sans rechute chez les patients en fonction du type de consolidation.**
B. Incidence cumulée de rechute selon le nombre de consolidation dans les inv(16)/t(16;16).



Source : Mayer, R. J. et al. Intensive Postremission Chemotherapy in Adults with Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine* 331, 896–903 (1994). Byrd, J. C. et al. Repetitive cycles of high-dose cytarabine benefit patients with acute myeloid leukemia and inv(16)(p13q22) or t(16;16)(p13;q22): results from CALGB 8461. *J. Clin. Oncol.* 22, 1087–1094 (2004).

1.3.3 Greffe de cellules hématopoïétiques

1.3.3.1 Allogreffe en première rémission complète

Malgré son efficacité sur la diminution de la rechute, le rapport bénéfice-risque n'est pas en faveur de l'allogreffe dans les LAM CBF. Plusieurs études utilisant une analyse en fonction de la présence ou non de donneur montraient des résultats en faveur de l'absence d'avantage en survie de l'allogreffe en 1ère RC (RC1) (7,8). Une méta-analyse regroupant 24 essais et 6007 patients dont 547 LAM CBF traités entre 1982 et 2006 a analysé l'intérêt de l'allogreffe en RC1 chez ces patients (72). En reprenant des patients dans des protocoles traités entre 1982 et 2006, l'impact de l'allogreffe était évalué en comparant les patients avec et sans donneurs. Un bénéfice significatif en survie globale à l'existence d'un donneur était retrouvé dans la population globale ($p < 0.01$) mais on ne retrouve pas d'impact de bénéfice en terme de survie

sans rechute dans les LAM CBF ($p = 0.68$). Le test d'interaction était significatif entre les trois groupes cytogénétiques (favorables, intermédiaires et défavorables) ($p < 0.05$) et en particulier entre le groupe favorable et le groupe intermédiaire ($p = 0.02$) et entre le groupe favorable et le groupe défavorable ($p = 0.03$). Devant ces études, le taux de mortalité lié à la greffe ainsi que les effets secondaires potentiels en n'en ont pas fait une stratégie non recommandée dans cette situation. Néanmoins ces résultats sont basés sur des études anciennes et on peut supposer que la diminution de la mortalité liée à la greffe dans les périodes plus récentes a pu modifier ces résultats (73).

1.3.3.2 Allogreffe en deuxième rémission complète

Si l'allogreffe n'est donc pas considérée comme une stratégie optimale pour l'ensemble des LAM CBF en RC1, elle est considérée comme une option thérapeutique en 2ème rémission complète (RC2). Sa réalisation dans ce contexte dépend néanmoins de plusieurs déterminants. D'abord la première étape est l'obtention d'une RC2. La seconde est que le gain de survie permis par l'allogreffe soit aussi important en RC2 qu'en RC1. Et la troisième est qu'il n'y ait pas de surmortalité associée à la réalisation plus tardive de l'allogreffe après un nouveau traitement de chimiothérapie.

Concernant l'obtention d'une RC2, Burnett et al. ont analysé les patients non allogreffés dans les protocoles MRC AML10, AML12 et AML15 (6). Leur population est assez jeune (16-49 ans, médiane à 38 ans). Le taux de RC2 est élevé avec 82% dans les LAM CBF avec 79% de patients recevant une allogreffe en RC2. La majorité des patients est greffée avec un donneur géno-identique apparenté ou non-apparenté avec un conditionnement myélo-ablatif. Néanmoins, ils ne retrouvent pas dans cette étude d'amélioration de la survie avec l'allogreffe en RC2. Dans l'étude de l'inter-groupe français publiée en 2014 et reprenant 145 patients en rechute d'une LAM CBF, le taux de RC2 était de 88% (9). Une allogreffe a été réalisée chez 78 patients. La survie globale était augmentée chez les patients allogreffés vs les non-allogreffés avec 59% vs 45% à 5 ans en analysant l'allogreffe comme une variable temps-dépendante ($p = 0.03$).

L'indication d'allogreffe en RC2 semble apporter un bénéfice même si cela n'a pas été retrouvé dans toutes les études (6,74).

1.3.3.3 Autogreffe

Bien que le recours à l'autogreffe soit devenu limité dans les LAM en France, son efficacité n'est pas très différente de celle de l'allogreffe. Une étude rétrospective de l'EBMT a montré une survie globale similaire chez les patients atteints de LAM CBF recevant en RC1 un traitement par autogreffe ou par allogreffe (75). L'autogreffe était associée à un taux de rechute plus élevé (38% vs 15%, $p = 0.03$) compensé par un taux de mortalité non liée à la rechute plus faible (24% vs 6%, $p = 0.003$). L'autogreffe en RC2 a été étudiée dans l'étude française reprenant les patients avec une LAM CBF en rechute (9). Avec 18 patients autogreffés, il n'y avait pas de différence significative en termes de survie sans rechute ou de survie globale par rapport à la chimiothérapie seule, mais il y avait une tendance en OS avec 60% vs 36% à 5 ans ($p = 0.30$). Il est donc possible que l'autogreffe garde une place dans la prise en charge des rares patients en RC2 ne disposant d'aucun donneur, mais les études récentes comparant cette approche à une chimiothérapie de consolidation ou à une allogreffe à donneur alternatif font défaut.

1.3.4 Sujets âgés

Les LAM CBF ont une incidence stable en fonction de l'âge et leur fréquence devient beaucoup plus faible chez les sujets âgés par rapport aux autres types de LAM (46). La chimiothérapie étant le standard de traitement, il y a peu de données sur les autres traitements qui sont actuellement utilisés chez les sujets âgés. Une étude rétrospective française publiée en 2009 avait montré les bons résultats de la chimiothérapie intensive chez les patients avec une LAM CBF de plus de 60 ans (76). Le taux de RC était presque similaire aux patients jeunes (80%) mais les rechutes plus fréquentes probablement du fait de la faisabilité plus complexe des

stratégies en post-rémission. La survie globale à 5 ans était de 31%. Néanmoins la chimiothérapie standard est de plus en plus remise en question chez les patients plus âgés du fait de sa toxicité majeure. L'intérêt d'un traitement par daunorubicine et cytarabine liposomales (CPX-351) dont la toxicité semble réduite pourrait être posé, mais il n'y a quasiment pas de données dans ce groupe de LAM. Peu de données ont été publiées sur l'efficacité de l'association de l'inhibiteur de BCL-2 venetoclax aux agents hypométhylants dans les LAM CBF. Dans une étude américaine rétrospective portant sur 10 LAM CBF traitées par azacytidine-venetoclax en première ligne (n=4) ou plus tardivement (n=6) (77), le taux de RC était de 80% et la survie dans ce sous-groupe n'était pas précisée dans cette étude qui portait majoritairement sur des patients *NPM1* mutés.

1.3.5 Traitements ciblés

1.3.5.1 Gemtuzumab-ozogamycin

Le gemtuzumab-ozogamycin est un anticorps ciblant le CD33 couplé à une chimiothérapie la calichéamycine. Il permet l'entrée dans la cellule de la chimiothérapie, ciblant ainsi les cellules tumorales en limitant son action sur les autres cellules. La sensibilité au gemtuzumab-ozogamycin (GO) semble dépendre de l'expression du CD33 (78). Les LAM CBF expriment peu CD33 par rapport aux autres types de LAM, que l'on regarde en pourcentage de cellules exprimant CD33 ou en termes d'intensité médiane d'expression (MFI) en surface (79,80). Dans l'étude pédiatrique du COG, 51% des patients CBF se retrouvent dans le quartile de plus faible expression membranaire du CD33. Dans l'article anglais analysant l'expression du CD33 dans les LAM, les CSL CD34+ CD38faible exprimaient CD33+ dans les LAM CBF, ce qui n'était pas systématiquement le cas dans les autres LAM (79). Le GO pourrait donc avoir une plus grande efficacité dans les LAM CBF du fait de l'expression de sa cible sur les CSL. D'autre part, la sensibilité au GO est aussi fonction de l'efficacité de la calichéamycine sur la cellule tumorale. Il a été montré in vitro que la sensibilité de cellules primaires de patient à la calichéamycine était très variable. Il y a une corrélation entre la sensibilité à la calichéamycine et aux

anthracyclines comme l'idarubicine et la daunorubicine mais pas avec les autres traitements (81).

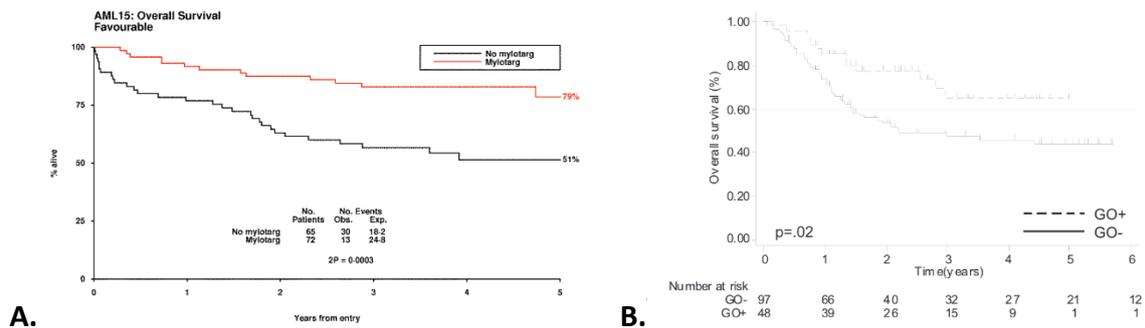
Le GO a été comparé en première ligne dans plusieurs études randomisées qui ont été reprises dans une méta-analyse publiée en 2014 (82). Cette méta-analyse retrouve un bénéfice net à l'addition de GO au schéma d'induction dans les t(8;21) et inv(16)/t(16;16) (HR : 0.47, IC 95% : 0.31-0.73), correspondant à un bénéfice absolu à 6 ans en survie globale de 20.7% (IC 95% : 8.0-33.4%). Dans l'étude anglaise AML15 (5), 137 patients avec une LAM CBF de novo de moins de 60 ans ont été randomisés pour recevoir ou non une injection de GO 3 mg/m². Ils étaient en parallèle randomisés pour plusieurs types d'induction : 3+10, 3+10 avec addition d'etoposide ou FLAG-Ida. Les LAM CBF bénéficient de l'ajout GO avec un HR pour la survie globale à 0.32 (IC 95% : 0.18-0.59) (**Figure 14A**).

Le GO a aussi été testé dans plusieurs essais en consolidation avec des résultats assez décevants (5,83,84). Dans une étude du HOVON, des patients âgés de plus de 60 ans en RC après deux cycles de chimiothérapie étaient randomisés entre trois cycles de GO (6 mg/m² toutes les 4 semaines) et pas de traitement post-rémission (83). Les deux bras de traitements (113 patients avec du GO et 119 patients contrôles) étaient comparables avec un faible nombre de LAM CBF (8% et 5% respectivement). Il n'y avait pas de différence significative entre les groupes concernant la survie globale (28% vs 21%, p = 0.52) et la survie sans maladie (17% vs 16%, p = 0.40). Aucune analyse de sous-groupe sur le faible nombre de LAM CBF (n = 15) n'a cependant pu être entreprise. Le GO a également été évalué en association avec la chimiothérapie de consolidation dans l'étude du groupe britannique MRC AML15 avec l'ajout en consolidation (3ème cure de chimiothérapie) d'une dose ou non de GO à 3 mg/m² (5). Une partie des patients (44%) avait préalablement reçu du GO en induction et seuls 28 (6%) et 25 (5%) patients par bras avaient une LAM CBF. Il n'y avait de différence entre les patients qui avaient reçu ou non du GO dans la population totale.

Figure 14 : Impact du gemtuzumab-ozogamycine dans les LAM CBF.

A. Survie globale avec ou sans gemtuzumab-ozogamycine en première ligne dans l'étude AML15.

B. Survie globale en rechute avec ou sans gemtuzumab-ozogamycine.



Source : Burnett, A. K. et al. Identification of patients with acute myeloblastic leukemia who benefit from the addition of gemtuzumab ozogamicin: results of the MRC AML15 trial. *J Clin Oncol* 29, 369–377 (2011). Hospital, M.-A. et al. Core-binding factor acute myeloid leukemia in first relapse: a retrospective study from the French AML Intergroup. *Blood* 124, 1312–1319 (2014).

La place du gemtuzumab-ozogamycine dans le traitement de rattrapage des LAM CBF en rechute a également analysé dans une étude rétrospective de l'inter-groupe français (9). Sur 145 patients traités pour la LAM CBF en rechute, 33% avaient reçu du GO au cours de leur traitement de rattrapage, essentiellement sous la forme d'une dose uniquement de 6 mg/m². Le taux de RC2 entre les patients traités avec du GO et sans GO était similaire (88% et 88%), mais la DFS et l'OS étaient supérieures dans le groupe GO (**Figure 14B**). Les patients avec du GO au moment de la rechute avaient été plus souvent traités dans le protocole le plus récent CBF-2006. L'intérêt du GO était particulièrement important chez les patients recevant une allogreffe en RC2 avec une survie globale à 5 ans de 82% (IC 95% : 53-94) avec le GO et 48% (IC 95%, 30-63) sans GO (p = 0.01).

1.3.5.2 Sorafenib

Le sorafenib est un inhibiteur de kinase avec de multiples cibles dont récepteurs à activité tyrosines kinases FLT3, CKIT et les RAF kinases. Ces deux récepteurs étant souvent mutés et la voie des MAP kinases activés par de nombreuses mutations dans les LAM CBF, il pouvait

représenter une opportunité thérapeutique. Dans une étude SORAML, son ajout à une chimiothérapie intensive a été évalué contre placebo chez des patients jeunes (18-60 ans) avec une LAM au diagnostic (85). Il était utilisé avec un backbone de chimiothérapie intensive standard (2 inductions avec 3+7 et 3 consolidations par cytarabine haute dose) avec 10 jours de traitements pendant l'induction, à partir du J8 de la consolidation jusqu'à 3 jours avant la consolidation suivante et en maintenance pendant 12 mois. 276 patients ont été randomisés dont seulement 25 patients avec une LAM CBF. L'administration de sorafenib était associée à une DFS avec un HR à 0.66 (95% IC : 0.48-0.90, $p = 0.01$), sans impact sur la survie globale (HR : 0.86, IC 95% : 0.58-1.27, $p = 0.38$). Il était associé à une augmentation de la toxicité digestive.

1.3.5.3 Dasatinib

Le dasatinib est un inhibiteur de tyrosine kinase qui a une efficacité partielle sur le récepteur KIT, dont l'expression est particulièrement élevée à la surface des cellules de LAM CBF, indépendamment du statut mutationnel de *KIT* (86). Le dasatinib en maintenance pendant 1 an a été étudié dans l'étude DasaCBF chez des patients avec une LAM CBF en RC1 mais gardant une MRD élevée après la 1ère consolidation (décroissance de moins de 3 log) ou dont la MRD augmentait (87). 26 patients ont pu être analysés dans cette phase 2 en comparaison à des patients qui n'avait pas reçu de dasatinib ni d'allogreffe. Cette étude n'a pas retrouvé de différence significative entre les deux groupes. La plupart des patients ne présentaient plus la mutation *KIT* ou *FLT3* à la rechute, dans le groupe dasatinib comme dans le groupe sans dasatinib.

Deux grandes études ont étudié l'intérêt de l'association du dasatinib à la chimiothérapie. L'étude allemande AMLSG 11-08 est une étude de phase 2 non randomisée rapportant les résultats de l'ajout du dasatinib 100 mg/jour en induction de J8 à J21, en consolidation de J8 à J28 puis en maintenance pendant 1 an (88). Les patients ($n = 89$) étaient plutôt jeunes avec

une médiane d'âge de 4 ans. Seuls 25% des patients reçurent l'ensemble du traitement par dasatinib prévu du fait d'effets indésirables et des rechutes. Une mutation de *KIT* était présente dans 20% des patients pour les t(8;21) et 25% pour les inv(16)/t(16;16). Avec un suivi médian de 4 ans, l'incidence cumulée de rechute à 4 ans était de 33.1% (IC 95% : 22.7-43.4%) et la survie globale à 4 ans était de 74.7% (IC 95% : 66.1-84.5%). L'étude américaine CALGB 10801 a aussi étudié la faisabilité de l'ajout du dasatinib avec la même dose et avec le même mode d'administration chez 61 patients avec une médiane d'âge de 51 ans (20-85 ans) dont seulement 19 patients reçoivent la totalité du traitement (89). Avec un suivi médian de 45 mois, on retrouve une survie sans rechute à 3 ans de 75% (IC 95% : 63-89) et une survie globale à 77% (IC 95% : 66-89). Une étude de phase 3 randomisant l'utilisation du dasatinib en association avec la chimiothérapie intensive est en cours en Allemagne (AMLSG 21-13).

1.3.5.4 Inhibiteurs de FLT3

Les mutations *FLT3*-TKD sont fréquentes dans les LAM CBF et en particulier dans les inv(16)/t(16;16) où elles sont retrouvées dans plus de 20% des cas, soulevant la question du rôle des inhibiteurs de *FLT3* (12). L'étude RATIFY a étudié l'intérêt de l'ajout de la midostaurine en phase 3 chez des patients de 18 à 59 ans traités par backbone de chimiothérapie standard au diagnostic d'une LAM avec une mutation de *FLT3* avec *FLT3*-ITD et -TKD (90). La midostaurine était aussi utilisée en maintenance pendant un an chez les patients toujours en RC à la fin de la consolidation. Ils retrouvent une diminution du risque de rechute chez les patients traités par midostaurine. Dans cette étude, Voso et al. ont étudié l'impact de la midostaurine chez les patients ayant une LAM *FLT3*-TKD (n = 163) (91). On retrouve un intérêt en EFS avec un HR à 0.66 (IC 95% : 0.45-0.99, p = 0.044) sans impact statistiquement significatif sur l'OS (HR : 0.74, IC 95% : 0.44-1.23). Il n'y avait pas d'excès de rechute observé après l'arrêt de la maintenance. Peu de patients (n = 20) avaient une LAM CBF, empêchant une étude dédiée à ce sous-groupe.

Peu de données sur les autres inhibiteurs de FLT3 sont disponibles dans les LAM CBF. L'étude ADMIRAL qui a analysé en phase 3 l'impact du gilteritinib dans des LAM en rechute n'avait par exemple inclus que 5 patients avec une LAM CBF (92).

1.4 MALADIE RESIDUELLE

Les schémas de traitement par chimiothérapie intensive étaient restés jusqu'ici assez uniforme pour tous les patients atteints de LAM. L'indication d'allogreffe en RC1 est restée la seule modulation possible en fonction du bénéfice estimé de cette thérapeutique pour chaque patient. Actuellement de très nombreuses molécules sont en train de montrer leur efficacité dans la LAM et doivent trouver leur place dans la prise en charge thérapeutique. Des traitements ciblés font leur apparition en première ligne pouvant remplacer la chimiothérapie pour les patients avec une LAM peu chimiosensible ou s'y ajouter. Aux cures d'induction et de consolidation s'ajoutent maintenant des possibilités de traitements de maintenance. Les possibilités d'adaptation du traitement s'en retrouvent multipliées. Pour choisir le schéma thérapeutique, il est nécessaire de pouvoir prédire avec précision le pronostic des patients afin de pouvoir discuter les choix thérapeutiques.

1.4.1 Techniques

La mesure de la maladie résiduelle (MRD), notamment par quantification des réarrangements Ig/TR spécifiques du clone dominant au diagnostic a été développée dans les leucémies aiguës lymphoblastiques pour adapter l'intensité du traitement et en particulier identifier les patients de mauvais pronostic pouvant bénéficier d'une allogreffe. Dans la LAM, l'étude de la maladie résiduelle s'est développée plus progressivement, essentiellement du fait de l'absence de méthodologie quasi-universelle avant l'ère de la cytométrie de flux. L'utilisation

de la quantification des transcrits de fusion dans les LAM CBF peut néanmoins être réalisée par RT-qPCR en ciblant les transcrits de fusion RUNX1::RUNX1T1 et CBFβ::MYH11.

1.4.1.1 RT-PCR

Le suivi en MRD par RT-PCR requiert la synthèse d'un ADN complémentaire à partir de l'ARN extrait (98). L'utilisation de l'ARN permet une meilleure sensibilité du fait de l'expression élevée du transcrit de fusion dans la cellule. D'autre part, les translocations ont le plus souvent lieu dans les parties introniques des deux gènes. Pour pouvoir amplifier la région d'intérêt, il faudrait créer des amorces spécifiques pour chaque patient. Sur le transcrit où les introns ont été retirés, les zones de jonction sont peu nombreuses et il est possible d'utiliser un panel d'amorces standards dans la plupart des cas. Il est nécessaire d'avoir un prélèvement d'ARN au diagnostic pour pouvoir déterminer la fusion chez le patient et pour quantifier le transcrit au diagnostic. Contrairement à l'ADN, l'ARN se dégrade rapidement et le délai de transport ou les mauvaises conditions de conservation ont un impact défavorable sur la sensibilité de la technique.

On utilise la quantification d'un gène de ménage, le plus souvent ABL, pour pouvoir évaluer la quantité et la qualité d'ARN présent dans le prélèvement. Une quantification trop faible du gène de ménage doit faire suspecter une mauvaise qualité du prélèvement susceptible de réduire la sensibilité de la technique. Les taux de MRD sont normalisés et exprimés en ratio relativement au gène de ménage. Le lien entre le résultat de la PCR et le taux de cellules de la LAM résiduelles n'est donc pas d'interprétation directe, ce d'autant que l'expression du transcrit de fusion par les cellules n'est pas similaire dans toutes les cellules et chez tous les patients. Le taux très élevé retrouvé au diagnostic reflète à la fois le taux d'expression du transcrit de fusion par rapport au gène de ménage mais aussi le nombre de cellules exprimant ce transcrit de fusion.

Les techniques de quantification de la maladie résiduelle dépendent de la qualité du prélèvement. Elle nécessite un prélèvement de moelle osseuse ou de sang périphérique de

quantité suffisante pour permettre une analyse adaptée. Un nombre suffisant de leucocytes est nécessaire pour permettre un seuil de quantification suffisamment bas. L'hémodilution pour les prélèvements médullaires et la viabilité cellulaire affectée par exemple par le temps de transport diminuent la sensibilité de la MRD.

1.4.1.2 Autres techniques et comparaison

La maladie résiduelle peut aussi être évaluée par cytométrie de flux. La différence entre ces deux techniques dans les LAM CBF a été décrite dans une étude du MD Anderson (93). Sur 44 patients avec une LAM CBF, ils ont évalué les coefficients K de Cohen permettant d'évaluer la concordance entre les deux techniques en prenant en compte le risque de concordance liée au hasard. Les coefficients K sont assez faibles avec après l'induction avec $K = 0.041$. Dans cette étude qui utilise les techniques de CMF de référence (marqueurs aberrants, expression asynchrone, différence d'expression par rapport au normal), la quantification de la MRD en RT-PCR a une sensibilité plus élevée que par une approche en CMF.

Des techniques plus récentes de MRD se sont développées. En particulier, la MRD par séquençage ADN profond d'un panel de gènes par Next Generation Sequencing (NGS) permet théoriquement de suivre l'évolution de toutes les mutations ponctuelles de la maladie mais achopperait sur l'hétérogénéité des points de cassure des fusions RUNX1::RUNX1T1 et plus encore CBF::MYH11.

1.4.2 Analyse dans la LAM

1.4.2.1 Moelle osseuse ou sang

La question de la tolérabilité des prélèvements médullaires réguliers chez les patients traités pour une LAM soulève la question de la pertinence de l'analyse de la MRD sur des prélèvements de sang périphérique. Les techniques de MRD et en particulier la quantification

en RT-PCR des transcrits de fusion permet l'évaluation du taux de MRD dans le sang. Il y a cependant une différence de quantification avec une détection en moyenne dix fois moindre dans le sang par rapport à la moelle pour les mutations *NPM1* (94,95). Dans les LAM avec t(8;21) retrouve une bonne corrélation entre les résultats dans la moelle et dans le sang avec des taux plus élevés dans la moelle en particulier en fin de traitement (15). De nombreux patients vont avoir une MRD toujours positive dans la moelle osseuse mais négative dans le sang dans un quart des prélèvements couplés de cette étude. Dans les inv(16)/t(16;16), la corrélation a été moins clairement examinée (96). Une bonne corrélation est retrouvée pour des résultats supérieurs à 0.1% entre la moelle et le sang mais par contre de plus grandes différences sont retrouvés à des niveaux plus faibles avec là-aussi une supériorité dans les prélèvements médullaires. L'évaluation de la MRD dans le sang périphérique est cependant parfois préférable à celle dans la moelle osseuse dans certains contextes. C'est par exemple le cas en fin de traitement où la présence d'une MRD positive dans la moelle n'a pas d'impact pronostique alors que la présence d'une MRD positive dans le sang est associée à un risque de rechute élevé (15).

1.4.2.2 Clones

Dans les LAM CBF, le transcrit de fusion est l'anomalie fondatrice du clone et est retrouvée dans l'ensemble des cellules leucémiques, le transcrit étant quasi systématiquement retrouvé à la rechute. Par conséquent, la présence de faux négatifs est quasiment impossible en dehors des questions techniques.

1.4.3 Impact dans les LAM CBF

Plusieurs études ont analysé l'impact pronostique de la MRD dans les LAM CBF. L'interprétation de ces différentes études est simplifiée par le recours à des schémas de de

chimiothérapie très similaires et des techniques de quantification comparables. Néanmoins, la définition des seuils de positivité et la chronologie précise des évaluations diffèrent.

