

**UNIVERSITE MOHAMMED V -SOUISSI-
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-**

ANNEE: 2013

THESE N°: 96

**REGULATION DU CYCLE CELLULAIRE ET HEMOPATHIES
MALIGNES : LE MYELOME MULTIPLE COMME MODELE**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle. Hasnaa TAKI IMRANI

Née le 23 Aout 1989 à Kénitra

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Régulation – Cycle cellulaire – Hémopathies malignes – Myélome multiple.

MEMBRES DE JURY

Mr A. BELMEKKI

Professeur d'hématologie

Mr A. MASRAR

Professeur d'hématologie biologique

Mr A. DAMI

Professeur agrégé de biochimie

Mme S. BENKIRANE

Professeur agrégé d'hématologie biologique

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما
علمتنا إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ



17 JUIN 2013



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ

1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Jamal TAOUFIK
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

Pr. ABROUQ Ali*	Oto-Rhino-Laryngologie
Pr. BENSOU DA Mohamed	Anatomie
Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
Pr. LAHBABI Naïma	Physiologie

Novembre 1983

Pr. BELLAKHDAR Fouad	Neurochirurgie
Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie

Décembre 1984

Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima
Pr. BENSALD Younes
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa Neurologie
Pr. IRAQI Ghali

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Pneumo-phtisiologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali
Pr. CHAHED OUZZANI Houria
Pr. EL YAACOUBI Moradh
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie
Gastro-Entérologie
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida
Pr. HERMAS Mohamed
Pr. TOLOUNE Farida*

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*
Pr. CHAD Bouziane
Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda
Pr. TAZI Saoud Anas

Médecine Interne
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Neurologie
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia	Anatomie-Pathologique
Pr. AZZOUZI Abderrahim	Anesthésie Réanimation
Pr. BAYAHIA Rabéa	Néphrologie
Pr. BELKOUCHI Abdelkader	Chirurgie Générale
Pr. BENABDELLAH Chahrazad	Hématologie
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif	Chirurgie Générale
Pr. BENSOU DA Yahia	Pharmacie galénique
Pr. BERRAHO Amina	Ophtalmologie
Pr. BEZZAD Rachid	Gynécologie Obstétrique
Pr. CHABRAOUI Layachi	Biochimie et Chimie
Pr. CHERRAH Yahia	Pharmacologie
Pr. CHOKAIRI Omar	Histologie Embryologie
Pr. JANATI Idrissi Mohamed*	Chirurgie Générale
Pr. KHATTAB Mohamed	Pédiatrie
Pr. SOULAYMANI Rachida	Pharmacologie
Pr. TAOUFIK Jamal	Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed	Chirurgie Générale
Pr. BENSOU DA Adil	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib	Radiologie
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza	Gastro-Entérologie
Pr. CHRAIBI Chafiq	Gynécologie Obstétrique
Pr. DAOUDI Rajae	Ophtalmologie
Pr. DEHAYNI Mohamed*	Gynécologie Obstétrique
Pr. EL OUAHABI Abdessamad	Neurochirurgie
Pr. FELLAT Rokaya	Cardiologie
Pr. GHAFIR Driss*	Médecine Interne
Pr. JIDDANE Mohamed	Anatomie
Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine	Gynécologie Obstétrique
Pr. TAGHY Ahmed	Chirurgie Générale
Pr. ZOUHDI Mimoun	Microbiologie

Mars 1994

Pr. AGNAOU Lahcen	Ophtalmologie
Pr. BENCHERIFA Fatiha	Ophtalmologie
Pr. BENJAAFAR Nouredine	Radiothérapie
Pr. BEN RAIS Nozha	Biophysique
Pr. CAOUI Malika	Biophysique
Pr. CHRAIBI Abdelmjid	Endocrinologie et Maladies Métaboliques

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. EL IDRISSE Lamghari Abdennaceur
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. BEDDOUCHE Amqrane*
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSE KAMILI Med Nordine*

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation

Pr. EL MESNAOUI Abbas
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. FERHATI Driss
Pr. HASSOUNI Fadil
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. IBRAHIMY Wafaa
Pr. MANSOURI Aziz
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Gynécologie Obstétrique
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Cardiologie
Urologie
Ophtalmologie
Radiothérapie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADINE EL Hamid
Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. MOULINE Soumaya
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumo-phtisiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN AMAR Abdesselem
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. DERRAZ Said
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. NAZI M'barek*

Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Urologie
Neurologie
Radiologie
Neurochirurgie
Pédiatrie
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Cardiologie

Pr. OUAHABI Hamid*
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Neurologie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Gastro-Entérologie
Neurologie
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENCHERIF My Zahid
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHAOUI Zineb
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer Chirurgie Générale
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. EL OTMANY Azzedine
Pr. HAMMANI Lahcen
Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. BENCHEKROUN Nabihha
Pr. CHERTI Mohammed

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Cardiologie

Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL IDGHIRI Hassan
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*
Pr. LAHLOU Abdou
Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi

Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BELMEKKI Mohammed
Pr. BENABDELJIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BENYOUSSEF Khalil
Pr. BERRADA Rachid
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUHOUCHE Rachida
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. CHELLAOUI Mounia
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL MOUSSAIF Hamid
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. GOURINDA Hassan

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Rhumatologie
Anatomie
Cardiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique

Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHTA Mohamed Zakariya
Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
Pr. EL BARNOUSSI Leila
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. EL MANSARI Omar*
Pr. ES-SADEL Abdelhamid
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HADDOUR Leila
Pr. HAJJI Zakia
Pr. IKEN Ali
Pr. ISMAEL Farid
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. LAGHMARI Mina
Pr. MABROUK Hfid*
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Gynécologie Obstétrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique

Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
Pr. NAITLHO Abdelhamid*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RACHID Khalid *
Pr. RAISS Mohamed
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
Pr. RHOU Hakima
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Cardiologie
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOUGHALEM Mohamed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KARMANE Abdelouahed
Pr. KHABOUZE Samira
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. SASSENOU ISMAIL*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie

Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophtalmologie
Pr. AZIZ Nouredine*	Radiologie
Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
Pr. EL HAMZAOUI Sakina	Microbiologie
Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
Pr. HESSISEN Leila	Pédiatrie
Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
Pr. KENDOUCI Mohamed*	Cardiologie
Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. LYAGOUBI Mohammed	Parasitologie
Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie
Pr. RAGALA Abdelhak	Gynécologie Obstétrique
Pr. SBIHI Souad	Histo-Embryologie Cytogénétique
Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam	Ophtalmologie
Pr. ZERAIDI Najia	Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed	Anesthésie Réanimation
-------------------	------------------------

Avril 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*	Rhumatologie
425. Pr. AKJOUJ Said*	Radiologie
427.Pr. BELMEKKI Abdelkader*	Hématologie
428. Pr. BENCHEIKH Razika	O.R.L
429Pr. BIYI Abdelhamid*	Biophysique
430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine	Chirurgie - Pédiatrique
431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*	Chirurgie Cardio – Vasculaire
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas	Gynécologie Obstétrique
434. Pr. DOGHMI Nawal	Cardiologie
435. Pr. ESSAMRI Wafaa	Gastro-entérologie
436. Pr. FELLAT Ibtissam	Cardiologie
437. Pr. FAROUDY Mamoun	Anesthésie Réanimation
438. Pr. GHADOUANE Mohammed*	Urologie
439. Pr. HARMOUCHE Hicham	Médecine Interne

440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
441 Pr. IDRIS LAHLOU Amine
442. Pr. JROUNDI Laila
443. Pr. KARMOUNI Tariq
444. Pr. KILI Amina
445. Pr. KISRA Hassan
446. Pr. KISRA Mounir
448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*
449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
450. Pr. MANSOURI Hamid*
452. Pr. OUANASS Abderrazzak
453. Pr. SAFI Soumaya*
454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
456. Pr. SOUALHI Mouna
457. Pr. TELLAL Saida*
458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AMMAR Haddou
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZIANE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL BEKKALI Youssef*
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GANA Rachid
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
ORL
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Neuro chirurgie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Anesthésie réanimation

Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
491. Pr. MOUTAJ Redouane *
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologique
Anesthésier réanimation
Parasitologie
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

PROFESSEURS AGREGES :

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMAHZOUNE Brahim*
Pr. AMINE Bouchra
Pr. AZENDOUR Hicham*
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Rhumatologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale

Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. CHTATA Hassan Toufik*
Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KADI Said *
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. L'KASSIMI Hachemi*
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADÉ Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
Pr. ZOUHAIR Said*

Traumatologie orthopédique
Hématologie biologique
Chirurgie vasculaire périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Traumatologie orthopédique
Pédiatrie
Microbiologie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-phtisiologie
Microbiologie

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. CHERRADI Ghizlan
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. LEZREK Mounir

Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Cardiologie
Biochimie chimie
Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie
Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Ophtalmologie

Pr. MALIH Mohamed*
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. RAISSOUNI Zakaria*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. Abdelouahed AMRANI
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. Ahmed JAHID
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Drissi*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. Mouna EL ALAOUI MHAMDI
Pr. Mounir ER-RAJI
Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Chirurgie Pédiatrique
Cardiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS

Pr. ABOUDRAR Saadia
Pr. ALAMI OUHABI Naima
Pr. ALAOUI KATIM
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
Pr. ANSAR M'hammed
Pr. BOUHOUCHE Ahmed
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
Pr. BOURJOUANE Mohamed
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia
Pr. DAKKA Taoufiq
Pr. DRAOUI Mustapha
Pr. EL GUESSABI Lahcen
Pr. ETTAIB Abdelkader
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes
Pr. HAMZAOUI Laila
Pr. HMAMOUCHE Mohamed
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. KHANFRI Jamal Eddine

Physiologie
Biochimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Génétique Humaine
Applications Pharmaceutiques
Microbiologie
Biochimie
Physiologie
Chimie Analytique
Pharmacognosie
Zootechnie
Pharmacologie
Biophysique
Chimie Organique
Biotechnologie
Biologie

Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
Pr. REDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed
Pr. ZELLOU Amina

Chimie Organique
Biochimie
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique

Enseignants Militaires

DEDICACES





A ma chère mère

DALIL Malika

Aucun mot, aussi expressif qu'il soit, ne saurait remercier à sa juste valeur l'être qui a consacré sa vie à parfaire notre éducation avec un dévouement inégal associé à beaucoup de sacrifice.

Vous vous êtes investi à me transmettre le sens de la responsabilité, de la persévérance et de la droiture.

Merveilleuse maman j'espère que j'ai été à la hauteur de vos espérances.

Que ce modeste travail soit un début de mes récompenses envers vous.

Puisse Dieu vous garder longtemps auprès de nous et vous bénir infiniment.

A mon cher père

TAKI IMRANI Mohamed Abdelhay

Aucune dédicace ne saurait exprimer le respect et l'amour que je vous porte.

Vous m'aviez soutenu et encouragé tout au long de mon parcours.

Pour votre amour constant, je suis et je resterai pour toujours obéissante.

Que ce travail soit le gage de ma reconnaissance et de ma gratitude.

Que Dieu le tout puissant puisse vous bénir, et vous accorder une longue vie pleine de bonheur et de satisfaction.



*A mes chers frères jumeaux
Achraf & Akram*

Vous constituez ce qui m'est le plus cher.

Vous avez été constamment ma source de joie et de fierté.

Les mots ne sauraient exprimer l'étendu de mon affection et de ma gratitude.

*Je vous dédie ce travail et vous exhorte au resserrement des liens de la famille
dans l'amour, le respect et le courage.*

Que notre Seigneur vous accorde réussite, bonheur, santé et prospérité.

*A mon cher oncle
Dr. Abdeladim*

Vous avez toujours été présents pour les bons conseils.

*Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au
long de mon cursus universitaire.*

*Veillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour
tous vos efforts.*



A tous les membres des deux familles
TAKI IMRANI & DALIL
petits et grands

*Je ne saurais vous remercier pour tout le soutien que vous m'avez accordé, vous
avez toujours été présent pour moi.*

*Que ce travail soit témoignage de ma profonde affection, de ma reconnaissance
pour votre soutien durant toutes ces années d'études.*

Puisse Dieu vous accorder santé et prospérité.

A mes amis et confrères

*Du Début à la fin vous avez été présent. Vous m'avez accueillie avec sincérité,
et j'ai eu le privilège de trouver une deuxième famille à vos côtés.*

*Voici le reflet de l'amitié, de la bonne entente, et de l'aboutissement de tous vos
efforts pour faire de moi ce que je suis.*

Ce travail vous ait dédié avec toute ma reconnaissance et mon amitié sincère.

Que le Tout Puissant, notre Dieu, vous comble de joie, de longévité, de santé.



*A tous les professeurs auprès de qui j'ai eu l'honneur
d'apprendre.*

*A tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la
réalisation de ce travail.*

*A toutes les personnes non citées et qui savent que je pense
à eux.*

REMERCIEMENTS





À notre maître et président de thèse

Monsieur le professeur Abdelkader BELMEKKI

Professeur d'Hématologie

à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat

*Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant la
présidence de notre jury de thèse.*

Vous nous avez accueillis avec beaucoup de gentillesse et d'égard.

*Vos compétences, vos qualités humaines et la richesse de votre enseignement
n'ont jamais cessé de susciter en nous l'admiration la plus profonde.*

Veillez croire, cher maître à notre estime et notre respectueuse considération.



À notre maître et directeur de thèse

Monsieur le professeur Azlarab MASRAR

Professeur d'Hématologie biologique

à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat

Nous vous sommes infiniment reconnaissants pour votre investissement dans ce travail et pour la confiance que vous nous avez témoigné en me permettant de traiter ce sujet de thèse.

Permettez-nous de vous remercier pour l'accueil chaleureux que vous nous avez réservé durant notre stage de quatrième année au sein du Laboratoire central d'Hématologie-CHU Ibn Sina-RABAT.

Votre amabilité, votre sérieux, votre compétence, votre pragmatisme et surtout vos qualités humaines nous ont beaucoup marquée.

Veillez recevoir, cher maître, l'expression de nos vifs remerciements et notre profond respect.



A notre maître et juge de thèse

Monsieur le professeur Abdellah DAMI

Professeur de Biochimie

à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat

C'est pour nous un immense honneur de vous avoir dans notre jury.

*Votre modestie, votre honnêteté et votre bonté ont toujours suscité en nous une
profonde admiration.*

*Veillez trouver, cher maître, à travers ce modeste travail la manifestation de
notre plus haute estime et de nos sentiments les plus respectueux.*



À notre maître et juge de thèse

Madame le Professeur Souad BENKIRANE

Professeur d'Hématologie

à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat

*Vous nous faites l'honneur d'accepter avec une très grande amabilité de siéger
parmi notre jury de thèse.*

*Veillez accepter ce travail maître, en gage de notre grand respect et notre
profonde reconnaissance.*

Sommaire

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE :	
PHYSIOLOGIE DU CYCLE CELLULAIRE ET CORRELATION A	
L'HEMATOPOIESE	
I-HISTORIQUE	4
II-GENERALITES	5
III-LES PHASES DU CYCLE CELLULAIRE	6
III.1 La phase G1 (Intervalle entre mitose et synthèse de l'ADN)	7
III.2 La phase S (Synthèse de l'ADN)	7
III.3 La phase G2 (Intervalle entre synthèse de l'ADN et mitose)	8
III.4 La phase M (Mitose)	8
IV-REGULATION DU CYCLE CELLULAIRE & ONCOGENESE	9
IV.1 Dérégulation des mécanismes moléculaires du contrôle du cycle cellulaire	10
A-L'ADN	10
1-Altérations conformationnelles	10
2-Altérations nucléotidiques	12
a) L'instabilité NIN ou nucléotidique	12
b) L'instabilité MIN ou microsatellitaire	13
c) L'instabilité CIN ou chromosomique	13
B-L'ARN messenger (ARNm).....	15
1-La transcription	15
2-La maturation des ARNm	17

3-La stabilité de l'ARNm.....	17
C-La protéine.....	19
1-La traduction	19
2-La stabilité et la dégradation des protéines.....	21
IV.2 Thérapeutique anticancéreuse et cycle cellulaire.....	24
V-HEMATOPOÏÈSE NORMALE OU PHYSIOLOGIQUE	25
V.1 Les cellules hématopoïétiques.....	25
A-Les cellules souches hématopoïétiques.....	27
1-Capacité de reconstitution de l'hématopoïèse	27
2-Capacité d'auto-renouvellement des CSH.....	30
3-Pluripotence ou potentiel de différenciation multilignage	35
B-Les progéniteurs hématopoïétiques.....	38
C-Les précurseurs hématopoïétiques	38
V.2 Le microenvironnement médullaire	39
A-Interaction directe CSH-niche.....	42
B-Facteurs de croissance et cytokines de la niche hématopoïétique	44
C-Les composants de la matrice extra-cellulaire	44
VI-HEMATOPOÏÈSE ET CYCLE CELLULAIRE	46
VI.1 Les CSH	47
A-Statut du cycle cellulaire dans les CSH	47
B-Régulateurs du cycle cellulaire dans les CSH.....	47
1-p21WAF1 & CSH.....	48
2-p18INK4C.....	48
3-p16INK4A, p19ARF	49
4-Rb	49
5-Les cyclines et CDK	49

C-Niche hématopoïétique et cycle cellulaire	50
VI.2 Au cours de la différenciation hématopoïétique	51
A-Cycle cellulaire & différenciation.....	51
B-Régulateurs du cycle cellulaire & différenciation.....	51
1-p21WAF1	51
2-p27KIP1	52

DEUXIEME PARTIE :

LES HEMOPATHIES MALIGNES :

MODELE DU MYELOME MULTIPLE

I-CLASSIFICATION DES HEMOPATHIES MALIGNES	54
I.1 Contexte historique	54
I.2 Classification actuelle selon l’OMS	56
II-EPIDEMIOLOGIE.....	60
III-MYELOME MULTIPLE	62
III.1 Introduction	62
III.2 Etiologie	62
III.3 Epidémiologie	63
III.4 Physiopathologie et implication de la régulation du cycle cellulaire	64
A-Origine de la cellule tumorale myélomateuse.....	64
B-Cytogénétique et altérations moléculaires	65
1-Translocation impliquant la région 14q32	66
2-Hyperdiploidie	67
3-Délétion du bras long du chromosome 13	67
4-Gains de copies du bras long du chromosome 1.....	68
5-Délétion du bras court du chromosome 17	68
C-L’environnement médullaire du MM	69

D-L'adhésion des cellules de myélome multiple aux cellules stromales et aux protéines de la matrice extracellulaire	70
E-Rôle des cytokines et des facteurs de croissance dans le myélome multiple.....	72
1-L'interleukine-6 (IL-6)	72
2-L'insulin-like growth factor-1 (IGF-1).....	73
3-Vascular endothelial growth factor (VEGF).....	74
4-Interferon alpha (INF α).....	74
5-Le tumor necrosis factor α (TNF- α)	75
6-Hepatocyte growth factor (HGF).....	75
7-Les membres de la famille epidermal growth factor (EGF)	75
8-B cell activating factor of the TNF family/a proliferation-inducing ligand (BAFF/APRIL).....	76
9-SDF-1 α	77
10-Les ligands de Notch : JAG1 et JAG2.....	78
11-Les Wnt (wingless integration site)	78
12-Le fibroblast growth factor-2 (FGF-2).....	79
13-Le transforming growth factor β (TGF- β)	79
14-L'interleukine-10, -15 et -21 (IL-10, IL-15 et IL-21).....	80
15-Les inhibiteurs des voies de signalisation activées dans le MM	80
a) L'inhibition de la voie JAK/STAT	81
b) L'inhibition de la voie PI3K/AKT	81
c) L'inhibition de la voie Ras/MAPK	82
d) L'inhibition de la voie NF- κ B	83
III.5 Circonstances	83
A-Atteinte osseuse.....	84

B-Anémie	84
C-Infections	85
D-Insuffisance rénale	85
E-Amylose AL	85
III.6 Aspects biologiques.....	86
III.7 Diagnostic positif du myélome multiple	89
A-Gammmapathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS)	89
B-Myélome multiple indolent	90
C-Myélome multiple symptomatique	90
D-Plasmocytome solitaire	92
E-Leucémie à plasmocytes.....	92
III.8 Facteurs pronostiques	93
III.9 Bilan radiographique	95
A-Radiographie standard	95
B-Tomodensitométrie (TDM)	95
C-Imagerie par résonance magnétique (IRM)	97
D-Tomographie par émission de positons au 18-FDG couplée au scanner ...	98

TROISIEME PARTIE :

BASES ACTUELLES DU TRAITEMENT DU MYELOME MULTIPLE

I-INTRODUCTION	101
II-SUBSTANCES UTILISEES	101
II.1 Agents alkylants et corticostéroïdes	101
II.2 Les inhibiteurs du protéasome	102
II.3 Les «imides»	102
II.4 Les anthracyclines	102
II.5 Les bisphosphonates	102

III-OPTIONS ET PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES	103
III.1 Traitement du patient éligible pour une autogreffe	103
III.2 Traitement du patient non éligible pour une autogreffe.....	105
III.3 Traitement à la rechute	105
CONCLUSION	106
RESUMES	108
REFERENCES	112

Liste des abréviations

18-FDG : 18-fluorodésoxyglucose

18-FDG TEP-TDM : Tomographie par émission de positons au 18-FDG couplée au scanner