Dans l'étude anglaise NCRI AML15, l'impact pronostique de la MRD des deux types de LAM CBF a été décrit (16). Dans les t(8;21) (n = 163), la décroissance de 3 log après l'induction était le facteur pronostique le plus important avec seulement 4% d'incidence cumulée de rechute (CIR) chez les 47% de patients qui l'avaient obtenu. Dans les inv(16)/t(16;16) (n = 115 patients), le taux de MRD après un premier cycle de chimiothérapie était le plus pronostique avec un seuil à 10 copies/10⁵ ABL (CIR : 21% vs 56%). D'autre part dans les inv(16)/t(16;16), la persistance d'une MRD positive dans le sang après le 3ème cycle de traitement au seuil à de 10 copies/10⁵ ABL entraînait un risque de rechute élevé (CIR : 36% vs 78%). La prédiction du risque de rechute augmentait en cas de persistance d'un taux élevé après le quatrième cycle ou au-delà pendant le suivi. Après 4 cycles, la persistance d'un taux à plus de 10 copies/10⁵ ABL entraînait un risque de rechute de 97% contre 7% en cas de MRD indétectable ou inférieure à ce seuil. Dans la moelle, la présence d'un taux à plus de 50 copies entraînait quasi systématiquement une rechute.

Dans l'étude française CBF-2006 comprenant des LAM t(8;21) et inv(16;16) (n = 198), le seuil de 3 log de réduction entre le diagnostic et l'évaluation, cette fois après le premier cycle de consolidation (donc 2 cycles de chimiothérapie) dans la moelle était le facteur pronostique le plus important pour prédire la durée de survie sans rechute, mais sans avoir d'impact sur la survie globale (3). Les mêmes résultats étaient retrouvés avec un seuil à 0.1% sur la MRD2 évaluée après la première consolidation.

L'étude du groupe AMLSG confirme dans les LAM t(8;21) (n = 155) l'impact pronostique de la réduction de la MRD après l'induction avec un seuil à 2.5 log (MR2.5) et après deux cycles avec un seuil à 3 log (MR3) (19). A la fin du traitement, la présence d'une MRD positive dans le sang ou dans la moelle est associée à une augmentation de la rechute en prenant comme seuil 83 copies dans la moelle osseuse et 5 dans le sang.

Plusieurs seuils initiaux sont importants pour identifier les patients de mauvais pronostic en première ligne afin de décider d'une intensification du traitement. La mauvaise diminution du transcrit de fusion ($< 3 \log$ ou $< 0.1\%$) après le deuxième cycle dans le sang et la présence d'un taux élevé après 3-4 cycles semblent être des facteurs robustes pour identifier les LAM CBF ayant un risque important de rechute. L'intérêt de l'allogreffe était surtout supposé dans les LAM CBF avec une MRD élevée après 3-4 cycles de traitements (97). Une étude chinoise a étudié l'impact pronostique de la MRD chez 116 patients âgés de 40 à 60 ans porteurs d'une LAM t(8;21) en RC après deux cycles d'induction (97). Les patients étaient considérés comme à haut risque de récurrence s'ils n'atteignaient pas une réduction de 3 log après la deuxième consolidation ou si la MRD augmentait dans les 6 mois après l'obtention de les 3 log de réduction. Chez les patients à haut risque de rechute, une allogreffe de cellules souches avait été réalisé chez 40 patients et 29 patients avaient été traités par chimiothérapie seule. Chez ces patients, on retrouve un risque de rechute plus élevé chez les patients traités par chimiothérapie seule avec une CIR avec une analyse en landmark à 78.9% vs 22.1% chez les patients allogreffés. A l'inverse, chez les patients à faible risque de rechute, l'allogreffe a un impact défavorable sur la survie sans rechute (DFS à 2 ans : 70.3% vs 94.7%, $p = 0.02$). Seuls 58 patients ont reçu une chimiothérapie de consolidation avec de la cytarabine haute dose. Il y a malheureusement peu de groupes qui ont publiés une analyse de l'allogreffe en RC1 depuis l'utilisation de la MRD comme marqueur pronostique.

Par ailleurs, il persiste chez de nombreux patients t(8;21) (environ 70%) une MRD médullaire détectable en fin du traitement sans pour autant que cette persistance induise un risque accru de rechute, notamment en cas de taux médullaire faible associée à une MRD négative dans le sang (15). Ce paradoxe s'explique par la persistance médullaire de mastocytes dérivés du clone leucémique. Ces cellules chimiorésistantes et d'une durée de vie longue restent pendant plusieurs mois dans la moelle osseuse sans pour autant induire une rechute (98). Dans deux cas, en triant les mastocytes et les précurseurs hématopoïétiques, il a été démontré que les mastocytes portaient la translocation initiale alors que les précurseurs hématopoïétiques étaient normaux.

La complexité de l'analyse de la MRD réside dans sa capacité à s'associer aux caractéristiques de la maladie au diagnostic et à sa prise en charge. L'hyperleucocytose et le pourcentage de blastes circulants ont été souvent décrits comme corrélés à l'expression du transcrite de fusion au diagnostic (19), d'où la pertinence de représenter les résultats de MRD sous la forme d'une réduction de l'expression (log transformée) par rapport au seuil initial, au contraire d'un seuil fixe, avec la contrainte de devoir disposer d'un échantillon sanguin ou préférentiellement médullaire au diagnostic.

Certaines mutations ont été montrés comme associées à une décroissance plus faible de la MRD et en particulier la mutation *KIT* (18,19). Dans l'étude allemande, la présence d'une mutation *KIT* était associé à une tendance non significative à une MRD plus élevé au cours du suivi et surtout à la présence d'une MRD toujours positive à la fin du traitement. La log-réduction après l'induction et après la fin du traitement était statistiquement différente dans le groupe *KIT* muté et non muté. D'autre part, l'intensité des traitements a aussi un impact sur sa cinétique avec ou sans impact sur la survie. Dans le protocole CBF2006, les deux inductions randomisées ont un impact différentiel sur la décroissance de la MRD avec une diminution plus rapide avec l'induction fractionnée. Néanmoins cela ne se traduit pas par une modification de la survie sans rechute ou de la survie globale (3). Il est donc pour l'instant difficile de pouvoir savoir si la MRD peut représenter un marqueur secondaire pouvant prédire le risque de rechute.

Enfin, au-delà de l'impact pronostic établi, du probable rôle prédictif sur le bénéfice de l'allogreffe, l'évaluation dynamique de la MRD est de façon accrue utilisée par les cliniciens pour modifier la stratégie thérapeutique au fil des évaluations, selon des stratégies encore mal codifiées et dont l'évaluation soulève des enjeux méthodologiques. Cela est à prendre en compte dans les analyses évaluant l'impact de la MRD sur la survie.

1.4.3 Rechute moléculaire

Le suivi régulier de la MRD au décours du traitement peut ainsi permettre d'identifier en cas de ré-apparition d'une MRD (« rechute moléculaire ») la survenue probable d'une future rechute hématologique. L'apparition d'une rechute moléculaire prend en moyenne 3-5 mois mais varie beaucoup en fonction des patients. La définition précise d'une rechute moléculaire est restée non consensuelle pendant de nombreuses années, d'autant plus que le suivi de la MRD après le traitement restait très variable en fonction des études. Les recommandations ELN ont récemment défini la rechute moléculaire comme la positivité d'un point de MRD après un point de MRD négatif ou l'augmentation de la MRD d'un $\geq 1 \log_{10}$ entre deux points chez des patients ayant atteint une rémission complète avec un taux faible de MRD (complete remission with MRD at low level, CR-MRD-LL) (99). Pour conclure à une rechute moléculaire, il faut confirmer ce résultat avec un autre point de MRD préférentiellement dans la moelle osseuse et vérifier l'absence de rechute cytologique sur le myélogramme. La définition d'une MRD de faible taux (MRD at low level, MRD-LL) est inférieure à 2% pour les LAM CBF et *NPM1*.

Depuis l'apparition de cette définition beaucoup plus précise, il convient désormais de mieux étudier la survenue de ces rechutes moléculaires et leurs conséquences cliniques, afin de proposer des stratégies prise en charge à évaluer chez ces patients. Actuellement, seul un petit nombre d'études ont porté sur cette question (100–102).

Certaines études ont évalué l'utilisation de traitements ciblés ou d'agents hypométhylants en situation de MRD élevée persistante et/ou de rechute moléculaire. L'étude DasaCBF avait randomisé l'utilisation du dasatinib chez les patients mauvais répondeurs au traitement de première ligne dans le protocole CBF2006 mais avait aussi inclut les patients dont la MRD augmentait de $\geq 1 \log_{10}$ (87). Il n'y avait que 8 patients dans cette dernière situation. Le dasatinib n'a pas montré d'efficacité dans cette étude pour prévenir la rechute. Pour la plupart des patients, la mutation *KIT* n'était plus présente au moment de la rechute. Une étude du MD Anderson a évalué l'utilisation d'agents hypométhylants chez 23 LAM CBF avec MRD élevée persistante au terme d'un schéma de traitement intensif (100) par FLAG avec de l'idarubicine ou du gemtuzumab-ozogamycin. La médiane du nombre de cycles de FLAG avant

le début des hypométhylants était de 6 cycles (intervalle : 1-7 cycles). Treize patients (57%) avaient été traités du fait de la persistance d'une MRD élevée mais les autres avaient des cytopénies persistantes qui empêchaient la poursuite d'une consolidation standard et 1 avait rechuté post-allogreffe. 5 patients (29%) ont progressé rapidement après un à deux cycles de traitement par hypométhylants avec une augmentation d'un moins 1 \log_{10} de la MRD. Les autres patients (n=12) sont restés en RC pendant le suivi avec une diminution du taux de MRD après le traitement par hypométhylants. Néanmoins nous n'avons pas de données sur l'origine des prélèvements pour la MRD, qui pourraient être sur du sang périphérique soit de la moelle osseuse. Il est donc possible d'un nombre de ces patients faisaient partie de ceux qui conservent une positivité de la MRD médullaire à distance du traitement sans risque de rechute.

De rares études ont repris les patients traités avec de la chimiothérapie intensive après une rechute moléculaire. Une étude tchèque publiée en 2012 rapportait 8 patients en rechute moléculaire dont 4 avec une LAM CBF, rattrapés par clofarabine suivie d'une auto- ou d'une allogreffe (101). Aucun patient n'était mort au cours du suivi mais 57% avaient eu une nouvelle rechute moléculaire dans les 6 mois suivant le début de l'intervention.

A ce jour, aucune étude n'a comparé en vie réelle le devenir des patients traités en rechute moléculaire par rapport à ceux traités en rechute cytologique. L'indication du traitement en rechute moléculaire est fondée sur l'idée qu'il permettrait d'éviter la toxicité hématologique accrue des traitements en situation de rechute hématologique, a fortiori lorsque celle-ci est proliférative. On peut supposer aussi qu'il pourrait limiter la masse tumorale initiale et réduire le risque d'acquisition de résistance du fait du plus faible de nombre de cellules pouvant induire des sous-clones résistants.

Measurable residual disease kinetics in core binding factor acute myeloid leukemia

Corresponding author: Pr Raphael Itzykson, MD, PhD, 1 avenue Claude Vellefaux, 75010 Paris, tel: +33 1 42 38 51 27, fax: +33 1 42 38 51 28, email: raphael.itzykson@aphp.fr

Word count: abstract: 382 words, main text: 6864 words

Figures and tables: 8 figures, 6 tables

Running title: MRD in core binding factor acute myeloid leukemia

Keywords: Acute myeloid leukemia, measurable residual disease, molecular genetics

ABSTRACT

Acute myeloid leukemias (AML) with t(8;21) and inv(16)/t(16;16) have been identified as a favorable risk group for more than 20 years. Yet, with current intensive chemotherapy regimens, relapse occurs in 30 to 50% of patients inducing a significant mortality. Measurable residual disease (MRD) with quantification by RT-qPCR of fusion transcripts allows a precise determination of the kinetics of response in both subtypes. It provides an opportunity to adapt therapeutic strategies according to the estimated risk of relapse. The RetroCBF cohort of the ALFA cooperative group retrospectively included 439 patients diagnosed with t(8;21) or inv(16)/t(16;16) AML between December 2010 and December 2020 in 25 French centres. Patients were 18 to 80 years old and had received intensive chemotherapy. 4-year overall survival (OS) was similar in t(8;21) and inv(16)/t(16;16) with respectively 75.4% (95% CI:69.3-82.1%) and 73.2% (95% CI:67.5-79.4%) (p=0.3). We combined this cohort with patients of the CBF2006 trial that included prospectively 198 patients from 18 to 60 ans. MRD data was obtained for 442 patients on the 637 total patients (69.4%). During treatment, there was more difference between bone marrow (BM) and peripheral blood (PB) MRD in inv(16)/t(16;16) than in t(8;21) (0.30 vs 0.65, p=0.008 after induction). In BM, MRD after induction was associated with disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) in t(8;21) (p<0.001 for DFS and p=0.004 for OS) but not in inv(16)/t(16;16). In inv(16)/t(16;16), MRD in PB was strongly associated with DFS and OS (p<0.001 for DFS and p=0.03 for OS). Achievement of major molecular response (MMR, 10^{-3}) after induction in BM in t(8;21) was associated with DFS and OS (Hazard ratio [HR]: 0.36, 95% confidence interval [95% CI]:0.22-0.59, p<0.0001 for DFS and HR:0.41, 95% CI:0.21-0.81, p=0.009 for OS). Oppositely in inv(16)/t(16;16), achievement of MMR after induction in PB was strongly associated with DFS and OS (HR: 0.37, 95% CI:0.22-0.63, p=0.0003 for DFS and HR:0.32, 95% CI:0.14-0.69, p=0.004 for OS). In both subtypes, positive MRD in PB at the end of consolidation courses was associated with reduced DFS (p=0.002 for t(8;21) and p<0.0001 for inv(16)/t(16;16) in multivariate analysis) but persistence of MRD in BM was not associated with a different DFS in patients with a negative PB MRD (p=0.6 for t(8;21) and p=0.8 for inv(16)/t(16;16)). MRD kinetics are different in t(8;21) and inv(16)/t(16;16) and identify specific patterns that allow risk stratification.

INTRODUCTION

Acute myeloid leukemia (AML) is a disease with poor prognosis. In fit individuals, intensive chemotherapy with or without allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT) leads to long-term remissions in around 50% of patients (103). AMLs harboring the recurrent gene fusions *RUNX1::RUNX1T1* and *CBFB::MYH11* resulting from t(8;21) and inv(16)/t(16;16) chromosomal rearrangements, respectively, define the subset of Core binding factor (CBF) AML that are classified into the favorable risk group owing to their relative chemosensitivity. Indeed, more than 90% of patients achieve complete remission after chemotherapy induction courses, many of which lead to cure after consolidation chemotherapy (3,12). Nevertheless, relapse occurs in 30-40% of the patients. In this setting, salvage chemotherapy with allo-HCT in second complete remission (CR) still provides good results with more than 50% of patients alive without subsequent relapse (9).

Measurable residual disease (MRD) has gained a central place in acute leukemias in the last 2 decades (99). The precision of RT-qPCR technics in CBF AML makes this subgroup especially significant for deciphering the interaction between prognosis and MRD in AML. MRD has been prospectively explored in several trials in CBF AML and confirmed its key prognostic impact after CR (3,16,19,20). As a continuous variable evaluated after each cycle of treatment, multiple timepoints of evaluation and cut-offs have been suggested. MRD can be evaluated with direct MRD quantification or MRD reduction (MR) from RT-qPCR result at diagnosis. Bone marrow (BM) and peripheral blood (PB) samples are used with substantial differences between the two sources (15).

We analyzed the survival in first line and after relapse and prognostic factors in the retrospective multicentric RetroCBF cohort. We combined this cohort with CBF2006 trial data to describe MRD kinetics in t(8;21) and inv(16)/t(16;16) and evaluate the prognostic impact of MRD timepoints during first line treatment.

METHODS

Patients and treatment

The multicenter retrospective RetroCBF study enrolled CBF AML patients 18 to 80 years old diagnosed from December 2010, ie. after the end of inclusions in the French AML intergroup CBF AML trial CBF2006, until December 2020 in 25 Acute Leukemia French Association (ALFA) participating centers (3). CBF AML gathering AML with t(8;21); *RUNX1::RUNX1T1* and AML with inv(16)/t(16;16); CBF::MYH11 was defined by the presence of t(8;21)(q22;q22.1) or inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22) by conventional karyotyping and/or fluorescence in situ hybridization, and/or detection of *RUNX1::RUNX1T1* or *CBF::MYH11* fusion transcripts (104). Patients were included only if they received intensive chemotherapy at least for induction course. Patients with concomitant t(9;22) and/or *BCR::ABL1* were excluded.

All patients didn't give their opposition to this research following the MMR-004 guidelines. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. The study is registered on Health Data Hub (www.health-data-hub.fr F20210402111054) and clinicaltrials.gov (NCT05070208).

The prospective CBF 2006 trial of the French AML Intergroup enrolled 198 patients at 35 centers between July 2007 and November 2010 of whom 191 with MRD assessment at least one available MRD timepoint were included in the current MRD analysis (3). The CBF-2006 trial compared two intensive induction regimens in CBF AML. Study was approved by the ethics committee of Nimes University Hospital and by the Institutional Review Board of the French Regulatory Agency. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki.

Measurable residual disease

MRD in the CBF-2006 trial were collected as part of the treatment protocol. Bone marrow and peripheral blood samples were requested at diagnosis and then during therapy, after induction chemotherapy and before the second and third consolidation chemotherapy. MRD results have already been published (3,15). In the RetroCBF cohort, MRD data was retrospectively collected in patients with available MRD. MRD follow-up was decided by the treating physician. In both situations, clinicians were aware of MRD results.

RUNX1::RUNX1T1 and CFBF::MYH11 transcript levels were quantified using a mutation-specific real-time quantitative polymerase chain reaction (RQ-PCR) in 13 centers. Results were expressed as a $\log_{10}[\text{RUNX1-RUNX1T1}/\text{ABL1}]$ transcript ratio (respectively CFBF::MYH11). The sensitivity of this quantification was 0.001%. MRD negativity was defined as a transcript ratio equal or inferior to 0.001% (99). MRD reduction (MR) was defined as the difference between (log-transformed) maximal quantification at diagnosis between BM and PB samples and quantification at the MRD timepoint. MRD1 timepoint was defined as MRD evaluation after induction. MRD2, MRD3 and MRD4 were defined as MRD evaluation after first, second and third consolidation.

Definitions

Response criteria after induction followed the ELN 2022 guidelines (105). MRD relapse was defined according to ELN guidelines as the conversion of MRD negativity to MRD positivity or as the increase of MRD of more than 1 log between 2 positives samples measured in the same tissue in patients with low-level MRD (99). The result was confirmed on subsequent samples. Low-level MRD (LL-MRD) is defined as a MRD lower than 2% transcript ratio. Hematological relapse and MRD relapse that had been treated before hematological relapse were considered as relapse events. Early death was defined as death in the 60 days after diagnosis.

Statistical analyses

Variables are reported as numbers and percentages or median and minimum and maximum. Group comparisons for continuous or categorical variables were performed with the Wilcoxon test or Fisher exact test respectively. Multivariate analysis of categorical variables was done using logistic regression.

Overall survival (OS) and event-free survival (EFS) were computed from the date of diagnosis. OS was determined until death or loss of follow-up and EFS until remission induction failure, relapse, or death or until loss of follow-up. Disease-free survival (DFS) was computed from CR or CR with incomplete hematologic recovery (CRi) until relapse, death or loss of follow-up. All time to events were evaluated with the Kaplan-Meier estimator. Univariate and multivariate analyses were performed with Cox models. Univariate and multivariate analyses for cumulative incidence of events were done with Fine and Gray models (106). To evaluate the impact of allo-HCT, OS from CR/CRi was estimated by the Mantel-Byar method considering allo-HCT as a time-dependent covariate (107). For MRD analysis, DFS and OS were analyzed with a Landmark at the time of MRD sampling. Area under time dependent ROC curve in the presence of censored data was evaluated and compared with “timeROC” package (108). C-index were evaluated with the “pec.” package (109). All statistical analyses were performed with R software 4.1.2 (cran.r-project.org).

METHODS

Baseline clinical characteristics

The RetroCBF study population included 439 CBF AML patients (222 female, 217 male) with a median age of 48 years (18-80) (**Supplementary figure 1**). There were 198 patients with an AML with t(8;21) (45.1%) and 241 with inv(16)/t(16;16) (54.9%) (**Table 1**). Median age was

46.0 for patients with t(8;21) and 50.0 for patients with inv(16)/t(16;16) (p=0.09). Forty-eight (11.0%) patients had received chemotherapy for another cancer before AML diagnosis. At diagnosis, hemoglobin concentration and leukocytes counts were both lower in t(8;21) compared with inv(16)/t(16;16) (Hb: 8.5 g/dL vs 9.1 g/dL, p=0.03; WBC count: 8.9 G/L vs 26.0 G/L, p<0.0001, respectively). Other baseline characteristics were comparable between the 2 genetic subgroups (**Table 2**).

Associated cytogenetic findings

Karyotype was available in 374 patients (85.2%) (**Table 2**). Loss of gonosomal chromosome was more frequent in t(8;21) (n=62, 37.3% for t(8;21) vs n=4, 1.9% for inv(16)/t(16;16), p<0.0001). The presence of at least one trisomy was more frequent in inv(16)/t(16;16) (n=20, 12.0% vs n=63, 3.03%, p<0.0001). Trisomy of chromosomes 8, 21 and 22 were more frequent in inv(16)/t(16;16), whereas trisomy 4 was more frequent in t(8;21). Loss of long arm of chromosome 9 was more frequent in t(8;21) (n=19, 11.4% vs n=0, 0%, p<0.0001).

Survival analysis

Median follow-up was 5.1 years (IQR: 3.2-7.1). On the 439 patients with, 20 patients died during the first induction course (4.6%). 410 (93.4%) were in complete remission (CR) or complete remission with incomplete hematologic recovery (CRi) after one induction course and 6 after a second course of induction (1.4%). Three patients (0.7%) had resistant disease after 1 course of induction and didn't receive salvage therapy. Overall, 416 (94.8%) patients obtained CR/CRi. There was no difference in CR/CRi rate between the two cytogenetic groups (96.5% for t(8;21) and 93.4% for inv(16)/t(16;16), p=0.10). In first CR/CRi, 16 patients (3.6%) received an allo-HCT and 3 (0.7%) an autologous stem cell transplantation (auto-HCT). Ten (2.3%) patients died in first CR/CRi, one after allo-HCT and one after auto-HCT. Hematological relapse occurred in 146 patients (33.3%) of whom 129 were treated with intensive salvage

chemotherapy. Besides, 24 patients were treated before hematological relapse because of a MRD relapse. On these 169 patients in second line, 93 (55.0%) received an allo-HCT and 6 (3.6%) an auto-HCT.

Hematological relapse and MRD relapse that had been treated before hematological relapse were considered as relapse events to estimate the cumulative incidence of relapse (CIR), which was 42.5% (95% CI: 0.38-0.47) at 4 years. CIR at 4 years were 37.2% (95% CI:0.30-0.44) in t(8;21) and 47.0% (95% CI:0.40-0.54) in inv(16)/t(16;16) ($p=0.07$) (**Figure 1A**). In a multivariate analysis accounting for age and log-transformed WBC at diagnosis, there was no difference in CIR between t(8;21) and inv(16)/t(16;16) (SHR: 1.27, 95% CI:0.89-1.81, $p=0.19$). Disease-free survival (DFS) was 59.5% (95% CI:52.7-67.2%) in t(8;21) and 51.9% (95% CI:45.5-59.2%) in inv(16)/t(16;16) ($p=0.1$). In a multivariate analysis accounting for age and log-transformed WBC, there was no significant effect of CBF subtype (HR:1.26, 95% CI:0.91-1.75 for inv(16)/t(16;16), $p=0.16$). Overall survival (OS) was similar in the two groups with 4-year OS estimated at 75.4% (95% CI:69.3-82.1%) for t(8;21) and 73.2% (95% CI:67.5-79.4%) for inv(16)/t(16;16) ($p=0.3$) (**Figure 1B**). After censoring at the time of allo-HCT the 16 patients transplanted in first CR/CRi, CIR was estimated at 43.1% at 4 years. In t(8;21) and in inv(16)/t(16;16), CIR at 4 years were 38.1% and 47.4% respectively (SHR: 1.3, 95% CI:0.95-1.78, $p=0.1$). DFS censored to allo-HCT was 59.0% (95% CI:0.52-0.67) in t(8;21) and 51.2% (95% CI:0.45-0.59) in inv(16)/t(16;16) ($p=0.1$) and OS censored to allo-HCT was 75.1% (95% CI:0.69-0.82) in t(8;21) and 73.6% (95% CI:0.68-0.80) in inv(16)/t(16;16) ($p=0.4$). To avoid the interaction with allo-HCT in first CR/CRi, we then used only survival censored to allo-HCT in CR/CRi1.