5-FU : 5-Fluorouracile

ABL : de Abelson leukemia virus

Ac : Anticorps

AKT : du nom d'un oncogène viral

ANG-1 : Angiopoïétine-1

APRIL : A proliferation-inducing ligand

ARE : Adénines et uridines-Rich Element

ARE-BP : ARE binding protein

AREG : Amphiréguline

ARNm : ARN messenger

ASCT : Autologous Stem Cell Transplant

ATM : Ataxia Telangiectasia Mutateds

BAFF : B cell activating factor of the TNF family

BAX : BCL2-associated X protein

Bcl : B-cell lymphoma

BCMA : B cell maturation antigen

BCR : Breakpoint cluster region

BER : Base excision repair

BFU-E : Burst Forming Unit-Erythroid

BMP-4 : Bone morphogenic proteins-4

BMSC : Bone marrow stromal cell

BRCA : Breast cancer protein

BrdU : Bromodéoxyuridine

CAM-DR : Cell adhesion mediated drug resistance

CCND1 : Gène codant pour la cycline D1

CD : Cluster of Differentiation

CDK : Cyclin-dependent kinase

CDKI : Cyclin-dependent kinase inhibitor

CFU-E : Colony Forming Unit- Erythrocyte

CFU-G : Colony Forming Unit- Granulocyte

CFU-GM : Colony Forming Unit-Granulocyte and Macrophage

CFU-GEMM : Colony Forming Unit- Granulocyte Erythrocyte Macrophage and Megacaryocyte

CFU-M : Colony Forming Unit- Monocyte

CFU-Meg : Colony Forming Unit- Megacaryocyte

CFu-Mix : Progéniteurs de plusieurs lignages

CIM-O : Classification internationale des maladies pour l'oncologie

CKI : Cycline kinase inhibitors

CLL : Leucémie lymphoïde chronique

CLP : Common lymphoid progenitors

CMP : Common myeloid progenitors

COX : Cyclo-oxygénase

CRAB : Calcium elevation/Renal disease/Anemia/Bone disease

c-Rel : Reticulo-endotheliosis viral oncogene homolog

CRP : C reactive protein

CS : Cellules souches

CSH : Cellules souches hématopoïétiques

CSM : Cellules souches mésenchymateuse

CXCR4 : Récepteur de chimiokine de type CXC4

DKK-1 : Dickkopf-1

DNMT : ADN méthyltransférases

eEF : eucaryotic Elongation Factor

EGF : Epidermal growth factor

EGFR : Epidermal growth factor receptor

eIF : eukaryotic Initiation Factor
EPO : Érythropoïétine
ERBB : de Erythroblastosis B virus
ERK : Extracellular signal-regulated kinase
FAB : French-American-British
FGF-1 : Fibroblast growth factor-1
FGFR3 : Fibroblastic growth factor receptor 3
FISH : Fluorescent in situ hybridization
FLT : FMS-like tyrosine kinase
Fos : de Finkel, Biskis and Jinkins osteosarcoma virus
FT : Facteurs de transcription
G-CSF : Granulocyte-Colony Stimulating Factor
GM-CSF : Granulo-Macrophage-Colony Stimulating Factor
GMP : Granulocyte macrophage precursors
GMSI ou MGUS : Gammopathies monoclonales de signification indéterminée
gp130 : IL6 signal transducer
GSK-3 β : Glycogene synthase kinase 3 β
HB-EGF : Heparin-binding EGF-like growth factor
HDAC : Histone deacetylase
Hes1 : Hairy and enhancer of split 1
HGF : Hepatocyte growth factor
HGF-A : HGF activator
HMCL : Human myeloma cell line
hnRNP : heterogenous nuclear Ribo-Nucleo-Protein
Hox : Homeobox
ICAM : Intercellular adhesion molecule
IFN : Interferon alpha
Ig : Immunoglobuline
IGF : Insulin-like growth factor
IKK : Inhibitor of NF κ B kinase

IL : Interleukine
IMWG : International Myeloma Working Group
IRM : Imagerie par résonance magnétique
ISS : International Staging System
JAG : Jagged
JAK : Janus kinase
JNK : c-jun N-terminal kinase
K-Ras : Kirsten RAS
KSL : Kit/Sca/Lin
LAM : Leucémies aiguës myéloïdes
LDH : Lactate déshydrogénase
LFA-1 : Lymphocyte function-associated antigen 1
LIF : Leukemia inhibitory factor
LINE : Long interspersed nuclear element
LNH : Lymphomes Non Hodgkiniens
LTC-IC : Long Terme Culture-Initiating Cell
LT-HSC : Long Term-Hematopoietic Stem Cells
MAF : de l'oncogène viral Musculo-aponeurotic fibrosarcoma
MAPK : Mitogen-activated protein kinase
M-CSF : Monocyte-Colony Stimulating Factor
MDM2 : Murine double-minute p53 binding protein
MDR : Multidrug resistance
MEC : Matrice extra-cellulaire
MEK : MAPK-ERK kinase
MEP : Megacaryocyte erythrocyte precursor
Met-ARNT : ARN de transfert porteur de la Méthionine
MGF : Mast cell growth factor
miRNA : microRNA
mKL : membrane bound Kit Ligand
MLH : Human mismatch repair

MM : Myélome multiple
MMC : Myélome Multiple cell
MMP : Métalloprotéase
MMR : Mismatch Repair
MO : Moelle osseuse
MPP : Multipotent progenitors
mTOR : mammalian Target Of Rapamycin
MUC1 : Mucine 1
Myc : de Myelocytomatosis virus
NER : Nucleotide excision repair
NK : Natural Killer
NF-κB : Nuclear factor kappa B
NOD : Nucleotide binding and oligomerization domain
N-Ras : Neuroblastoma RAS
NRG-1 : Neuréguline-1
ODC : Ornithine décarboxylase
OMS : Organisation mondiale de la santé
p18^{INK4C} : Inhibiteur de kinase de 18 kDa
p27^{KIP1} : Inhibiteur de kinase de 27 kDa
PARP : Poly (ADP)-ribose polymerase
PI3K : Phasphatidylinositol-3 kinase
PLAU : Urokinase type plasminogen activator
pRB : Retinoblastoma protein
PTEN : Phosphatase and tensin homolog
RANK-ligand : Receptor activator of NF-κB ligand
RAS : de Rat sarcoma virus
RB : Retinoblastoma
REAL : Revised European-American Lymphoma
RIC-allo : Greffe allogénique à conditionnement réduit
RISC : RNA induced silencing complex

SCF : Stem cell factor

SCID : Severe combined immunodeficiency

SDF-1 α : Stromal cell derived factor-1 α

Shc/Grb2/SOS : SH2 domain-containing/Growth factor receptor binding protein 2/ Son of sevenless

SMRT : Silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptors

SRP : Serine-arginine Rich Protein

STAT : Signal transducer and activator of transcription

ST-HSC : Short Term-Hematopoietic Stem Cells

TACI : Transmembrane activator and CAML interactor

TDM : Tomodensitométrie

TGF : Transforming growth factor

TIE2 : Tyrosine kinase with immunoglobulin-like and EGF-like domains 2

TNF : Tumor necrosis factor

tp53 : Tumor protein 53

TPO : Trombopoïétine

Tra2-B1 : Transformer-2-beta1

UTR : UnTranslated Region

VCAM : Vascular cell adhesion molecule

VCD : Bortezomib -Cyclophosphamide-Dexaméthasone

VD : Bortezomib-Dexaméthasone

VEGF : Vascular endothelial growth factor

VGPR : Very good partiel remission

VLA : Very-late-activating antigens

VRD : Bortezomib -Lenalidomide-Dexaméthasone

VS : Vitesse de sédimentation

VTD : Bortezomib -Thalidomide-Dexaméthasone

Wnt : Wingless integration site

Liste des figures

Figure 1 : Les étapes du cycle cellulaire.....	6
Figure 2 : Différents types d'altération de la méthylation de l'ADN au cours de la tumorigenèse.....	11
Figure 3 : Voies de signalisation et principaux oncogènes ou suppresseurs de tumeurs (Myc, p16, ABL...) impliqués dans la tumorigenèse.....	16
Figure 4 : Mécanisme d'initiation de la traduction et facteurs limitants dérégulés dans le cancer : eIF4E, eIF4G, eIF2, eIF2(P), eIF2B, eIF3.....	20
Figure 5 : Ubiquitinylation des protéines en vue de leur destruction.....	23
Figure 6 : Schéma de l'hématopoïèse.....	26
Figure 7 : Modèle de différenciation des CSH.....	28
Figure 8 : Divisions symétrique et asymétrique des CSH dans le temps (t).....	32
Figure 9 : Les trois grandes voies morphogènes régulant l'auto-renouvellement des CSH....	33
Figure 10 : Modèle de régulation du devenir des CSH par l'adhésion à la niche hématopoïétique contrôlée par le niveau de c-Myc.....	37
Figure 11 : Niche hématopoïétique au sein de la moelle osseuse.....	41
Figure 12 : La synapse ostéoblaste/CSH.....	43
Figure 13 : Incidence des différentes catégories d'hémopathies malignes chez l'homme et chez la femme dans différentes régions du monde.....	61
Figure 14 : Interactions entre les cellules du MM et le micro environnement médullaire.....	70

Figure 15 : Electrophorèse des protéines sériques montrant un pic monoclonal migrant dans la zone des gammaglobulines.....	87
Figure 16 : Radiographie de crâne de face (A) et de profil (B).....	96
Figure 17 : Tomodensitométrie lombaire.....	97
Figure 18 : Imagerie par résonance magnétique rachidienne dorsolombaire pondérée en T1 (A) puis T1 gadolinium (B).....	98

Liste des tableaux

Tableau I : Analyse du niveau d'aneuploïdie dans divers types de cancers humains.....	15
Tableau II : Classement de l'OMS pour les tumeurs lymphoïdes et du système hématopoïétique.....	57
Tableau III : Circonstances de découverte au cours du myélome multiple.....	84
Tableau IV : Caractéristiques biologiques.....	88
Tableau V : Critères diagnostiques de l'International Myeloma Working Group (IMWG)...	91
Tableau VI : Stade selon la classification de Durie-Salmon.....	94
Tableau VII : Définition des stades de l'International Staging System (ISS) et impact sur la survie.....	94

INTRODUCTION

La dérégulation de l'homéostasie hématopoïétique peut être à l'origine des hémopathies malignes [1]. Ce dysfonctionnement peut être consécutif à une expression inadaptée ou à des altérations structurales de certains gènes suite à des mutations ponctuelles ou à des anomalies de structures telles que les translocations chromosomiques [2].

Les cancers hématologiques ou hémopathies malignes regroupent des entités nosologiques variées. On distingue schématiquement deux grands groupes : les leucoses ou leucémies à point de départ intra médullaire et les syndromes immuno-prolifératifs développés initialement le plus souvent au niveau des organes lymphoïdes secondaires, plus exceptionnellement au niveau de la moelle osseuse [3].

Dans la troisième édition de la CIM-O (Classification internationale des maladies pour l'oncologie), les classifications font l'objet de révisions et de mises à jour pour toutes les tumeurs, mais les révisions les plus importantes portent sur les pathologies hématologiques malignes. L'élaboration de cette troisième édition se justifie notamment par l'attribution de codes aux nouvelles classifications des pathologies hématologiques [4].

La connaissance des mécanismes régulant la division des cellules eucaryotes a progressé très rapidement au cours des dernières années et les molécules régulatrices du cycle cellulaire jouent un rôle de plus en plus important dans les processus cancéreux [5].

Nous nous proposons dans le présent travail de décrire les principaux mécanismes de contrôle du cycle cellulaire. Nous aborderons, à travers l'exemple du myélome multiple, les liens entre la dérégulation du cycle cellulaire et l'oncogénèse.

Le myélome multiple (MM) étant caractérisé par une prolifération monoclonale de plasmocytes envahissant la moelle osseuse et sécrétant une immunoglobuline monoclonale. C'est une maladie rare qui représente environ 80% des gammopathies monoclonales malignes et 15% des hémopathies malignes [6].

PREMIERE PARTIE :
PHYSIOLOGIE DU
CYCLE CELLULAIRE
ET CORRELATION A
L'HEMATOPOIESE

I. HISTORIQUE :

Jusqu'au XIX^e siècle, les scientifiques n'avaient qu'une vague idée des éléments qui constituent les êtres vivants et de la façon dont ceux-ci peuvent se développer et croître.

En 1665, l'Anglais Robert Hooke avait bien décrit les unités microscopiques qu'il discernait, avec un microscope de sa fabrication, dans des coupes de liège. Il les nomma cellules, du latin cellula, petite chambre.

À la fin des années 1830, deux Allemands, le botaniste Matthias Schleiden (1804-1881), puis le zoologiste Théodor Schwann (1810-1882), ont proposé la « théorie cellulaire » faisant de la cellule l'unité de base de tout organisme vivant.

En 1858, l'Allemand Rudolf Virchow (1821-1902) a complété cette théorie en formulant le célèbre axiome : « toute cellule provient d'une cellule », conduisant au concept de multiplication cellulaire par division. L'œuf issu de la fécondation d'une cellule sexuelle femelle par un gamète mal, et qui donne naissance à un embryon à partir duquel se construit, division après division, un organisme aussi complexe que l'homme, est devenu, à la fin du XIX^e siècle, le symbole de ce processus vital.

Cependant, au cours du développement embryonnaire, les cellules se différencient pour permettre la formation des divers organes. Au cours de ce processus, la division cellulaire est inhibée dans certaines régions de l'embryon. De même, chez les organismes pluricellulaires adultes, il existe une hétérogénéité parmi les cellules. Certaines cellules différenciées ne se divisent plus (cellules du muscle squelettique par exemple), d'autres continuent à se diviser pendant toute la vie de l'organisme (c'est le cas des cellules souches hématopoïétiques), d'autres enfin ne se divisent que pour réparer une lésion ou compenser la mort d'autres cellules (cellules de la peau par exemple). Toutes ces différences ne peuvent s'expliquer que par l'existence d'un mécanisme de contrôle de la division cellulaire.

Il fallait donc identifier les molécules participant à la croissance et à la division de la cellule pour élucider les mécanismes de régulation du cycle de division. Ces molécules ont été découvertes dans les levures, les œufs d'amphibiens puis dans les cellules de mammifères.

Cela a permis de proposer des principes généraux qui semblent régler la division cellulaires chez des êtres vivants aussi différents que l'homme, la levure de bière (*saccharomyces cerevisiae*) ou encore la levure fissile (*saccharomyces pombe*). Du coup ces découvertes ont ouvert la voie à une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires de la cancérisation qui découle de la multiplication de cellules anormales [5].

II. GENERALITES :

Le cycle cellulaire constitue l'ensemble des événements qui séparent la naissance d'une cellule de celle des deux cellules filles qui en sont issues. Il intègre un cycle de croissance continu (augmentation de la masse cellulaire) et un cycle de division ou cycle chromosomique discontinu (réplication de l'ADN et répartition du génome dans les deux cellules filles). L'entrée dans le cycle de division représente donc l'exécution du programme de prolifération cellulaire, en réponse aux messages apportés par des facteurs de croissance. La transduction de ces messages aboutit en effet, entre autres, à la transcription de gènes nécessaires à l'initiation du cycle cellulaire, la cycline D1 par exemple. Le contrôle du cycle cellulaire est d'une importance capitale dans l'oncogenèse, qui s'accompagne d'une perturbation de la régulation normale du cycle [7].

La division des cellules de l'organisme est nécessaire au maintien de l'homéostasie tissulaire en assurant le renouvellement des cellules qui ont disparu au cours de phénomènes de mort naturelle ou accidentelle. La régulation du taux de renouvellement des cellules est nécessaire à la survie de l'organisme, cette régulation passe par un ajustement fin du cycle cellulaire d'une part et par un ajustement de la mort cellulaire programmée ou apoptose.

La transmission fidèle de l'information génétique à chaque division cellulaire est essentielle au développement normal d'un organisme, et par la suite à sa survie [8].

Les cellules sanguines ont une durée de vie limitée. Ces cellules meurent d'épuisement métabolique ou d'agression et sont donc remplacées en permanence. La régulation médullaire de la différenciation et de la maturation hématopoïétique, des étapes les plus précoces jusqu'à

la maturation terminale, dépend essentiellement des cytokines et de l'existence d'un microenvironnement médullaire [9].

III. LES PHASES DU CYCLE CELLULAIRE :

Les eucaryotes, de la levure à l'homme, ont des cycles de division similaires. Les premières études par microscopie optique ont permis de définir cinq étapes dans le cycle cellulaire : G0, G1, S, G2 et M [5] (Figure1).

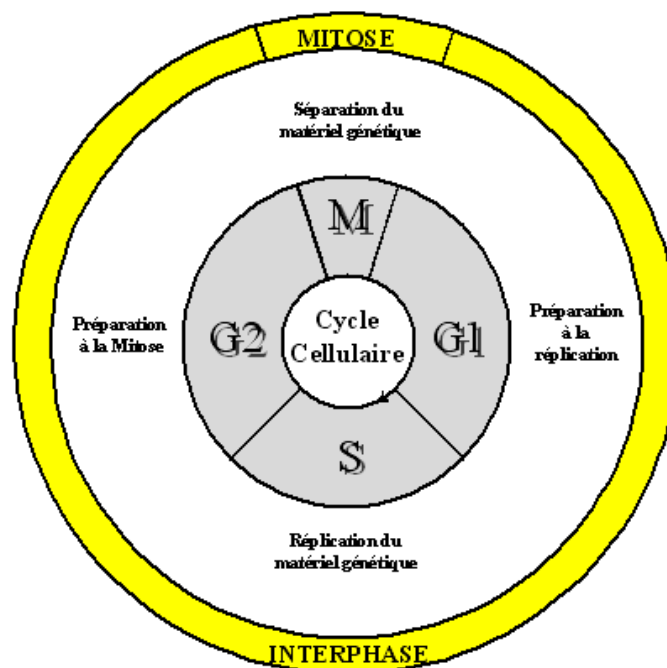


Figure 1. Les étapes du cycle cellulaire.

Du cycle cellulaire n'étaient connues au départ que la mitose et l'interphase; la réplication de l'ADN a ensuite été reconnue comme une phase active, séparée de la mitose par deux « intervalles » ou *gaps*. Ces intervalles ne sont en aucun cas des phases de repos, mais des moments où se préparent activement les événements conduisant à la réplication de l'ADN ou à la mitose [7].

III.1 La phase G1 (Intervalle entre mitose et synthèse de l'ADN) :

C'est la phase la plus longue et la plus variable du cycle. Si les nutriments font défaut ou si les cellules reçoivent un stimulus antiprolifératif, tel qu'un signal de commande d'une différenciation terminale, les cellules peuvent retarder leur progression dans le cycle ou sortir du cycle et entrer en quiescence (phase G0). La progression à travers G1 est régulée par un point de contrôle (checkpoint) des lésions de l'ADN en G1. Quand les cellules l'ont franchi, le cycle est amorcé sans qu'il y ait possibilité de l'interrompre. La préparation de la réplication de l'ADN se fait par la dé-répression de facteurs de transcription des gènes nécessaires à cette réplication. Cette dé-répression implique leur libération à partir de protéines qui les retiennent inactifs que l'on appelle les « *pocket proteins* ». La synthèse des nucléotides puriques et pyrimidiques qui seront incorporés dans l'ADN nécessite en particulier des enzymes comme la dihydrofolate réductase, la thymidylate synthétase et bien d'autres.

III.2 La phase S (Synthèse de l'ADN) :

La réplication de l'ADN est initiée simultanément à de nombreux sites différents, appelés origines de réplication. Chaque région du chromosome répliquée à partir d'un site donné est appelée réplicon. Chaque groupe de réplicons se réplique à un instant caractéristique de la phase S, en général au début pour les régions du génome transcrites activement, tandis que les régions d'hétérochromatine inactive se répliquent plus tard. Durant la phase G1, les chromosomes se modifient afin d'obtenir « l'autorisation » de se répliquer

par la liaison de protéines particulières aux origines de réplication pour former un complexe de pré-réplication. Au fur et à mesure de la réplication, ces complexes sont inactivés, empêchant ainsi les régions du chromosome de se répliquer deux fois au cours d'un même cycle. Les étapes de la phase S comportent l'ouverture de la double hélice (hélicases, topoisomérase 2), la synthèse d'ADN (primase, polymérase, etc.). Outre ces enzymes, interviennent de nombreuses protéines associées aux processus d'initiation, d'élongation et de terminaison, ainsi que des histones pour l'empaquetage de l'ADN dans les nucléosomes.

III.3 La phase G2 (Intervalle entre synthèse de l'ADN et mitose) :

Au cours de la phase G2, les cellules corrigent la structure de l'ADN et se préparent à la mitose. Si de l'ADN endommagé ou non répliqué est détecté au point de contrôle (*checkpoint*) des lésions de l'ADN en G2, une cascade de protéine kinases se déclenche, aboutissant à l'inactivation de la progression des cellules dans le cycle. Par ailleurs des mécanismes de protection empêchent la cellule de redémarrer un processus de synthèse de l'ADN tant qu'une mitose n'a pas été mise en œuvre.

III.4 La phase M (Mitose) :

Au cours de la phase M et de la cytotéiérèse qui s'ensuit, les chromosomes et le cytoplasme se divisent pour former deux cellules filles. La ségrégation des chromosomes est contrôlée par le point de contrôle de la métaphase, qui retarde le début de la séparation des chromatides sœurs jusqu'à ce que les chromosomes soient correctement alignés sur la plaque équatoriale du fuseau mitotique.

La mitose se compose de cinq phases :

- la *prophase*, ou début de condensation des chromosomes et formation du fuseau mitotique ;
- la *prométaphase*, avec résorption de l'enveloppe nucléaire et fixation aléatoire des chromosomes aux microtubules émanant des deux pôles du fuseau mitotique ;

- la métaphase, avec alignement des chromosomes à mi-distance entre les deux pôles ;
- l'*anaphase*, phase de séparation des deux chromatides sœurs et migration en direction des deux pôles du fuseau ;
- la *télophase*, où l'enveloppe nucléaire se reforme autour de la chromatine. Au cours de cette phase, un anneau contractile d'actine et de myosine s'assemble dans le cortex, à mi-distance entre les deux pôles, et resserre la zone équatoriale. Ce processus, appelé cytotérièse, sépare les deux cellules filles l'une de l'autre [7].

IV. REGULATION DU CYCLE CELLULAIRE & ONCOGENESE :

Les cellules tumorales acquièrent séquentiellement des propriétés (autosuffisance en signaux de croissance, insensibilités aux signaux inhibiteurs de la croissance, échappement à la mort programmée par apoptose, potentiel réplicatif illimité, angiogenèse, invasion tissulaire et métastase) qui leur procure un avantage de croissance par rapport aux cellules normales dont elle dérivent. L'acquisition de ces propriétés s'accompagnent d'une dérégulation d'expression et/ou de fonction de produits d'expression génétique que l'on peut, de manière très simplifiée, séparer en deux grands groupes : (i) des facteurs pro-tumoraux (oncogènes, facteurs de croissance, récepteurs, régulateurs positifs du cycle cellulaire...) dont l'activité et/ou l'expression est augmentée lors du processus tumoral ; et (ii) des facteurs anti-tumoraux (suppresseurs de tumeurs, régulateurs négatifs du cycle cellulaire, complexes contrôlant l'intégrité du génome, facteurs pro-apoptotiques, ...) qui à l'inverse sont le plus souvent sous-exprimés ou inactivés dans les tumeurs.

La dérégulation de l'expression de ces gènes peut intervenir aussi bien au niveau du gène que de ses produits, l'ARN messenger puis la protéine. L'ADN, support de l'information génétique, peut en effet être la cible de modifications épigénétiques, de mutations ponctuelles ou encore de remaniements chromosomiques. L'ARNm, intermédiaire entre gène et protéine, est également un maillon essentiel dans la dérégulation de l'expression des gènes au cours de la tumorigenèse ce qui explique l'engouement qu'à suscité l'établissement de profils

d'expression différentielle par puces nucléotidiques dans la recherche des marqueurs diagnostiques et pronostiques ou de cibles thérapeutiques [10].

Enfin, des altérations du contrôle de la traduction et/ou de la stabilité des protéines peuvent de la même manière être responsables de variations d'accumulation des protéines dans la cellule tumorale [11].

IV.1 Dérégulation des mécanismes moléculaires du contrôle du cycle cellulaire :

A. L'ADN :

L'ADN peut être la cible de deux grands types d'altérations : (i) conformationnelles qui, suite à des modifications épigénétiques (méthylation, modifications post-traductionnelles des histones) perturbent notamment l'état de compaction de la chromatine et par conséquent l'accessibilité des facteurs de transcription et de la machinerie transcriptionnelle ; et (ii) nucléotidiques qui, sous l'influence d'une instabilité génétique peuvent conduire à des mutations ponctuelles jusqu'à d'importants remaniements chromosomiques [11].

1. Altérations conformationnelles :

La méthylation de l'ADN est une modification covalente exercée par des ADN méthyl transférases (DNMT) sur les cytosines des di-nucléotides CpG concentrés dans de courtes régions appelées îlots CpG [12], et présents préférentiellement au niveau du promoteur et du premier exon de plus de 60% des gènes humains [13].

L'ADN est globalement sous-méthylé dans les cellules tumorales ce qui participerait à l'activation de gènes impliqués dans le processus d'invasion et de métastase comme la protéase PLAU (urokinase type plasminogen activator) dans les cancers du sein et de la

prostate [14]. Cette hypo-méthylation peut également favoriser la prolifération cellulaire, notamment en affectant le gène codant l'IGF2 (Insulin-Like growth factor) comme c'est le cas dans les tumeurs de Wilm's [15] (Figure 2a) mais semble toutefois essentiellement participer à l'instabilité génomique régulièrement associée au processus cancéreux, en touchant les régions euchromatiques centromériques ou les séquences répétées de type LINE (long interspersed nuclear element) dans le cancer colorectal et les leucémies lymphoïdes chroniques par exemple (Figure 2b).

Une hyper-méthylation peut cependant également être observée au niveau de loci particuliers (Figure 2c) [11]. L'expression des méthylases DNMT1 et DNMT3B est d'ailleurs augmentée dans plusieurs types de cancers et est corrélée à l'hyper-méthylation des promoteurs de certains gènes suppresseurs de tumeurs comme les gènes codant p16^{INK4A}, CDKN2A et 2B (cyclin-dependent kinase inhibitor), E-cadherin, MLH1 (human mismatch repair), RB1 (retinoblastoma) ou BRCA1 [16].

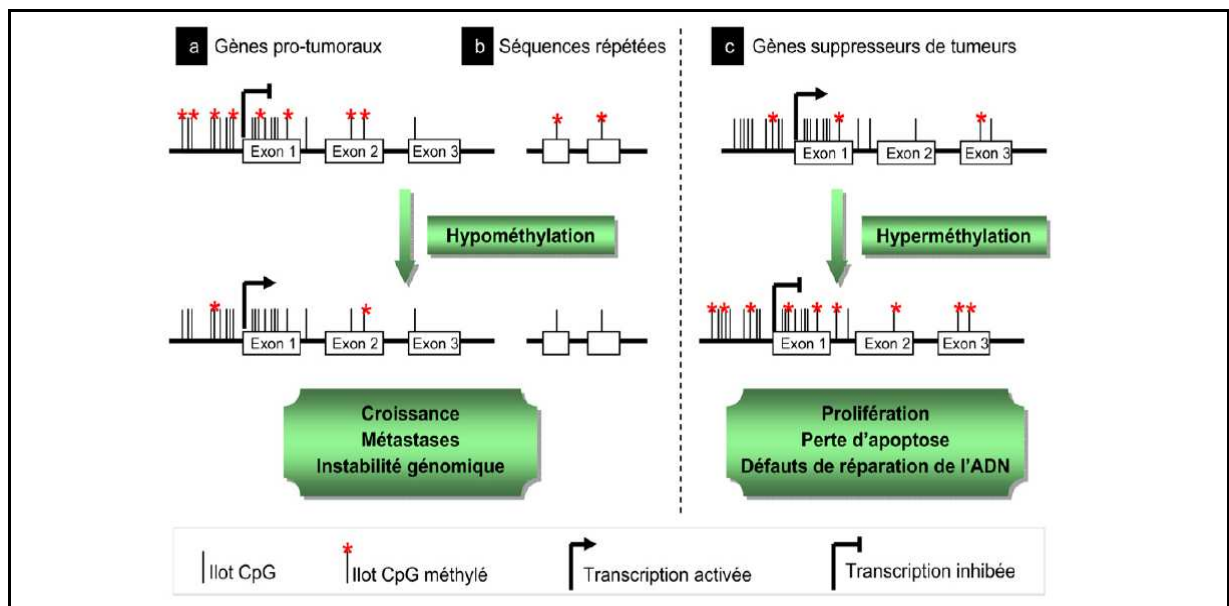


Figure 2. Différents types d'altération de la méthylation de l'ADN au cours de la tumorigenèse

Des modifications post-traductionnelles touchant préférentiellement les résidus lysine des queues des histones H3 et H4 (désacétylation, méthylation, phosphorylation...) et constituant le « code histone » modifient par ailleurs la structure de la chromatine en jouant sur l'interaction ADN-histones et/ou sur le recrutement de complexes transcriptionnels. Un rôle prépondérant des HDAC (histone deacetylase) dans la tumorigenèse est reflété d'une part par la levée de répression de gènes suppresseurs de tumeurs et d'autre part par la régression tumorale consécutives à l'inactivation de ces enzymes. Par exemple, HDAC1 est supprimée dans les cancers de la prostate et associée à la répression du gène codant p21 par désacétylation des histones H3 et H4 présents sur son promoteur [17]. HDAC2 est quant à elle surexprimée dans les carcinomes gastriques et colorectaux et est également associée à une inhibition d'expression de p21 [18].

2. Altérations nucléotidiques :

Le génome des cellules cancéreuses semble être particulièrement instable et la forte aneuploïdie retrouvée dans la plupart des cancers pourrait être l'élément déclencheur de la tumorigenèse avant l'accumulation successive de mutations [19].

On peut distinguer essentiellement trois grands types d'instabilité : NIM, MIN et CIN.

a) L'instabilité NIN ou nucléotidique :

L'instabilité NIN ou nucléotidique, rare dans les cancers et causée par des défauts dans les mécanismes de réparation de l'ADN de type NER (nucleotide excision repair) et BER (base excision repair) et concerne de subtiles changements dans la séquence ADN (substitutions, délétions, insertions de quelques nucléotides) regroupés sous le terme des mutations. Ceux-ci peuvent affecter la séquence codante du gène et conduire à une substitution d'acide aminé ou à l'expression d'une protéine tronquée. Les conséquences peuvent être multiples : altération fonctionnelle de la protéine (perte ou gain de fonction),

modification de la sensibilité à la dégradation et ainsi contribuer à la dérégulation de son niveau d'expression. Certaines mutations peuvent également affecter les séquences régulatrices des gènes. Elles aboutissent alors à une dérégulation du niveau de transcription suite à l'altération de la fixation de facteurs régulateurs. Certaines mutations peuvent au contraire conduire à une réduction de l'activité promotrice.

b) L'instabilité MIN ou microsatellitaire :

L'instabilité MIN ou microsatellitaire, également rare dans les cancers, a lieu spécifiquement au niveau de régions répétées dans le génome comme les séquences polyA ou polyCA. Elle est causée par des défauts du système de réparation MMR (Mismatch Repair).

c) L'instabilité CIN ou chromosomique :

L'instabilité CIN ou chromosomique semble plus universelle dans le processus cancéreux. Les bases moléculaires n'en sont pas clairement établies, mais les mécanismes impliqués dans la condensation des chromosomes, la stabilité des télomères, la formation et l'interaction chromosomes-microtubules ou encore le contrôle de la progression du cycle cellulaire (check-points) peuvent y participer. En particulier des anomalies dans le point de contrôle du fuseau mitotique (spindle check point), assurant la bonne répartition des chromosomes et la répartition des chromatides sœurs, ont été associées au phénomène de CIN, permettant aux cellules de sortir de mitose prématurément et de rentrer dans un nouveau cycle de duplication de leur ADN. De plus, des altérations d'expression ou d'activité de certains acteurs de ce processus ont été retrouvées dans les cancers. Un autre point de contrôle, celui des dommages à l'ADN (DNA-damage check-point) empêche l'entrée en mitose des cellules présentant des mutations a également été impliqué dans cette instabilité. Les chromosomes porteurs d'ADN endommagé peuvent en effet ségréger anormalement ou être la cible d'altérations structurales causées par des cassures simple ou double brin, et

plusieurs gènes impliqués dans ce point de contrôle ont été associés à la tumorigenèse. C'est le cas des gènes ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated), BRC1, BRCA2, et p53 [11].

Les remaniements qui en résultent sont très hétérogènes entre cancers y compris au sein d'un même type de cancer. Ils peuvent être classés en quatre grands groupes : (i) l'aneuploïdie, nombre normal de chromosomes consécutif à une perte ou un gain de chromosomes entiers ou de bras chromosomiques qui reste l'une des propriétés les plus communes des cellules cancéreuses et corrélée à l'agressivité tumorale [20] (*Tableau I*) ; (ii) l'amplification de gènes qui a lieu préférentiellement au niveau des régions contenant des gènes dont la surexpression est associée à des stades plus ou moins précoces de la tumorigenèse et impliqués dans la croissance (ERBB2, EGFR, ...) la prolifération (c-Myc, N-Myc, K-Ras, Cycline D1, ...), l'inhibition de l'apoptose (Bcl2, HDM2, ...), la résistance aux drogues (MDR1, MPR ...) ; (iii) la perte de gènes ou LOH (loss of heterozygosity) qui affecte différents gènes suppresseurs de tumeurs. C'est par exemple le cas des gènes codant p16 (CDKN2A) p15 (CDKN2B) et p53 ou encore de BRCA1 (Breast Cancer 1) et de son homologue BRCA2 ; (iv) les réarrangements géniques qui sont dus à la translocation et la fusion de fragments de chromosomes. Ils conduisent souvent à l'expression de protéines chimériques et/ou placent le gène sous le contrôle du promoteur d'un autre gène entraînant, dans tous les cas, un niveau d'expression anormal. L'un des cas les plus étudiés est celui du chromosome de Philadelphie dû à la translocation de la partie 3' de l'oncogène ABL (Abelson) localisé sur le chromosome 9 et sa fusion à la partie 5' du gène BCR (Breakpoint Cluster Region) donnant naissance à la protéine de fusion BCR-ABL dans les leucémies myéloïdes chroniques [11].

La translocation t(8, 14) de l'oncogène c-Myc ne donne quant à elle pas naissance à une protéine chimérique mais place le gène sous la dépendance du promoteur de la chaîne lourde de l'immunoglobuline H (IgH) et est associée au développement de certaines leucémies et lymphomes, en particulier, du lymphome de Burkitt [21].

Tableau I. Analyse du niveau d'aneuploïdie dans divers types de cancers humains
[20]

	Tumeurs aploïdes (<i>n</i> = 46)	Tumeurs aneuploïdes (<i>n</i> < 68)	Tumeurs aneuploïdes (<i>n</i> > 68)
Tumeurs solides	9%	72%	19%
Sein	15,5%	70%	14,5%
Colon	0,7%	86%	13,3%
Poumon	18%	59%	23%
Mélanome	15%	69%	16%
Ovaire	2,5%	79%	18,5%
Prostate	8%	70%	22%
Astrocytome	3,3%	76%	20,7%
Utérus	4,7%	60%	35,3%
Tumeurs hématopoïétiques	15%	71%	14%
Leucémie myéloïde aigue	29%	69%	2%
Leucémie myéloïde chronique	45%	55%	0%
Lymphome T-Cell	8,5%	88,5%	3%
Lymphome de Burkitt	53%	46%	1%
Lymphome folliculaire	18%	76%	6%
Myélome multiple	21%	72%	7%
Maladie d'Hodgkins	11%	55%	34%

n = nombre de chromosomes.

B. L'ARN messenger (ARNm) :

Synthèse, maturation et stabilité des ARNm peuvent toutes être altérées lors du processus tumoral.

1. La transcription :

La synthèse des ARNm (ou transcription) est un mécanisme cellulaire finement régulé qui requiert une part importante de la machinerie cellulaire puisque plus de 5% de nos gènes codent pour des facteurs de transcription [22].

La transcription peut être dérégulée au niveau de l'ADN par des modifications épigénétiques ou des mutations de sites de liaison pour des facteurs de transcription. Par

ailleurs, quasiment toutes les voies de signalisation altérées dans les cancers aboutissent finalement à la dérégulation de l'expression et/ou de l'activité de facteurs de transcription et/ou de leurs cibles directes ou indirectes [1] (Figure 3).

De nombreux oncogènes et suppresseurs de tumeurs sont par ailleurs eux-mêmes des facteurs de transcription ou régulent des facteurs de transcription, leur dérégulation étant à l'origine de l'altération d'expression d'un ensemble de cibles impliquées dans l'acquisition de caractéristiques tumorales par la cellule. C'est notamment le cas de Myc, pRb/E2F ou p53 [11,23].

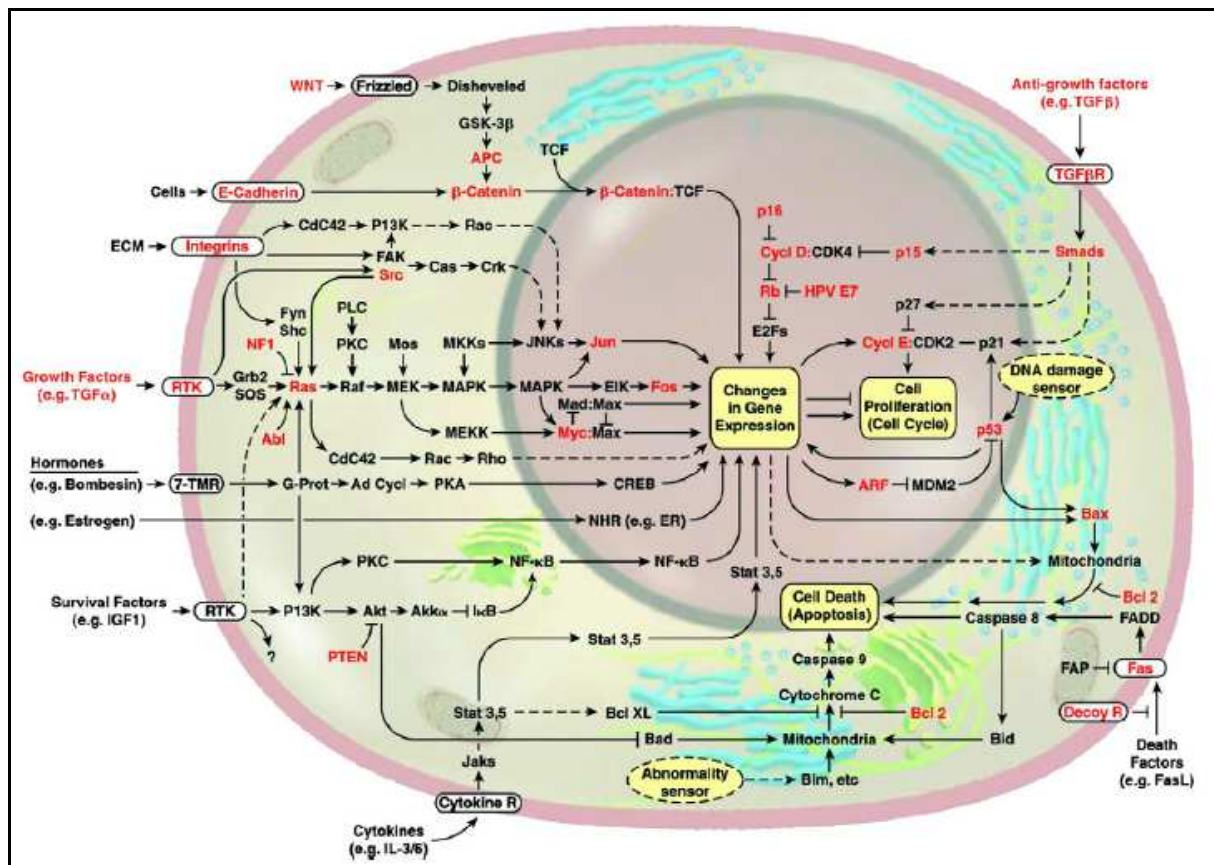


Figure 3. Voies de signalisation et principaux oncogènes ou suppresseurs de tumeurs (Myc, p16, ABL...) impliqués dans la tumorigenèse [1]

2. La maturation des ARNm :

La maturation par épissage permet d'augmenter le nombre et la diversité des protéines. Plusieurs éléments cis-régulateurs sont impliqués dans ce processus : les sites d'épissage eux-mêmes, encadrant les exons (GT en 5' et AG en 3'), et des séquences fortement dégénérées dites « enhancer » ou « silencer » reconnues par des facteurs trans-régulateurs respectivement de la famille SRP (serine (S) arginine (A) rich Protein) et hnRNP (heterogenous nuclear Ribo-Nucleo-Protein).

Les cellules cancéreuses présentent régulièrement des défauts d'épissage conduisant à la sur-représentation d'un variant naturel, voire la création de variants cancer-spécifiques n'existant pas dans le tissu sain.

L'un des cas les plus étudiés a été celui de la protéine transmembranaire CD44, impliquée dans le contact cellule-cellule : plus de vingt formes différentes dues à l'inclusion de 10 exons alternatifs dans sa portion extracellulaire ont en effet été mises en évidence dans plusieurs types de cancer et associées notamment au potentiel métastatique [11].

Des dérégulations de facteurs trans-régulateurs tels que des protéines de la famille SRP (Serin Arginine Rich Protein) pourraient dans ce cas jouer un rôle dans l'inclusion des exons alternatifs de CD44 et par ce biais être associées au potentiel invasif des tumeurs. Ainsi, dans les tumeurs invasives du sein, l'augmentation d'expression de Tra2-B1 (Transformer-2-beta) est corrélée à l'inclusion des exons v4 et v5 de CD44 [24], et celle de SRP40 à l'inclusion des variants v2, v3, v5 et v6 [25].

3. La stabilité de l'ARNm :

La stabilité de la molécule d'ARNm est dépendante de sa région 3'UTR (UnTranslated Region). Cette région n'est pas parcourue par des ribosomes et constitue un lieu propice pour l'établissement d'interactions entre des séquences spécifiques de l'ARNm (riches en adénines et uridines nommées ARE (AU-Rich Element)) et des acteurs trans-régulateurs tels que des

protéines, comme les ARE binding protein ou ARE-BP ou encore des ARN non codants comme les microRNA.

Les ARNm contenant les ARE sont particulièrement labiles et aiguillés vers l'exosome, complexe multiprotéique à activité exonucléotidique responsable de leur dégradation [26].

Certains composants de ce complexe lient spécifiquement les séquences ARE et coopèrent avec d'autres protéines dirigeant les ARNm vers leur lieu de dégradation [27].

Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine d'une stabilisation de messagers codant des facteurs pro-tumoraux via ces séquences ARE : (i) des mutations. Des altérations des éléments ARE présents dans la région 3'UTR du messager de c-Myc ont ainsi été décrites dans des lignées cellulaires issues de leucémies humaines et des cas de myélomes. Néanmoins, la délétion de la portion 3'UTR du gène par recombinaison homologue dans un modèle murin ne conduit ni à la stabilisation de son ARNm, ni au développement de tumeurs remettant en question l'importance de cette région *in vivo*. Des réarrangements ou troncations de la région 3'UTR de l'ARNm codant la cycline D1 ont par ailleurs été respectivement trouvés chez des patients atteints de lymphomes et dans des lignées cellulaires issues de cancer du sein [11]. (ii) La dérégulation de protéines liant les éléments ARE (ARE-BP). L'une des plus étudiée est HuR qui, contrairement aux autres membres de sa famille (HuB, C, D) spécifiques du tissu neuronal, présente une expression ubiquitaire. Sa surexpression est observée dans plusieurs types de cancers et est notamment associée à une augmentation d'expression des oncogènes c-Fos et c-Myc, des cyclines A, B1 et D1, des facteurs de croissance EGF et VEGF, de la cyclo-oxygénase COX2 et de la métalloprotéase MMP9 [28].