Prognosis impact of associated cytogenetic findings

We analyzed the prognostic impact of recurrent cytogenetic alterations in the 374 patients with available data. In inv(16)/t(16;16), trisomy 22 ($n=30$, 7.9%) was associated with a non-statistically significant improvement in DFS censored to allo-HCT in CR/CRi1 ($p=0.2$ in

univariate analysis and HR:0.66, 95% CI:0.33-1.31, $p=0.23$ in multivariate model accounting for age and log transformed WBC). Trisomy 8 ($n=35$, 16.8%) was also associated with a non-significant improvement in DFS ($p=0.06$ in univariate analysis and HR:0.51, 95% CI:0.26-1.03, $p=0.06$ for DFS in a similar multivariate model). There was no significant impact of trisomy 21 ($n=13$, 6.2%) on DFS ($p=0.6$). Presence of at least one trisomy in inv(16)/t(16;16) ($n=63$, 30.3%) was associated with an improved DFS ($p=0.01$ in univariate analysis and HR:0.52, 95% CI:0.31-0.86, $p=0.01$ in a similar multivariate model) which did not translate in OS censored to allo-HCT in CR/CRi1 ($p=0.09$ in univariate analysis and HR:0.53, 95% CI:0.27-1.07, $p=0.08$). In t(8;21), neither del9q ($n=19$, 11.4%) nor loss of gonosomal chromosome ($n=62$, 31.3%) had a significant impact on DFS ($p=0.8$ and $p=0.5$ respectively). Presence of trisomy 4 ($n=7$, 4.2%) was associated with a worse DFS ($p=0.02$ in univariate analysis; HR:0.60, 95% CI:0.92-7.40, $p=0.07$ in a similar multivariate analysis). In the whole cohort, del7q or abn7q ($n=12$, 3.2%) had no impact on DFS ($p=0.3$).

First line treatments

All patients included in the analysis were treated frontline with intensive chemotherapy. Most of them were treated according to arm B of the CBF2006 trial that ended its inclusion in November 2010. One hundred and seventy (31.0%) patients received daunorubicine (DNR) 60 mg/m²/d for 3 days with cytarabine 200 mg/m²/d continuous IV for 7 days (3+7 DNR60, arm B of CBF 2006) and 41 (9.3%) a time-sequential induction consisting of DNR 60 mg/m²/d days 1-3 and 35 mg/m² days 8-10 with cytarabine 500 mg/m²/d continuous IV (CIV) days 1-3 and 1000 mg/m²/12h days 8-10 (3) (time-sequential induction). Others induction regimens were 7+3 based. One-hundred-thirty-six patients (31.0%) were treated with DNR 80-90 mg/m²/d with cytarabine 200 mg/m²/d CIV (3+7 DNR90). Seventy-two patients (16.4%) received the reference idarubicine-based 3+7 regimen for older patients (110) consisting of idarubicine (IDA) 12 mg/m²/d for 3 days and cytarabine 200 mg/m²/d for 7 days (3+7 IDA12). The remaining patients ($n=73$, 16.6%) received other regimens (other 3+7, $n=24$, cytarabine bolus, $n=24$, other regimens including FLAG, gemtuzumab-ozogamycin with cytarabine CIV, $n=25$)

(Table 1). Most CR/CRi patients (n=396 of 416, 95.2%) received a consolidation therapy based on cytarabine boluses, including high dose (3 g/m²/12h x6, HDAC, n=296, 67.4%) or intermediate dose (1-1.5 g/12h x6) (IDAC, n=100, 22.8%) cytarabine courses. Median number of consolidations was 3 (minimum:1, maximum:7). Forty-six patients (10.5%) received gemtuzumab-ozogamycin (GO) during induction, and a total of 32 (7.3%) during consolidation (n=17 both in induction and consolidation). A total of 5 patients (1.1%) received a tyrosine kinase inhibitor (dasatinib, n=1, midostaurin, n=4) during induction.

We compared the outcomes of patients according to the induction regimen restricting the analysis to patients that received the 4 major inductions regimens without GO (n=337, 76.8%). Of the 8 patients not in CR/CRi after one course of induction, 3 patients (4.3%) received 3+7 IDA12 induction and 4 (4.4%) received 3+7 DNR60 (global p-value=0.03, p=0.32 for time-sequential induction and p=0.03 for 3+7 DNR90, considering 3+7 DNR60 as reference). Early death in the 60 days after diagnosis occurred in 11 patients (3.3%) with 2 (4.9%) in time-sequential induction, 4 (4.2%) in 3+7 DNR60, 3 (2.3%) in 3+7 DNR90 and 2 (2.8%) in ALFA1200 (global p-value=0.76). In univariate analysis, DFS censored at allo-HCT was similar across in the 4 major induction groups (considering 3+7 DNR60 as reference, HR:0.65, 95% CI:0.34-1.24, p=0.19 for time-sequential induction, HR:0.94, 95% CI:0.61-1.43, p=0.75 for 3+7 DNR90 and HR:0.92, 95% CI:0.56-1.52, p=0.73 for 3+7 IDA12). There was no difference in multivariate analysis with age, log-transformed WBC and CBF subtype. There was no significant difference in OS across those four groups (**Supplementary figure 2**). Among patients in first CR/CRi, we analyzed the 361 patients (82.2%) who received cytarabine bolus consolidation courses without GO. 281 (77.8%) received HDAC and 80 (22.2%) received IDAC. Median age was 42 in HDAC group and 65 in the IDAC group (p<0.0001). DFS and OS censored at allo-HCT were not different in both groups in univariate analyses (p=0.2 for DFS and p=0.07 for OS from CR/CRi) and in multivariate analyses accounting for age, log transformed WBC and CBF subtype (HDAC as reference, HR:1.26, 95% CI:0.81-1.98, p=0.31 for DFS and HR:0.90, 95% CI:0.47-1.72, p=0.75 for OS from CR with IDAC) (**Supplementary figure 3**).

During the first induction course, 46 patients (10.5%) received GO with cytarabine continuous infusion (200 mg/m², n=15) or bolus (n=2) or with 3+7 (3+7 DNR60, n=22, 3+7 DNR90, n=7). Patients received a median of 2 GO infusions (3 mg/m²) during the first induction course (minimum 1, maximum 3). The higher rate of sixty-day mortality observed with GO addition (10.9%) compared to no GO addition (3.6%) (p=0.038) did not reach statistical significance in a multivariate logistic regression including age, log transformed WBC at diagnosis and CBF subtype (p=0.059). The addition of GO did not significantly impact DFS censored at allo-HCT with a 4-year DFS of 40.3% (95% CI:0.26-0.62) with GO vs 56.3% (95% CI:0.51-0.62) without (p=0.09) (**Supplementary figure 4A**). OS censored at allo-HCT was not different with 4-year OS of 65.3% (95% CI:0.51-0.84) with GO vs 75.2% (95% CI:0.71-0.80) without GO (p=0.2) (**Supplementary figure 4C**). 117 patients (26.7%) were treated by the same induction backbone with daunorubicine 60 mg/m² 3 days and cytarabine 200 mg/m² 7 days (3+7 DNR60) with (n=22, 18.8%) or without GO (n=95, 81.2%). Patients receiving GO were significantly older (median age: 56 vs 47 years old, p=0.03). There was a trend to a lower DFS censored to allo-HCT in GO-treated patients with 4-year DFS of 29.2% (95% CI:0.13-0.65) with GO vs 54.4% (95% CI:0.44-0.66) without GO (p=0.1 in univariate analysis and HR:1.53, 95% CI:0.75-3.16, p=0.24 in multivariate analysis accounting for age, WBC and CBF subtype) (**Supplementary figure 4B**). OS censored at allo-HCT was similar with a 4-year OS of 79.2% (95% CI:0.62-1.0) with GO vs 76.1% (95% CI:0.67-0.86) without GO (p=0.9) (**Supplementary figure 4D**).

Allogenic hematopoietic cell transplantation in first remission

We analyzed the impact of allo-HCT in the 381 patients younger than 70 reaching CR/CRi after one or two induction courses. Sixteen patients (4.2%) received allo-HCT in first CR/CRi. Median age was 38 compared to 46 in the patients who did not receive allo-HCT (p=0.20). Two (12.5%) were not in CR/CRi after first induction course but obtained CR/CRi after a second induction course. MRD was obtained for 6 of them, with a median of MRD reduction after two cycles in bone marrow of 2.6 log₁₀ (minimum:1.26, maximum:4.53). Considering allo-HCT in first

CR/CRi as a time-dependent variable, DFS was not significantly different (HR:0.61, 95% CI:0.23-1.64, $p=0.33$ in univariate analysis and HR:0.60, 95% CI:0.23-1.61, $p=0.31$ in multivariate analysis accounting for age, log-transformed WBC and CBF subtype). OS from CR was similar with or without allo-HCT in first CR/CRi (reference no allo-HCT, HR:0.91, 95%CI:0.30-2.77, $p=0.86$ in univariate and HR:0.97, 95% CI:0.31-3.06, $p=0.96$ in a similar multivariate model).

Survival after relapse

146 patients (33.3%) experienced a hematological relapse, of whom 125 (85.6%) were treated by intensive salvage chemotherapy. Early relapses were defined as occurring < 12 months from CR/CRi. Two-year OS was 46.0% (95% CI:0.33-0.64) for t(8;21) and 69.3% (95% CI:0.59-0.81) in inv(16)/t(16;16) ($p=0.03$) (**Figure 2A**). In multivariate analysis accounting for early relapse, inv(16)/t(16;16) was significantly associated with an increased OS (HR:0.53, 95% CI:0.30-0.93, $p=0.03$). Death in the 60 days after relapse occurred in 8 (6.4%) of the 125 intensively salvaged patients. On the 146 patients, 77 (52.7%) were transplanted after relapse.

We analyzed the impact of the identification of a molecular relapse before hematological relapse. Of the 125 who received an intensive salvage, 38 (30.4%) had an identified MRD relapse before hematological relapse and did not receive any therapy. There was no difference in OS from salvage therapy in patients with an identified molecular relapse compared to those who had not ($p=0.4$ in univariate analysis and $p=0.52$ in multivariate model accounting for early relapse and CBF subtype). To exclude interaction with the kinetic of relapse, we evaluated the prognosis impact of time from MRD relapse to hematological relapse in patients who experienced hematological relapse ($n=38$). Median time from MRD relapse to hematological relapse was 90 days (minimum:16, maximum:1247) with 60 days for t(8;21) and 98 days for inv(16)/t(16;16) ($p=0.37$). There was no impact of time from MRD relapse to hematological relapse on OS from time of MRD relapse or on OS from time of treatment of relapse adjusted to CBF subtype ($p=0.57$ and $p=0.70$ respectively).

69 patients (15.7%) had a documented MRD relapse (**Supplementary figure 5**). Median MRD at the first point of MRD relapse was 0.08% (minimum:0.002%, maximum:56%) in peripheral blood (PB) and 1.74% (minimum:0.004%, maximum:15%) in bone marrow (BM). Among them, 24 were treated by intensive chemotherapy and/or allo-HCT before hematological relapse. Of the remaining patients, 5 were treated in MRD relapse including 2 after allo-HCT in CR1. Three received hypomethylating agents and 2 GO as single agent, with 3 who had a subsequent relapse. Two patients were not treated and did not relapse with a median follow-up of 1.1 year. 38 patients didn't received treatment and relapsed. Among patients not treated with intensive chemotherapy in MRD relapse (n=45), 41 experienced hematological relapse. We compared patients receiving intensive salvage at the MRD relapse stage (n=24) to patients with a MRD relapse receiving intensive salvage after hematological relapse (n=39). Of patients treated in MRD relapse (n=24), 13 patients died, 5 due to AML progression and 8 due to non-relapse mortality (5 after allo-HCT). In patients treated in hematological relapse (n=39), 13 patients died, 7 due to AML progression and 6 due to non-relapse mortality (3 after allo-HCT). Taking the time of MRD relapse as a start point, there was no difference in OS between patients treated in molecular (2-year OS:58.3%, 95% CI:0.42-0.82) versus hematological relapse (2-year OS 70.5%, 95% CI:0.57-0.88, p=0.2). Taking the time of treatment as a start point led to similar conclusions (2-year OS:58.3%, 95% CI:0.42-0.82 vs 69.1%, 95% CI:0.55-0.86 respectively, p=0.2) (**Figure 2B**). In multivariate analysis accounting for CBF subtype and early relapse, treatment in MRD relapse was not associated with a significant difference in OS from MRD relapse or from start of treatment (considering hematological relapse as reference, HR:1.53, 95%CI:0.68-3.45, p=0.30 and HR:1.71, 95% CI:0.77-3.78, p=0.19 respectively).

Quantification of measurable residual disease

To further study the prognostic role of MRD, we gathered the RetroCBF (n=439) and the CBF2006 cohort (n=198) cohorts. Patients were significantly younger in CBF2006 (median:42, minimum:18, maximum:60) compared to RetroCBF (median:47, minimum:16, maximum:80) and the distribution of induction strategies differed, but the two cohorts were

otherwise comparable (**Table 3**). Notably, DFS and OS were not different between the two cohorts with a non-significant trend to a better DFS and OS in the CBF2006 cohort ($p=0.4$ for DFS and $p=0.1$ for OS) (**Supplementary figure 6**). In multivariate analysis accounting for age, log-transformed WBC and CBF subtypes, there was no difference in terms of DFS and OS (for CBF2006, HR:0.93, 95% CI:0.65-1.35, $p=0.71$ for OS and HR:0.94, 95% CI:0.71-1.24, $p=0.65$ for DFS).

MRD was measured at different timepoints during treatment. 442 (69.4%) patients ($n=217$, 73.8% t(8;21); $n=225$, 65.6% inv(16)/t(16;16)) had at least MRD assessment between the end of induction until the end of consolidation therapy (**Supplementary figure 7**). MRD at the end of the first induction course (MRD1) was available in the bone marrow (BM) for 413 patients (64.8%) and in the peripheral blood (PB) for 291 (45.7%) of the total study population (**Supplementary table 1**).

Fusion transcripts at diagnosis

Overall, 627 samples (BM, $n=394$ and PB, $n=227$) from 443 patients were available at diagnosis. The median result was 324% (minimum:15%, maximum:1096%) and 91% (minimum:17%, maximum:977%) in BM for t(8;21) and inv(16;16) respectively ($p<0.0001$). In PB, the median was 331% (minimum:11%, maximum:3020%) and 91% (minimum:11%, maximum:1023%) for t(8;21) and inv(16)/t(16;16) ($p<0.0001$).

In t(8;21), fusion transcript quantification at diagnosis in BM was correlated with BM blasts percentage ($r=0.18$, $p=0.01$) but not with white blood cell count (WBC), PB blast percentage, platelet counts, lactate dehydrogenase (LDH) level or age. Similarly, in PB, quantification correlated with BM blasts percentage ($r=0.21$, $p=0.03$) but there was no correlation with WBC, PB blast percentage, platelet counts, LDH level or age. In inv(16)/t(16;16), BM quantification was not correlated with WBC, PB or BM blast percentage, platelet counts, LDH level or age. PB quantification was correlated with PB blast percentage ($r=0.40$, $p=0.02$) and inversely correlated with age ($r=-0.25$, $p=0.009$) but not with other variables.

In t(8;21), fusion transcript quantification at diagnosis did not impact OS (BM, $p=0.91$; PB, $p=0.23$) and DFS (BM, $p=0.27$; PB, $p=0.84$) censored to allo-HCT in first CR/CRi. Similarly in inv(16);t(16;16), quantification of fusion transcript at diagnosis did not impact OS (BM, $p=0.16$; PB, $p=0.67$) and DFS (BM, $p=0.76$; PB, $p=0.25$) censored to allo-HCT in first CR/CRi.

MRD kinetics in t(8;21) and inv(16)/t(16;16)

The two genetic subsets of CBF AML displayed distinct MRD kinetics (**Table 4**). MRD quantification in t(8;21) and in inv(16)/t(16;16) were not different in BM at the different timepoints ($p=0.21$, $p=0.26$, $p=0.60$ and $p=0.18$ for MRD1, MRD2, MRD3 and MRD4 respectively). MRD1 quantification was not significantly different between t(8;21) and inv(16)/t(16;16) in PB ($p=0.08$) but for later timepoints, MRD quantification was significantly higher in t(8;21) than in inv(16)/t(16;16) ($p=0.0007$, $p<0.0001$, $p=0.005$ for MRD2, MRD3 and MRD4) (**Figure 3**).

We analyzed the impact of sample origin on MRD quantification. Across all timepoints, 1072 paired PB and BM samples were analyzed. Discordance was found in 320 (29.9%) samples including 10 (0.9%) with PB-only positivity and 310 (28.9%) with BM-only positivity. Considering MRD quantification as a continuous variable PB and BM MRD were significantly correlated ($r=0.88$, $p<0.0001$). The BM/PB correlation in MRD values was looser in inv16 compared to t(8;21) (**Figure 4**). t(8;21) and inv(16)/t(16;16) patients had similar difference between BM and PB at diagnosis (**Table 4**). After induction and after the first two consolidations, difference was higher in inv(16)/t(16;16) than in t(8;21) ($p=0.008$, $p=0.04$ and $p=0.003$ respectively). In fact, PB MRD quantification at MRD2, MRD3 and MRD4 were significantly lower in inv(16)/t(16;16). Median PB MRD2 in PB was 0.001% in inv(16)/t(16;16) vs 0.007% in t(8;21).

Impact of therapies on MRD kinetics

We next analyzed the impact of the four major induction regimens (excluding GO-exposed patients) on MRD kinetics. MRD1 reduction was not different in BM ($p=0.13$) but was different in PB ($p=0.008$) across these four regimens. Median MRD1 reduction in PB was 4.16 log (1.59-5.75) in time-sequential induction and 3.51 log (0.95-6.04) in 3+7 DNR60 ($p=0.001$). However, there was no difference between 3+7 DNR60 and 3+7 DNR90 (3.60 log, 1.08-6.48) ($p=0.63$) (**Supplementary table 2**). We evaluated the decrease of MRD after first consolidation with HDAC or IDAC without GO. There was no difference in term of MRD reduction in BM and in PB ($p=0.77$ and $p=0.30$ respectively).

In the whole population, the addition of GO in induction regimens was associated with a faster MRD reduction in BM (3.66 log, 1.93-5.41 with GO and 3.02 log, 0.14-6.12 without GO, $p=0.001$) but the effect was no significant in PB (4.20, 2.61-5.46 with GO and 3.68, 0.95-6.48 without GO, $p=0.28$) possibly due to the low number of patients with an available MRD. Similarly in patients treated with 3+7 DNR60, MRD reduction in BM decreased more sharply (3.69 log, 2.78-5.29 with GO and 2.96 log, 0.14-6.00 without GO, $p=0.006$) but not in PB (3.99 log, 2.61-4.77 with GO and 3.51 log, 0.95-6.04 without GO, $p=0.72$) (**Supplementary table 3**).

Prognosis impact of fusion transcripts during treatment

We analyzed MRD reduction (MR) after induction (MRD1) or after first consolidation (MRD2). We also evaluated the prognostic impact of MRD quantification or reduction at each time point. We performed a univariate Cox regression to evaluate the prognostic impact of each of these parameters with a Landmark at the time of MRD evaluation. DFS and OS were censored at allo-HCT in first CR/CRi.

Many timepoints were associated with a significant difference in DFS, sometimes converting in a difference in OS (**Table 5**). After induction, higher MRD1 quantification conveys shorter DFS in t(8;21) but not in inv(16)/t16;16 (HR:1.53, 95% CI:1.22-1.92, $p<0.001$ and HR:1.14, 95%

CI:0.89-1.47, $p=0.30$ respectively). Worse OS was also associated with higher BM MRD1 quantification in t(8;21) (HR:1.60, 95% CI:1.16-2.20, $p=0.004$). On the contrary, MRD in peripheral blood after induction was an important marker in inv(16)/t(16;16) and less in t(8;21). Higher MRD quantification in PB after induction was associated with a decreased DFS in t(8;21) and in inv(16)/t(16;16) (HR:1.37, 95% CI:1.09-1.7, $p=0.006$ and HR:1.51, 95% CI:1.19-1.93, $p<0.001$). Worse OS was significantly associated with higher PB MRD1 quantification for inv(16)/t(16;16) (HR:1.51, 95% CI:1.04-2.19, $p=0.03$) but not in t(8;21) (HR:1.09, 95% CI:0.78-1.52, $p=0.60$). To evaluate the differential impact of BM or PB MRD1, we analyze the time-dependent ROC AUC of these markers in patients with both BM and PB available MRD1 ($n=212$ for t(8;21) and $n=209$ for inv(16)/t(16;16)). For t(8;21), PB and BM MRD1 didn't have statistically different time-dependent ROC AUC regarding DFS prediction ($p=0.98$ for 4-y DFS). On the contrary, in inv(16)/t(16;16), PB MRD1 has a stronger impact on DFS prediction with different time-dependent ROC AUC ($p=0.01$ for 4-y DFS). Eventually, at later timepoints (MRD3 and MRD4), quantification of MRD in PB was always associated with reduced DFS and OS in both subtypes. Similarly analysing patients with both available BM and PB MRD at MRD3 ($n=207$) and MRD4 ($n=162$), PB was associated with a higher AUC but that was not statistically significant (AUC:65.9% for PB vs 57.2% for BM at MRD3, $p=0.052$ and AUC:61.6% for PB and 56.8% for BM at MRD4, $p=0.33$).

Regarding MRD reduction, faster MRD reduction in BM after induction was associated with a lower DFS in t(8;21) but not in inv(16)/t(16;16) (HR:0.69, 95% CI:0.55-0.86, $p=0.001$ and HR:0.89, 95% CI:0.67-1.18, $p=0.43$ respectively). On the contrary, higher MRD reduction in PB after induction was significantly associated with improved DFS in t(8;21) and inv(16)/t(16;16) (HR:0.73, 95% CI:0.58-0.92, $p=0.008$ and HR:0.66, 95% CI:0.51-0.85, $p=0.001$ respectively).

We analyze the prognosis impact of MRD quantification and MRD reduction at MRD1. MRD reduction was determined in all patients with available MRD1 except 14 who did not have fusion transcripts quantification at diagnosis (on 413 patients with an available BM MRD1). MRD reduction and MRD quantification were strongly correlated ($r=-0.95$, $p<0.0001$ and $r=-0.95$, $p<0.0001$ for BM MRD in t(8;21) and inv(16)/t(16;16) respectively, $r=-0.96$, $p<0.0001$ and

$r=-0.97$, $p<0.0001$ for PB MRD in $t(8;21)$ and $inv(16)/t(16;16)$ respectively). In BM, AUC of MRD quantification were similar than those of MRD reduction in $t(8;21)$ (regarding 4-y DFS: 65.2% for MRD quantification vs 64.1% for the opposite of MRD reduction, $p=0.57$) and in $inv(16)/t(16;16)$ (regarding 4-y DFS: 52.3% for MRD quantification vs 51.3% for the opposite of MRD reduction, $p=0.63$). Similarly in PB, AUC of MRD quantification were similar than those of MRD reduction in $t(8;21)$ (regarding 4-y DFS: 64.9% for MRD quantification vs 64.7% for the opposite of MRD reduction, $p=0.89$) and in $inv(16)/t(16;16)$ (regarding 4-y DFS: 64.3% for MRD quantification vs 65.1% for the opposite of MRD reduction, $p=0.62$).

In $t(8;21)$, we analyzed the cut-off of 3 log MRD reduction after induction in BM as proposed by the United Kingdom MRC group (16) and after the first consolidation as proposed by the French Intergroup and AMLSG (3,19). Achievement of MR^3 in BM in $t(8;21)$ at MRD1 timepoint was associated with an improved DFS (HR:0.61, 95% CI:0.38-0.95, $p=0.03$) and OS (HR:0.51, 95% CI:0.28-0.91, $p=0.02$) (**Table 6**). In a multivariate analysis with age and log-transformed WBC at diagnosis, MR^3 at MRD1 was significantly associated with improved DFS (HR:0.59, 95% CI:0.38-0.93, $p=0.02$ for DFS and HR:0.51, 95% CI:0.28-0.94, $p=0.03$ for OS). MRD reduction was higher in PB than in BM (median:3.91 vs 3.24 after induction, $p<0.0001$, and 4.78 vs 3.69 after first consolidation, $p<0.0001$). We used the cut-off of $MR^{3.5}$ and MR^4 for analysis of PB MR. $MR^{3.5}$ after induction and MR^4 after first consolidation were associated with a lower DFS (HR:0.62, 95% CI:0.36-1.09, $p=0.10$ and HR:0.48, 95% CI:0.28-0.82, $p=0.008$). This was not significant in a similar multivariate analysis for $MR^{3.5}$ after induction (HR:0.77, 95% CI:0.43-1.38, $p=0.39$) but it was significant for MR^4 after first consolidation (HR:0.49, 95% CI:0.28-0.85, $p=0.01$ for DFS). After induction, the achievement of less than 10^{-3} of MRD in BM (major molecular response, MMR) was associated with an increased DFS and OS (HR:0.36, 95% CI:0.22-0.59, $p<0.0001$ for DFS and HR:0.41, 95% CI:0.21-0.81, $p=0.009$) (**Figure 5A**). Obtention of MMR in BM was also associated with a significant effect in a similar multivariate model (HR:0.42, 95% CI:0.25-0.69, $p=0.0007$ for DFS and HR:0.47, 95% CI:0.24-0.92, $p=0.03$). 4-year DFS censored to allo-HCT with a Landmark at the time of MRD1 was 46.6% (95% CI:0.38-0.57) in patients not in MMR in BM and 74.4% (95% CI:0.66-0.85) in patients in MMR in BM. Obtention of MMR in PB was not associated with a prognosis impact ($p=0.07$ for DFS). In

univariate cox model, achievement of MMR in BM at MRD1 had the highest C-index (58.8% for MMR in BM, 55.9% for MMR in PB, 54.6% for MR³ in BM, 55.4% for MR^{3.5}).