Les microRNA (ou miRNA) sont d'autres éléments de régulation importants dans le contrôle de la stabilité des ARNm. Ils sont constitués en moyenne de 20 à 22 nucléotides et issus d'une digestion enzymatique de molécules d'ARN plus longues pré-miRNA par l'activité endonucléase de Dicer. Pris en charge par le complexe multiprotéique RISC (RNA induced silencing complex), ils s'associent par complémentarité préférentiellement à la région 3'UTR de leur ARNm cibles et répriment ainsi leur traduction et/ou induisent leur

dégradation [29]. Il semble que de nombreuses séquences codant pour des miRNA soient situées dans des régions chromosomiques associées au cancer, à proximité d'oncogènes, de suppresseurs de tumeur, ou de sites fragiles sensibles aux instabilités génétiques [30] ce qui pourrait expliquer les modifications de leur niveau d'expression dans les cellules cancéreuses. Par ailleurs, les niveaux d'expression des protéines impliquées dans leur synthèse (Dicer) et leur activité (Ago1, 3 et 4, constituants du complexe RISC) peuvent également être affectés dans les cancers. Or, certains miRNA ont pour cibles des facteurs pro-tumoraux et, en contribuant à une diminution d'expression de ces derniers, se comportent eux-mêmes comme des suppresseurs de tumeurs [11].

Les microRNA miR-15a et miR-16-1 sont délétés ou sous-exprimés chez 65% des patients atteints de leucémie lymphoïde chronique (CLL) et ont pour cible le facteur anti-apoptotique Bcl2 [31]. A l'inverse, certains miRNA sont surexprimés dans les cancers et jouent un rôle pro-tumoral [32].

C. La protéine :

Les protéines constituent le produit final de l'expression des gènes et portent l'activité biologique. Leur concentration intracellulaire est dépendante des régulations précédentes mais également des mécanismes impliqués dans le contrôle de leur propre synthèse (traduction) et de leur stabilité qui peuvent également être la cible d'altérations dans les tumeurs.

1. La traduction :

La traduction comporte trois étapes (l'initiation, l'élongation et la terminaison) chacune faisant intervenir ses propres facteurs de régulation : les facteurs eIF (eukaryotic Initiation Factor), eEF (eucaryotic Elongation Factor) et les facteurs de terminaison (release factor).

L'étape de l'initiation est l'étape limitante de la traduction. Elle dépend notamment de la disponibilité des facteurs eIF et des éléments de structure en 5'UTR et constitue une cible de dérégulation dans les cancers. Elle est elle-même divisée en deux phases : (i) la liaison de eIF4E à la coiffe 5' méthyl 7guanosine triphosphate (m7GTP) de l'ARNm permet la liaison de eIF4G et de eIF4A à activité hélicase, ces trois protéines formant le complexe eIF4F ; (ii) l'association de l'ARN de transfert porteur de la Méthionine (Met-ARNt) au facteur eIF2-GTP permet son transfert au niveau de la sous-unité 40S du ribosome en association avec les facteurs eIF3, eIF1A et eIF5 pour former le complexe de pré-initiation 43S [33] (Figure 4).

eIF4E est surexprimé dans de nombreuses tumeurs (colon, sein, poumon, prostate, tractus gastro-intestinal, lymphomes, neuroblastomes) et est de mauvais pronostique pour les patients [34]. eIF4E est d'ailleurs oncogénique *in vivo* [35].

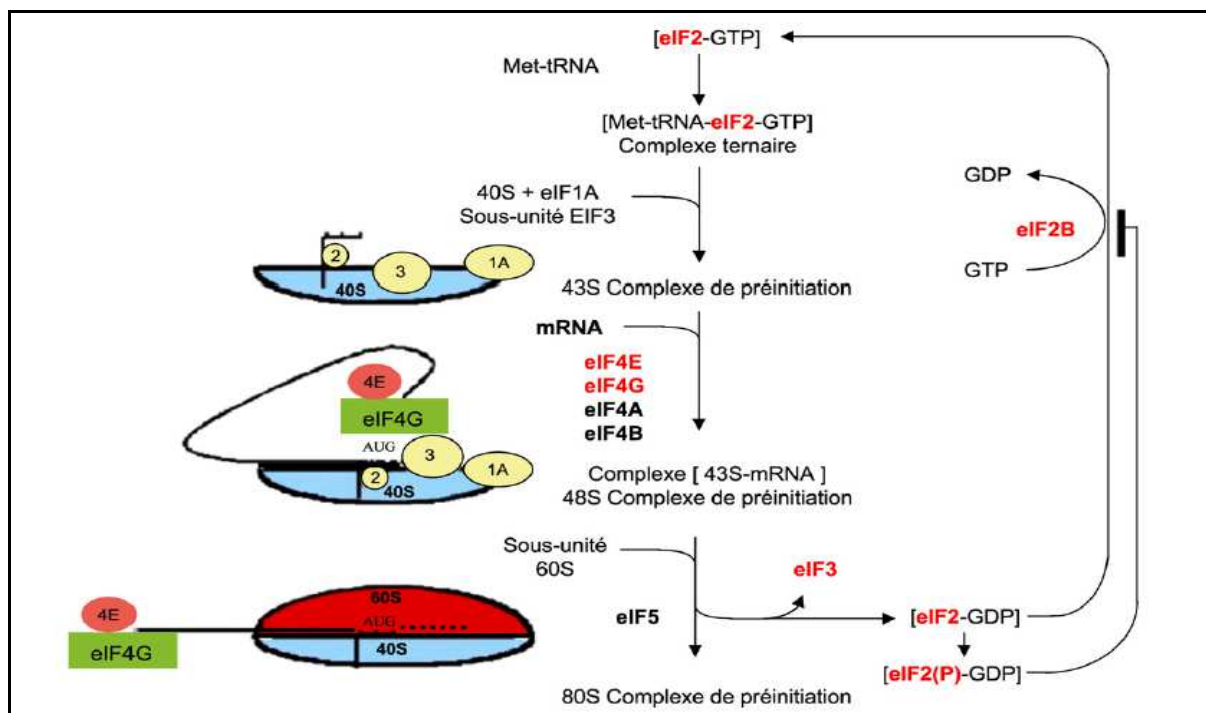


Figure 4. Mécanisme d'initiation de la traduction et facteurs limitants dérégulés dans le cancer : eIF4E, eIF4G, eIF2, eIF2(P), eIF2B, eIF3

eIF2 est un autre acteur clé de l'initiation. Responsable de l'apport du premier acide aminé méthionine de la chaîne peptidique, il forme un complexe ternaire avec l'ARNt-Met et le GTP. L'association à la sous-unité 40S du ribosome induit l'hydrolyse du GTP en GDP qui reste lié à eIF2. L'échange GDP en GTP sur eIF2 est assuré par eIF2B mais est inhibé lors de la phosphorylation de la sérine 51 d'eIF2. Or cette phosphorylation est importante pour le maintien de l'intégrité de la cellule puisque l'expression artificielle d'une forme non phosphorylable d'eIF2 inhibe l'apoptose et transforme les cellules NIH3T3. Toutefois, même si l'initiation est dérégulée dans les cellules cancéreuses, on note rarement une augmentation globale de la traduction. En effet, la région 5'UTR de la majorité des ARNm est courte (moins de 200 bases), peu sujette aux structures secondaires et donc peu dépendante de l'activité hélicase du complexe eIF4F.

Certains ARNm codant pour des facteurs oncogéniques, des facteurs de croissance ou des régulateurs de l'apoptose nécessitent une activité hélicase renforcée et sont donc plus dépendants de la formation du complexe eIF4F. C'est le cas de l'ARNm codant l'ornithine décarboxylase (ODC), FGF2 et VEGF deux régulateurs clés de la néo-angiogenèse impliqués dans la progression tumorale de la cycline D1 dont l'expression est fortement augmentée lors d'une surexpression d'eIF4E [11,36].

2. La stabilité et la dégradation des protéines :

Le contrôle de la stabilité et de la dégradation des protéines constitue le dernier niveau de régulation permettant d'assurer des taux protéiques normaux. Les modifications post-traductionnelles comme la phosphorylation sont souvent importantes dans le contrôle de la stabilité des protéines.

Des protéases pro-tumorales, comme des métalloprotéases (associées à la migration cellulaire), ou anti-tumorales telles les caspases (impliquées dans l'apoptose) [37] jouent par ailleurs un rôle important dans la dégradation protéique et sont dérégulées dans les cancers. Toutefois la tumorigenèse peut également s'accompagner d'altérations affectant les systèmes

contrôlant de manière plus générale le « turn-over » protéique. C'est le cas du système Ubiquitine/Protéasome et des systèmes vésiculaires impliqués dans le recyclage des protéines (caveolae, autophagosomes, lysosomes).

Dans tous les tissus une grande partie des protéines intracellulaires est dégradée par le système Ubiquitine/Protéasome. Celui-ci ce fait en deux étapes : une poly-ubiquitination des protéines cibles puis une reconnaissance et une dégradation par les protéasome.

Trois protéines (E1, E2, E3) interviennent séquentiellement pour ajouter une chaîne d'Ubiquitines, polypeptide de 76 acides aminés, sur certains résidus Lysine de la protéine à dégrader : E1 sert d'activateur, E2 transporte les molécules d'Ubiquitine, et E3 porte l'activité enzymatique et assure la spécificité de substrat (*Figure 5*). Un millier d'enzymes E3 ont été décrites et diverses dérégulations affectant ces protéines ont été observées dans certains cancers. Par exemple, la surexpression de l'E3 ligase Spk2 spécifique du suppresseur de tumeur p27^{KIP} s'avère oncogénique *in vivo* [38].

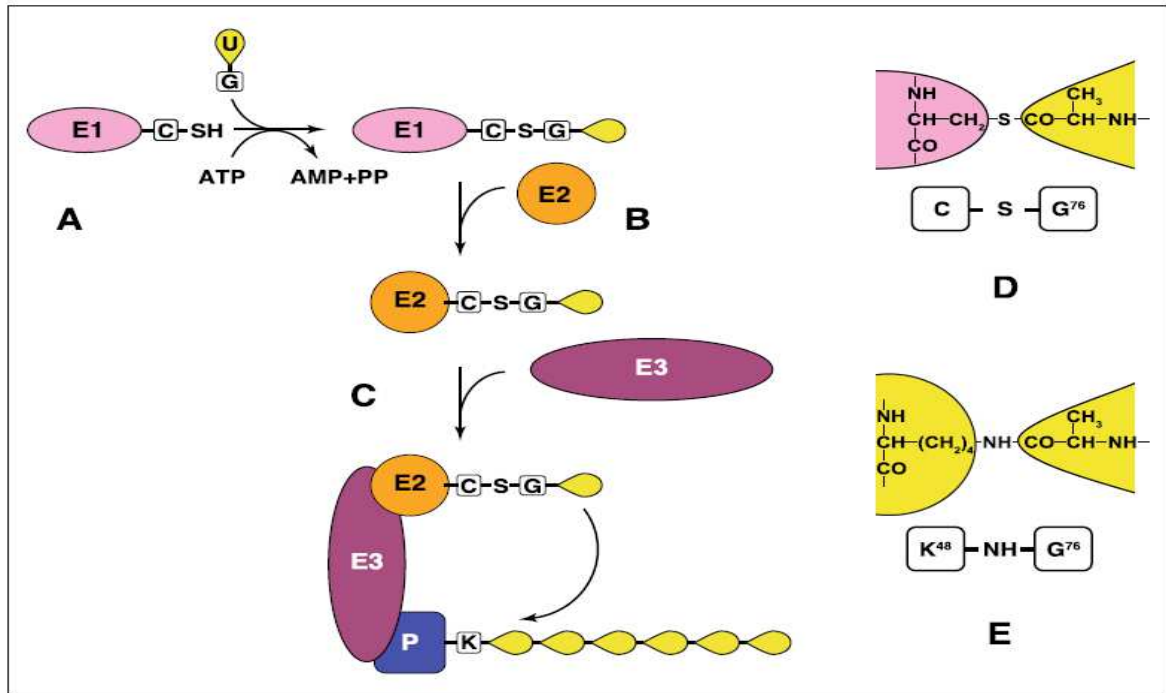


Figure 5. Ubiquitinylation des protéines en vue de leur destruction.

A. Une première enzyme E1 (Ubiquitin activating enzyme) active l'ubiquitine en fixant le résidu glycine C-terminal de celle-ci sur un résidu cystéine du site actif de l'enzyme par une liaison thioester. **B.** L'ubiquitine est ensuite transférée sur un résidu cystéine d'une enzyme E2 (Ubiquitin conjugating enzyme) par transthiolation. **C.** Les enzymes E3 (Ubiquitin protein ligase) transfèrent l'ubiquitine sur la protéine substrat à détruire grâce à une liaison amide entre le groupe carboxyl du résidu glycine C-terminal de l'ubiquitine et le groupement amine d'un résidu interne de lysine de la protéine substrat. **D.** Liaison thioester entre la cystéine de l'enzyme E1 ou E2 et le résidu glycine C-terminal de l'ubiquitine. **E.** Liaison amide (isopeptidique) entre le résidu lysine 48 d'une molécule d'ubiquitine et le résidu glycine C-terminal de la molécule d'ubiquitine suivante. [7]

L'accumulation de certaines cibles du système Ubiquitine/Protéasome résultant d'altérations fonctionnelles de protéines E3 semble pro-tumorale, l'inhibition du protéasome a pourtant été proposée dans le traitement des cancers. Les peptides boroniques acides dont fait notamment partie le Bortezomib, sont hautement sélectifs pour le protéasome et présentent une activité anti-tumorale dans des cancers hématologiques et solides en augmentant la sensibilité des tumeurs à la chimiothérapie ou en induisant l'arrêt de la croissance cellulaire [39]. Cette inhibition du protéasome s'accompagne d'une accumulation de p21 et de p27 [40].

IV.2 Thérapeutique anticancéreuse et cycle cellulaire :

En raison de l'action du système Ubiquitine/Protéasome sur de multiples protéines impliquées dans les phénomènes de contrôle de la prolifération et de la survie cellulaire, des interventions pharmacologiques pourraient contribuer à inhiber la prolifération des cellules tumorales, induire l'apoptose et/ou augmenter la sensibilité des cellules tumorales aux agents anticancéreux. Le maintien de l'activité de protéines dégradées dans le protéasome, comme les inhibiteurs de CDK p21^{CIP1} et p27^{KIP1}, ou les agents pro-apoptotiques BAX et p53, peut être intéressant en thérapeutique anticancéreuse.

Toutefois, des protéines essentielles à la prolifération comme les cyclines sont également dégradées dans le protéasome et leur stabilisation pourrait favoriser la croissance tumorale. Les recherches de composés ciblant le protéasome ont toutefois été couronnées de succès, puisqu'un inhibiteur de l'activité *chymotrypsin-like*, le Bortezomib, a été mis sur le marché pour le traitement du MM et est actuellement testé dans plusieurs tumeurs solides. D'autres composés, possédant des fonctions peptidiques comme le Bortezomib ou possédant une structure différente comme les catéchines, sont en cours d'étude. Le succès initial a encouragé des recherches au niveau de l'inhibition de ligases E3 qui devrait se révéler beaucoup plus sélective que l'inhibition globale du protéasome : la nutline, pour ne citer qu'un exemple, bloque le site de liaison de MDM2 et augmente la stabilité de p53 [7].

V. HEMATOPOÏÈSE NORMALE OU PHYSIOLOGIQUE :

L'hématopoïèse est définie comme l'ensemble des mécanismes qui assurent la formation continue de cellules sanguines circulantes. Ce processus a lieu dès l'embryogenèse et se poursuit durant toute la vie adulte d'un organisme. Il implique des mécanismes de développement, d'auto-renouvellement et de différenciation des cellules primitives dites CSH.

Compte tenu de la demi-vie très courte des cellules sanguines matures circulantes, les CSH vont s'auto-renouveler continuellement pour donner :

- Deux CSH filles par division symétrique, préservant ainsi le groupe des CSH.
- Une CSH fille et une cellule qui va se différencier par division asymétrique, alimentant ainsi les compartiments cellulaires plus différenciés.
- Eventuellement deux cellules différenciées mais cette option doit être minoritaire pour préserver le pool des cellules souches.

Chez les mammifères, l'hématopoïèse réside dans le foie et la rate pour le fœtus, dans la moelle osseuse (MO) des os plats et l'épiphyse des os longs pour l'adulte. La MO contenant les cellules hématopoïétiques dans leur microenvironnement est appelée niche hématopoïétique. Le rôle du microenvironnement médullaire est à la fois de soutenir physiquement l'hématopoïèse mais aussi de réguler la quiescence, l'auto-renouvellement, la survie et la différenciation des cellules hématopoïétiques grâce à des interactions cellulaires directes et à la sécrétion de facteurs solubles comme les cytokines ou les chimiokines.

V.1 Les cellules hématopoïétiques :

Les cellules hématopoïétiques sont organisées de manière hiérarchisée avec au sommet de la pyramide, les cellules souches primitives, et à la base les différentes cellules sanguines matures (*Figure 6*).

Cette pyramide comprend quatre compartiments : (i) le compartiment des cellules souches, (ii) le compartiment des progéniteurs multipotents MPP (*Multipotent progenitors*)

puis ceux propres à chaque lignage : avec les progéniteurs myéloïdes CMP (*Common Myeloid Progenitors*) et lymphoïdes CLP (*Common Lymphoid Progenitors*), donnant naissance côté myéloïde : aux précurseurs MEP (*Megacaryocyte Erythrocyte Precursor*) et GMP (*Granulocyte Macrophage Precursors*), (iii) le compartiment des précurseurs hématopoïétiques, (iv) et enfin le compartiment des cellules sanguines matures avec : les érythrocytes, monocytes, plaquettes, granulocytes, macrophages, cellules dendritiques, lymphocytes B et T et les cellules NK (*Natural Killer*).

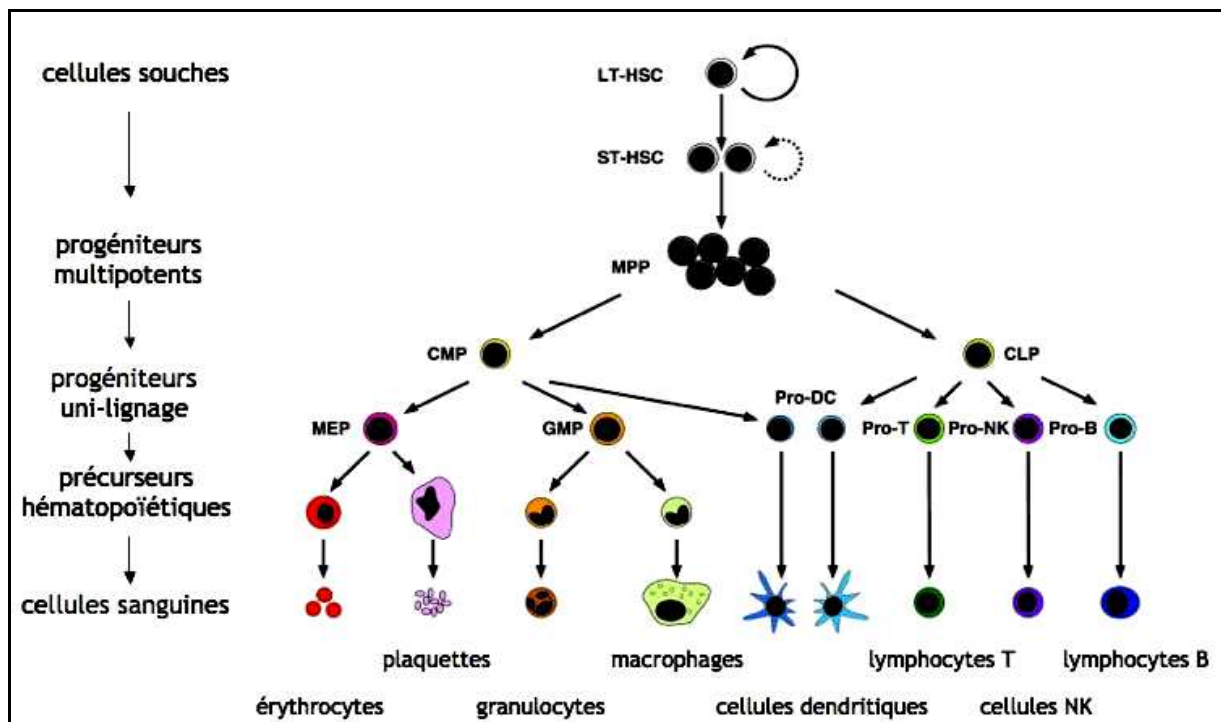


Figure 6. Schéma de l'hématopoïèse.

Les CSH (ou HSC pour *Hematopoietic Stem Cell*), comprenant les LT-HSC et ST-HSC (*Long term* et *Short Term*), se différencient en progéniteurs multipotents ou MPP (Multipotent progenitors) puis en progéniteurs myéloïdes/lymphoïdes communs (CMP/CLP pour *Common Myeloid/Lymphoid Progenitors*) qui donneront à terme les cellules sanguines matures. MEP: *Megacaryocyte Erythrocyte Precursor*, GMP: *Granulocyte Macrophage Precursors*, Pro-DC: *pro-dendritic cells*, Pro-T: *pro-T cells*; Pro-NK: *pro-Natural Killer cells*, Pro-B: *pro-B cells*. [41]

A. Les cellules souches hématopoïétiques :

La première évidence expérimentale de l'existence des CSH remonte à 1961 avec la mise en évidence par Till et McCulloch de l'existence d'une population clonogène de cellules de la MO capable de générer des colonies hématopoïétiques multi-lignage dans la rate de souris léthalement irradiées [42]. Cette population souche ne représente pas plus de 0,01% des cellules de la MO.

Les CSH possèdent trois propriétés fondamentales :

- **Une capacité de reconstitution de l'hématopoïèse** myéloïde et lymphoïde chez la souris.
- **Une capacité d'auto-renouvellement** permettant le maintien et l'amplification de la population des CSH.
- **Une pluripotence ou potentiel de différenciation multi-lignage** permettant la génération continue des cellules matures du sang.

1. Capacité de reconstitution de l'hématopoïèse :

Cette capacité de reconstitution de l'hématopoïèse chez la souris immuno-déficiente SCID ou NOD-SCID représente le test absolu permettant de prouver que l'on a bien isolé des CSH. Les tests de reconstitution consistent à mesurer la capacité des cellules hématopoïétiques à repeupler et restaurer la MO de souris rendues aplasiques par irradiation. L'évaluation de ce potentiel pour les cellules humaines a nécessité le développement de systèmes de transplantations xénogéniques dans lesquels les réactions immunitaires sont abolies (utilisation de souris immuno-déficientes SCID et NOD-SCID comme hôte des CSH humaines). L'approche expérimentale consiste à injecter chez la souris immuno-déficiente les CSH humaines par voie intraveineuse à des doses sub-létales.

Après plusieurs mois, les cellules hématopoïétiques humaines persistent dans la MO et la rate de la souris. Ces xénogreffes permettent l'identification des cellules humaines appelées SCID Repopulating Cells (SRC).

Ce test a permis de mettre en évidence deux sous-types de CSH humaines capables de s'auto-renouveler et de se différencier mais également de définir leurs caractéristiques phénotypiques (*Figure 7*):

– Le compartiment des CSH comprend : (i) les CSH à auto-renouvellement à long terme ou LT-HSC (Long Term-Hematopoietic Stem Cells) qui s'auto-renouvellent de façon illimitée tout au long de la vie de l'individu, reconstituant et pérennisant l'hématopoïèse physiologique, (ii) les CSH à auto-renouvellement à court terme ou ST-HSC (*Short Term-Hematopoietic Stem Cells*), plus différenciées que les précédentes, elles sont capables de reconstituer l'hématopoïèse physiologique pendant une durée limitée d'environ 8 semaines. La population progénitrice multipotente est ainsi constituée de LT-HSC capable de donner naissance aux ST-HSC donnant eux-mêmes naissance aux progéniteurs multipotents qui ne possèdent plus de capacité d'auto-renouvellement [43].

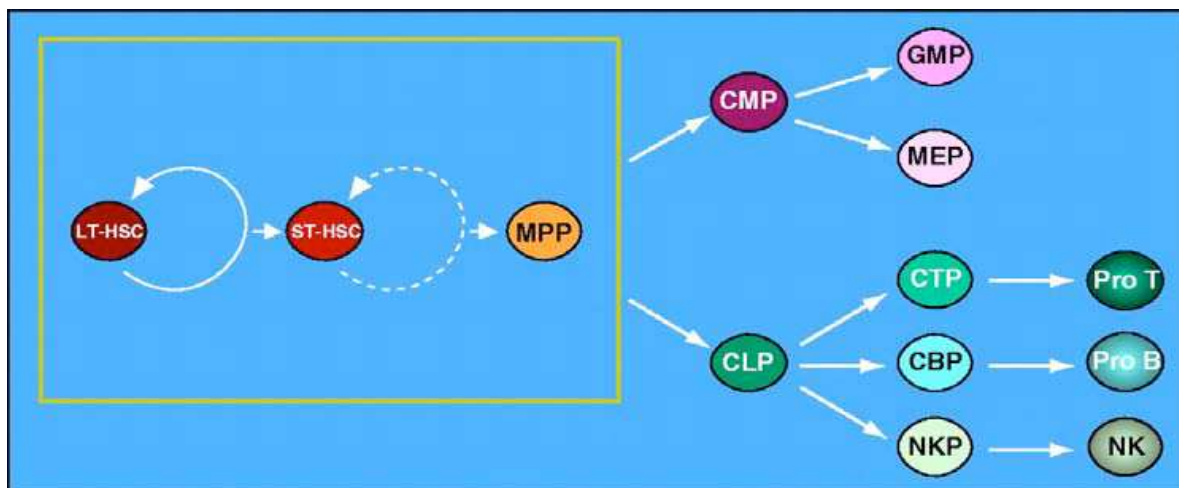


Figure 7. Modèle de différenciation des CSH.

Le compartiment des CSH est composé de trois populations : les CSH à long terme (LT-HSC) possédant la plus forte capacité d'auto-renouvellement, les CSH à court terme (ST-HSC) à plus faible capacité d'auto-renouvellement et les progéniteurs multipotents (MPP) qui ne possèdent plus la capacité d'auto-renouvellement. Les MPP se différencient en progéniteurs myéloïdes/lymphoïdes communs (CMP et CLP). GMP : Granulocyte Macrophage Precursors, MEP : Megacaryocyte Erythrocyte Precursor, CTP : Cell T Precursors, CBP : Cell B Precursors, NKP : Natural Killer Precursors, Pro-T : Pro-T cells, Pro-B : Pro-B cells. [44]

– Propriétés phénotypiques et cytochimiques des CSH : L'identification et la purification des CSH sont basées sur deux approches expérimentales réalisées par cytométrie de flux : le marquage membranaire des cellules et l'utilisation de leurs propriétés cytochimiques. Le marquage de protéines membranaires permet de définir des populations positives et négatives pour le marqueur considéré, d'autre part les protocoles de marquage multi-couleur réalisés en cytométrie de flux permettent l'identification de populations complexes. La majorité des CSH étant quiescente, en phase G0 ou G1 du cycle cellulaire [45] la méthode d'identification cytochimique consiste à évaluer la résistance de ces cellules à des colorants vitaux (Rhodamine 123 ou Hoechst 33342). La Rhodamine 123, qui témoigne de l'activité cellulaire des mitochondries, et le Hoechst 33342, qui s'intercale dans l'ADN, permettent l'identification des cellules en cycle ou au métabolisme actif, les CSH ne sont alors pas marquées. Cette stratégie a permis l'identification d'une population résistante au Hoechst 33342 appelée *Side population* (SP) mille fois enrichie en LT-HSC. Ces méthodes seules ou couplées au marquage membranaire permettent la purification de CSH capables de reconstituer la MO de souris irradiées avec des rendements de plus en plus importants [46,47].

Enfin, une autre méthode a été développée grâce à l'utilisation de l'enzyme cytosolique Aldéhyde Déshydrogénase (ALDH) responsable de l'oxydation des aldéhydes intracellulaires. L'ALDH est capable de dégrader les agents alkylants et participe ainsi à la résistance des CSH aux agents toxiques [48]. Elle est active dans certaines cellules immatures et définit également une population capable de reconstitution hématopoïétique à long terme [49].

L'identification des différentes populations par les marqueurs membranaires ou l'utilisation des différents agents décrits ci-dessus, n'étant probablement pas dépourvue de toxicité (les cellules identifiées conservent les marqueurs utilisés). Une autre manière d'identifier les cellules peut être une sélection négative en éliminant les cellules marquées, mais dans ce cas, il peut persister une population minoritaire de cellules non souches.

– Phénotypes des CSH murines : les CSH murines sont caractérisées par le phénotype c-Kit+ Sca-1+ Lin- (KSL). La sélection d'une population exprimant faiblement ou pas du tout

la protéine membranaire CD34 (*Cluster of Differentiation 34*) dans la fraction KSL (KSL-C34-/low) permet une augmentation du pourcentage de reconstitution de l'hématopoïèse chez la souris irradiée [50]. Ainsi, la population KSL-C34-/low, qui ne représente que 0,004% des cellules de la MO, est jusqu'à ce jour considérée comme étant la plus proche des CSH murines.

L'analyse phénotypique des cellules SP murines confirme la négativité de la plupart des marqueurs de lignage habituel, les SP ne représentent qu'une faible fraction des cellules KSL+ mais aussi KSL-. D'autre part, même si une fraction significative de cellules SP est KSL+ CD34-, la majorité est CD34+. Cela indique qu'il existe des CSH CD34+ et CD34-. Enfin, les souris déficientes pour le transporteur BCRP-1 responsable de l'efflux du Hoechst 33342 ne présentent plus de population SP sans déficit hématopoïétique majeur [51].

– Phénotype des CSH humaines : chez l'homme, le marqueur membranaire le plus utilisé pour la purification des cellules primitives est la glycoprotéine membranaire CD34, car la plupart des cellules immatures l'expriment [52]. Cette population étant très hétérogène, il a été mis en évidence que l'absence de marquage CD38 (CD34+ CD38-) permet un enrichissement en cellules LT-HSC, alors que les cellules CD34+ CD38+ permettent une reconstitution de MO à court terme seulement [53]. D'autres marqueurs ont été ajoutés afin de préciser le phénotype des CSH humaines : CD34+ CD38- CD90+ CD33- HLA-DR- c-Kit+ Rho-123+.

2. Capacité d'auto-renouvellement des CSH :

L'une des perspectives les plus importantes dans le domaine de la biologie des cellules souches vise à comprendre les mécanismes contrôlant l'auto-renouvellement des CSH. L'auto-renouvellement est une caractéristique cruciale de la cellule souche qui permet l'homéostasie de chaque tissu tout au long de la vie d'un individu. Alors que chaque cellule souche possède ses propres capacités de développement, l'ensemble des cellules souches assure leur auto-renouvellement et régulent la balance auto-renouvellement/ différenciation.

L'élucidation des mécanismes de régulation de l'auto-renouvellement des cellules souches normales est fondamentale pour appréhender les phénomènes de dérégulation des cellules cancéreuses. Alors que les propriétés fonctionnelles et phénotypiques des CSH ont été largement caractérisées, la question de la régulation de l'auto-renouvellement n'est pas complètement résolue.

Dans la niche hématopoïétique, les CSH sont majoritairement en état de quiescence, caractérisé par 2/3 des cellules en phase G0 du cycle cellulaire [45]. Cet état permet à la fois de préserver les CSH des stress génotoxiques, notamment des agents incorporés en phase S du cycle cellulaire, mais est également une caractéristique déterminante du maintien du potentiel de reconstitution hématopoïétique.

La sortie de quiescence des CSH et donc l'entrée des cellules en cycle permet sans doute en fonction des stimuli : (i) une reconstitution majoritaire du pool de cellules souches ou du pool de cellules différenciées en raison des propriétés de division symétrique ou asymétrique de ces cellules, (ii) une génération de deux cellules filles identiques par division symétrique, (iii) une génération d'une cellule fille identique et d'une cellule fille capable de se différencier par division asymétrique. Ces processus permettent à la fois le maintien des propriétés et du nombre de CSH mais également l'expansion des cellules hématopoïétiques qui s'engagent dans la différenciation myéloïde et lymphoïde (*Figure 8*).

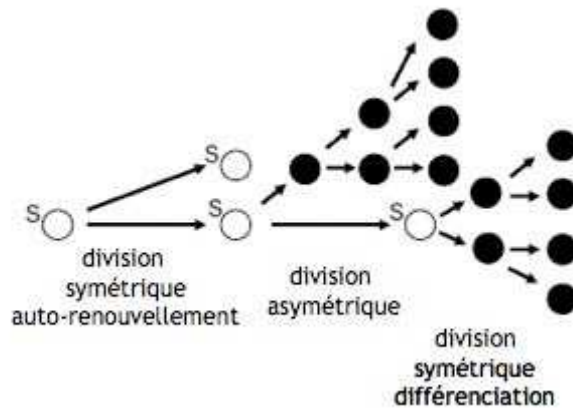


Figure 8. Divisions symétrique et asymétrique des CSH dans le temps (t)

Les CSH (S sur cette figure) se divisent de façon symétrique pour se reproduire à l'identique, permettant ainsi le maintien du pool de cellules souches : c'est la capacité d'auto-renouvellement. Certaines CSH vont ensuite se diviser de façon asymétrique en s'engageant dans le processus de différenciation, donnant ainsi des cellules progénitrices capable de proliférer plus rapidement qui donneront elles-mêmes des cellules précurseurs. [54]

Même si des progrès ont été réalisés dans la mise au point de conditions de culture permettant le maintien de l'activité des CSH [55], il est difficile de conclure sur la combinaison exacte des facteurs de croissance impliqué dans l'auto-renouvellement et l'expansion des CSH *in vivo*. Les voies de signalisation classiques étudiées dans le contexte du développement embryonnaire - voies des morphogènes Notch, Sonic hedgehog (Shh) et Wnt - sont de bons candidats de la régulation de l'auto-renouvellement des CSH (Figure 9).

Les morphogènes sont des molécules sécrétées durant l'embryogenèse pour définir le développement embryonnaire, guider les ébauches tissulaires à partir de la cellule souche pluripotente embryonnaire. Les ligands pro-mésodermes sont intéressants car ils sont les précurseurs nécessaires à l'apparition du tissu hématopoïétique, et continuent à avoir un rôle dans le maintien et la différenciation des CSH.

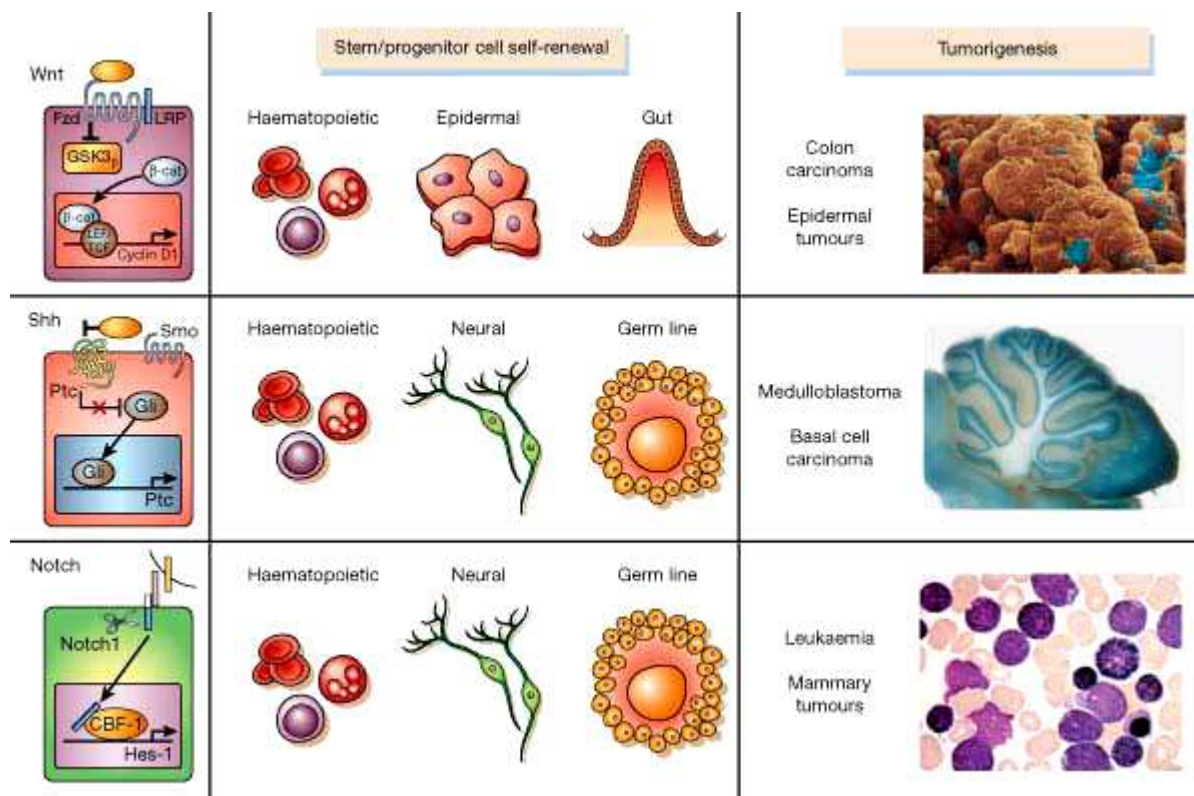


Figure 9: Les trois grandes voies morphogènes régulant l’auto-renouvellement des CSH

L’activation de la voie Notch (bas) est assurée par l’interaction du récepteur Notch avec son ligand (Delta 1,2, 4 et Jagged 1, 2), ce qui entraîne le clivage et la libération du domaine intracellulaire notch 1 (NICD pour *Notch Intracellular Domain*) dans le noyau, qui en se liant au facteur de transcription CBF-1 (*C-promoter Binding Factor-1*) permet la transcription de gènes comme hes-1.

Pour la voie Shh (milieu), la liaison du ligand hh sur le récepteur *Patched* lève l’inhibition que ce dernier exerçait sur le récepteur *Smoothened* et permet ainsi au facteur de transcription Gli d’induire la transcription de différents gènes parmi lesquels on retrouve celui du récepteur *Patched*. La voie Wnt (haut) est activée lorsqu’un ligand Wnt s’associe au récepteur frizzled couplé aux récepteurs LRP5/6 (*lipoprotein related-Receptor Proteins 5/6*), inhibant ainsi GSK3 β qui ne peut plus exercer son rôle négatif sur le co-facteur transcriptionnel β -caténine, permettant alors la transcription avec LEF/TCF (*Lymphocyte Enhancer Factor/T Cell Factor*) de gènes impliqués dans l’auto-renouvellement des CSH comme la cycline D1. [44]

– La voie Notch : La voie Notch semble être impliquée dans la régulation de la balance quiescence/auto-renouvellement des CSH. En effet, l'activité de Notch est forte dans les CSH et décroît au cours de l'hématopoïèse. L'activation de Notch dans les CSH en culture par son ligand Jagged-1 augmente la quantité des progéniteurs primitifs *in vitro* et *in vivo* [56]. D'autre part, la transfection de la partie intra-cellulaire de Notch immortalise les CSH et bloque la différenciation hématopoïétique. Le récepteur Notch et ses ligands (Jagged et delta-like) ont été impliqués dans des translocations dépistées chez des patients atteints de leucémie aiguë lymphoblastique. Récemment, une étude a mis en évidence que l'expression ectopique de Notch-1 constitutivement actif conduit à un arrêt du cycle cellulaire et à l'apoptose des cellules CD34+ [57]. D'autres investigations sont donc nécessaires pour préciser davantage la fonction de la voie Notch dans cette balance.

– La voie Sonic-hedghog (Shh) : les ligands hh (sonic, indian, desert) sont reconnus par un couple de récepteurs (*Patched* et *Smoothened*) qui sont présents à la surface des CSH. Les populations hautement enrichies en CSH (CD34+ CD38- Lin-) augmentent leur capacité d'auto-renouvellement lors d'une stimulation de la voie Shh *in vitro* grâce à la signalisation en aval du morphogène BMP-4 (*Bone Morphogenic Proteins*) [58]. Cette signalisation est cruciale au cours de la stimulation des CSH, en effet, son inhibition bloque la prolifération induite par Shh. Les BMP en tant que morphogènes contrôlent également les CSH : BMP-2 et BMP-7 inhibent leur prolifération, alors que BMP-4 augmente la survie et la greffe des CSH dans la moelle des souris NOD/SCID [54].

– La voie Wnt : les protéines Wnt sont des molécules de signalisation intra-cellulaire qui régulent le développement de différents organismes et sont dérégulées dans plusieurs cancers. La stimulation des progéniteurs hématopoïétiques et des CSH avec des protéines Wnt solubles ou avec les activateurs en aval de la voie Wnt (β -caténine) induit leur expansion lors de culture à long terme [59]. De plus, l'expression ectopique d'inhibiteur de la voie Wnt (Axin) induit une inhibition de la prolifération des CSH, augmente leur apoptose *in vitro* et diminue la capacité de reconstitution hématopoïétique chez la souris.

D'autres voies de signalisation faisant intervenir par exemple JAK/STAT, PTEN ou Bcl-2 jouent également un rôle dans la régulation de la balance quiescence/auto-renouvellement.

D'autre part, les facteurs de transcription (FT) sont aussi importants dans cette régulation. En effet, quelle que soit la voie de transduction du signal, elle aboutit à une régulation génétique des FT qui vont gouverner la réponse cellulaire, en terme de renouvellement, différenciation, apoptose, sénescence, migration ou adhésion. Ces choix cruciaux se font de manière intégrée, leur dérégulation étant la base du processus de leucémogénèse. Les FT PU.1 et ceux de la famille Homeobox (Hox) sont particulièrement impliqués dans l'auto-renouvellement des CSH.

– Les facteurs de transcription PU.1 : les CSH PU.1^{-/-} présentent une altération de l'auto-renouvellement et de la différenciation initiale vers les progéniteurs immatures lymphoïdes et myéloïdes. Même si ces FT sont exprimés à faible taux dans les CSH (leur expression dépend de la différenciation), ils contrôlent néanmoins la synthèse de récepteurs à des cytokines, ce qui participe à la survie et à l'expansion du groupe CSH.

– Les facteurs de transcription de la famille Hox : ils ont d'abord été impliqués dans la leucémogénèse et ont ensuite montré leur rôle critique au niveau de la CSH normale, notamment HoxB3 et B4. HoxB4 est un FT qui peut être sécrété, une manipulation génétique induisant sa synthèse par les cellules stromales entraîne une nette augmentation des CSH *in vitro* lors de co-culture avec des cellules CD34⁺ CD38⁻.

3. Pluripotence ou potentiel de différenciation multilignage :

Que ce soit pour maintenir l'homéostasie hématopoïétique ou pour faire face à un stress hématologique, les CSH sont capables d'alimenter les différents lignages hématopoïétiques de l'organisme permettant la génération de l'ensemble des cellules du sang. Pour cela, les CSH doivent sortir de leur état de quiescence, s'expandre et se différencier. Des expériences de vidéo-microscopie ont permis de mettre en évidence que la division asymétrique est beaucoup plus fréquente dans les cellules CD34⁺ CD38⁻ que dans les CD34⁺ CD38⁺ [60], ainsi le

potentiel d'auto-renouvellement est perdu progressivement au cours des stades initiaux de la différenciation. Même si, ce taux de division asymétrique des cellules immatures reste constant en présence de molécules régulatrices qui stimulent par exemple le pourcentage mitotique ou la génération de différents types de colonies [61].