In inv(16)/t(16;16), achievement of MR³ in BM after induction or after first consolidation was not associated with a difference in DFS (HR:0.70, 95% CI:0.43-1.10, p=0.12 and HR:0.77, 95% CI:0.46-1.28, p=0.31 respectively). Similarly, PB MR was considerably higher compared to BM (median:3.58 vs 2.87 after induction, p<0.0001, median:4.73 vs 3.32 after first consolidation, p<0.0001). Using similar cut-offs in PB, obtention of MR^{3.5} after induction was associated with a significant difference in DFS and OS (HR:0.48, 95% CI:0.29-0.82, p=0.007 for DFS and HR:0.22, 95% CI:0.08-0.61, p=0.003). This was also significant in a multivariate model accounting for age and log-transformed WBC (HR:0.48, 95% CI:0.29-0.82, p=0.007 for DFS and HR:0.22, 95% CI:0.08-0.61, p=0.003 for OS). MR⁴ after first consolidation was also significantly associated with DFS (HR:0.40, 95% CI:0.26-0.68, p=0.0009 in univariate and HR:0.36, 95% CI:0.21-0.63, p=0.0003 in multivariate analysis). Using direct quantification, achievement of MMR in PB after induction was associated with an increased DFS and OS (HR:0.37, 95% CI:0.22-0.63, p=0.0003 for DFS and HR:0.32, 95% CI:0.14-0.69, p=0.004 for OS). The impact was also significant in a similar multivariate analysis (HR:0.43, 95% CI:0.24-0.75, p=0.003 for DFS and HR:0.36, 95% CI:0.16-0.85, p=0.02 for OS) (**Figure 5B**). 4-year DFS censored to allo-HCT with a Landmark at the time of MRD1 was 29.5% (95% CI:0.17-0.51) in patients not in MMR in PB and 61.9% (95% CI:0.53-0.72) in patients in MMR in PB. Bone marrow MMR was obtained in 94 patients, without prognostic impact (p=0.17 for DFS). In univariate cox model, achievement of MMR and MR^{3.5} in PB at MRD1 had the highest C-index (55.2% for MMR in BM, 59.5% for MMR in PB, 53.7% for MR³ in BM, 60.1% for MR^{3.5}).

End of treatment MRD

We analyzed the MRD after last consolidation in patients with BM and PB results at the same time point (n=165). In BM, median result was 0.02% (minimum:0.001%, maximum:1.07%) for t(8;21) and 0.01% (minimum:0.001%, maximum:87%) for inv(16)/t(16;16) (p=0.50). In PB,

median MRD was 0.001% (minimum:0.001%, maximum:12%) for t(8;21) and 0.001% (minimum:0.001%, maximum:22%) for inv(16)/t(16;16) ($p=0.01$). In 40 patients (24.2%), MRD results were negative in PB and BM (PB-/BM-) (ie: inferior or equal to 0.001%). In 73 patients (44.2%), MRD results were negative in peripheral blood but superior in bone marrow (PB-/BM+). 52 patients (31.5%) had a peripheral blood MRD superior to 0.001% (PB+).

In the 165 patients with available MRD after last consolidation, we set up a landmark at the time of MRD assessment, corresponding to a median 5.8 months from diagnosis. From this landmark, 2-y DFS censored at allo-HCT was 67.1% (95% CI:0.58-0.77) in t(8;21) and 63.2% (95% CI:0.52-0.77) in inv(16)/t(16;16). There was no difference in patients with PB-/BM+ compared to patients with PB-/BM-. In t(8;21) patients, 2-year DFS was 75.8% (95% CI:0.63-0.91) in PB-/BM+ vs 79.2% (95% CI:0.64-0.97) in PB-/BM- ($p=0.6$) (**Figure 6A**). In inv(16)/t(16;16) patients, 2-year DFS was 71.8% (95% CI:0.58-0.89) in PB-/BM+ vs 68.8% (95% CI:0.49-0.96) in PB-/BM- ($p=0.8$) (**Figure 6B**). On the contrary, patients with persistence of PB MRD after last consolidation had a 2-year DFS of 50.0% (95% CI:0.36-0.69) in t(8;21) and 22.9% (95% CI:0.07-0.77) in inv(16)/t(16;16). DFS was significantly decreased compared to patients with negative PB MRD with or without positive BM MRD ($p=0.001$ for t(8;21) and $p=0.0006$ for inv(16)/t(16;16) in univariate analysis).

Comparing all patients with an available MRD in PB after the last consolidation ($n=245$), PB MRD positivity was associated with a reduced DFS in univariate and in multivariate analysis accounting for age and WBC (HR:2.55, 95% CI:1.41-4.62, $p=0.002$ for t(8;21) and HR:3.77, 95% CI:2.00-7.12, $p<0.0001$ for inv(16)/t(16;16)). It was also associated with a decreased OS censored to allo-HCT in similar multivariate analyses in t(8;21) and in inv(16)/t(16;16) (HR:2.55, 95% CI:1.41-4.62, $p=0.002$ and HR:3.15, 95% CI:1.11-8.88, $p=0.03$).

DISCUSSION

In this study, we reported the results of the longitudinal MRD monitoring in two cohorts totaling 637 patients with 442 with a MRD follow-up. Using RT-qPCR of fusion transcripts RUNX1-RUNX1T1 and CBFβ-MYH11 of t(8;21) and inv(16)/t(16;16) AML, we identified the prognostic impact of MRD absolute quantification and kinetics from diagnosis. We defined clinically relevant MRD timepoints during and after therapy that allowed for the identification of patients with higher risk of relapse.

The RetroCBF cohort confirmed in a real life setting the results of standard chemotherapy regimens without allo-HCT first line with a relatively favorable overall survival of 75.4% in t(8;21) and 73.2% in inv(16)/t(16;16). Despite a relapse incidence of 37 to 47%, salvage chemotherapy achieved CR/CRi in a large majority of patients with limited toxicity, allowing 55% of patients to proceed to allo-HCT in second remission. Though patients were treated with different therapeutic regimens in first line, there was no difference in term of DFS or OS according to induction course regimen or dose intensity of cytarabine consolidation courses. The small differences notable in MRD kinetics after induction between the 4 main induction regimens did not translate into survival differences, suggesting that modulation of treatment intensity will not suffice to overcome the poorer outcome of patients with MRD persistence, where addition of novel agents could alternatively be considered. The number of patients receiving allo-HCT in first CR/CRi was too small to discern any meaningful benefit in selected patient populations with MRD persistence, compared to consolidation chemotherapy alone.

Several studies have explored risk stratification of t(8;21) according to MRD kinetics (3,15,16,19,20). As previously reported by the AMLSG group, MRD quantification in BM after induction was strongly associated with relapse with a more limited impact after first consolidation (16). We confirmed the cutoff of BM MR³ after induction proposed by the AMLSG group and the NCRI in the AML15 MRC trial. However, the prognosis impact of MR³ after consolidation was not found in this whole cohort. Absolute quantification of MRD after induction using a 10⁻³ cut-off was also strongly associated with DFS and OS and identifies

56.2% of patients with a high risk of relapse. Log-reduction might introduce bias due to calculation using the maximum of BM or PB fusion transcript quantification at diagnosis. In real life settings, both are not always available for each patient. Without need of calculation from MRD quantification at diagnosis, obtention of MMR after induction had a similar prognostic impact with a high C-index. At the end of treatment, negative MRD in PB was associated with reduced relapse risk, as reported by AMLSG and MLL groups and by the French intergroup (15,19,20). The study of discrepancy between PB and BM MRD has only been reported so far in the CBF2006 trial on a limited number of patients. Here we added patients to report 41 patients with a positive BM MRD and negative PB BM and confirmed the absence of prognostic impact of isolated positive BM MRD. Whether this represents persistence of dormant leukemic cells controlled by the patient's immune system or more likely of clonal long-lived mast cells is an open question.

For $inv(16)/t(16;16)$, we precisely described the kinetics of MRD in the large cohort for the first time (3,96,111–113). MRD in $inv(16)/t(16;16)$ has been described by the NCRI in the AML15 MRC trial, the AMLSG and the French intergroup in the CBF2006 trial 10 years ago (3,16,112). A recent Chinese study also reported the results of 58 patients (114). However no large cohort has recently described the kinetics and prognosis impact of MRD in this genetic group. Compared to $t(8;21)$, this subtype displayed faster reduction of PB MRD. Here we confirmed the strong prognostic impact of MRD in 226 patients with $inv(16)/t(16;16)$ AML and at least one available MRD result during first line treatment. Specifically, early MRD quantification and reduction in the PB was predictive of DFS and OS. Similarly to $t(8;21)$, absolute quantification of MRD in PB after induction was also strongly associated with DFS and OS and clearly identify 26.1% of patients with a higher risk of relapse. This has also been reported by the NCRI MRC group (16) with a lower cut-off (10^{-4}). We used a cut-off of 10^{-3} (MMR) that had been reported by others groups during consolidation that allows a better identification of the high risk population (96,114). MRD reduction in PB gave similar results to absolute quantification but MRD reduction in BM was not prognostic in this group as previously reported by the AMLSG group (112). Similarly to what has been described in $t(8;21)$ but never in $inv(16)/t(16;16)$, persistence of MRD in BM after the completion of therapy was

not associated with a different risk of relapse if PB MRD is negative. On the contrary, MRD positivity in PB after completion of therapy was strongly associated with lower DFS.

RetroCBF is a retrospective cohort with heterogeneous treatments strategies. Induction regimens are especially different, and choice between them are associated with baseline characteristics of patients, period of diagnosis and centers' practice, introducing potential bias. Moreover, compared to prospective trials, this cohort has included older patients and patients with comorbidities or a recent treatment for a cancer. General condition of patients included was only discriminated by the fact that physician evaluated them as fit for intensive induction. We also reported a high mortality during induction especially in $\text{inv}(16)/\text{t}(16;16)$. Contrary to prospective trials, we included patients with severe complications at diagnosis due to hyperleukocytosis. These patients need an urgent start of chemotherapy and cannot wait to be included in prospective trials. Concerning MRD, we gathered this cohort with the CBF2006 patients to have to evaluated kinetics. We re-analyzed the MRD data that had already been published in two articles (3,15). This study also lacks molecular data at diagnosis. DNA at diagnosis was not available for all patients and analysis of NGS data has not been realized at the time of the publication. Eventually, MRD follow-up was realized according to physician practice. Time of sample from chemotherapy and realization in PB and BM varied in the different centers and period of treatment. We selected the patients that had available MRD data at each timepoint in the whole cohort with around two thirds of patients followed. We also used a Landmark at the time of the MRD sample to estimate the survival at the time of this information but there was a significant heterogeneity of MRD times of evaluation.

MRD monitoring in CBF AML discriminates patients with distinct risks of relapse. Post-induction MRD evaluates early treatment response with an impact on DFS and OS. During consolidation, PB MRD monitoring is strongly associated with DFS. MRD reduction is associated with prognosis after induction in BM for $\text{t}(8;21)$ and in PB for $\text{inv}(16)/\text{t}(16;16)$. However simple quantification after induction gives similar results using a simple cut-off of 0.1% (MMR). Patients not reaching MMR after induction in BM for $\text{t}(8;21)$ and in PB in $\text{inv}(16)/\text{t}(16;16)$ have a 4-year DFS of roughly 30-45%. Adaptation of therapy needs to be

evaluated in patients with a high relapse risk. Allo-HCT might be a relevant therapeutic proposition in this setting, even without prospective randomized data supporting this approach (114). Others maintenance treatments might need to be tested in this setting with targeted therapy or immunotherapy.

TABLES

Table 1. Baseline characteristics of the RétroCBF cohort (n=439)

Characteristics	N or median	% or range
Demographics		
Age, years	48	18-80
Female	222	50.6
Therapy related	48	11.0
ECOG PS > 1	61	15.9
AML at diagnosis		
CNS involvement	18	4.1
Hemoglobin, g/dL	8.7	2.2-16.6
Platelets count, 10 ⁹ /L	38	3-406
White blood cell count (WBC), 10 ⁹ /L	13.7	0.6-393.0
Lactate dehydrogenase (LDH), UI/L	690	134-11142
Blood blasts, %	38	0-98
Bone marrow blasts, %	57	0-97
CBF type		
t(8;21); <i>RUNX1::RUNX1T1</i>	198	45.1
inv(16)/t(16 ;16); <i>CBFB::MYH11</i>	241	54.9
Induction course		
CBF2006 time-sequential induction	41	9.3
7+3 daunorubicine 60 mg/m2 and cytarabine 200 mg/m2	117	26.7
7+3 daunorubicine 80-90 mg/m2 and cytarabine 200 mg/m2	136	31.0
7+3 idarubicine 12 mg/m2 and cytarabine 200 mg/m2	72	16.4
Cytarabine bolus intermediate or high dose	24	5.5
Others 7+3	24	5.5
Others (FLAG, cytarabine with gemtuzumab-ozogamycin...)	25	5.7
Addition of gemtuzumab ozogamycin	46	10.5
Addition of tyrosine kinase inhibitor	5	1.1
Consolidation courses		
Consolidation with chemotherapy (HDAC, IDAC...)	415	94.5
Cytarabine bolus high dose	296	67.4
Cytarabine bolus intermediate dose	100	22.8
Cytarabine low dose with or without anthracyclines	17	3.9
Hypomethylating agents	2	0.5
Addition of gemtuzumab ozogamycin	32	7.3
Hematopoietic cell transplantation in CR1		
Allogenic	16	3.6
Autologous	3	0.8

Table 2. Association of genetic subtype and baseline characteristics in the RétroCBF cohort (n=439)

Characteristics	t(8;21) (n=198)		inv(16)/t(16;16) (n=241)		p-value
	Number or median	% or range	Number or median	% or range	
Presentation					
Female	100	50.5	122	50.6	1
Age, years	46	18-80	50	18-76	0.09
Therapy related	21	10.6	27	11.2	0.88
CNS involvement	7	3.5	11	4.6	0.64
Hemoglobin, g/dL	8.5	2.2-15.0	9.1	3.3-16.6	0.026
Platelets count, 10 ⁹ /L	34	4-406	42	3-300	0.15
WBC, 10 ⁹ /L	9.0	0.6-393.0	26.0	0.8-326.0	<0.0001
LDH, UI/L	690	150-10483	689	134-11142	0.51
Karyotype					
No other abnormality	64	38.6	119	57.2	0.0002
Loss of Y	36	21.7	1	0.5	<0.0001
Loss of X	26	15.7	3	1.4	<0.0001
Trisomy 4	7	4.2	0	0	0.003
Trisomy 8	10	6.0	35	16.8	0.001
Trisomy 21	0	0	13	6.2	0.0008
Trisomy 22	1	0.6	29	13.9	<0.0001
At least one trisomy	20	12.0	63	30.3	<0.0001
del9q	19	11.4	0	0	<0.0001
del7q or abn7q	3	1.8	9	4.3	0.24
Absence of complete karyotype	31	15.7	33	13.7	0.59

Table 3. Comparison of baseline characteristics and treatment received in the RétroCBF and the CBF2006 cohorts.

Characteristics	RétroCBF (n=439)		CBF2006 (n=198)		p-value
	Number, median or estimate	%, range or 95% CI	Number, median or estimate	%, range or 95% CI	
Demographics					
Age, years	47	18-80	42	18-60	<0.0001
Female	222	50.6	92	46.5	0.35
Therapy related	48	10.9	12	6.1	0.06
AML at diagnosis					
White blood cell count (WBC), 109/L	13.6	0.6-393.0	14.9	0.72-254.0	0.52
Bone marrow blasts, %	57	0-97	54	9-98	0.12
CBF type					
RUNX1-RUNX1T1	198	45.1	96	48.5	0.44
Induction course					
CBF2006 time-sequential induction	41	9.3	100	50.5	<0.0001
7+3 daunorubicine 60 mg/m2 and cytarabine 200 mg/m2	117	26.7	98	49.5	<0.0001
Others	281	64.0	0	0	<0.0001
Addition of gemtuzumab ozogamycin	46	10.5	0	0	<0.0001
Hematopoietic cell transplantation in first CR/CRi					
Allogenic	16	3.6	12	6.1	0.21
Autologous	3	0.8	0	0	0.55
Response to treatment					
CR/CRi	416	94.8	196	99.0	0.66
4-year disease-free survival	0.55	0.51-0.61	0.61	0.54-0.68	0.4
4-year overall survival	0.74	0.70-0.79	0.81	0.75-0.86	0.1

Table 4. Quantification and difference between peripheral blood and bone marrow RT-qPCR on fusion transcripts according to the genetic subtype.

Results are presented with median with minimum and maximum.

	Bone marrow MRD		
	t(8;21)	inv(16)/t(16;16)	p-value
Diagnosis	0.51 (-0.82, 1.04)	-0.04 (-0.77, 0.99)	<0.0001
MRD1	-2.76 (-5.00, 0.50)	-2.89 (-5.00, -0.45)	0.21
MRD2	-3.16 (-5.00, -1.00)	-3.22 (-5.0, -0.51)	0.26
MRD3	-3.44 (-5.00, -0.82)	-3.41 (-5.0, -0.06)	0.60
MRD4	-3.68 (-5.00, 0.03)	-3.98 (-5.00, -1.96)	0.18
	Peripheral blood MRD		
	t(8;21)	inv(16)/t(16;16)	p-value
Diagnosis	0.52 (-0.96, 1.48)	-0.04 (-0.96, 1.01)	<0.0001
MRD1	-3.41 (-5.00, -0.57)	-3.52 (-5.00, -1.08)	0.08
MRD2	-4.13 (-5.00, -1.50)	-5.00 (-5.00, -1.73)	0.0007
MRD3	-5.00 (-5.00, -0.59)	-5.00 (-5.00, -1.62)	<0.0001
MRD4	-5.00 (-5.00, -0.92)	-5.00 (-5.00, -0.28)	0.005
	Difference between BM and PB MRD		
	t(8;21)	inv(16)/t(16;16)	p-value
Diagnosis	-0.01 (-1.26, 1.12)	0.02 (-0.39, 0.71)	0.43
MRD1	0.30 (-0.96, 2.76)	0.65 (-1.40, 2.83)	0.008
MRD2	0.76 (-1.48, 4.00)	1.10 (-0.55, 2.78)	0.04
MRD3	0.58 (-1.57, 2.70)	1.30 (-0.52, 2.93)	0.003
MRD4	1.00 (-1.70, 2.95)	0.93 (-0.44, 3.04)	0.76
	Log-reduction from diagnosis		
	t(8;21)	inv(16)/t(16;16)	p-value
BM MRD1	3.24 (0.14-6.12)	2.87 (0.23-5.26)	<0.0001
PB MRD1	3.91 (0.95-6.48)	3.58 (0.96-5.46)	0.09
BM MRD2	3.69 (1.26-6.12)	3.32 (0.29-5.99)	0.0002
PB MRD2	4.78 (2.11-6.48)	4.73 (1.95-6.01)	0.02

Table 5. Univariate survival analysis of the prognosis impact of MRD results and MRD reduction on OS and DFS censored to allo-HCT

MRD results	OS				DFS			
	t(8;21)		inv(16)/t(16;16)		t(8;21)		inv(16)/t(16;16)	
	HR (95% CI)	P-value						
Log-reduction								
Bone marrow								
MRD1	0.65 (0.47-0.89)	0.006	0.75 (0.46-1.22)	0.24	0.69 (0.55-0.86)	0.001	0.89 (0.67-1.18)	0.43
MRD2	0.97 (0.68-1.39)	0.88	1.14 (0.75-1.73)	0.55	0.83 (0.64-1.08)	0.17	0.99 (0.76-1.30)	0.94
Peripheral blood								
MRD1	0.86 (0.61-1.20)	0.38	0.61 (0.41-0.92)	0.02	0.73 (0.58-0.92)	0.008	0.66 (0.51-0.85)	0.001
MRD2	0.71 (0.49-1.02)	0.07	0.76 (0.45-1.31)	0.33	0.68 (0.53-0.87)	0.002	0.57 (0.41-0.79)	0.0008
Quantification								
Bone marrow								
MRD1	1.60 (1.16-2.20)	0.004	1.14 (0.76-1.70)	0.53	1.53 (1.22-1.92)	<0.001	1.14 (0.89-1.47)	0.30
MRD2	1.07 (0.75-1.54)	0.70	1.01 (0.69-1.48)	0.96	1.24 (0.95-1.61)	0.11	1.10 (0.85-1.42)	0.46
MRD3	1.62 (1.10-2.37)	0.01	1.60 (0.99-2.60)	0.06	1.34 (1.02-1.77)	0.04	1.63 (1.20-2.21)	0.002
MRD4	1.37 (0.79-2.38)	0.27	1.23 (0.72-2.10)	0.45	1.25 (0.89-1.75)	0.19	1.16 (0.82-1.64)	0.39
Peripheral blood								
MRD1	1.09 (0.78-1.52)	0.60	1.51 (1.04-2.19)	0.03	1.37 (1.09-1.72)	0.006	1.51 (1.19-1.92)	<0.001
MRD2	1.40 (0.97-2.02)	0.07	1.11 (0.65-1.90)	0.70	1.53 (1.19-1.96)	<0.001	1.66 (1.24-2.24)	<0.001
MRD3	2.08 (1.49-2.90)	<0.001	2.23 (1.37-3.63)	0.001	2.27 (1.72-2.99)	<0.001	2.12 (1.52-2.97)	<0.001
MRD4	1.99 (1.24-3.22)	0.005	3.32 (1.84-5.98)	<0.001	1.86 (1.30-2.68)	<0.001	3.00 (1.93-4.65)	<0.001

Table 6. Univariate analysis of the prognosis impact of MRD reduction and MRD quantification after induction and consolidation 1 on OS from CR/CRi and DFS censored to allo-HCT

MRD results	t(8;21)			
	OS		DFS	
	HR (95% CI)	p-value	HR (95% CI)	p-value
MRD reduction in bone marrow				
MR3 in MRD1	0.51 (0.28-0.91)	0.02	0.61 (0.38-0.95)	0.03
MR3 in MRD2	0.95 (0.39-2.29)	0.90	1.04 (0.50-1.84)	0.90
MRD reduction in peripheral blood				
MR3.5 in MRD1	0.92 (0.41-2.04)	0.83	0.62 (0.36-1.09)	0.10
MR4 in MRD2	0.57 (0.27-1.23)	0.15	0.48 (0.28-0.82)	0.008
MRD quantification at MRD1				
MMR in BM	0.41 (0.21-0.81)	0.009	0.36 (0.22-0.59)	<0.0001
MMR in PB	1.00 (0.44-2.26)	0.99	0.60 (0.35-1.05)	0.07
MRD results	inv(16)/t(16;16)			
	OS		DFS	
	HR (95% CI)	p-value	HR (95% CI)	p-value
MRD reduction in bone marrow				
MR3 in MRD1	0.52 (0.24-1.15)	0.11	0.70 (0.43-1.10)	0.12
MR3 in MRD2	0.93 (0.42-2.07)	0.85	0.77 (0.46-1.28)	0.31
MRD reduction in peripheral blood				
MR3.5 in MRD1	0.22 (0.08-0.61)	0.003	0.48 (0.29-0.82)	0.007
MR4 in MRD2	0.73 (0.29-1.81)	0.50	0.40 (0.23-0.68)	0.0009
MRD quantification at MRD1				
MMR in BM	0.78 (0.40-1.52)	0.46	0.74 (0.48-1.14)	0.17
MMR in PB	0.32 (0.14-0.69)	0.004	0.37 (0.22-0.63)	0.0003

FIGURES

Figure 1. Prognosis in t(8;21) and inv(16)/t(16;16)

A. Disease free survival B. Cumulative incidence of relapse and non-relapse mortality (as competing risks) in 416 patients achieving CR/CRi after one or two induction courses according to the genetic subtype in the RetroCBF cohort. C. Overall survival according to the genetic subtype in the RetroCBF cohort (n=439).