Parmi les facteurs extrinsèques qui peuvent jouer sur la quantité de division asymétrique, le contact direct des CSH avec les cellules de la niche hématopoïétique augmente significativement le nombre de cellules qui entrent en division asymétrique, leur polarisation cellulaire et l'orientation du fuseau mitotique [62]. D'autre part, il est bien établi que la différenciation hématopoïétique implique également d'autres signaux extrinsèques tels que des facteurs solubles, cytokines présentes dans le microenvironnement. *In vitro*, il est possible d'orienter la différenciation des cellules immatures vers un lignage particulier : par exemple vers une différenciation myéloïde par ajout de MGF (*Mast cell Growth factor*), interleukine-3 (IL-3), GM-CSF (*Granulo-Macrophage-Colony Stimulating Factor*), M-CSF (*Monocyte-CSF*), et G-CSF (*Granulocyte-CSF*). Les cytokines sont classées en 3 groupes :

- Les cytokines synergiques : SCF, LIF (*Leukemia Inhibitory Factor*), IL-1, 6, 11, permettant l'augmentation du nombre de CSH en cycle à partir des CSH quiescentes, induisant la sensibilisation des cellules aux autres cytokines en permettant notamment l'expression des récepteurs membranaires spécifiques.
- Les cytokines multipotentes : IL-3, 7, GM-CSF, agissant à la fois sur les CSH et les progéniteurs en cycle, stimulant la prolifération, la survie, et la différenciation.
- Les cytokines restreintes : G-CSF, M-CSF, EPO (érythropoïétine), TPO (trombopoïétine), IL-5, agissant sur la différenciation terminale des progéniteurs engagés, et la maturation.

D'un point de vue moléculaire, c-Myc, un des acteurs clés impliqué dans la régulation du cycle cellulaire, peut aussi jouer un rôle important dans l'induction du processus de différenciation. c-Myc est capable de réprimer l'expression de molécules d'adhésion comme les intégrines $\alpha 2\beta 1$ et $\alpha 5\beta 1$, et la N-cadhérine. Ainsi, Wilson et ses collaborateurs ont proposé un modèle de régulation des CSH par l'adhésion à la niche médullaire contrôlé par c-Myc.

Ainsi, lorsque c-Myc serait fortement exprimé, les CSH, en réponse à un signal mitogène, génèreraient des progéniteurs engagés sortant de la niche grâce à la répression des molécules d'adhésion contrôlées par c-Myc. Au contraire, quand c-Myc serait inactif, en présence d'un signal mitogénique, ces molécules resteraient fortement exprimées, retenant ainsi les cellules dans la niche pour permettre leur expansion (*Figure 10*).

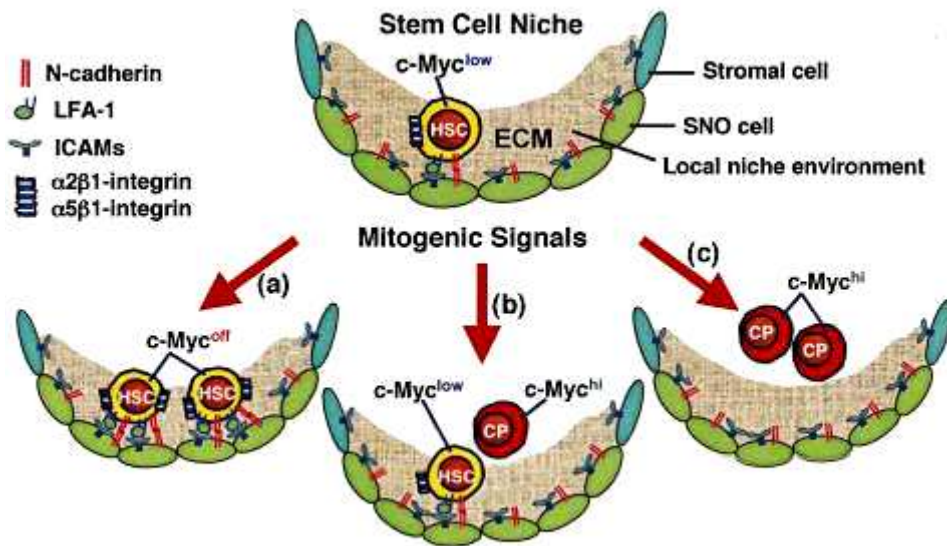


Figure 10. Modèle de régulation du devenir des CSH par l'adhésion à la niche hématopoïétique contrôlée par le niveau de c-Myc.

Les CSH quiescentes (haut), exprimant peu de c-myc, sont ancrées à la niche par différentes molécules (N-cadhérine, LFA-1, intégrines $\alpha2\beta1$ et $\alpha5\beta1$). En réponse à une stimulation mitogénique, les CSH vont générer deux cellules filles, qui en absence d'induction de c-myc (a) restent ancrées à la niche (expansion des CSH), qui lors d'une induction de c-myc dans une seule cellule fille (b) ou dans les deux (c), répriment les molécules d'adhésion permettant ainsi une sortie de la niche hématopoïétique et la différenciation des CSH. [63]

B. Les progéniteurs hématopoïétiques :

Ce compartiment comprend des progéniteurs immatures qui sont multipotents et possèdent une grande capacité de prolifération et des progéniteurs matures qui ont un potentiel de prolifération et de différenciation plus restreint. Ce compartiment regroupe ainsi une population hétérogène, avec des cellules perdant progressivement leur pouvoir d'auto-renouvellement, et présentant un pouvoir de prolifération accru.

L'identification des progéniteurs hématopoïétiques est possible par cytométrie de flux, en effet, ces cellules possèdent à la fois des marqueurs de maturité (CD38, HLA-DR, CD71) et des marqueurs propres à chaque lignage (CD33, CD13, CD15 pour la lignée myéloïde) ; mais également par des cultures clonogéniques permettant une analyse des cellules matures générées. La culture clonogénique consiste en la mise en culture en milieu semi-solide (par exemple la méthylcellulose) des progéniteurs hématopoïétiques, qui donneront naissance à des colonies morphologiquement reconnaissables au bout de 7 à 14 jours d'incubation. Pour la branche myéloïde, on distingue les progéniteurs suivants :

- Les CFU-GM (*Colony Forming Unit- Granulocyte and Macrophage*), progéniteurs granulo-monocytaires qui donneront naissance aux CFU-G (*Granulocyte*) granulocytaires et CFU-M (*Monocyte*) monocytaires.
- Les BFU-E (*Burst Forming Unit-Erythroid*) qui sont les progéniteurs érythroïdes se différenciant en CFU-E (*Erythrocyte*) érythrocytaires.
- Les CFU-Meg (*Megacaryocyte*), progéniteurs de la lignée mégacaryocytaire.
- Les CFU-GEMM (*Granulocyte Erythrocyte Macrophage and Megacaryocyte*) qui sont des progéniteurs plus primitifs donnant naissance à des colonies des différents lignages CFU-GM, CFU-E, CFU-Meg.

C. Les précurseurs hématopoïétiques :

Contrairement aux progéniteurs hématopoïétiques, les précurseurs sont des cellules identifiables morphologiquement, elles possèdent un phénotype et des propriétés fonctionnelles propres à chaque lignage. Elles représentent la majorité (99%) des cellules médullaires. Ces cellules n'ont plus de capacité d'auto-renouvellement et ont un faible

pouvoir prolifératif. Une fois que le processus de maturation est achevé, ces cellules vont passer dans la circulation périphérique pour y assurer leur fonction et ont alors une durée de vie limitée.

V.2 Le microenvironnement médullaire :

La quiescence des CSH, l'auto-renouvellement et la différenciation sont régulés par des mécanismes intrinsèques (tel que la régulation épigénétique des CSH contrôlée par exemple par les protéines de la famille polycomb impliquées dans le remodelage de la chromatine) et extrinsèques. Ces mécanismes extrinsèques impliquent des changements du devenir des CS dictés par le microenvironnement. L'effet du microenvironnement sur les CSH peut se faire directement, grâce à des interactions physiques mettant en jeu des molécules d'adhésion (intégrines, cadhérines) ou indirectement grâce à la sécrétion de nombreuses molécules (cytokines, facteurs de croissance).

Quatre grandes caractéristiques sont applicables à la niche des CS quel que soit leur type tissulaire :

- Sa taille est limitée, ainsi que le nombre de CS. La niche hématopoïétique est située au niveau de l'endosteum, sous l'os trabéculaire des os plats et/ou longs chez l'adulte.
- Les contacts CS-cellules du microenvironnement sont indispensables pour le maintien de la quiescence cellulaire.
- Les produits sécrétés (morphogènes, cytokines, facteurs de croissance) sont à l'origine des contacts inter-cellulaires et de la création d'un équilibre activateur/inhibiteur du nombre et de la fonction des CS.
- La présence d'une cellule non souche dans la niche peut lui conférer des « propriétés de CS ».

La niche des CSH se situe dans un endroit précis de la MO, au niveau de la région endostéale de l'os trabéculaire, zone dynamique à l'interface de la MO et de l'os, où celui-ci subit continuellement des remodelages (*Figure 11*). Le microenvironnement est composé de

populations cellulaires hétérogènes (ostéoblastes, fibroblastes, adipocytes, cellules endothéliales) dérivant d'un précurseur commun, la CS mésenchymateuse (CSM). Les CSM vont sécréter de nombreux facteurs solubles impliqués dans la quiescence, la survie ou la différenciation des CSH, elles vont également se différencier pour donner naissance à divers types cellulaires comme les cellules réticulaires, les adipocytes, et surtout les ostéoblastes qui représentent l'ossature de la niche hématopoïétique.

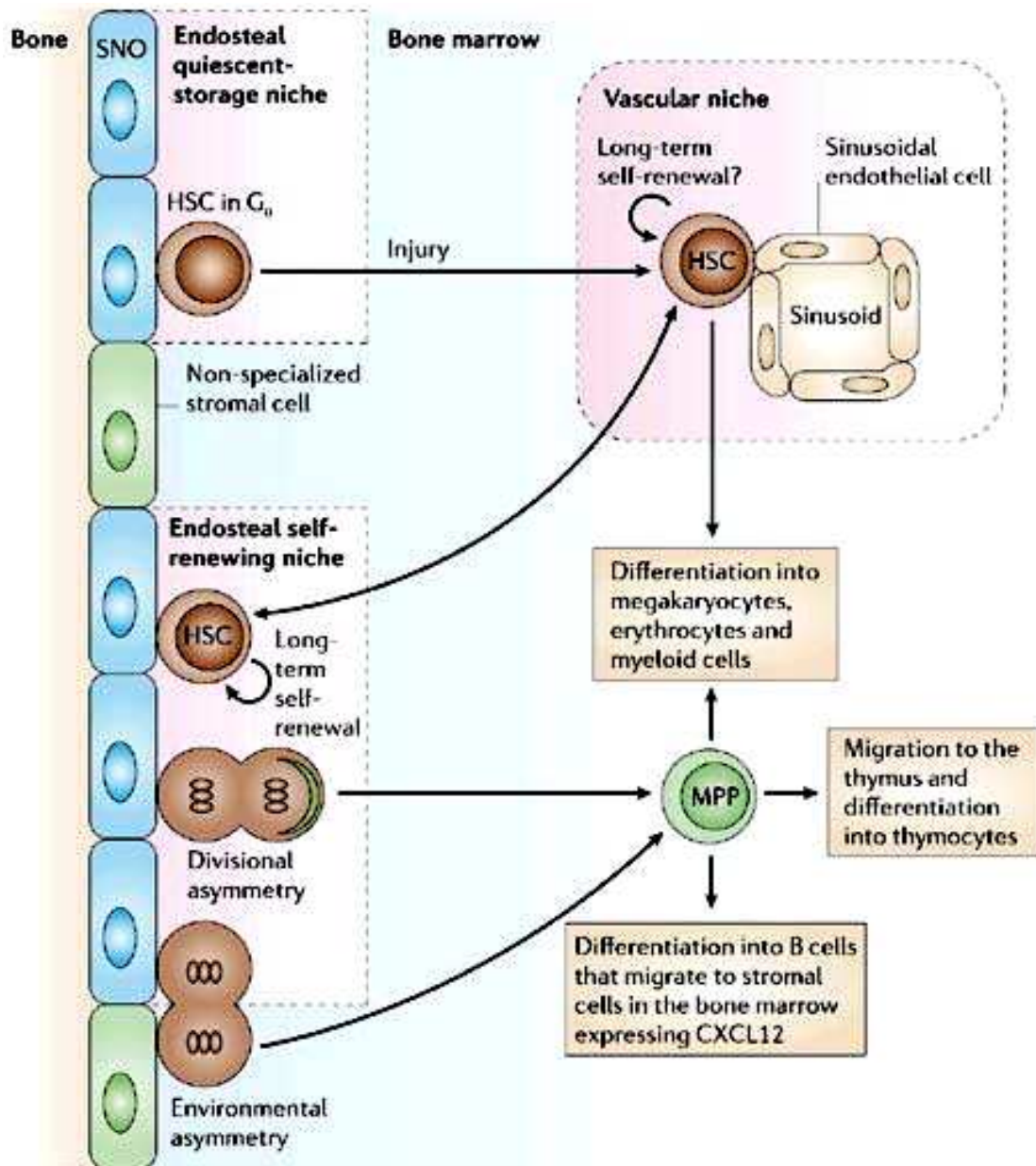


Figure 11. Niche hématopoïétique au sein de la moelle osseuse

Les ostéoblastes exprimant la N-cadhérine (SNO pour *Spindle-shaped N-cadherin-expressing osteoblasts*) forment la niche endostéale quiescente qui maintient la quiescence des CSH (HSC). L'auto-renouvellement des CSH permet la production de cellules progénitrices multipotentes (MPP) par division asymétrique et/ou par une stimulation de l'environnement médullaire. Ces MPP sont capables de se différencier pour donner toutes les cellules hématopoïétiques de chaque lignage. En réponse à un stress, les CSH quiescentes pourraient être activées et recrutées au niveau de la niche vasculaire. L'auto-renouvellement des CSH dans la niche vasculaire reste à être déterminé. [64]

A. Interaction directe CSH-niche :

Comme nous l'avons vu précédemment, l'interaction entre les cellules hématopoïétiques et la niche hématopoïétique est un composant majeur de la régulation de l'hématopoïèse. Différentes études ont mis en évidence que les ostéoblastes constituent un composant majeur de la niche régulant la localisation, la quiescence, l'auto-renouvellement, et la différenciation des CSH. En effet, leur déplétion chez la souris provoque une diminution du nombre de cellules dans la MO s'accompagnant de la perte des progéniteurs myéloïdes, lymphoïdes et érythroïdes ainsi que d'une hématopoïèse extra-médullaire localisée dans la rate [65]. De plus, les ostéoblastes soutiennent les cellules hématopoïétiques in vitro et maintiennent les cellules responsables de la culture à long terme (LTC-IC : Long Terme Culture-Initiating Cell) [66], en assurant un véritable contrôle du nombre de CSH de la niche qui pourrait mettre en jeu la voie du morphogène Notch [67] ou l'interaction N-cadhérine-CD4 [68].

L'interaction CSH-ostéoblastes fait intervenir de nombreuses molécules d'adhésion parmi lesquelles les intégrines $\alpha 4\beta 1$ et $\alpha 5\beta 1$ semblent jouer un rôle clé. Il a été montré récemment que les intégrines $\alpha 4\beta 1$ sont cruciales dans le maintien de la survie et des capacités clonogènes des précurseurs immatures. En effet, l'ajout de ligands solubles des intégrines $\alpha 4\beta 1$ (VCAM-1 et fibronectine) dans le milieu permet de maintenir ces capacités [69]. D'autre part, l'utilisation d'anticorps bloquant a permis de valider l'implication de ces intégrines $\alpha 4\beta 1$ et $\alpha 5\beta 1$.

L'importance de ces molécules d'adhésion dans la régulation des CSH implique que leur niveau d'expression soit très finement contrôlé. Ainsi, différentes études révèlent l'existence d'un dialogue sous forme de boucle paracrine entre les CSH et les cellules de la niche, les CSH moduleraient ainsi la composition de leur microenvironnement [70]. Une illustration de cette propriété est l'implication de c-Myc dans l'induction du processus de différenciation et de sortie de la niche hématopoïétique [63].

L'interface CSH/ostéoblaste ne se résume pas à la simple association intégrine/ligand, il existe une véritable synapse complexe impliquant de nombreuses autres molécules d'adhésion inter-cellulaire (*Figure 12*). Différentes études d'inactivation ont montré l'importance des intégrines $\alpha4\beta1$ et du récepteur au ligand c-kit (mKL pour membrane bound Kit Ligand) dans les propriétés d'auto-renouvellement des CSH et leur maintien [71,72]. D'autre part, la signalisation calcique est probablement impliquée comme le suggère le fait que la liaison MUC1/ligand ICAM-1 joue un rôle dans le phénomène de migration trans-endothéliale des cellules du cancer du sein, mettant en évidence l'importance que pourrait avoir les remaniements du cytosquelette dépendants des interactions CS/niche dans le phénomène de tumorigénèse [73].

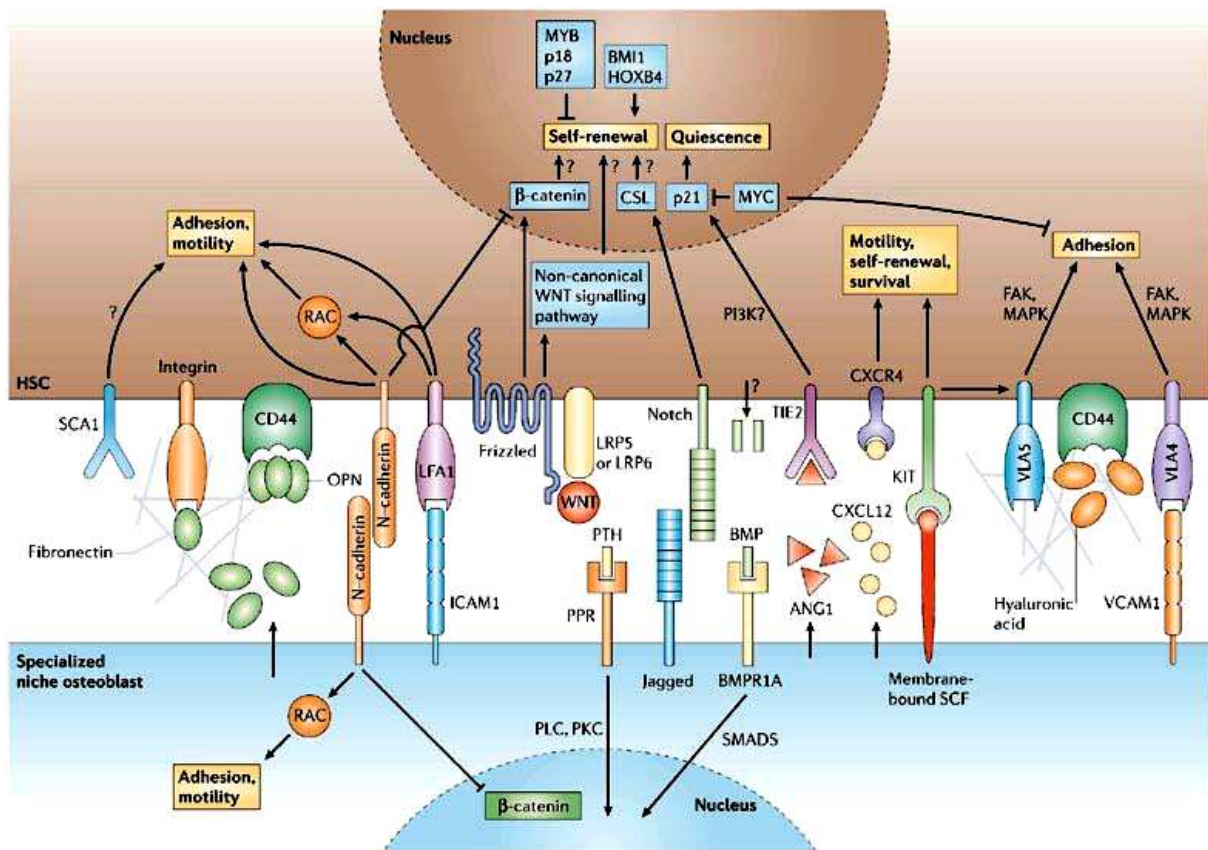


Figure 12. La synapse ostéoblaste/CSH. [64]

B. Facteurs de croissance et cytokines de la niche hématopoïétique :

Les cytokines et les facteurs de croissance sécrétés localement peuvent moduler le devenir des CS grâce à l'activation de signaux de transduction spécifiques. Le TGF- β est l'un des quelques régulateurs négatifs connus des CSH. Il maintient la quiescence des CSH en bloquant notamment l'expression de récepteurs aux cytokines comme celui de c-Kit, du FLT3, de MPL ou à l'IL-6 [74]. Cependant, le rôle *in vivo* du TGF- β reste à élucider, puisque la déplétion du récepteur n'induit pas de changement dans la répartition du cycle cellulaire des cellules [75]. D'autre part, l'angiopoïétine-1 (ANG-1) produite par les cellules stromales, en interagissant avec le récepteur à activité tyrosine kinase TIE2 induit une augmentation de la quiescence des CSH [76]. Bien que les mécanismes de maintien des cellules en quiescence ne soient pas précisément détaillés dans ces deux cas, il est tout à fait possible d'envisager qu'il s'agisse de p21^{WAF1} qui est directement réprimé par c-Myc, régulateur clé de la niche hématopoïétique. Les CSH quiescentes sont caractérisées par un niveau élevé de p21^{WAF1} et une absence d'expression de c-Myc, alors que les CSH plus actives présentent une expression réduite de p21^{WAF1} associée à une activité augmentée de c-Myc.

Le FGF-1 (*Fibroblast Growth Factor-1*) pourrait aussi être impliqué dans l'auto-renouvellement [77].