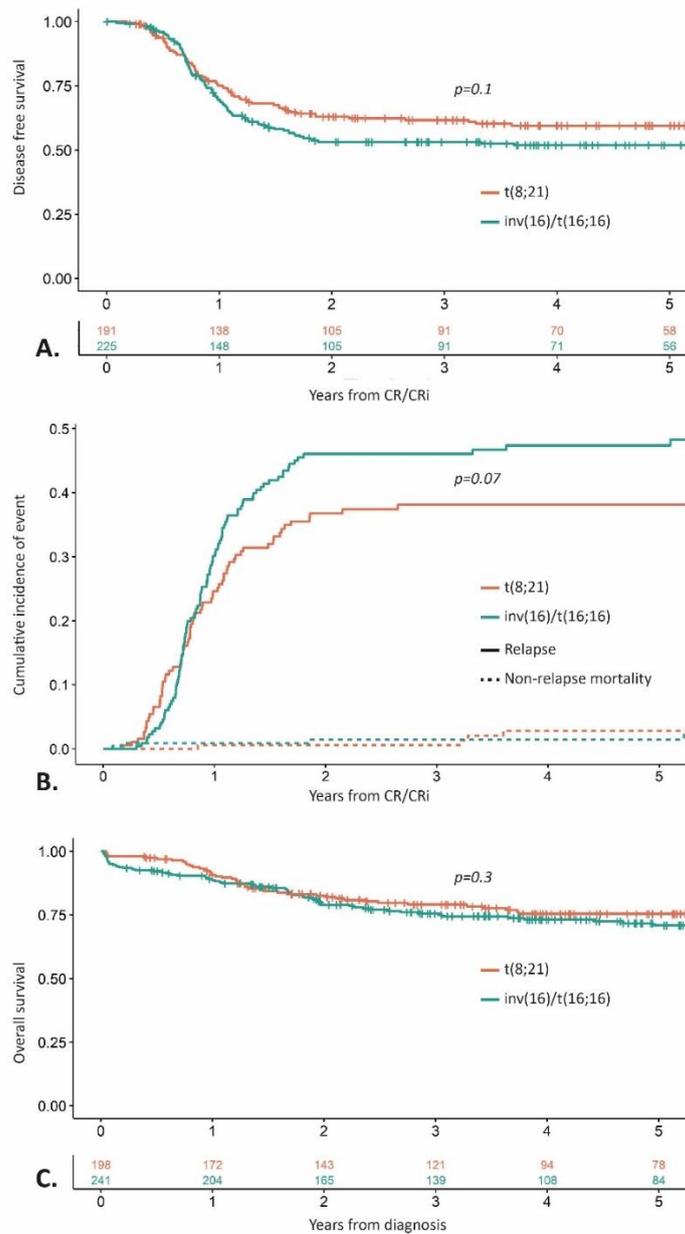


Figure 2. Survival after relapse.

A. Overall survival after hematological relapse in patients treated with intensive chemotherapy according to the genetic subtype in the RétroCBF cohort (n=125). B. Overall survival from start of second line treatment in patients with MRD relapse treated by intensive chemotherapy and/or allo-HCT treated before cytologic relapse or after cytologic relapse in the RétroCBF cohort (n=63).

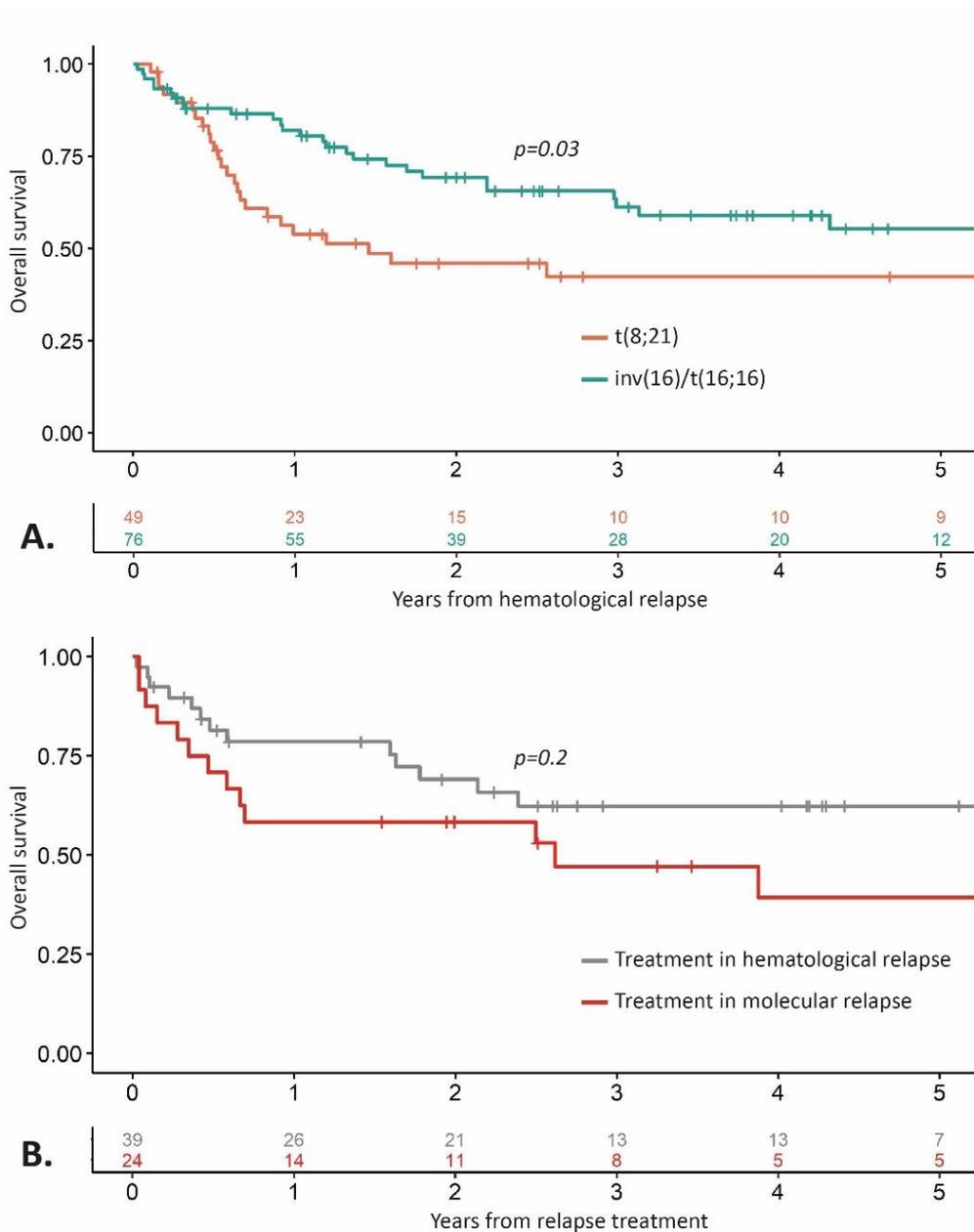


Figure 3. Measurable residual disease kinetics

Measurable residual disease quantification at the different timepoints according to the genetic subtype A. in bone marrow B. in peripheral blood.

The x axis represents the MRD sample time points. The y axis represents the median transcript ratio in samples. Y axis is presented as the \log_{10} of the result. Bold lines represent polynomial regression lines using the LOESS method and shaded areas, 95% CI of the LOESS estimates.

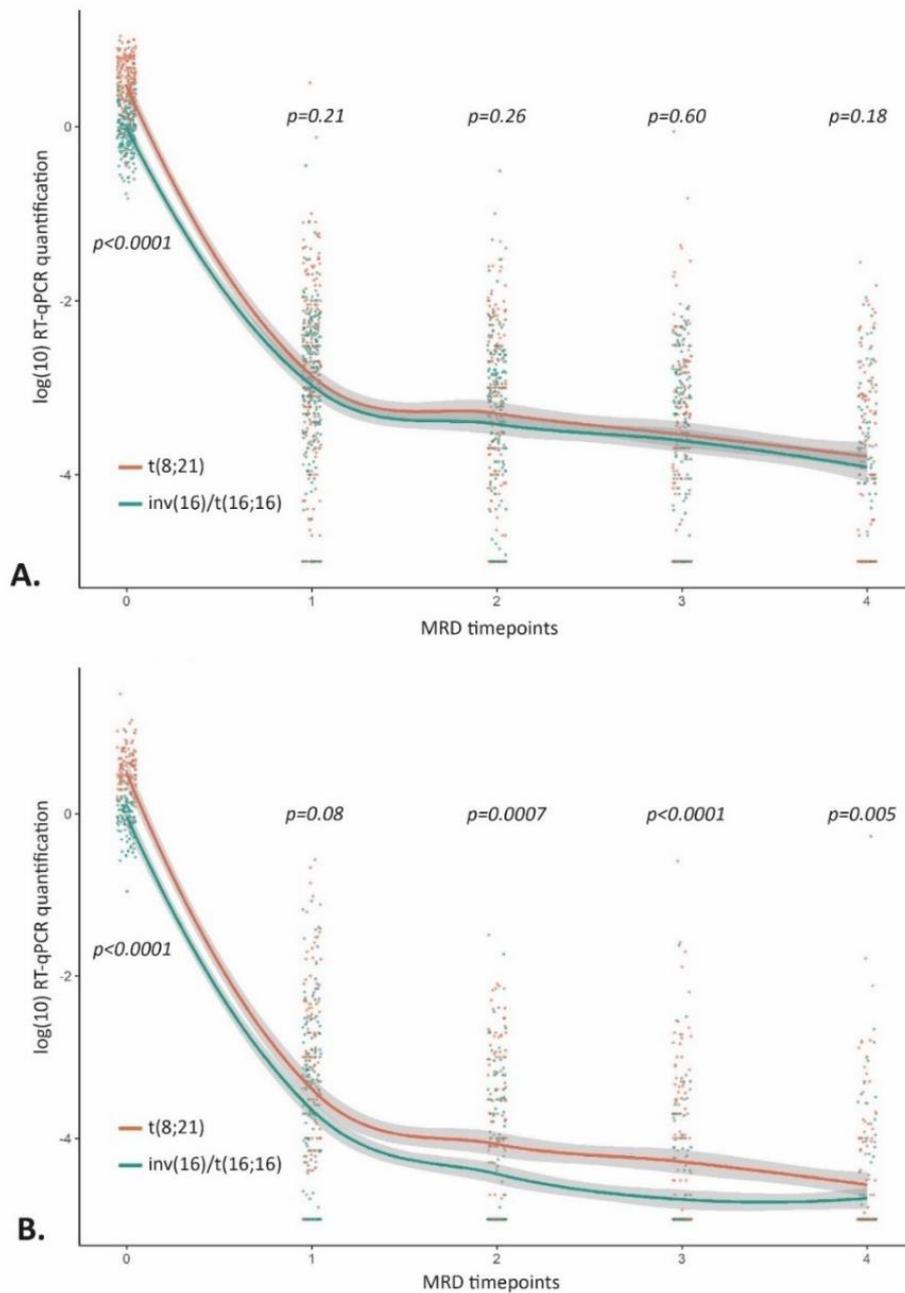


Figure 4. Agreement between bone marrow and peripheral blood MRD

Bland-Altman plot of measurable residual disease according to the origin of the sample and the genetic subtype.

The x axis represents average of the \log_{10} transformation of the transcript ratio in bone marrow and peripheral blood. The y axis represents difference of the \log_{10} transformation of the transcript ratio in bone marrow and peripheral blood. Bold colored lines represent polynomial regression lines using the LOESS method and shaded areas, 95% CI of the LOESS estimates. Black line represent the median difference and dotted black lines the 95% CI.

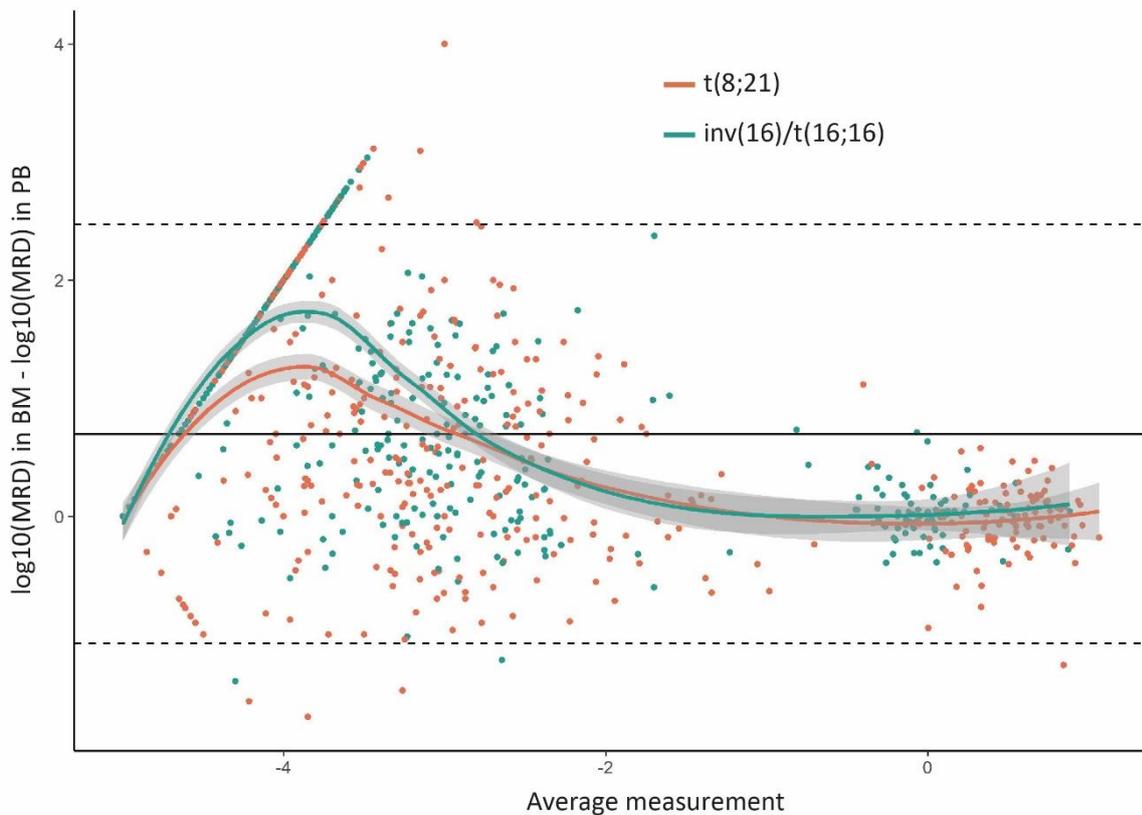


Figure 5. Impact of major molecular response on CBF AML

A. Disease free survival and overall survival with a Landmark at the time of MRD1 censored to allogenic hematopoietic stem cell transplantation in t(8;21) according to obtention of MRD $\leq 10^{-3}$ in bone marrow. B. Disease free survival and overall survival with a Landmark at the time of MRD1 censored to allogenic hematopoietic stem cell transplantation in inv(16)/t(16;16) according to obtention of MRD $\leq 10^{-3}$ in peripheral blood.

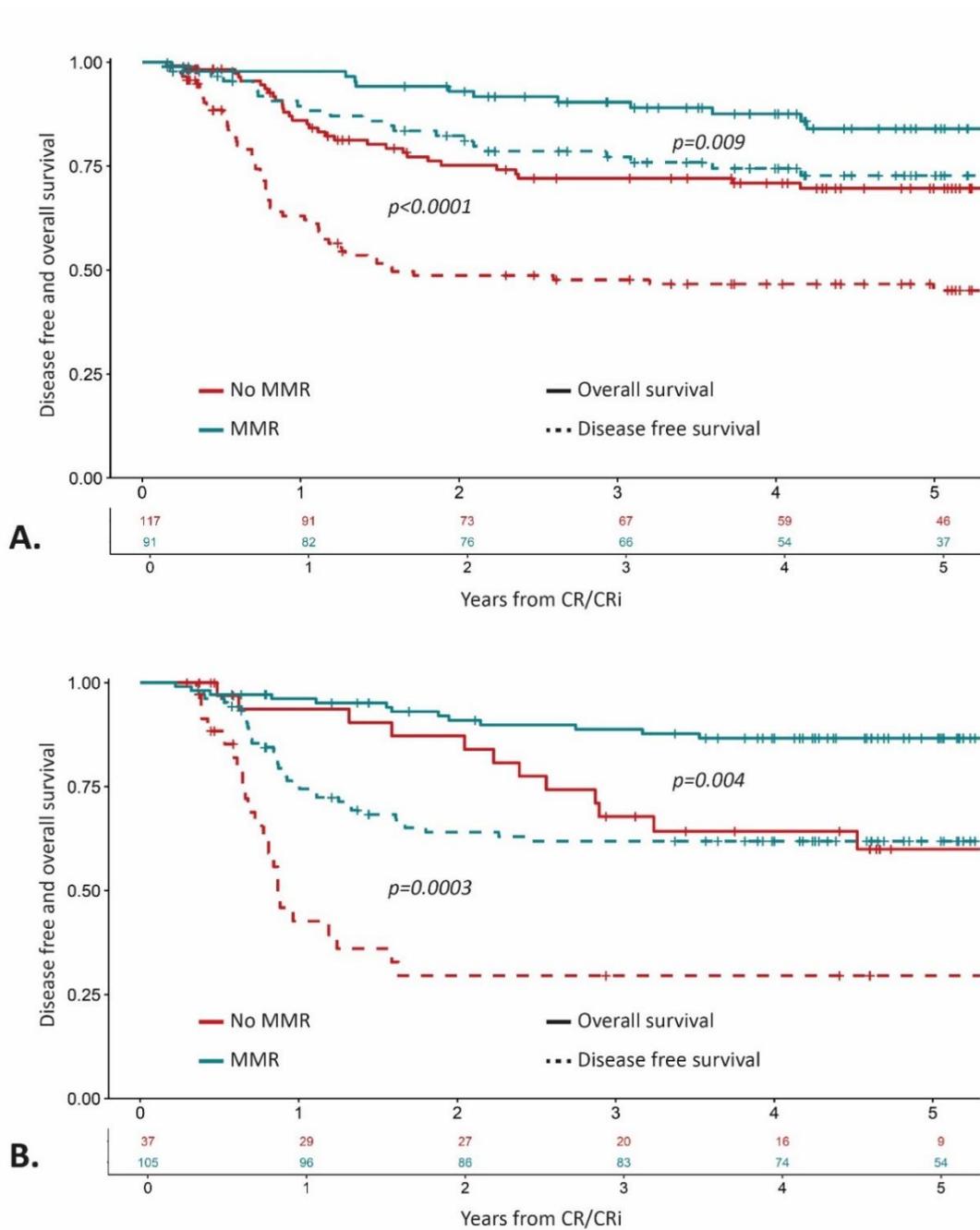
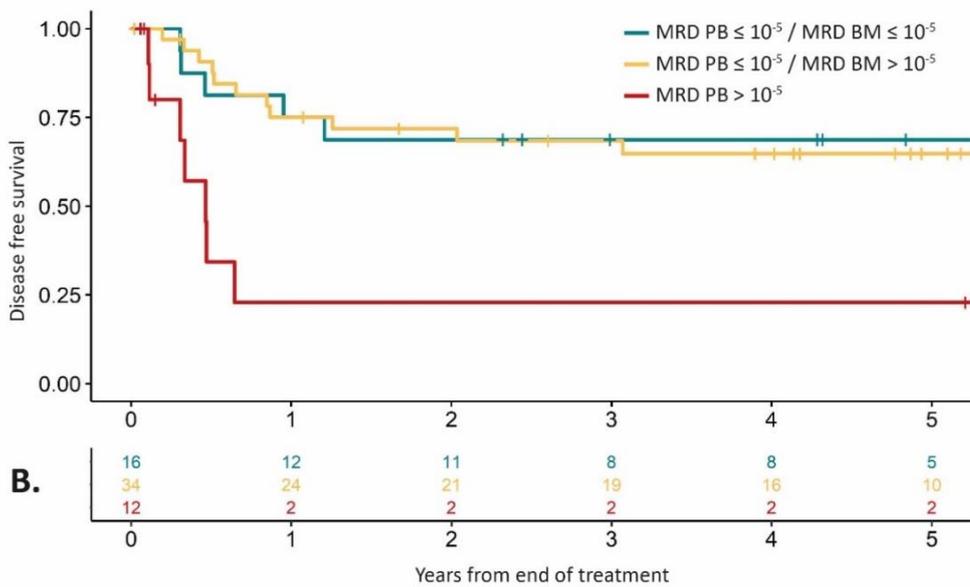
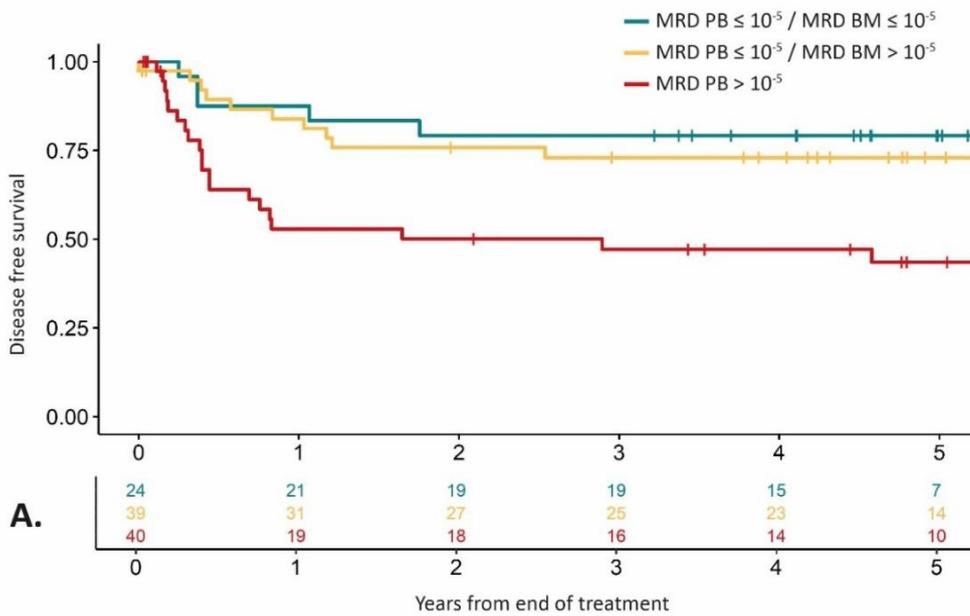


Figure 6. Impact of end of treatment MRD on DFS.

A. Disease-free survival with a Landmark at the time of the MRD sample censored to allogenic hematopoietic cell transplantation according to bone marrow and peripheral blood measurable residual disease results after last consolidation according in t(8;21) (n=105) B. in inv(16)/t(16;16) (n=63).

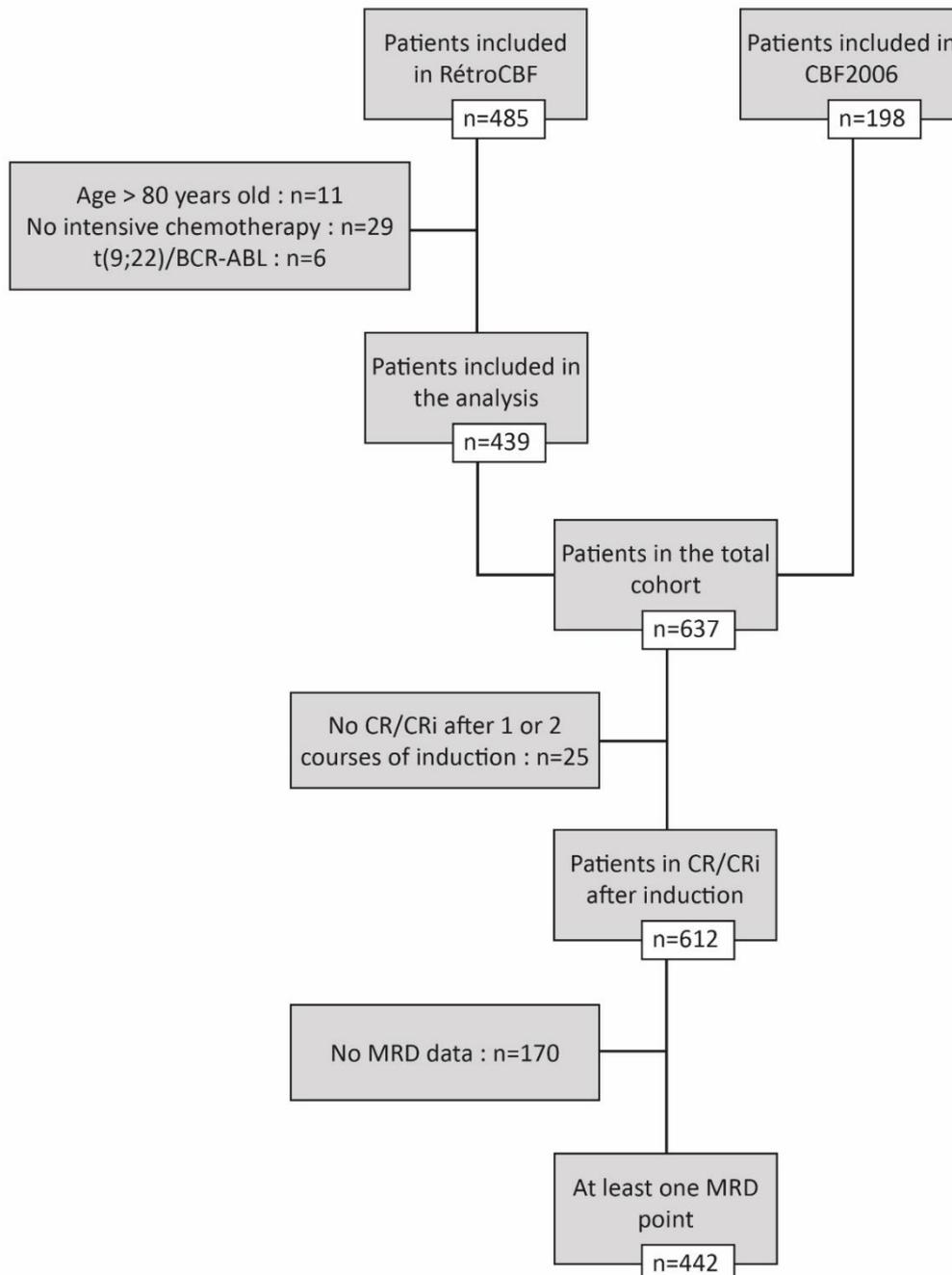
Patients were included in this analysis if they had an available result of MRD after last consolidation both in peripheral blood and in bone marrow.