C. Les composants de la matrice extra-cellulaire :

La niche hématopoïétique ne comprend pas seulement des éléments cellulaires, mais également un grand nombre de facteurs solubles et insolubles constituant le microenvironnement moléculaire. Ces molécules sont synthétisées principalement par les cellules stromales puis sécrétées, exprimées à la surface ou assemblées pour former la matrice extra-cellulaire (MEC). Les protéines insolubles regroupent notamment les protéines constituant la MEC, les molécules d'adhérence, et les enzymes matricielles ; tandis que les médiateurs solubles peuvent être de deux types : les facteurs de croissance (ou cytokines) et

les chimiokines. Les collagènes, la fibronectine, les laminines, la thrombospondine, l'ostéopontine et les glycosaminoglycanes sont les constituants principaux de la MEC. Ces molécules favorisent l'adhérence des CSH et régulent la concentration locale de chimiokines et de cytokines en les présentant aux CSH [78].

– La fibronectine : elle est considérée par beaucoup d'auteurs comme la protéine majeure de l'adhérence cellulaire [79]. Dans la MO, elle est produite principalement par les cellules endothéliales et les fibroblastes. Molécule ubiquitaire d'adhérence, elle participe à la régulation de l'ensemble des fonctions cellulaires comme la survie, la prolifération, la différenciation et la motilité. C'est une glycoprotéine de 450 à 500 kDa qui interagit avec les intégrines $\alpha 4\beta 1$ ou $\alpha 5\beta 1$ et le CD44. La fibronectine stimule la production de BFU-E, CFU-GM, CFu-Mix (progéniteurs de plusieurs lignages) en culture, régule la prolifération des progéniteurs CD34+ CD38- et joue un rôle dans la reconstitution hématopoïétique des souris immuno-déficientes [80]. Les cellules hématopoïétiques interagissent avec différents domaines de la fibronectine en fonction de leur stade de différenciation : les BFU-E et les CFU-GM se lient à un fragment situé au centre de la molécule contenant la séquence RGDS qui est le ligand de l'intégrine $\alpha 5\beta 1$ (VLA-5), les progéniteurs plus immatures se fixent sur un site de l'extrémité C-terminale contenant le peptide CS-1 reconnu par l'intégrine $\alpha 4\beta 1$ (VLA-4) [81].

– L'ostéopontine : elle peut être cytokine ou molécule d'adhésion, sécrétée par les ostéoblastes, elle peut se lier avec des récepteurs présents à la surface des CSH comme le CD44 (récepteur à l'acide hyaluronique) et aux intégrines $\alpha 4\beta 1$ et $\alpha 5\beta 1$. Les modèles animaux d'inactivation démontrent son rôle direct dans l'homéostasie des CSH. En effet, les CSH ostéopontine -/- sont beaucoup moins quiescentes que des CSH normales [82]. Elle jouerait le rôle de régulateur négatif des CSH, restreignant le nombre de CSH dans la niche.

– L'acide hyaluronique participe également à l'attraction des CSH dans la niche, à leur ancrage, à leur survie et au maintien de leur quiescence [83]. Enfin, cette zone trabéculaire de l'os étant une zone hypoxique, les CSH développent des propriétés liées à ces conditions comme l'expression de la protéine nucléophosmine par exemple qui va influencer la

prolifération des CSH ainsi que leur résistance aux stress oxydatifs et génotoxiques tout en maintenant leurs propriétés d'auto-renouvellement [84].

On a mis en évidence l'existence d'une autre niche dite vasculaire [85]. Cette niche située au centre de la MO est caractérisée par la présence de CSH à proximité de vaisseaux spécifiques, pouvant permettre aux cellules de gagner la circulation veineuse, ou de gagner la MO dans le cas d'une reconstitution hématopoïétique par exemple. On pense que cette zone serait plutôt une zone de transit des CSH, la niche ostéoblastique étant le véritable réservoir des CSH capable d'assurer le maintien de la quiescence et de l'auto-renouvellement des CSH.

Ainsi, la niche hématopoïétique est un compartiment très complexe et très dynamique, dans lequel le maintien des CSH fait intervenir de nombreux types cellulaires, comme les cellules endothéliales, les progéniteurs mésenchymateux, les mégacaryocytes, les cellules immunitaires, les adipocytes, les cellules réticulaires, les ostéoblastes et les ostéoclastes, ainsi que des interactions inter-cellulaires directes et indirectes.

VI. HEMATOPOÏÈSE ET CYCLE CELLULAIRE :

Les différents mécanismes de régulation mis en jeu au cours de l'hématopoïèse permettent de répondre rapidement et de manière très efficace à des stress hématologiques, comme une infection, une hémorragie, ou une exposition à des agents génotoxiques, grâce à la double capacité d'auto-renouvellement et de différenciation de la population des CSH. Le statut de prolifération des CSH doit ainsi être finement contrôlé pour assurer à la fois une production continue de progéniteurs hématopoïétiques en absence de stress et leur différenciation massive en condition de stress, sans bien sûr qu'il y ait épuisement du pool de CSH. Un tel contrôle nécessite une régulation appropriée de l'entrée et de la progression dans le cycle cellulaire, qui joue un rôle fondamental dans le devenir des CSH. L'activité des régulateurs du cycle cellulaire varie selon la population hématopoïétique considérée et par conséquent selon son niveau de différenciation hématopoïétique.

VI.1 Les CSH :

A. Statut du cycle cellulaire dans les CSH :

Le potentiel de reconstitution hématopoïétique, chez la souris immuno-déficiente irradiée, dépend largement de la position des cellules hématopoïétiques dans le cycle cellulaire. En effet, ce potentiel est maximal pour les CSH quiescentes en phase G0 du cycle, et il diminue considérablement lorsque les CSH entrent en phase G1 [45,86]. Un travail récent a étudié plus finement la position des LT-CSH dans le cycle, et mis en évidence que les 2/3 sont quiescentes (phase G0) alors que le 1/3 restant est en phase G1 et S-G2/M du cycle. Ces LT-CSH non quiescentes seraient déjà en cycle et/ou engagées dans le processus de différenciation, ainsi capables de se différencier rapidement en populations proliférantes ST-CSH et progénitrices multipotentes [45]. D'autre part, des expériences d'administration continue de BrdU (24 heures) réalisées chez la souris ont mis en évidence la faible proportion de LT-CSH capables d'entrer en cycle au cours du temps. Cela sous-entend, qu'une autre population, peut être les LT-CSH non quiescentes, soit capable d'entrer en cycle beaucoup plus rapidement, en cas de stress notamment. Seulement 24% des LT-CSH incorporent le BrdU en 24 heures, alors que plus de 50% des ST-CSH et progéniteurs multipotents sont BrdU positifs après 24 heures [45,87].

Historiquement, les LT-CSH ont été identifiées et isolées uniquement sur la base de leur capacité à reconstituer l'hématopoïèse d'un hôte irradié, cependant l'évolution des techniques d'identification et de purification cellulaire permet de préciser le phénotype des LT-CSH et de faire avancer les connaissances dans le domaine de l'hématopoïèse et du cycle cellulaire.

B. Régulateurs du cycle cellulaire dans les CSH :

L'entrée restreinte des CSH en cycle nécessite la régulation fine des différents activateurs et inhibiteurs du cycle cellulaire tant au niveau de leur expression que de leur

activité. Les CDKI sont les protéines qui s'opposent à la progression du cycle cellulaire, elles sont donc impliquées dans le maintien de la quiescence des CSH chez l'homme et la souris.

1. p21^{WAF1} & CSH :

Dans les souris déficientes en p21^{WAF1} (p21^{-/-}), la population de CSH en phase G0 diminue, alors que celle des CSH en cycle augmente. Ces dernières perdent leurs propriétés de cellules souches en devenant sensibles au 5-FU et incapables de reconstituer l'hématopoïèse des souris immuno-déficientes irradiées [88]. Cela suggère que p21^{WAF1} restreint l'entrée des CSH en cycle, préservant ainsi ces cellules de la toxicité des agents s'incorporant dans les cellules en cycle. Le maintien de la quiescence cellulaire par p21^{WAF1} consiste principalement à empêcher l'interaction entre CDK2 et le complexe p130-E2F4, maintenant ainsi les cellules en phase G0/G1 du cycle.

2. p18^{INK4C} :

La déplétion de p18^{INK4C} entraîne une amélioration significative du potentiel de reconstitution hématopoïétique chez la souris due à une augmentation de l'auto-renouvellement des CSH p18^{-/-} [89]. p18^{INK4C} semble donc jouer un rôle important en limitant l'auto-renouvellement des CSH in vivo. Dans les souris doublement invalidées pour p18^{INK4C} et p21^{WAF1}, la délétion de p18^{INK4C} s'oppose à la perte accélérée des CSH observée lors d'une reconstitution hématopoïétique par des CSH délétées pour p21^{CIP1/WAF1} [90]. p18^{INK4C} exerce son rôle en interagissant spécifiquement avec les CDK4 et 6, empêchant leur liaison avec la cycline D, en phase G1 précoce du cycle cellulaire. D'autre part, l'expression de la protéine p18^{INK4C} est considérablement induite (de 12 à 50 fois) au cours de la myogénèse et de l'adipogénèse, mettant en évidence son rôle important dans l'induction et/ou le maintien de l'arrêt du cycle cellulaire lors du processus de différenciation [91].

3. p16^{INK4A}, p19^{ARF} :

Les protéines p16^{INK4A} et p19^{ARF} sont impliquées dans l'auto-renouvellement des CSH via une régulation épigénétique par le répresseur transcriptionnel BMI-1, appartenant aux gènes de la famille polycomb. Cette famille de gènes a pour fonction le remodelage de la structure de la chromatine à travers la modification des histones. L'expression de BMI-1 est restreinte à la MO chez l'homme et la souris, elle est élevée dans les CSH et diminue au cours de la différenciation hématopoïétique. Les souris BMI-1^{-/-} meurent précocement (2 mois) d'une aplasie médullaire [92,93]. p16^{INK4A} et p19^{ARF} inhibent l'interaction de la cycline D avec les CDK4 et 6, induisant ainsi un arrêt du cycle en phase G0/G1 du cycle cellulaire.

4. Rb :

Afin de s'affranchir de la redondance fonctionnelle des différents membres de la famille Rb, qui n'avait pas permis jusqu'alors de mettre en évidence un défaut phénotypique clair au niveau de l'hématopoïèse, une équipe américaine a montré que la délétion simultanée des trois gènes de la famille (pRb, p130 et p107) induit une perte de la quiescence des CSH. Des dérégulations comme l'activation du complexe CDK4-cycline D ou la perte de fonction de p16^{INK4A}, conduisant à l'inactivation du suppresseur de tumeur Rb, ont été fréquemment décrites dans de nombreux cancers mais également dans les hémopathies telles que les leucémies et les lymphomes [94,95].

5. Les cyclines et CDK :

Les souris doublement mutées pour les gènes CDK4 et CDK6 meurent d'anémie sévère au stade embryonnaire [96]. Malgré cette mortalité embryonnaire, l'analyse phénotypique révèle une prolifération cellulaire et une apoptose normales dans la plupart des tissus analysés, sauf pour le tissu hématopoïétique. Ces résultats mettent en évidence que les protéines CDK4 et CDK6 qui lient et sont activées par les cyclines de la famille D (D1, D2,

D3) ne sont pas essentielles pour réguler l'entrée des cellules en cycle après une stimulation mitogénique dans la plupart des tissus, mais elles sont indispensables pour la mise en place d'une hématopoïèse normale. Une étude portant sur l'analyse de souris délétées pour les 3 cyclines de la famille D, confirme que les cyclines D sont essentielles pour l'hématopoïèse, alors qu'elles ne sont pas essentielles pour la prolifération de nombreux tissus [97].

C. Niche hématopoïétique et cycle cellulaire :

Les interactions entre les CSH et leur microenvironnement médullaire appelé niche ont permis de faire avancer les connaissances dans le maintien de la quiescence des CSH. En effet, les CSH ont besoin de se détacher de leur niche dans laquelle elles sont maintenues pour entrer en division asymétrique et en expansion pour maintenir l'hématopoïèse [68]. Les acteurs du cycle cellulaire mis en jeu après stimulation par le microenvironnement ont été peu étudiés. Une étude rapporte que l'engagement de la β 1-intégrine, constituant majeur de la fibonectine, inhibe l'entrée et la progression en phase S des cellules hématopoïétiques immatures CD34+ grâce à l'augmentation de p27^{KIP1}, inhibiteur du complexe CDK2-cycline E et de l'activité de CDK2 [98].

Les analyses des différents mutants des acteurs du cycle (p21^{WAF1}, p27^{KIP1}, p16^{INK4A}, p18^{INK4C}, p19^{ARF}, Rb), précédemment mentionnés, ont permis de mettre en évidence leur influence sur le devenir des CSH. Néanmoins, l'utilisation de délétions conditionnelles restreintes au compartiment des CSH permet de préciser le rôle de ces acteurs dans l'hématopoïèse. En effet, la délétion conditionnelle de la protéine Rb entraîne un désordre myéloprolifératif caractérisé par une hématopoïèse extra-médullaire et la mobilisation des cellules primitives dans la périphérie [99]. Ce phénotype n'est pas observé lorsque les CSH Rb^{-/-} sont maintenues dans un microenvironnement sain, démontrant ainsi que Rb contrôle les CSH de manière extrinsèque en maintenant la compétence du microenvironnement à supporter une hématopoïèse normale. Ce phénomène ne semble pas restreint à Rb puisque cela est aussi le cas pour p27^{KIP1}. En effet, l'hyperplasie des cellules hématopoïétiques du

thymus et de la rate n'est observable qu'à condition que les souris receveuses soient aussi p27^{-/-}.

Ce résultat soulève donc l'importance du contexte environnemental dans la régulation des fonctions des CSH et le rôle majeur que semblent jouer les acteurs du cycle cellulaire dans la régulation de ce microenvironnement.

VI.2 Au cours de la différenciation hématopoïétique :

A. Cycle cellulaire & différenciation :

Le processus de différenciation hématopoïétique s'accompagne d'une réduction significative du pourcentage de cellules en phase G0 du cycle cellulaire : 67% pour les LT-CSH, 59% pour les ST-CSH, 50% pour les progéniteurs multipotents, 49% pour les progéniteurs myéloïdes communs, et 4% pour les progéniteurs myélomonocytiques [45]. De plus, les progéniteurs myéloïdes communs et les progéniteurs myélomonocytiques sont capables de cycliser en 24 heures comme le montre l'incorporation du BrdU après injection intrapéritonéale chez la souris.

B. Régulateurs du cycle cellulaire & différenciation :

1. p21^{WAF1} :

De manière assez surprenante, alors que p21^{WAF1} semble indispensable à l'inhibition de l'entrée des CSH en cycle, cette protéine est fortement exprimée dans les populations en cycle plus différenciées : les progéniteurs et précurseurs hématopoïétiques [100]. La déplétion de p21^{WAF1} chez la souris induit une diminution du nombre de progéniteurs myéloïdes, mettant en évidence son rôle dans la réplication et la survie des progéniteurs. Ce rôle atypique de p21^{WAF1} dans l'expansion du pool de progéniteurs refléterait sa capacité à augmenter la liaison du complexe CDK-cycline, facilitant ainsi l'entrée des cellules en phase S [101].

D'autres études portant sur la différenciation des cellules hématopoïétiques ont mis évidence le rôle direct de p21^{WAF1} dans ce processus, écartant ainsi une action indirecte à travers l'arrêt du cycle cellulaire associé au processus de différenciation [100,102]. Toutefois, ce rôle semble être redondant puisque d'autres CDKI comme p19^{ARF} ou p27^{KIP1}, ou les membres de la famille Rb, participent aussi à la différenciation hématopoïétique [103].

2. p27^{KIP1} :

Les souris déficientes pour p27^{KIP1} présentent une augmentation du nombre de progéniteurs alors que le nombre de CSH reste constant [104]. Ce phénotype met en évidence le rôle de p27^{KIP1} dans le contrôle de la division cellulaire au niveau des progéniteurs. En condition normale de croissance, l'expression importante de p27^{KIP1} restreint le statut de prolifération des progéniteurs, en revanche en présence de certaines cytokines, la répression de p27^{KIP1} va permettre une augmentation de l'entrée en cycle des progéniteurs [105]. Bien que les mécanismes d'action des différentes cytokines ne soient pas complètement élucidés, un certain nombre ont été décrits. La régulation négative de p27^{KIP1} dépendante des cytokines peut faire intervenir le répresseur transcriptionnel STAT3, l'activateur transcriptionnel forhead protein (FKHR-L1), le protéasome, mais également des mécanismes de relocalisation cytoplasmique de la protéine [106].

Comme pour p21^{WAF1}, p27^{KIP1} ne semble pas strictement nécessaire pour la différenciation hématopoïétique. Toutefois, contrairement à p21^{WAF1}, la déplétion de p27^{KIP1} entraîne un déséquilibre de la différenciation hématopoïétique, avec une augmentation de la population progénitrice et une diminution des neutrophiles [107]. Le concours simultané des régulateurs p21^{WAF1} et p27^{KIP1} semble important pour permettre la sortie du cycle cellulaire et la différenciation terminale mégacaryocytaire [108].

**DEUXIEME PARTIE :
LES HEMOPATHIES
MALIGNES : MODELE
DU MYELOME
MULTIPLE**

I. CLASSIFICATION DES HEMOPATHIES MALIGNES :

I.1 Contexte historique :

Au cours des 50 dernières années, de nombreuses classifications des leucémies et des lymphomes sont proposées. Certaines ont un impact majeur sur la pratique clinique tandis que d'autres sont tombées en désuétude. Pendant l'essentiel de cette période, toutefois, la distinction entre lymphome et leucémie est considérée comme étant de la plus grande importance et les classifications des lymphomes et des leucémies ont tendance à évoluer indépendamment.

La plupart des classifications de lymphomes peuvent être regroupées en deux catégories principales. Les tumeurs peuvent être classées en sous-catégories selon leurs caractéristiques purement morphologiques, comme la taille et la forme des cellules ou le schéma de croissance tumorale au sein du ganglion ou d'un autre tissu. C'est la méthode utilisée par la classification « Rappaport » publiée pour la première fois en 1955, classification qui marque l'histoire de l'étude des lymphomes et précède d'une dizaine d'années l'avancée considérable des connaissances sur la fonction lymphocytaire normale. D'un autre côté, la classification « Kiel » et la classification « Lukes and Collins » s'appuient sur l'idée qu'au sein d'un lymphome malin les cellules connaissent une interruption de leur maturation et que les tumeurs peuvent être classées après comparaison avec le stade de différenciation normale des lymphocytes. Aux Etats-Unis, le *National Cancer Institute* tente, au travers de sa *Working Formulation*, d'apporter un outil pour la conversion des données diagnostiques vers un format standard permettant les comparaisons. En pratique, la *Working Formulation* prend la forme d'une classification primaire fondée principalement sur les caractéristiques morphologiques, comme pour la classification « Rappaport ».

Afin de réduire les nombreux types de tumeurs à quelques catégories, pour simplifier avant tout la pratique clinique, la plupart des classifications de lymphomes ont recours à un système de gradation. Il est important de noter, cependant, que les niveaux de gradation utilisés dans les différents systèmes de classification ne sont pas strictement comparables.

Dans la classification « Kiel », les niveaux bas et élevé sont définis en fonction de la taille des cellules au sein de la tumeur. Les niveaux utilisés dans la *Working Formulation* sont issus de données pronostiques recueillies pendant l'étude initiale effectuée pour mettre au point la classification. D'un point de vue clinique, le niveau élevé désigne une tumeur agressive pouvant être soignée par la chimiothérapie tandis que le niveau bas s'applique à des lymphomes de moindre agressivité mais souvent incurables.

Le système *French-American-British* (FAB) propose, en parallèle mais de façon bien distincte, une méthode de classification des leucémies lymphoïdes et myéloïdes et des myélodysplasies s'appuyant sur le traditionnel marquage des échantillons.

Au début des années 90, il apparaît que les systèmes de classification existant pour les leucémies et les lymphomes posent de nombreux problèmes. L'apparition des techniques immunophénotypiques et de biologie moléculaire révèle que les différentes catégories sont en réalité hétérogènes. Il devient clair qu'utiliser les niveaux de gradation des lymphomes comme base pour les essais cliniques et les études épidémiologiques risque fortement d'être source d'erreurs. Au fur et à mesure que les définitions deviennent plus claires, il apparaît de plus en plus comme une évidence que la distinction faite entre leucémies lymphoïdes et lymphomes est en grande partie artificielle et correspond plus aux schémas d'extension de la maladie chez un patient particulier qu'aux différences cliniques et cellulaires de fond. La distinction entre maladie de Hodgkin et lymphome non hodgkinien est l'un des éléments centraux de la classification des lymphomes.

Cependant, les diverses recherches montrent que les cellules tumorales impliquées dans la maladie de Hodgkin ont pour origine des lymphocytes B du centre germinatif et que la maladie de Hodgkin devrait, par conséquent, être considérée comme une forme particulière de lymphome à cellules B plutôt que comme une classe pathologique totalement distincte. Les études cytogénétiques mettent à jour l'importance du rôle joué par les translocations chromosomiques accompagnées d'une dérégulation de gènes particuliers dans la pathogénèse et le comportement clinique de plusieurs types de leucémies et de lymphomes ; toutefois, il

est certain que beaucoup de temps sera nécessaire pour acquérir une connaissance complète de la pathogénèse tumorale.

C'est sur ces diverses avancées que se fonde la *Revised European-American Lymphoma (REAL)* classification publiée en 1994. Quantité des termes utilisés correspondent à ceux de la classification « Kiel », mais les concepts sous-jacents sont différents. Dans la classification REAL, les définitions des entités clinico-pathologiques s'appuient sur la combinaison des aspects morphologiques, immunophénotypiques, cliniques et des anomalies génétiques. En dépit du grand nombre de combinaisons possibles à partir de ces variables, les entités pathologiques définies sont en réalité relativement peu nombreuses, et plus de 90% des pathologies lymphoïdes malignes peuvent être classées grâce à cette méthode. La classification des pathologies hématologiques malignes par l'OMS repose sur cette même méthode et la partie consacrée aux troubles lymphoprolifératifs est pour l'essentiel similaire. La sous-classification des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) prend en compte le rôle central des anomalies cytogénétiques et de la distinction entre LAM *de novo* et LAM associée à une myélodysplasie [4].