SUPPLEMENTARY

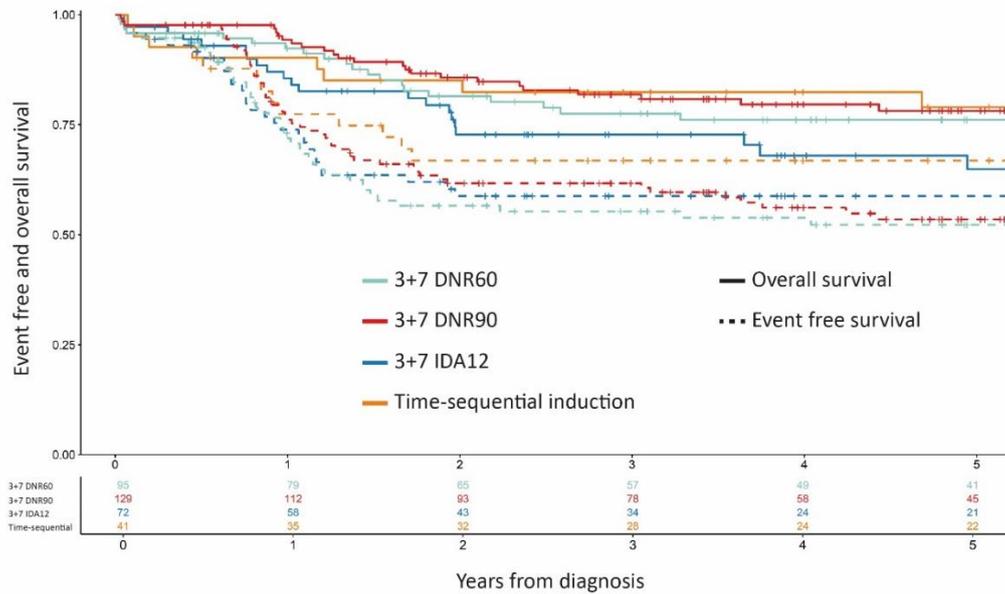
Supplementary figure 1. Flow chart of the MRD study

Inclusion of patients and number of patients depending of the type of treatment received, age, additional cytogenetic findings and MRD follow-up.



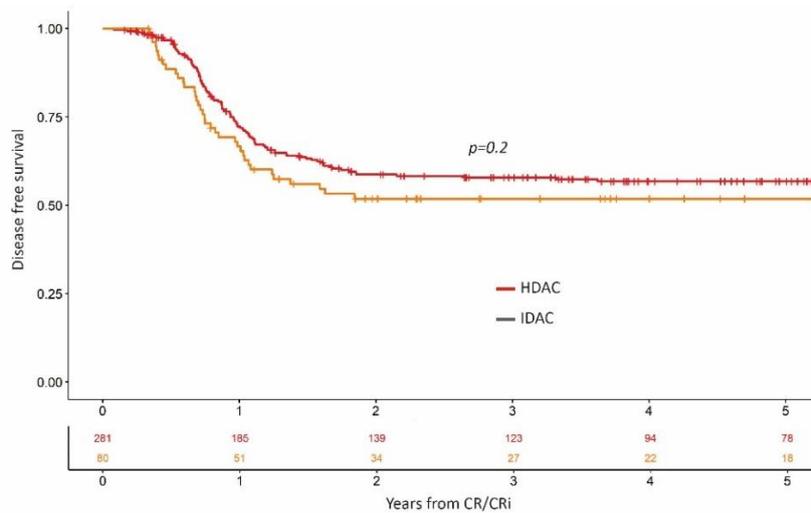
Supplementary figure 2. Impact of induction regimens

Overall survival and event-free survival censored to allo-HCT according to the induction type in patients treated with the 4 major inductions regimens without gemtuzumab-ozogamycin in the RetroCBF cohort (n=337).



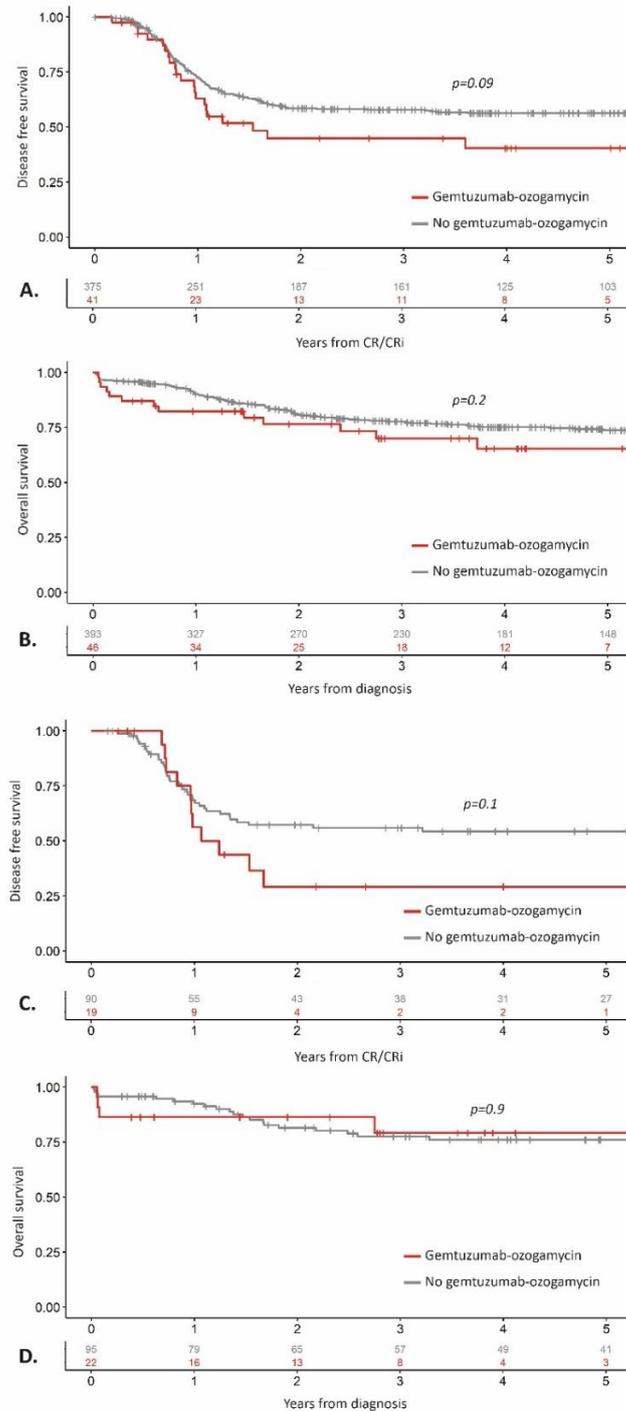
Supplementary figure 3. Impact of consolidation type

Disease-free survival censored to allo-HCT according to the consolidation regimen with high dose cytarabine (HDAC) and intermediate dose cytarabine (IDAC) in patients in CR/CRi after induction without gemtuzumab-ozogamycin in consolidation in the R etroCBF cohort (n= 361).



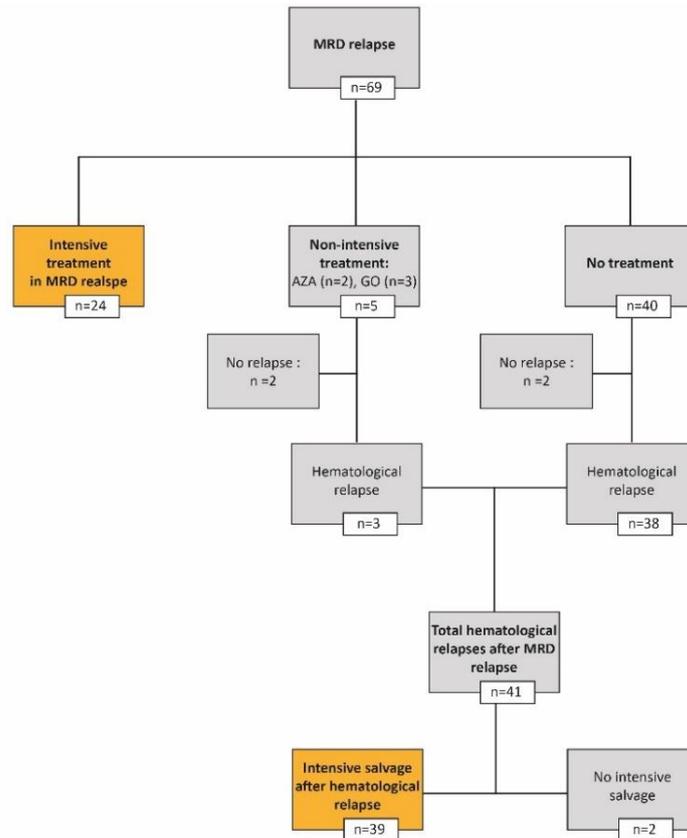
Supplementary figure 4. Impact of gemtuzumab-ozogamycin in induction

Disease-free survival and overall survival respectively censored to allo-HCT according to the addition of gemtuzumab-ozogamycin during induction course in the RetroCBF cohort : (A), (B) all patients (n=439) ; (C), (D) patients treated with 3+7 DNR60 induction (n=117).

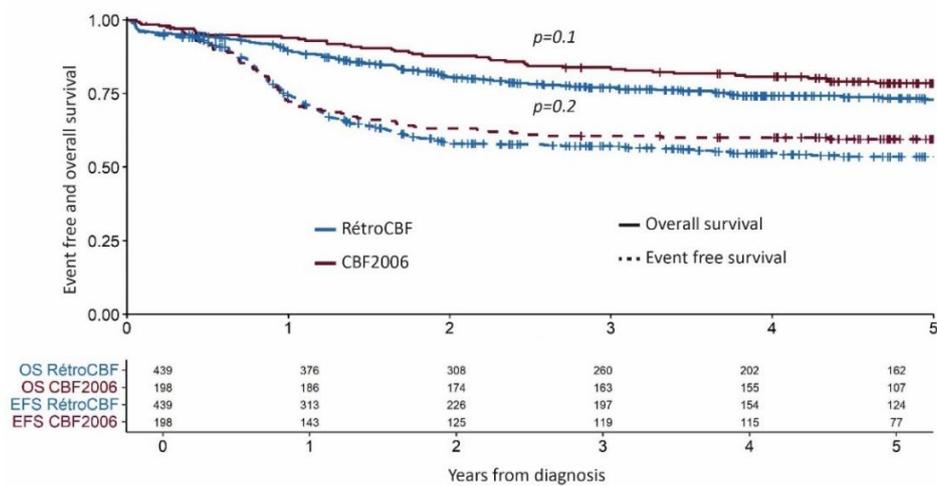


Supplementary figure 5. Flow chart of the patients with MRD relapse

Number of patients depending on the presence of a hematological relapse and of the treatments received.

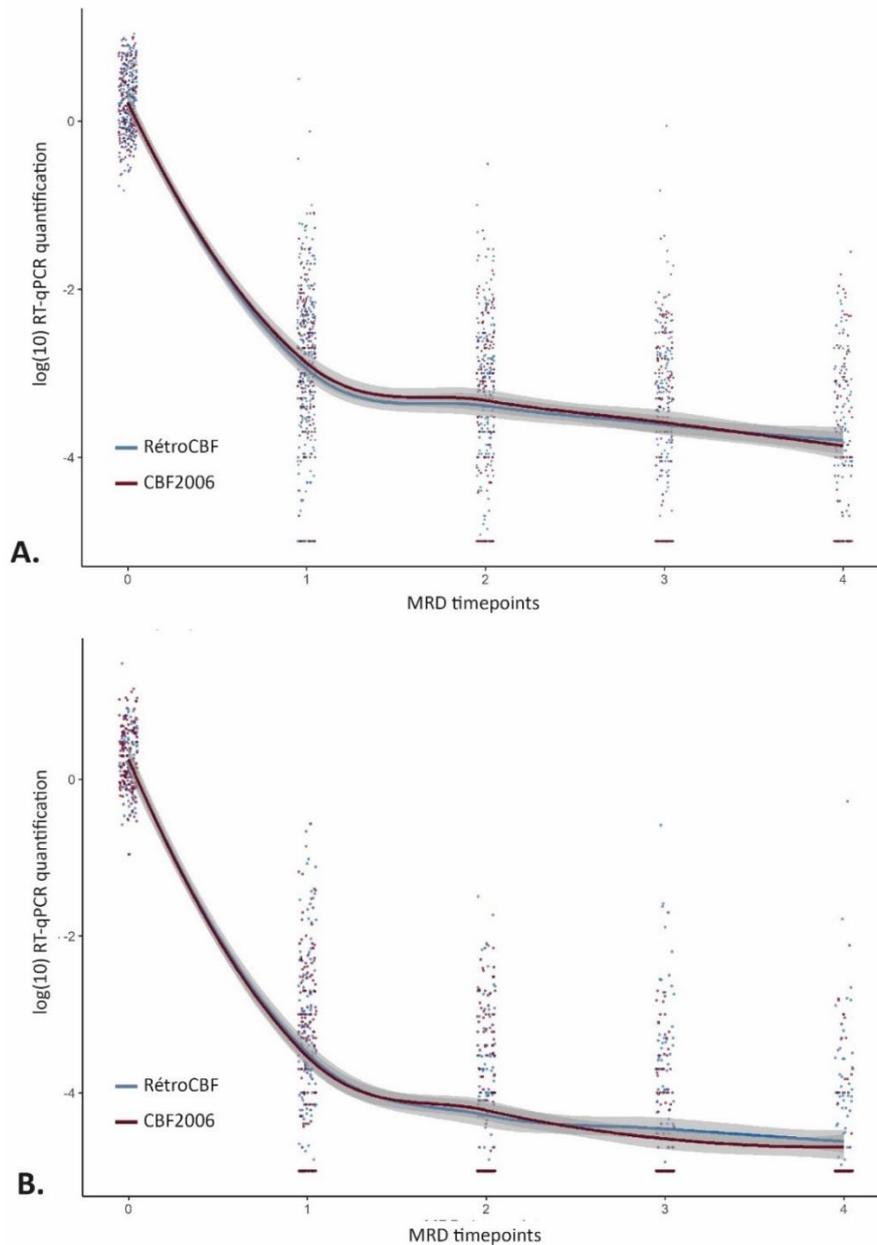


Supplementary figure 6. Overall survival and event-free survival in the RetroCBF and in the CBF2006 cohorts.



Supplementary figure 7. Measurable residual disease at the different timepoints according to the genetic subtype. A. in bone marrow. B. in peripheral blood.

The x axis represents the MRD sample time points with 0 for diagnosis, 1 for post-induction, 2 for post-consolidation 1, 3 for post-consolidation 2 and 4 for post-consolidation 3. The y axis represents the median transcript ratio in peripheral blood samples. Y axis is presented as the \log_{10} of the result. Bold lines represent polynomial regression lines using the LOESS method and shaded areas, 95% CI of the LOESS estimates.



Supplementary table 1. Number of patients with an available result according to the measurable residual disease timepoints.

	Bone marrow			Peripheral blood		
	Total	RétroCBF	CBF2006	Total	RétroCBF	CBF2006
MRD0 Diagnosis	394	236	158	227	85	142
MRD1 After induction	413	236	177	291	134	157
MRD2 After consolidation 1	339	178	161	279	126	153
MRD3 After consolidation 2	287	150	137	286	145	141
MRD4 After consolidation 3	203	104	99	244	144	100

Supplementary table 2. Measurable residual disease reduction according to the induction regimen.

Results are presented with median with minimum and maximum. Global comparison was done with Kruskal-Wallis test.

	Patients treated with 4 major induction regimens without gemtuzumab-ozogamycin (n=569)				
	3+7 DNR60 (n=215)	3+7 DNR90 (n=139)	Time-sequential induction (n=143)	3+7 IDA12 (n=72)	global p-value
BM MRD1	2.96 (0.14-6.00) (n=133)	2.95 (1.25-5.78) (n=72)	3.09 (1.26-6.12) (n=104)	2.91 (1.78-5.47) (n=34)	0.13
PB MRD1	3.51 (0.95-6.04) (n=105)	3.60 (1.08-6.48) (n=47)	4.16 (1.59-5.75) (n=85)	3.31 (1.53-5.47) (n=15)	0.008

Supplementary table 3. Measurable residual disease reduction according to the addition of gemtuzumab-ozogamycin in the induction regimen.

Results are presented with median with minimum and maximum.

	Total population (n=637)			Induction with 3+7 DNR60 (n=215)		
	GO (n=48)	No GO (n=597)	p-value	GO (n=22)	No GO (n=193)	p-value
BM MRD1	3.66 (1.93-5.41) (n=23)	3.02 (0.14-6.12) (n=376)	0.001	3.69 (2.78-5.29) (n=10)	2.96 (0.14-6.00) (n=133)	0.006
PB MRD1	4.20 (2.61-5.46) (n=16)	3.68 (0.95-6.48) (n=267)	0.28	3.99 (2.61-4.77) (n=6)	3.51 (0.95-6.04) (n=105)	0.72

3 : PERSPECTIVES

3.1 TRAITEMENTS DANS L'ETUDE RETRO-CBF

L'étude RétroCBF a inclus les patients traités pour une LAM CBF dans 25 centres ALFA depuis la fin du protocole CBF2006. La prise en charge des patients s'est unifiée depuis les 20 dernières années depuis l'analyse du protocole CBF2006 et la publication des nombreuses études décrivant l'impact pronostique de la MRD. Bien que plusieurs inductions aient été utilisées dans cette étude rétrospective, on retrouve majoritairement 4 régimes d'induction : les 2 utilisés dans le protocole CBF2006 mais aussi un schéma d'induction utilisant la daunorubicine à 90 mg/m², selon le protocole BIG-1, et le schéma d'induction des sujets âgés comportant de l'idarubicine à 12 mg/m² du protocole ALFA1200. D'autres schémas ont été utilisés chez les patients de l'étude et n'ont pas pu être analysés du fait du faible nombre de patients. Le choix de l'induction est associé à la période du diagnostic, à l'âge et aux habitudes des différents centres. Les différences en termes de RC après une cure n'étaient pas significatives mais on retrouvait une tendance à plus d'échec d'induction avec les schémas les moins intensifs (3+7 DNR60 et ALFA1200). L'ajout des 41 et 117 patients de RétroCBF traités selon chacun des bras d'induction de l'essai CBF2006, ie. 141 et 215 respectivement, confirment les résultats de l'essai CBF2006, c'est-à-dire une décroissance accélérée de la MRD avec l'induction séquentielle sans retentissement en survie globale ou sans maladie. A contrario, l'intensification de la dose de DNR de 60 à 90 mg/m² ne semblait pas modifier la cinétique de MRD, ni moduler la survie globale ou sans maladie. En première rémission complète, l'intensité des schémas de consolidation par bolus de cytarabine n'a pas d'impact sur la DFS ou l'OS, bien que cette comparaison rétrospective comporte de nombreux biais. En effet, les doses intermédiaires de cytarabine ont été administrées principalement aux patients âgés, suivant en cela le protocole ALFA1200 (110). La consolidation par cytarabine haute dose étant considérée comme le standard de traitement chez les patients jeunes, il est vraisemblable que le choix d'une dose intermédiaire est souvent lié à une fragilité plus importante ou à une toxicité très importante au moment de l'induction. Mais cela n'est pas

facile à mesurer avec les informations disponibles dans la cohorte. Bien que le gemtuzumab-ozogamycin (GO) ait été randomisé dans plusieurs études en association à une chimiothérapie standard d'induction, plusieurs questions demeurent dans les LAM CBF. Peu d'études ont analysé des patients avec une LAM CBF (n=137 patients dans l'étude MRD AML15) et il n'y a donc pas eu d'étude randomisée avec les inductions par 3+7 avec les standards de traitement actuels utilisant de la cytarabine en continu 200 mg/m² et de la daunorubicine 60 mg/m² ou 90 mg/m². Les résultats de cette cohorte rétrospective permettent de donner une première idée des résultats du GO chez les patients CBF avec ces régimes d'induction. On ne retrouve pas d'amélioration de la DFS et de l'OS mais un peu plus de toxicité à l'induction. Un essai spécifique dans les LAM CBF serait intéressant à créer afin d'assurer l'intérêt du GO en induction et de pouvoir démontrer potentiellement son intérêt en induction et d'en universaliser son usage.

Du fait de l'efficacité importante de la chimiothérapie intensive, nous avons finalement peu d'information sur l'efficacité des autres traitements utilisés dans la LAM. Les patients avec une LAM CBF sont le plus souvent exclus des essais cliniques interventionnels en 1ère ligne et il y a donc peu de données disponibles sur l'efficacité des traitements émergents dans les LAM CBF. C'est le cas en particulier pour les agents hypométhylants en monothérapie ou en association avec un inhibiteur de BCL2 pour les patients non éligibles à une chimiothérapie intensive du fait de leur âge et/ou de leurs comorbidités. Dans RétroCBF, plusieurs patients screenés ont reçu en première ligne de l'azacytidine et certains patients inclus dans l'étude ont été traités avec de l'azacytidine en rechute. Au-delà des sujets ne pouvant recevoir de la chimiothérapie intensive, les agents hypométhylants sont utilisés en maintenance après la chimiothérapie ou après l'allogreffe ou en rechute moléculaire chez certains patients (102,115). L'évaluation de son efficacité serait intéressante pour réfléchir à l'utilisation de ces nouvelles stratégies dans la LAM CBF.

3.2 CINETIQUE DE LA MRD

Nous avons choisi d'associer les données de maladie résiduelle de deux cohortes de LAM CBF française, celle du protocole CBF2006 et de l'étude rétrospective RétroCBF. Les deux études sont très différentes, l'une prospective et l'autre rétrospective, l'une réalisée en 2007 et 2010 et l'autre en 2010 et 2020. D'autre part, les choix de traitements sont standardisés dans le protocole CBF2006 (chimiothérapie d'induction et de consolidation, indication d'allogreffe si pas d'obtention de la MR³ après la première consolidation) alors qu'ils sont assez variés dans RétroCBF, tant sur les régimes de chimiothérapie que sur les indications d'allogreffe. Nous avons néanmoins pu redémontrer l'interaction entre les traitements et la décroissance de la MRD. L'hétérogénéité sur le plan thérapeutique peut donc induire des facteurs de confusion dans cette étude mais permet aussi d'élargir la validité externe et l'application de cette analyse en prenant en compte un plus grand nombre de modalités de traitements.

De nombreuses études de la MRD dans les LAM CBF ont été publiées par différentes groupes. Leur comparaison est complexifiée par les multiples seuils choisis, les moments d'évaluation de la MRD ainsi que la source du prélèvement. Les sensibilités des PCR et la définition d'une MRD négative ne sont pas non plus uniformes. La sensibilité dans l'étude de 2018 du groupe AMLSG est de 10⁻⁶ (19) alors que la plupart des autres études considèrent la négativité de la MRD à partir de 10⁻⁵ (15,16). Nous avons pu confirmer l'importance de plusieurs seuils déjà avancés comme MR³ après l'induction dans la moelle osseuse pour les t(8;21) (16). Nous avons aussi fait le choix de modifier certains seuils pour mieux tenir compte de la cinétique de la MRD entre le sang périphérique et la moelle osseuse (MR^{3.5} et MR⁴ dans le sang périphérique). Enfin nous avons évalué la MRD après l'induction où l'impact pronostique semble plus important par rapport à la MRD après la première consolidation. De plus, la réduction de la MRD à partir du diagnostic et la quantification directe de la MRD sont très associées et les deux variables semblent apporter des informations similaires. La quantification absolue de la MRD ne dépend pas de la disponibilité d'un échantillon diagnostique et est donc plus facile à appliquer dans la réalité de la prise en charge des LAM CBF.

Nous avons montré que la MRD1 avait un impact pronostique majeur, dans la moelle osseuse pour les t(8;21) et dans le sang périphérique pour les inv(16)/t(16;16). D'autre part, les MRD plus tardives dans le sang sont aussi très associées à un risque plus élevé de rechute, tandis que l'impact pronostique des MRD intermédiaires est moins discernable. La MRD1 semble un des meilleurs marqueurs de la chimiosensibilité de la LAM en reflétant la régression rapide de la masse tumorale après l'induction. A l'inverse les MRD de fin de traitement permettent d'évaluer la persistance de cellules de la LAM pouvant induire une rechute et donc potentiellement des cellules souches leucémiques résiduelles. Les deux éléments semblent complémentaires pour évaluer le pronostic de ces patients.

Il a été montré qu'il y avait une interaction entre la MRD et le profil mutationnel au diagnostic. En effet, la présence de mutations de mauvais pronostic s'associe à une résistance au traitement et donc à une MRD élevée au cours du traitement. Il a été montré par exemple que les patients avec une mutation de *KIT* avaient plus fréquemment une MRD élevée (18,19). L'analyse de l'impact des mutations récurrentes sur la cinétique de la MRD est en cours, à l'aide d'un panel étendu. En effet, dans d'autres hémopathies malignes comme les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL), il a été montré que le profil génétique était associé à des cinétiques de MRD différentes. Dans la majeure partie des cas, un profil moléculaire de pronostic favorable est associé à une MRD plutôt faible au cours de la chimiothérapie, tandis que certains profils génétiques présentent des cinétiques de MRD plus lentes, sans pour autant avoir un risque de rechute aussi élevé. C'est le cas par exemple des LAL-T donc la MRD1 décroît aussi lentement que les LAL-B de risque défavorable mais dont le risque de rechute est plus faible (116). Une telle étude permettra à terme de définir des seuils de MRD adaptés à des sous-groupes moléculairement plus homogènes.

Même s'il est admis que les mutations de *KIT* sont associées à un plus mauvais pronostic, l'importance des mutations secondaires au diagnostic restent limitée et n'ont pas à l'heure actuelle d'impact décisionnel sur la stratégie thérapeutique. Les études ont montré des résultats parfois discordants et l'effet des mutations est parfois conditionné par d'autres facteurs comme la fréquence d'allèle variant ou certains types de mutation. La compréhension

du lien entre mutations somatiques et MRD nécessite donc une cohorte de taille suffisante pour permettre une analyse robuste. L'association de la cohorte Rétro-CBF et de la cohorte CBF2006 permet de pouvoir explorer cette question, avec l'ambition de créer des outils pronostiques plus puissants dans les LAM CBF (117).

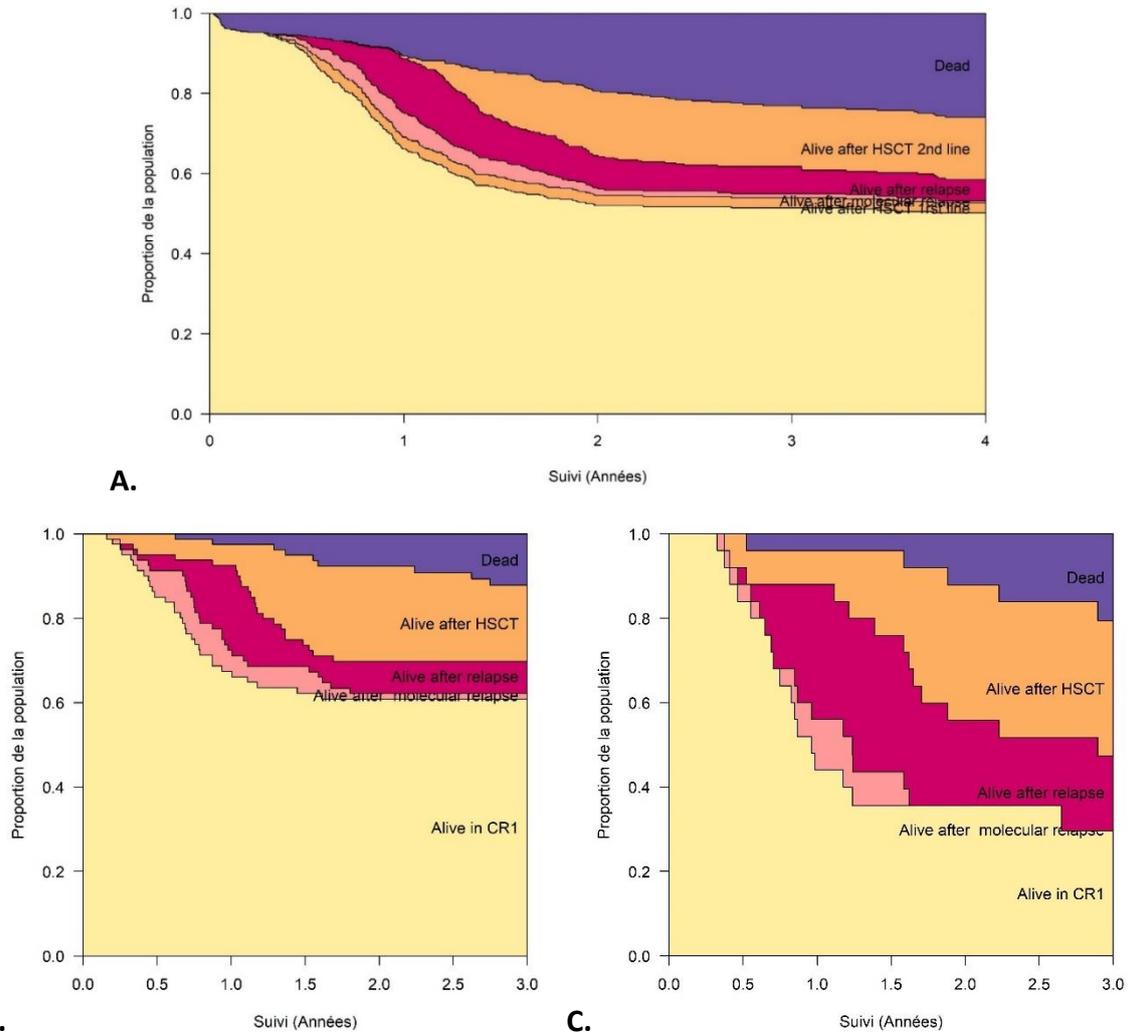


Figure 1. A. Survie à partir du diagnostic dans un modèle multi-état chez l'ensemble des patients de la cohorte à partir du diagnostic avec comme évènements : Allogreffe en RC1, rechute moléculaire, rechute cytologique, allogreffe en 2^{ème} ligne, décès. **B, C.** Survie à partir de la RC dans un modèle multi-état chez les patients : **B.** ayant atteint ou **C.** non une réduction de la MRD de 3 log sur sang après l'induction (MR³) avec comme évènements : Allogreffe en RC1 ou en 2^{ème} ligne, rechute moléculaire, rechute cytologique, décès.

Enfin l'analyse de l'impact pronostique de la MRD a été réalisée avec une censure à l'allogreffe. L'indication d'allogreffe est le plus souvent posée sur la mauvaise décroissance de la MRD et cette censure élimine donc de l'analyse les patients potentiellement les plus à risque de rechute. Une estimation de l'impact pronostique de la MRD doit donc prendre en compte le risque de rechute mais aussi le taux d'allogreffe en RC1. De manière descriptive, nous avons réalisé une analyse préliminaire avec un modèle multi-états à partir du diagnostic dans la cohorte RétroCBF en prenant en compte les évènements : allogreffe en RC1, rechute moléculaire, rechute cytologique, allogreffe en 2^{ème} ligne et décès (**Figure 1A**). Pour évaluer l'impact de la MRD1 sur la trajectoire des patients, nous avons réalisé un modèle multi-état à partir du moment de mesure de la MRD1 et nous avons assemblé l'allogreffe en RC1 et en RC2, de survie à long terme après allogreffe en RC1 ou en RC2 et de décès (**Figure 1B et 1C**). Ce modèle permet d'estimer la probabilité d'être soit en rémission soit en rechute ou allogreffé en RC1 ou RC2 et intègre le risque de rechute avec les stratégies réalisées pour le prévenir.

3.3 MRD ET STRATEGIE THERAPEUTIQUE

L'évaluation du pronostic avec la MRD dans les LAM CBF se heurte à la question de l'application de cette information dans la prise en charge des patients. A l'heure actuelle, la seule alternative thérapeutique est celle entre allogreffe et chimiothérapie de consolidation.

L'indication d'allogreffe en première ligne est donc une question centrale dans les LAM CBF. Certains groupes prônent son utilisation plus large en première ligne (114). Néanmoins, notre cohorte comme la plupart des cohortes publiées peinent à répondre à la question du fait du faible nombre de patients allogreffés en première ligne. Son indication reste donc basée sur l'estimation d'un plus haut risque de rechute. Néanmoins chez patients à plus haut risque de rechute, la comparaison entre les patients allogreffés et ceux qui ne l'ont pas été n'a pas pu

être réalisée. L'efficacité réelle de l'allogreffe en première ligne chez les patients à haut risque n'a pas été clairement évaluée. D'autre part, même si la MRD permet une prédiction précise du risque de rechute, il reste en général augmenté d'environ 20 à 30% et la probabilité de demeurer en rémission avec une chimiothérapie de consolidation reste élevée. De plus, l'analyse des patients en rechute a montré un taux de deuxième rémission complète élevé et une survie globale après la rechute de 45% à 65%. La décision entre une allogreffe en première ou en seconde rémission reste donc une question complexe et nécessite d'être explorée par de nouveaux outils.

Un des changements majeurs qu'a apporté la MRD dans la prise en charge des LAM CBF est la possibilité de détecter précocement les rechutes moléculaires avant la rechute cytologique. Grâce à un suivi sur prélèvement sanguin régulier, on identifie le plus souvent une augmentation de la MRD quelques mois avant l'apparition de la rechute cytologique. Les études sur la MRD publiées ont montré que l'augmentation confirmée sur plusieurs points de la MRD prédisait avec certitude l'apparition d'une rechute cytologique dans les mois suivants (15,16). Dans les LAM, une chimiothérapie intensive de rattrapage est grevée d'une certaine mortalité précoce et la présence d'une maladie médullaire augmente la durée et la profondeur de la neutropénie. Ce premier temps de traitement associe les risques de la LAM non contrôlée avec la neutropénie et les complications potentielles de l'hyperleucocytose avec la toxicité médullaire et muqueuse de la chimiothérapie. Un traitement réalisé avant une infiltration médullaire importante de la LAM semble donc en théorie une perspective intéressante. Plusieurs patients ont été traités en rechute moléculaire dans cette cohorte rétrospective. A ce jour, seules de rares études ont analysé cette question (101). Nos résultats portant sur peu de patients dans cette cohorte rétrospective ne retrouvent pas d'amélioration significative de la survie chez les patients traités en rechute moléculaire par rapport aux patients traités en rechute cytologique. De nombreux facteurs de confusion doivent néanmoins être pris en compte. Les formes de rechute qui sont identifiées au stade de rechute moléculaire sont probablement de cinétique plus lente et n'ont peut-être pas le même profil moléculaire. D'autre part, les patients plus fragiles auront plus de chance d'être traités en rechute moléculaire du fait du risque élevé d'une nouvelle induction en cas de rechute

cytologique. Enfin, les patients traités en rechute cytologique mais dont on avait identifié une rechute moléculaire étaient probablement traités à des stades de rechute cytologique relativement contrôlée et donc sans neutropénie ou hyperleucocytose pouvant induire plus de risques de complication. Cette question doit donc être évaluée afin de déterminer la prise en charge optimale pour ces patients. Chez les patients jeunes atteints de LAM CBF, la stratégie thérapeutique a toujours été orientée dans une démarche directement curative. Les mois de rémission cytologique avec une MRD positive sans traitement sont une situation nouvelle dans cette pathologie. Le respect de ce temps chez des patients à risque de mortalité pendant le traitement de 2nd ligne et de rechute non curable a aussi une valeur à discuter.

Enfin la présence des rechutes moléculaires ou de la persistance d'une MRD élevée dans le sang périphérique en fin de traitement identifient des situations où l'éradication de la MRD semble nécessaire. Les quelques patients non allogreffés en RC1 traités avec des agents hypométhylants pour tenter de contrôler la MRD n'ont pas eu de réponse dans RétroCBF. Les traitements standard de rattrapage ont été privilégiés avec une stratégie thérapeutique de type induction, consolidation puis allogreffe. Quelques patients ont été allogreffés sans traitement par chimiothérapie intensive en pré-allogreffe. L'introduction d'autres types de thérapie serait aussi potentiellement intéressante comme l'immunothérapie. Une utilisation d'anticorps bispécifique par exemple ciblant CD123 serait intéressante en suivant l'exemple du blinatumomab dans les LAL-B dont le rôle dans la stratégie thérapeutique est particulièrement utile en cas de MRD positive persistante. Un traitement par inhibiteurs de checkpoints pourrait aussi être discuté dans cette situation où la masse tumorale est très faible. Il a été montré par exemple que la protéine de fusion CBFβ-MYH11 est reconnue par les lymphocytes T cytotoxiques et peut induire une réponse anti-tumorale (118). Les cellules de LAM pouvant exprimer PD-L1 (119), il serait intéressant de tester l'activité de ces molécules si les LAM CBF expriment bien cette molécule. D'autres immunothérapie comme le magrolimab pourrait aussi être discutées. Plus simplement, si les hypométhylants ne semblent pas en monothérapie très efficaces, une phase de maintenance avec des inhibiteurs de BCL2 pourrait permettre de cibler les cellules souches leucémiques persistantes.

Enfin, une question que soulève cette analyse de la MRD dans une cohorte avec plusieurs types de traitement est la possibilité de comparer les traitements en fonction de la réponse en MRD. Cette possibilité n'avait pour l'instant pas été utilisée dans la LAM mais se met en place dans de nombreuses autres pathologies hématologiques. Dans les LAM *NPM1* mutées, l'association du gemtuzumab-ozogamycin en induction a par exemple montré sa capacité à induire une diminution plus rapide de la MRD (120). Cette diminution de la MRD se traduisait par une diminution du taux de rechute. Dans le protocole CBF2006, la décroissance de la MRD était plus rapide avec l'induction fractionnée en comparaison à l'induction standard. Néanmoins il n'y avait pas d'impact sur le taux de rechute ou sur la survie globale. La question de la possibilité pour la MRD d'être un marqueur indirect de la réponse est donc toujours en question, à l'heure où la FDA envisage de l'utiliser pour enregistrer de nouvelles molécules dans les LAM (AGILITY trial NCT05020665).

Conclusion

L'étude RétroCBF a inclus 439 patients traités entre 2010 et 2020 en France dans 25 centres du groupe ALFA. Elle a permis de mettre à jour les données pronostiques pour les LAM CBF sur une décennie au cours de laquelle le traitement de référence est resté globalement inchangé. On retrouve une survie globale (OS) à long terme satisfaisante malgré un risque élevé de rechute. Le traitement de rattrapage par chimiothérapie intensive avec le plus souvent une allogreffe permet d'obtenir une survie supérieure à 50% après la rechute. Nous avons associé cette cohorte avec les patients du protocole français CBF2006 qui a inclus prospectivement 198 patients âgés de 18 à 60 ans. Les données de MRD avaient été obtenues pour plus de deux tiers des patients. La MRD n'est pas similaire dans les deux types de LAM CBF avec une plus grande différence entre la MRD dans le sang périphérique (SP) et la MRD dans la moelle osseuse (MO) chez les $inv(16)/t(16;16)$ par rapport aux $t(8;21)$. De plus, l'analyse pronostique de la MRD est différente entre les deux groupes génétiques. Dans la MO, la MRD après l'induction était associée à la survie sans rechute (DFS) et à l'OS dans les $t(8;21)$ mais pas pour les $inv(16)/t(16;16)$. Au contraire, la MRD dans le SP était corrélée à la DFS et à l'OS dans les $inv(16)/t(16;16)$ alors qu'elle était associée à la DFS mais pas à l'OS dans les $t(8;21)$. Dans les $t(8;21)$, l'obtention d'une réponse moléculaire majeure (MMR, 0.1%) après l'induction dans la MO était fortement associée à la DFS et à l'OS. A l'inverse, dans les $inv(16)/t(16;16)$, l'obtention d'une MMR après l'induction dans le SP était fortement associée à la DFS et à l'OS. Ces deux marqueurs permettent d'identifier précocement dans la prise en charge les patients avec un haut risque de rechute. Dans les deux groupes génétiques, la persistance d'une MRD positive dans le SP à la fin des cures de consolidation était associée à une DFS diminuée mais la persistance de la MRD dans la MO n'était pas associée à une DFS différente chez les patients avec une MRD négative dans le SP. L'interprétation de la MRD est donc centrale pour évaluer le risque de rechute dans les LAM CBF. Néanmoins nous montrons que ces deux groupes génétiques n'ont pas la même cinétique de décroissance au cours du

traitement. L'analyse de la MRD doit donc être individualisée à chaque type de LAM afin de pouvoir en préciser l'impact sur la prédiction de la rechute.

Bibliographie

1. Grimwade D, Walker H, Oliver F, Wheatley K, Harrison C, Harrison G, et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood*. 1 oct 1998;92(7):2322-33.
2. Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 21 janv 2010;115(3):453-74.
3. Jourdan E, Boissel N, Chevret S, Delabesse E, Renneville A, Cornillet P, et al. Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood*. 21 mars 2013;121(12):2213-23.
4. Fernandez HF, Sun Z, Yao X, Litzow MR, Luger SM, Paietta EM, et al. Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 24 sept 2009;361(13):1249-59.
5. Burnett AK, Hills RK, Milligan D, Kjeldsen L, Kell J, Russell NH, et al. Identification of Patients With Acute Myeloblastic Leukemia Who Benefit From the Addition of Gemtuzumab Ozogamicin: Results of the MRC AML15 Trial. *JCO*. 1 févr 2011;29(4):369-77.
6. Burnett AK, Goldstone A, Hills RK, Milligan D, Prentice A, Yin J, et al. Curability of Patients With Acute Myeloid Leukemia Who Did Not Undergo Transplantation in First Remission. *Journal of Clinical Oncology* [Internet]. 25 févr 2013 [cité 22 sept 2020]; Disponible sur: <https://ascopubs.org/doi/pdf/10.1200/JCO.2011.40.5977>
7. Cornelissen JJ, van Putten WLJ, Verdonck LF, Theobald M, Jacky E, Daenen SMG, et al. Results of a HOVON/SAKK donor versus no-donor analysis of myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle-aged adults: benefits for whom? *Blood*. 1 mai 2007;109(9):3658-66.
8. Burnett AK, Wheatley K, Goldstone AH, Stevens RF, Hann IM, Rees JHK, et al. The value of allogeneic bone marrow transplant in patients with acute myeloid leukaemia at differing risk of relapse: results of the UK MRC AML 10 trial. *British Journal of Haematology*. 2002;118(2):385-400.
9. Hospital MA, Prebet T, Bertoli S, Thomas X, Tavernier E, Braun T, et al. Core-binding factor acute myeloid leukemia in first relapse: a retrospective study from the French AML Intergrup. *Blood*. 21 août 2014;124(8):1312-9.

10. Paschka P, Du J, Schlenk RF, Gaidzik VI, Bullinger L, Corbacioglu A, et al. Secondary genetic lesions in acute myeloid leukemia with inv(16) or t(16;16): a study of the German-Austrian AML Study Group (AMLSG). *Blood*. 3 janv 2013;121(1):170-7.
11. Marcucci G, Mrózek K, Ruppert AS, Maharry K, Kolitz JE, Moore JO, et al. Prognostic factors and outcome of core binding factor acute myeloid leukemia patients with t(8;21) differ from those of patients with inv(16): a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol*. 20 août 2005;23(24):5705-17.
12. Duployez N, Marceau-Renaut A, Boissel N, Petit A, Bucci M, Geffroy S, et al. Comprehensive mutational profiling of core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood*. 19 2016;127(20):2451-9.
13. Faber ZJ, Chen X, Gedman AL, Boggs K, Cheng J, Ma J, et al. The genomic landscape of core-binding factor acute myeloid leukemias. *Nat Genet*. 2016;48(12):1551-6.
14. Jahn N, Agrawal M, Bullinger L, Weber D, Corbacioglu A, Gaidzik VI, et al. Incidence and prognostic impact of ASXL2 mutations in adult acute myeloid leukemia patients with t(8;21)(q22;q22): a study of the German-Austrian AML Study Group. *Leukemia*. avr 2017;31(4):1012-5.
15. Willekens C, Blanchet O, Renneville A, Cornillet-Lefebvre P, Pautas C, Guieze R, et al. Prospective long-term minimal residual disease monitoring using RQ-PCR in RUNX1-RUNX1T1-positive acute myeloid leukemia: results of the French CBF-2006 trial. 1. 1 mars 2016;101(3):328-35.
16. Yin JAL, O'Brien MA, Hills RK, Daly SB, Wheatley K, Burnett AK. Minimal residual disease monitoring by quantitative RT-PCR in core binding factor AML allows risk stratification and predicts relapse: results of the United Kingdom MRC AML-15 trial. *Blood*. 4 oct 2012;120(14):2826-35.
17. Boddu P, Gurguis C, Sanford D, Cortes J, Akosile M, Ravandi F, et al. Response kinetics and factors predicting survival in core-binding factor leukemia. *Leukemia*. déc 2018;32(12):2698-701.
18. Ishikawa Y, Kawashima N, Atsuta Y, Sugiura I, Sawa M, Dobashi N, et al. Prospective evaluation of prognostic impact of KIT mutations on acute myeloid leukemia with RUNX1-RUNX1T1 and CBF-MYH11. *Blood Adv*. 3 janv 2020;4(1):66-75.
19. Rücker FG, Group (AMLSG) for the GAAMLS, Agrawal M, Group (AMLSG) for the GAAMLS, Corbacioglu A, Group (AMLSG) for the GAAMLS, et al. Measurable residual disease monitoring in acute myeloid leukemia with t(8;21)(q22;q22.1): results from the AML Study Group. *Blood*. 7 nov 2019;134(19):1608-18.

20. Höllein A, Jeromin S, Meggendorfer M, Fasan A, Nadarajah N, Kern W, et al. Minimal residual disease (MRD) monitoring and mutational landscape in AML with RUNX1-RUNX1T1: a study on 134 patients. *Leukemia*. 2018;32(10):2270-4.
21. Bolouri H, Farrar JE, Triche T, Ries RE, Lim EL, Alonzo TA, et al. The molecular landscape of pediatric acute myeloid leukemia reveals recurrent structural alterations and age-specific mutational interactions. *Nat Med*. 2018;24(1):103-12.
22. Chin PS, Bonifer C. Modelling t(8;21) acute myeloid leukaemia - What have we learned? *MedComm*. 2020;1(3):260-9.
23. Lutterbach B, Westendorf JJ, Linggi B, Patten A, Moniwa M, Davie JR, et al. ETO, a target of t(8;21) in acute leukemia, interacts with the N-CoR and mSin3 corepressors. *Mol Cell Biol*. déc 1998;18(12):7176-84.
24. Miyoshi H, Shimizu K, Kozu T, Maseki N, Kaneko Y, Ohki M. t(8;21) breakpoints on chromosome 21 in acute myeloid leukemia are clustered within a limited region of a single gene, AML1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1 déc 1991;88(23):10431-4.
25. Ptasinska A, Assi SA, Mannari D, James SR, Williamson D, Dunne J, et al. Depletion of RUNX1/ETO in t(8;21) AML cells leads to genome-wide changes in chromatin structure and transcription factor binding. *Leukemia*. août 2012;26(8):1829-41.
26. Pabst T, Mueller BU, Harakawa N, Schoch C, Haferlach T, Behre G, et al. AML1-ETO down-regulates the granulocytic differentiation factor C/EBPalpha in t(8;21) myeloid leukemia. *Nat Med*. avr 2001;7(4):444-51.
27. Tonks A, Pearn L, Musson M, Gilkes A, Mills KI, Burnett AK, et al. Transcriptional dysregulation mediated by RUNX1-RUNX1T1 in normal human progenitor cells and in acute myeloid leukaemia. *Leukemia*. déc 2007;21(12):2495-505.
28. Hyde RK, Kamikubo Y, Anderson S, Kirby M, Alemu L, Zhao L, et al. Cbfb/Runx1 repression-independent blockage of differentiation and accumulation of Csf2rb-expressing cells by Cbfb-MYH11. *Blood*. 18 févr 2010;115(7):1433-43.
29. Grinev VV, Barneh F, Ilyushonak IM, Nakjang S, Smink J, van Oort A, et al. RUNX1/RUNX1T1 mediates alternative splicing and reorganises the transcriptional landscape in leukemia. *Nat Commun*. 22 janv 2021;12:520.
30. Mori H, Colman SM, Xiao Z, Ford AM, Healy LE, Donaldson C, et al. Chromosome translocations and covert leukemic clones are generated during normal fetal development. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 11 juin 2002;99(12):8242-7.
31. Wiemels JL, Xiao Z, Buffler PA, Maia AT, Ma X, Dicks BM, et al. In utero origin of t(8;21) AML1-ETO translocations in childhood acute myeloid leukemia. *Blood*. 15 mai 2002;99(10):3801-5.

32. Itzykson R, Duployez N, Fasan A, Decool G, Marceau-Renaut A, Meggendorfer M, et al. Clonal interference of signaling mutations worsens prognosis in core-binding factor acute myeloid leukemia. *Blood*. 12 2018;132(2):187-96.
33. Higuchi M, O'Brien D, Kumaravelu P, Lenny N, Yeoh EJ, Downing JR. Expression of a conditional AML1-ETO oncogene bypasses embryonic lethality and establishes a murine model of human t(8;21) acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*. févr 2002;1(1):63-74.
34. Yuan Y, Zhou L, Miyamoto T, Iwasaki H, Harakawa N, Hetherington CJ, et al. AML1-ETO expression is directly involved in the development of acute myeloid leukemia in the presence of additional mutations. *Proc Natl Acad Sci USA*. 28 août 2001;98(18):10398-403.
35. Grisolano JL, O'Neal J, Cain J, Tomasson MH. An activated receptor tyrosine kinase, TEL/PDGFβR, cooperates with AML1/ETO to induce acute myeloid leukemia in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 5 août 2003;100(16):9506-11.
36. Schessl C, Rawat VPS, Cusan M, Deshpande A, Kohl TM, Rosten PM, et al. The AML1-ETO fusion gene and the FLT3 length mutation collaborate in inducing acute leukemia in mice. *J Clin Invest*. 1 août 2005;115(8):2159-68.
37. Zuber J, Radtke I, Pardee TS, Zhao Z, Rappaport AR, Luo W, et al. Mouse models of human AML accurately predict chemotherapy response. *Genes Dev*. 1 avr 2009;23(7):877-89.
38. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood*. 1 sept 2002;100(5):1532-42.
39. Micol JB, Pastore A, Inoue D, Duployez N, Kim E, Lee SCW, et al. ASXL2 is essential for haematopoiesis and acts as a haploinsufficient tumour suppressor in leukemia. *Nature Communications*. 18 mai 2017;8(1):15429.
40. Schlenk R f., Benner A, Krauter J, Büchner T, Sauerland C, Ehninger G, et al. Individual Patient Data–Based Meta-Analysis of Patients Aged 16 to 60 Years With Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: A Survey of the German Acute Myeloid Leukemia Inter-group. *JCO*. 15 sept 2004;22(18):3741-50.
41. Sangle NA, Perkins SL. Core-binding factor acute myeloid leukemia. *Arch Pathol Lab Med*. nov 2011;135(11):1504-9.
42. Bain BJ, Béné MC. Morphological and Immunophenotypic Clues to the WHO Categories of Acute Myeloid Leukaemia. *AHA*. 2019;141(4):232-44.
43. Ray D, Kwon SY, Tagoh H, Heidenreich O, Ptasinska A, Bonifer C. Lineage-inappropriate PAX5 expression in t(8;21) acute myeloid leukemia requires signaling-mediated abrogation of polycomb repression. *Blood*. 1 août 2013;122(5):759-69.

44. Walter K, Cockerill PN, Barlow R, Clarke D, Hoogenkamp M, Follows GA, et al. Aberrant expression of CD19 in AML with t(8;21) involves a poised chromatin structure and PAX5. *Oncogene*. mai 2010;29(20):2927-37.
45. Baer MR, Stewart CC, Lawrence D, Arthur DC, Byrd JC, Davey FR, et al. Expression of the neural cell adhesion molecule CD56 is associated with short remission duration and survival in acute myeloid leukemia with t(8;21)(q22;q22). *Blood*. 15 août 1997;90(4):1643-8.
46. Creutzig U, Zimmermann M, Reinhardt D, Rasche M, Neuhoff C von, Alpermann T, et al. Changes in cytogenetics and molecular genetics in acute myeloid leukemia from childhood to adult age groups. *Cancer*. 2016;122(24):3821-30.
47. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH, et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*. 22 juill 2010;116(3):354-65.
48. Marceau-Renaut A, Duployez N, Ducourneau B, Labopin M, Petit A, Rousseau A, et al. Molecular Profiling Defines Distinct Prognostic Subgroups in Childhood AML: A Report From the French ELAM02 Study Group. *Hemasphere*. févr 2018;2(1):e31.
49. Jahn N, Terzer T, Sträng E, Dolnik A, Cocciardi S, Panina E, et al. Genomic heterogeneity in core-binding factor acute myeloid leukemia and its clinical implication. *Blood Adv*. 22 déc 2020;4(24):6342-52.
50. Opatz S, Bamopoulos SA, Metzeler KH, Herold T, Ksienzyk B, Bräundl K, et al. The clinical mutasome of core binding factor leukemia. *Leukemia*. 2 janv 2020;
51. Yuzawa S, Opatowsky Y, Zhang Z, Mandiyan V, Lax I, Schlessinger J. Structural basis for activation of the receptor tyrosine kinase KIT by stem cell factor. *Cell*. 27 juill 2007;130(2):323-34.
52. Becker H, Pfeifer D, Afonso JD, Nimer SD, Veelken H, Schwabe M, et al. Two cell lines of t(8;21) acute myeloid leukemia with activating KIT exon 17 mutation: models for the 'second hit' hypothesis. *Leukemia*. sept 2008;22(9):1792-4.
53. Chan PM, Ilangumaran S, La Rose J, Chakrabartty A, Rottapel R. Autoinhibition of the kit receptor tyrosine kinase by the cytosolic juxtamembrane region. *Mol Cell Biol*. mai 2003;23(9):3067-78.
54. Allen C, Hills RK, Lamb K, Evans C, Tinsley S, Sellar R, et al. The importance of relative mutant level for evaluating impact on outcome of KIT, FLT3 and CBL mutations in core-binding factor acute myeloid leukemia. *Leukemia*. sept 2013;27(9):1891-901.

55. Yoshimoto G, Miyamoto T, Jabbarzadeh-Tabrizi S, Iino T, Rocnik JL, Kikushige Y, et al. FLT3-ITD up-regulates MCL-1 to promote survival of stem cells in acute myeloid leukemia via FLT3-ITD-specific STAT5 activation. *Blood*. 3 déc 2009;114(24):5034-43.
56. Kayser S, Kramer M, Martínez-Cuadrón D, Grenet J, Metzeler KH, Sustkova Z, et al. Characteristics and outcome of patients with core-binding factor acute myeloid leukemia and FLT3-ITD: results from an international collaborative study. *Haematologica*. 1 avr 2022;107(4):836-43.
57. Abdel-Wahab O, Adli M, LaFave LM, Gao J, Hricik T, Shih AH, et al. ASXL1 Mutations Promote Myeloid Transformation through Loss of PRC2-Mediated Gene Repression. *Cancer Cell*. 14 août 2012;22(2):180-93.
58. Quesnel B, Kantarjian H, Bjergaard JP, Brault P, Estey E, Lai JL, et al. Therapy-related acute myeloid leukemia with t(8;21), inv(16), and t(8;16): a report on 25 cases and review of the literature. *J Clin Oncol*. déc 1993;11(12):2370-9.
59. Schnittger S, Bacher U, Haferlach C, Kern W, Haferlach T. Rare CBFβ-MYH11 fusion transcripts in AML with inv(16)/t(16;16) are associated with therapy-related AML M4eo, atypical cytomorphology, atypical immunophenotype, atypical additional chromosomal rearrangements and low white blood cell count: a study on 162 patients. *Leukemia*. avr 2007;21(4):725-31.
60. Gustafson SA, Lin P, Chen SS, Chen L, Abruzzo LV, Luthra R, et al. Therapy-related acute myeloid leukemia with t(8;21) (q22;q22) shares many features with de novo acute myeloid leukemia with t(8;21)(q22;q22) but does not have a favorable outcome. *Am J Clin Pathol*. mai 2009;131(5):647-55.
61. Rogers HJ, Wang X, Xie Y, Davis AR, Thakral B, Wang SA, et al. Comparison of therapy-related and de novo core binding factor acute myeloid leukemia: A bone marrow pathology group study. *Am J Hematol*. juill 2020;95(7):799-808.
62. Borthakur G, Lin E, Jain N, Estey EE, Cortes JE, O'Brien S, et al. Survival is poorer in patients with secondary core-binding factor acute myelogenous leukemia compared with de novo core-binding factor leukemia. *Cancer*. 15 juill 2009;115(14):3217-21.
63. Borthakur GM, Cortes JE, Ravandi F, Garcia-Manero G, Kadia TM, Jabbour E, et al. Fludarabine, Cytarabine, G-CSF and Gemtuzumab Ozogamicin (FLAG-GO) Regimen Results in Better Molecular Response and Relapse-Free Survival in Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia Than FLAG and Idarubicin (FLAG-Ida). *Blood*. 13 nov 2019;134(Supplement_1):290.
64. Löwenberg B, Ossenkoppele GJ, van Putten W, Schouten HC, Graux C, Ferrant A, et al. High-dose daunorubicin in older patients with acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 24 sept 2009;361(13):1235-48.

65. Lee JH, Joo YD, Kim H, Bae SH, Kim MK, Zang DY, et al. A randomized trial comparing standard versus high-dose daunorubicin induction in patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 6 oct 2011;118(14):3832-41.
66. Burnett AK, Russell NH, Hills RK, Kell J, Cavenagh J, Kjeldsen L, et al. A randomized comparison of daunorubicin 90 mg/m² vs 60 mg/m² in AML induction: results from the UK NCRI AML17 trial in 1206 patients. *Blood*. 18 juin 2015;125(25):3878-85.
67. Mayer RJ, Davis RB, Schiffer CA, Berg DT, Powell BL, Schulman P, et al. Intensive Postremission Chemotherapy in Adults with Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 6 oct 1994;331(14):896-903.
68. Bloomfield CD, Lawrence D, Byrd JC, Carroll A, Pettenati MJ, Tantravahi R, et al. Frequency of prolonged remission duration after high-dose cytarabine intensification in acute myeloid leukemia varies by cytogenetic subtype. *Cancer Res*. 15 sept 1998;58(18):4173-9.
69. Miyawaki S, Ohtake S, Fujisawa S, Kiyoi H, Shinagawa K, Usui N, et al. A randomized comparison of 4 courses of standard-dose multiagent chemotherapy versus 3 courses of high-dose cytarabine alone in postremission therapy for acute myeloid leukemia in adults: the JALSG AML201 Study. *Blood*. 24 févr 2011;117(8):2366-72.
70. Schaich M, Röllig C, Soucek S, Kramer M, Thiede C, Mohr B, et al. Cytarabine dose of 36 g/m² compared with 12 g/m² within first consolidation in acute myeloid leukemia: results of patients enrolled onto the prospective randomized AML96 study. *J Clin Oncol*. 1 juill 2011;29(19):2696-702.
71. Löwenberg B, Pabst T, Vellenga E, van Putten W, Schouten HC, Graux C, et al. Cytarabine dose for acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 17 mars 2011;364(11):1027-36.
72. Koreth J, Schlenk R, Kopecky KJ, Honda S, Sierra J, Djulbegovic BJ, et al. Allogeneic Stem Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission: Systematic Review and Meta-analysis of Prospective Clinical Trials. *JAMA*. 10 juin 2009;301(22):2349-61.
73. Majhail NS, Chitphakdithai P, Logan B, King R, Devine S, Rossmann SN, et al. Significant Improvement in Survival after Unrelated Donor Hematopoietic Cell Transplantation in the Recent Era. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 1 janv 2015;21(1):142-50.
74. Kurosawa S, Miyawaki S, Yamaguchi T, Kanamori H, Sakura T, Moriuchi Y, et al. Prognosis of patients with core binding factor acute myeloid leukemia after first relapse. *Haematologica*. 1 oct 2013;98(10):1525-31.
75. Gorin NC, Labopin M, Frassoni F, Milpied N, Attal M, Blaise D, et al. Identical outcome after autologous or allogeneic genotypical hematopoietic stem-cell transplantation in

first remission of acute myelocytic leukemia carrying inversion 16 or t(8;21): a retrospective study from the European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol*. 1 juill 2008;26(19):3183-8.

76. Prebet T, Boissel N, Recher C, Thomas X, Delaunay J, Cahn JY, et al. Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia of the Elderly Treated with Conventional Chemotherapy: A Collaborative Study of the French CBF AML Intergroup. *Blood*. 16 nov 2008;112(11):553-553.
77. Arslan S, Zhang J, Dhakal P, Moran J, Naidoo N, Lombardi J, et al. Outcomes of therapy with venetoclax combined with a hypomethylating agent in favorable-risk acute myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 1 mars 2021;96(3):E59-63.
78. Olombel G, Guerin E, Guy J, Perrot JY, Dumezy F, de Labarthe A, et al. The level of blast CD33 expression positively impacts the effect of gemtuzumab ozogamicin in patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 28 2016;127(17):2157-60.
79. Khan N, Hills RK, Virgo P, Couzens S, Clark N, Gilkes A, et al. Expression of CD33 is a predictive factor for effect of gemtuzumab ozogamicin at different doses in adult acute myeloid leukaemia. *Leukemia*. mai 2017;31(5):1059-68.
80. Pollard JA, Alonzo TA, Loken M, Gerbing RB, Ho PA, Bernstein ID, et al. Correlation of CD33 expression level with disease characteristics and response to gemtuzumab ozogamicin containing chemotherapy in childhood AML. *Blood*. 19 avr 2012;119(16):3705-11.
81. Goemans BF, Zwaan CM, Vijverberg SJH, Loonen AH, Creutzig U, Hählen K, et al. Large interindividual differences in cellular sensitivity to calicheamicin may influence gemtuzumab ozogamicin response in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. déc 2008;22(12):2284-5.
82. Hills RK, Castaigne S, Appelbaum FR, Delaunay J, Petersdorf S, Othus M, et al. Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy in adult patients with acute myeloid leukaemia: a meta-analysis of individual patient data from randomised controlled trials. *The Lancet Oncology*. 1 août 2014;15(9):986-96.
83. Löwenberg B, Beck J, Graux C, van Putten W, Schouten HC, Verdonck LF, et al. Gemtuzumab ozogamicin as postremission treatment in AML at 60 years of age or more: results of a multicenter phase 3 study. *Blood*. 1 avr 2010;115(13):2586-91.
84. Petersdorf SH, Kopecky KJ, Slovak M, Willman C, Nevill T, Brandwein J, et al. A phase 3 study of gemtuzumab ozogamicin during induction and postconsolidation therapy in younger patients with acute myeloid leukemia. *Blood*. 13 juin 2013;121(24):4854-60.
85. Röllig C, Serve H, Hüttmann A, Noppeney R, Müller-Tidow C, Krug U, et al. Addition of sorafenib versus placebo to standard therapy in patients aged 60 years or younger with

newly diagnosed acute myeloid leukaemia (SORAML): a multicentre, phase 2, randomised controlled trial. *The Lancet Oncology*. 1 déc 2015;16(16):1691-9.

86. Schwartz S, Heinecke A, Zimmermann M, Creutzig U, Schoch C, Harbott J, et al. Expression of the C-kit receptor (CD117) is a feature of almost all subtypes of de novo acute myeloblastic leukemia (AML), including cytogenetically good-risk AML, and lacks prognostic significance. *Leuk Lymphoma*. juin 1999;34(1-2):85-94.
87. Boissel N, Renneville A, Leguay T, Lefebvre PC, Recher C, Lecerf T, et al. Dasatinib in high-risk core binding factor acute myeloid leukemia in first complete remission: a French Acute Myeloid Leukemia Intergroup trial. *Haematologica*. juin 2015;100(6):780-5.
88. Paschka P, Schlenk RF, Weber D, Benner A, Bullinger L, Heuser M, et al. Adding dasatinib to intensive treatment in core-binding factor acute myeloid leukemia-results of the AM-LSG 11-08 trial. *Leukemia*. 2018;32(7):1621-30.
89. Marcucci G, Geyer S, Laumann K, Zhao W, Bucci D, Uy GL, et al. Combination of dasatinib with chemotherapy in previously untreated core binding factor acute myeloid leukemia: CALGB 10801. *Blood Adv*. 25 févr 2020;4(4):696-705.
90. Larson RA, Mandrekar SJ, Huebner LJ, Sanford BL, Laumann K, Geyer S, et al. Midostaurin reduces relapse in FLT3-mutant acute myeloid leukemia: the Alliance CALGB 10603/RATIFY trial. *Leukemia*. sept 2021;35(9):2539-51.
91. Voso MT, Larson RA, Jones D, Marcucci G, Prior T, Krauter J, et al. Midostaurin in patients with acute myeloid leukemia and FLT3-TKD mutations: a subanalysis from the RATIFY trial. *Blood Advances*. 13 oct 2020;4(19):4945-54.
92. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, Neubauer A, Berman E, Paolini S, et al. Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML. *The New England Journal of Medicine*. 31 2019;381(18):1728-40.
93. Ouyang J, Goswami M, Peng J, Zuo Z, Daver N, Borthakur G, et al. Comparison of Multiparameter Flow Cytometry Immunophenotypic Analysis and Quantitative RT-PCR for the Detection of Minimal Residual Disease of Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia. *Am J Clin Pathol*. 1 juin 2016;145(6):769-77.
94. Balsat M, Renneville A, Thomas X, de Botton S, Caillot D, Marceau A, et al. Postinduction Minimal Residual Disease Predicts Outcome and Benefit From Allogeneic Stem Cell Transplantation in Acute Myeloid Leukemia With NPM1 Mutation: A Study by the Acute Leukemia French Association Group. *JCO*. 10 janv 2017;35(2):185-93.
95. Ivey A, Hills RK, Simpson MA, Jovanovic JV, Gilkes A, Grech A, et al. Assessment of Minimal Residual Disease in Standard-Risk AML. *N Engl J Med*. 4 févr 2016;374(5):422-33.

96. Guièze R, Renneville A, Cayuela JM, Abdelali RB, Boissel N, de Botton S, et al. Prognostic value of minimal residual disease by real-time quantitative PCR in acute myeloid leukemia with CBFB-MYH11 rearrangement: the French experience. *Leukemia*. juill 2010;24(7):1386-8.
97. Zhu HH, Zhang XH, Qin YZ, Liu DH, Jiang H, Chen H, et al. MRD-directed risk stratification treatment may improve outcomes of t(8;21) AML in the first complete remission: results from the AML05 multicenter trial. *Blood*. 16 mai 2013;121(20):4056-62.
98. Cornet E, Dumézy F, Roumier C, Lepelley P, Jouy N, Philippe N, et al. Involvement of a common progenitor cell in core binding factor acute myeloid leukaemia associated with mastocytosis. *Leuk Res*. nov 2012;36(11):1330-3.
99. Heuser M, Freeman SD, Ossenkoppele GJ, Buccisano F, Hourigan CS, Ngai LL, et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 30 déc 2021;138(26):2753-67.
100. Ragon BK, Daver N, Garcia-Manero G, Ravandi F, Cortes J, Kadia T, et al. Minimal Residual Disease Eradication with Epigenetic Therapy in Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia. *Am J Hematol*. sept 2017;92(9):845-50.
101. Racil Z, Toskova M, Dvorakova D, Jeziskova I, Razga F, Buresova L, et al. Treatment of molecular relapse in patients with acute myeloid leukemia using clofarabine monotherapy. *Am J Hematol*. févr 2012;87(2):211-3.
102. Platzbecker U, Middeke JM, Sockel K, Herbst R, Wolf D, Baldus CD, et al. Measurable residual disease-guided treatment with azacitidine to prevent haematological relapse in patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukaemia (RELAZA2): an open-label, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2018;19(12):1668-79.
103. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Roberts ND, et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 9 juin 2016;374(23):2209-21.
104. 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.
105. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, Craddock C, DiNardo CD, Dombret H, et al. Diagnosis and Management of AML in Adults: 2022 ELN Recommendations from an International Expert Panel. *Blood*. 7 juill 2022;blood.2022016867.
106. Fine JP, Gray RJ. A Proportional Hazards Model for the Subdistribution of a Competing Risk. *Journal of the American Statistical Association*. 1 juin 1999;94(446):496-509.

107. Mantel N, Byar DP. Evaluation of Response-Time Data Involving Transient States: An Illustration Using Heart-Transplant Data. *Journal of the American Statistical Association*. 1 mars 1974;69(345):81-6.
108. Blanche P, Dartigues JF, Jacquemin-Gadda H. Estimating and comparing time-dependent areas under receiver operating characteristic curves for censored event times with competing risks. *Stat Med*. 30 déc 2013;32(30):5381-97.
109. Gerds TA, Kattan MW, Schumacher M, Yu C. Estimating a time-dependent concordance index for survival prediction models with covariate dependent censoring. *Stat Med*. 15 juin 2013;32(13):2173-84.
110. Gardin C, Pautas C, Fournier E, Itzykson R, Lemasle E, Bourhis JH, et al. Added prognostic value of secondary AML-like gene mutations in ELN intermediate-risk older AML: ALFA-1200 study results. *Blood Advances*. 7 mai 2020;4(9):1942-9.
111. Yin JAL, O'Brien MA, Hills RK, Daly SB, Wheatley K, Burnett AK. Minimal residual disease monitoring by quantitative RT-PCR in core binding factor AML allows risk stratification and predicts relapse: results of the United Kingdom MRC AML-15 trial. *Blood*. 4 oct 2012;120(14):2826-35.
112. Corbacioglu A, Scholl C, Schlenk RF, Eiwen K, Du J, Bullinger L, et al. Prognostic impact of minimal residual disease in CBFβ-MYH11-positive acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 10 août 2010;28(23):3724-9.
113. Xiaosu Z, Leqing C, Yazhen Q, Yu W, Xiaohui Z, Lanping X, et al. Classifying AML patients with inv(16) into high-risk and low-risk relapsed patients based on peritransplantation minimal residual disease determined by CBFβ/MYH11 gene expression. *Ann Hematol*. 1 janv 2019;98(1):73-81.
114. Duan W, Liu X, Jia J, Wang J, Gong L, Jiang Q, et al. The loss or absence of minimal residual disease of <0.1% at any time after two cycles of consolidation chemotherapy in CBFβ-MYH11-positive acute myeloid leukaemia indicates poor prognosis. *British Journal of Haematology* [Internet]. [cité 28 sept 2020];n/a(n/a). Disponible sur: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/bjh.16745>
115. Wei AH, Döhner H, Pocock C, Montesinos P, Afanasyev B, Dombret H, et al. Oral Azacitidine Maintenance Therapy for Acute Myeloid Leukemia in First Remission. *N Engl J Med*. 24 déc 2020;383(26):2526-37.
116. O'Connor D, Enshaei A, Bartram J, Hancock J, Harrison CJ, Hough R, et al. Genotype-Specific Minimal Residual Disease Interpretation Improves Stratification in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *JCO*. 1 janv 2018;36(1):34-43.

117. Ustun C, Morgan E, Moodie EEM, Pullarkat S, Yeung C, Broesby-Olsen S, et al. Core-binding factor acute myeloid leukemia with t(8;21): Risk factors and a novel scoring system (I-CBFit). *Cancer Med.* sept 2018;7(9):4447-55.
118. Biernacki MA, Foster KA, Woodward KB, Coon ME, Cummings C, Cunningham TM, et al. CFBF-MYH11 fusion neoantigen enables T cell recognition and killing of acute myeloid leukemia. *J Clin Invest.* 130(10):5127-41.
119. Berthon C, Driss V, Liu J, Kuranda K, Leleu X, Jouy N, et al. In acute myeloid leukemia, B7-H1 (PD-L1) protection of blasts from cytotoxic T cells is induced by TLR ligands and interferon-gamma and can be reversed using MEK inhibitors. *Cancer Immunol Immunother.* déc 2010;59(12):1839-49.
120. Kapp-Schwoerer S, Weber D, Corbacioglu A, Gaidzik VI, Paschka P, Krönke J, et al. Impact of gemtuzumab ozogamicin on MRD and relapse risk in patients with NPM1-mutated AML: results from the AMLSG 09-09 trial. *Blood.* 24 déc 2020;136(26):3041-50.

Table des figures

Figure 1 : Structure de la protéine de fusion RUNX1-RUNX1T1 et ses partenaires.....	18
Figure 2 : Aspect cytologique des LAM avec t(8;21)	20
Figure 3 : Aspect cytologique des LAM avec inv(16)/t(16;16)	21
Figure 4 : Incidence en fonction de l'âge des LAM CBF	22
Figure 5 : Pronostic global des LAM CBF	23
Figure 6 : Pronostic dans l'étude CBF2006.....	24
Figure 7 : Pronostic dans l'étude du groupe AMLSG	25
Figure 8 : Pronostic en fonction des anomalies cytogénétiques additionnelles	26
Figure 9 : Pronostic en fonction de la présence de trisomie dans les inv(16)/t(16;16).....	27
Figure 10 : Corrélation entre les altérations génétiques et le sous-type génétique dans les leucémies aiguës myéloïdes à Core Binding factor	28
Figure 11 : Récepteurs c-kit sauvage et muté avec présence des mutations retrouvées dans les leucémies aiguës myéloïdes à Core Binding Factor et de leur impact fonctionnel	29
Figure 12 : Pronostic en fonction des mutations de KIT	30
Figure 13 : Impact de la chimiothérapie de consolidation dans l'étude du CALGB.....	36
Figure 14 : Impact du gemtuzumab-ozogamycin dans les LAM CBF	40
Figure 15 : Modèles multi-états dans la cohorte RétroCBF	96

Titre de la thèse : Cinétique de la maladie résiduelle dans les leucémies aiguës myéloïdes à Core Binding Factor

Résumé :

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) avec t(8;21) et inv(16)/t(16;16) ont été identifiées comme un groupe de risque favorable depuis plus de 20 ans. Néanmoins, avec les traitements intensifs actuels, les patients rechutent dans 30 à 50% des cas, ce qui induit une mortalité importante. La cohorte RétroCBF du groupe coopératif ALFA a inclus rétrospectivement 439 patients traités par chimiothérapie intensive pour une LAM t(8;21) ou inv(16)/t(16;16). Nous avons associé cette cohorte avec les patients du protocole français CBF2006 qui a inclus prospectivement 198 patients âgés de 18 à 60 ans. La maladie résiduelle (MRD) avait été évaluée par la quantification en RT-PCR pour 442 (69.4%) sur les 637 au total. Pendant le traitement, la différence entre la MRD dans la moelle osseuse (MO) et dans le sang périphérique (SP) était plus élevée dans les inv(16)/t(16;16) que dans les t(8;21). Dans la MO, la MRD après l'induction était associée à la survie sans rechute (DFS) et à la survie globale (OS) dans les t(8;21) ($p < 0.001$ pour la DFS) mais pas pour les inv(16)/t(16;16). Au contraire, la MRD dans le SP était corrélée à la DFS et à l'OS dans les inv(16)/t(16;16) ($p < 0.001$ pour la DFS) mais pas à l'OS dans les t(8;21)). Dans les deux sous-types, la persistance d'une MRD positive dans le SP à la fin des cures de consolidation était associée à une DFS diminuée mais la persistance de la MRD dans la MO n'était pas associée à une DFS différente chez les patients avec une MRD négative dans le SP. Les cinétiques de MRD sont différentes pour les t(8;21) et pour les inv(16)/t(16;16) et leurs profils spécifiques permettent de déterminer le pronostic.

Spécialité : Hématologie clinique

Mots clés français : Leucémie aiguë myéloïde, maladie résiduelle, biologie moléculaire

Forme ou Genre : fMeSH : Dissertation universitaire, Rameau : Thèses et écrits académiques

**Université de Paris
UFR de médecine
15 Rue de l'École de Médecine
75006 Paris**