I.2 Classification actuelle selon l'OMS :

La classification de l'OMS (*Tableau II*) ne peut être considérée comme définitive mais elle offre une base solide pour les avancées à venir. Nombre de catégories principales, comme celle des lymphomes diffus à grandes cellules B, sont nettement hétérogènes en termes de caractéristiques cliniques et de réponse au traitement. A l'avenir, celles-ci seront divisées en sous-catégories selon des critères cellulaires et moléculaires, mais pour l'heure les méthodes pour effectuer ces divisions supplémentaires sont loin de faire consensus. On peut s'attendre à ce que la partie consacrée aux pathologies hématologiques malignes dans la prochaine édition de la CIM-O présente, par rapport à celle-ci, d'aussi grandes différences que celles existant entre la deuxième et la troisième édition [4].

Tableau II. Classement de l’OMS pour les tumeurs lymphoïdes et du système hématoïétique. [4]

Note : Cette liste ne présente que les principales catégories de maladies. { } Signale une autre dénomination possible pour la tumeur.

TUMEURS MYELOIDES	
CIM-O	TERME DE L’OMS
	Maladies myéloprolifératives
9875/3	Leucémie myéloïde chronique, chromosome Philadelphie positif {t(9:22)(q34;q11)}, {ABL-BCR}
9963/3	Leucémie chronique à polynucléaires neutrophiles
9964/3	Leucémie chronique à éosinophiles/syndrome hyperéosinophilique
9961/3	Myélofibrose idiopathique chronique
9950/3	Maladie de Vaquez
9962/3	Thrombocythémie hémorragique essentielle
9975/1	Maladie myéloproliférative, inclassable
	Maladies myéloprolifératives/myélodysplasiques
9945/3	Leucémie chronique myélomonocytaire
9876/3	Leucémie myéloïde chronique atypique
9946/3	Leucémie myélomonocytaire chronique juvénile
	Syndromes myélodysplasiques
9980/3	Anémie réfractaire
9982/3	Anémie réfractaire avec sidérobastes en couronne
9980/3	Anémie réfractaire sans sidérobastes en couronne
9985/3	Anémie réfractaire (syndrome myélodysplasique) avec dysplasie de plusieurs lignées cellulaires
9983/3	Anémie réfractaire (syndrome myélodysplasique) avec excès de blastes
9986/3	Syndrome de délétion du bras court du chromosome 5 (5q-)
9989/3	Syndrome myélodysplasique, inclassable
	Leucémies aiguës myéloïdes (LAM)
	LAM avec translocations cytogénétiques récurrentes
9896/3	Leucémie aiguë myéloïde, {t(8;21)(q22;q22)}, {AML1(CBF-alpha)/ETO}
9866/3	Leucémie aiguë promyélocytaire, {LAM avec t(15;17)(q22;q11-12)} et variantes,
9871/3	Leucémie aiguë myéloïde avec éosinophiles médullaires anormaux {inv(16)(p13;q22)} ou {t(16;16)(p13;q11)}, {CBF-bêta/MYH11}
9897/3	Leucémie aiguë myéloïde, anomalies 11q23 {MLL}
9895/3	Leucémies aiguës myéloïdes avec dysplasie de plusieurs lignées cellulaires
9895/3	Avec antécédent de syndrome myélodysplasique
9895/3	Sans antécédent de syndrome myélodysplasique
9920/3	Leucémies aiguës myéloïdes et syndromes myélodysplasiques, secondaires à une thérapie
9920/3	Secondaire à une thérapie par agent alkylant
9920/3	Secondaire à une thérapie par épipodophylotoxines (parfois lymphoïdes)
9920/3	Autres types

Tableau II. Suite

CIM-O TERME DE L'OMS

9861/3	LAM type non précisé par ailleurs
9872/3	Leucémie aiguë myéloïde, différenciation minimale
9873/3	Leucémie aiguë myéloïde sans maturation
9874/3	Leucémie myéloïde aiguë avec maturation
9867/3	Leucémie aiguë myélomonocytaire
9891/3	Leucémie aiguë monocytaire
9840/3	Erythroleucémie aiguë
9910/3	Leucémie aiguë à mégacaryocytes
9870/3	Leucémie aiguë à basophiles
9931/3	Panmyélose aiguë avec myélofibrose
9805/3	Leucémies aiguës biphenotypiques

TUMEURS LYMPHOIDES

TUMEURS À CELLULES B

	Tumeurs à cellules précurseurs B
9728/3	Lymphome/leucémie lymphoblastique à cellules précurseurs B
9836/3	Leucémie lymphoblastique aiguë à cellules précurseurs B
	Tumeurs à cellules B matures (périphériques)
9823/3, 9670/3	Leucémie lymphoïde chronique à cellules B/lymphome à petits lymphocytes
9833/3	Leucémie polylmphocytaire à cellules B
9671/3	Lymphome lymphoplasmocytoïde
9689/3	Lymphome à cellules B de la zone marginale splénique (avec ou sans lymphocytes villeux)
9940/3	Leucémie à tricholymphocytes
9732/3, 9731/3	Myélome plasmocytaire/plasmocytome
9699/3	Lymphome marginal à cellules B des tissus lymphoïdes muqueux (<i>type MALT</i>)
9699/3	Lymphome ganglionnaire de la zone marginale (avec/sans cellules B monocytaïres)
9690/3, 9691/3, 9695/3,	
9698/3	Lymphome folliculaire
9673/3	Lymphome à cellules du manteau
9680/3	Lymphome diffus à grandes cellules B
9679/3	Lymphome médiastinal à grandes cellules B
9678/3	Lymphome malin à épanchement primaire
9687/3, 9826/3	Lymphome de Burkitt/leucémie à cellules de Burkitt

Tableau II. Suite

CIM-O	TERME DE L'OMS
	TUMEURS À CELLULES T ET NK
	Tumeur à cellules précurseurs T
9729/3	Lymphome/leucémie lymphoblastique à cellules précurseurs T
9837/3	Leucémie lymphoblastique aiguë à cellules pré-T
	Tumeurs à cellules T matures (périphériques)
9834/3	Leucémie prolymphocytaire à cellules T
9831/3	Leucémie lymphoïde à cellules granuleuses T
9948/3	Leucémie agressive à cellules NK
9827/3	Leucémie/lymphome à cellules T, type adulte (HTLV-1 positif)
9719/3	Lymphome à cellules T/NK, type nasal
9717/3	Lymphome à cellules T, type entéropathique
9716/3	Lymphome hépatosplénique des cellules T gamma-delta
9708/3	Lymphome à cellules T simulant la panniculite
9700/3, 9701/3	Mycosis fongoïde/syndrome de Sézary
9714/3	Lymphome anaplasique à grandes cellules, type à cellules T et cellules nulles, cutané primitif
9702/3	Lymphome périphérique à cellules T, SAI
9705/3	Lymphome angioimmunoblastique à cellules T
9714/3	Lymphome anaplasique à grandes cellules, type à cellules T et cellules nulles, généralisé primitif
	 LYMPHOME HODGKINIEN (MALADIE DE HODGKIN)
9659/3	Lymphome hodgkinien à prédominance lymphocytaire, forme nodulaire
9650/3	Lymphome hodgkinien classique
9665/3, 9667/3	Lymphome hodgkinien, sclérose nodulaire, grade 1 et 2
9651/3	Lymphome hodgkinien classique riche en lymphocytes
9652/3	Lymphome de Hodgkin, cellularité mixte
9653/3	Lymphome de Hodgkin, déplétion lymphoïde
	 TUMEURS À MASTOCYTES
9741/3	Mastocytose cutanée
9741/3	Maladie généralisée à mastocytes
9742/3, 9740/3	Leucémie/sarcome à mastocytes
	 TUMEURS HISTIOCYTAIRES ET À CELLULES DENDRITIQUES
	Tumeur histiocytaire/à macrophages
9755/3	Sarcome histiocytaire
	Tumeurs à cellules dendritiques
9751/1	Histiocytose de Langerhans
9756/3	Sarcome à cellules de Langerhans
9757/3	Sarcome/tumeur à cellules dendritiques interdigitées
9758/3	Sarcome/tumeur folliculaire à cellules dendritiques
9757/3	Sarcome à cellules dendritiques, SAI

II. EPIDEMIOLOGIE :

Les hémopathies malignes représentent environ 7 % des cancers tous âges confondus. En 2002, le nombre de nouveaux cas estimé dans le monde était de 750 000 [109]. En France, en 2000, on estimait le nombre de cas incidents à un peu moins de 280 000 cancers.

Les hémopathies malignes sont relativement fréquentes par rapport aux autres cancers et sont surtout dominées par les Lymphomes Non Hodgkiniens (LNH), le Lymphome d'Hodgkin et les leucémies [109,110]. Le MM sauf chez les noirs américains où il occupe la deuxième place, puis les leucémies myéloïdes. Cet ordre est sensiblement identique chez l'homme et chez la femme (*Figure 13*). Chez l'adulte, les hommes sont toujours plus atteints que les femmes avec un *sex ratio* voisin de 2 et on observe une augmentation de l'incidence avec l'âge pour toutes les hémopathies [111].

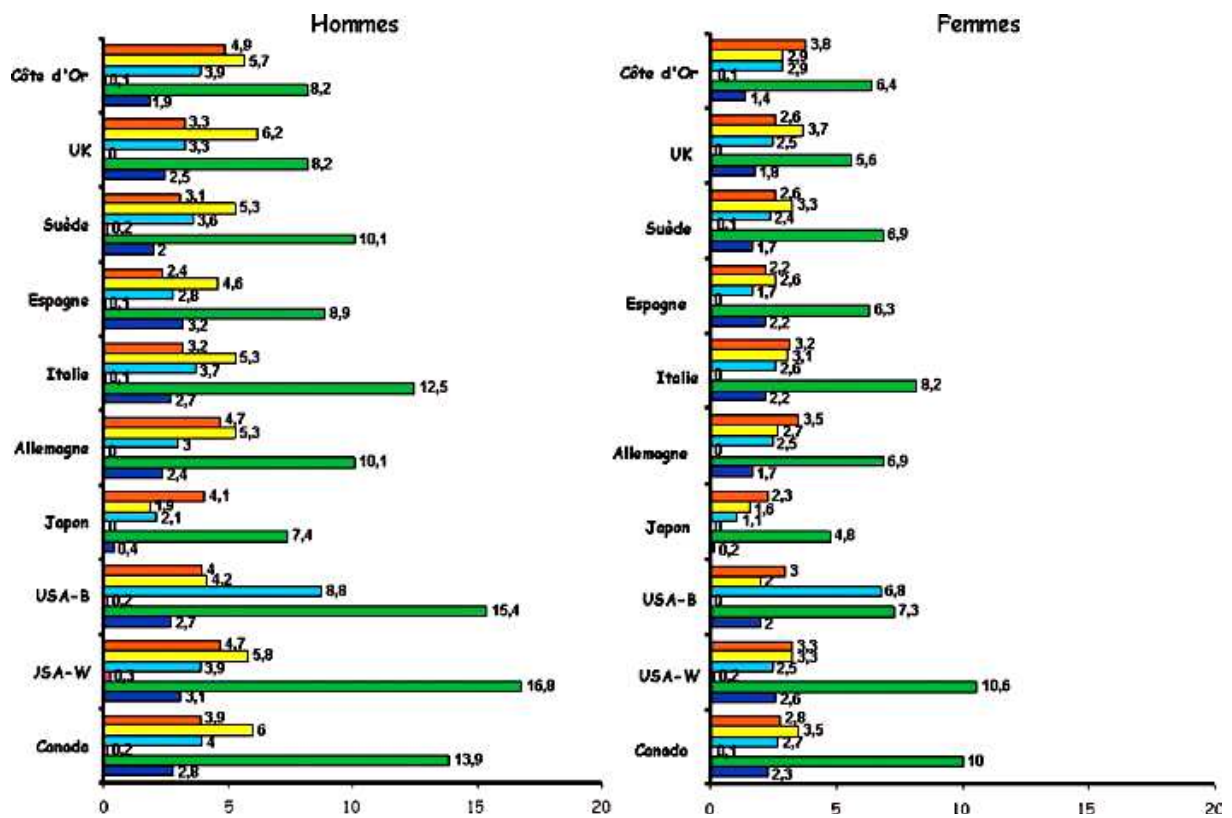


Figure 13. Incidence des différentes catégories d'hémopathies malignes chez l'homme et chez la femme dans différentes régions du monde [112]

- Leucémie myéloïde ■ Leucémie lymphoïde ■ Myélome multiple
- Maladies immunoprolifératives ■ Lymphome non hodgkinien ■ Lymphome de Hodgkin

III. MYELOME MULTIPLE :

III.1 Introduction :

Le MM ou maladie de Kahler est une hémopathie maligne caractérisée par une prolifération plasmocytaire monoclonale envahissant la moelle osseuse hématopoïétique [113] et sécrétant une immunoglobuline monoclonale [114].

La prolifération plasmocytaire s'accompagne :

- D'une inhibition de la lymphopoïèse B normale responsable d'une diminution du taux des immunoglobulines (Ig) polyclonales associée à une majoration du risque infectieux ;
- D'une suppression de l'hématopoïèse normale ;
- D'une augmentation de la résorption ostéoclastique responsable des manifestations osseuses de la maladie et de l'hypercalcémie, régulée par des cytokines appelées *osteoclast activating factor* comme l'interleukine 1-beta (IL1 β) ; le *tumor necrosis factor* (TNF), l'IL6 ou le RANK-ligand ;
- D'une inhibition de l'activité des ostéoblastes sous l'action de cytokines sécrétées par les plasmocytes tumoraux comme Dickkopf-1 (DKK-1). Il existe une corrélation entre le taux de DKK-1 et le nombre de lésions osseuses. Ces cytokines constituent des cibles thérapeutiques potentielles en cours d'évaluation.

III.2 Etiologie :

L'étiologie du MM est pour l'instant inconnue et aucun facteur de prédisposition n'est actuellement identifié [113]. Le seul facteur de risque clairement identifié est l'exposition aux radiations ionisantes. Les pesticides utilisés dans les professions agricoles ont été aussi incriminés. Il existe des cas familiaux, faisant discuter des facteurs génétiques [114,115].

Le MM est la conséquence de plusieurs évènements oncogéniques concernant la lignée lymphocytaire B. L'apparition du myélome est liée à la survenue d'évènements chromosomiques et moléculaires supplémentaires comme la translocation t(4;14), la surexpression de l'oncogène c-Myc, la mutation ponctuelle de N-Ras observée dans 50% des cas au diagnostic et dans 80% des formes avancées, ou encore la mutation ponctuelle de l'anti-oncogène p53 retrouvée dans 30% des myélomes avancés. Les plasmocytes présentent de nombreuses anomalies cytogénétiques dont aucune n'est constante ou spécifique du MM.

L'IL6 joue un rôle primordial dans la prolifération tumorale. Elle induit la différenciation des cellules B en plasmocytes et inhibe leur mort par apoptose. C'est le facteur de croissance essentiel des cellules myélomateuses [113].

III.3 Epidémiologie :

Le MM est le deuxième cancer du sang le plus courant après le lymphome non hodgkinien. Il représente environ 1% de tous les cancers et 2% de la mortalité par cancer. Cette maladie touche légèrement plus d'hommes que de femmes et se rencontre surtout après l'âge de 50ans. L'incidence du myélome varie en fonction de la race et de la localisation géographique.

Selon GLOBOCAN 2002 l'incidence standardisée estimée du MM chez les hommes au Maroc était comparable à celle estimée en Algérie et en Tunisie (1,0 versus 0,8 et 1,4 pour 100 000 hommes/an respectivement). Elle était faible par rapport à celle estimée dans d'autres pays, tels que la France avec 4,0 pour 100 000 hommes/an [109,116]. Chez les femmes, cette incidence était d'environ 1,0 pour 100 000 femmes/an, très voisine de celle observée en Algérie et en Tunisie et un peu plus faible que celle estimée dans d'autres pays, comme le Canada avec 2,2 pour 100 000 femmes/an [109,116].

III.4 Physiopathologie et implication de la régulation du cycle cellulaire :

Le MM est caractérisé par l'émergence et l'accumulation dans la moelle osseuse d'un clone de plasmocytes malins. Des modèles de plasmocytomes murins ont permis de progresser dans la compréhension des processus d'oncogenèse du plasmocyte.

A. Origine de la cellule tumorale myélomateuse :

La nature exacte de la cellule à l'origine du MM reste mal connue. Elle est vraisemblablement, comme c'est le cas pour de nombreuses tumeurs B, centrogerminative ou post-centrogerminative, c'est-à-dire postérieure aux événements de mutations somatiques, de sélection et de commutation isotypique [117]. En effet, la protéine monoclonale impliquée est en général une IgG (60% des cas) ou une IgA (20% des cas), seulement très rarement une IgD (1 à 2 % des cas) et exceptionnellement une IgM. L'expression d'une Ig commutée constitue un argument fort en faveur du caractère post-centrogerminatif de la cellule [118].

La cellule à l'origine du MM présente une (ou plusieurs) anomalie(s) dans son génome, mais reste apte à migrer dans la moelle osseuse et à se différencier en plasmocyte sécrétant une Ig. Il existe, chez un même patient, des populations de cellules myélomateuses de différents degrés de maturité. Il est probable que la fraction plus immature de ces cellules, qui est la fraction proliférante, soit capable d'auto-renouvellement et soit ainsi responsable de l'expansion du clone malin. L'existence d'un stade plasmoblastes hautement proliférants au cours de la différenciation plasmocytaire physiologique [119] est en faveur de cette hypothèse. Ainsi, la majorité des cellules myélomateuses ne constituent pas un compartiment de cellules tumorales prolifératives mais un compartiment d'accumulation de cellules plasmocytaires matures, alimenté par un petit compartiment de cellules tumorales prolifératives immatures (plasmoblastes).

La cause de la prolifération plasmocytaire maligne n'est pas connue, mais une instabilité génétique est vraisemblablement impliquée, se manifestant par des erreurs au cours

des modifications spécifiques de l'ADN des cellules B que sont la recombinaison VDJ, le *switch* de classe d'Ig, ou l'hypermutation somatique. Ces erreurs peuvent conduire à des réarrangements chromosomiques dont la résultante est une activité cellulaire anormale traduisant la malignité.

Finalement, les étapes d'apparition du myélome pourraient être la stimulation antigénique, la sélection d'un clone anormal, l'expansion de ce clone et la progression vers la malignité à la suite d'événements génétiques comme l'activation d'oncogènes.

B. Cytogénétique et altérations moléculaires :

L'étude cytogénétique du MM est difficile du fait de la faible prolifération des plasmocytes. Le prélèvement médullaire étudié est un mélange en proportions très variables de cellules plasmocytaires et d'éléments myéloïdes normaux beaucoup plus proliférants. Ces derniers produisent des mitoses normales qui peuvent submerger les quelques mitoses anormales des plasmocytes.

On sait aujourd'hui que dans le MM les anomalies chromosomiques sont quasi-universelles, observées chez près de 90% des patients [120]. Ce sont des événements précoces qui participent au processus de pathogénèse.

Sur le plan des anomalies cytogénétiques, le MM se rapproche des tumeurs solides non hématopoïétiques. En effet, alors que l'étude des leucémies montre assez souvent une seule anomalie cytogénétique (un seul événement détectable), le MM est caractérisé par l'existence d'anomalies cytogénétiques nombreuses et complexes, numériques et/ou structurales. Le caryotype peut ainsi présenter jusqu'à quinze à vingt anomalies chromosomiques, différentes d'un patient à l'autre.

1. Translocation impliquant la région 14q32 :

L'anomalie la plus fréquente est représentée par les translocations impliquant la région 14q32, et en particulier le gène IgH. Ces anomalies se retrouvent chez environ 60 % des patients [121,122]. À ce jour, plus de 30 régions chromosomiques ont été rapportées. Néanmoins, seules certaines d'entre elles paraissent réellement récurrentes. Par ordre de fréquence décroissante, on retrouve la t(11;14)(q13;q32) (~20 % des patients), la t(4;14)(p16;q32) (~15 %), la t(14;16)(q32;q23) (~5 %), la t(6;14)(p21;q32) (< 2 %) et la t(14;20)(q32;q11) (< 3 %). Les autres cas (~15–20 % des patients) semblent correspondre à des cas uniques, laissant suspecter l'origine aléatoire de ces réarrangements non récurrents [123].

Ces translocations entraînent la dérégulation de gènes spécifiques qui ont tous été clonés. Ainsi, la t(11;14) dérégule le gène CCND1, conduisant à une hyperexpression de la cycline D1. La t(4;14) est unique, dans le sens où elle n'a jamais été décrite dans d'autres pathologies, et où elle entraîne la dérégulation de deux gènes situés de part et d'autres du point de cassure sur le chromosome 4. Le gène FGFR3, situé en position distale (télomérique), est transloqué sur le dérivé du chromosome 14, conduisant à sa surexpression. En position proximale par rapport au point de cassure, un gène a été identifié par clonage de la translocation : le gène MMSET. Ce gène (dont les fonctions restent essentiellement méconnues) comporte un domaine SET, qui serait impliqué dans la régulation de la conformation chromatinienne. La translocation conduit à la formation d'un gène chimérique sur le dérivé du chromosome 4, ce qui constitue un cas d'espèce dans les translocations 14q32. La t(14;16) dérégule l'oncogène MAF en le déplaçant sur le der(14) [123], alors que les deux dernières translocations récurrentes conduisent à une hyperexpression des gènes CCND3 (codant pour la cycline D3) [124] et MAFB [125], respectivement. Cette disparité de partenaires chromosomiques explique en partie l'hétérogénéité de la pathologie. Ces anomalies chromosomiques impliquant le gène IGH sont très certainement très précoces dans l'oncogenèse de la maladie. En effet, lorsque l'on analyse des cas de GMSI, l'incidence de

ces réarrangements illégitimes est globalement la même que dans le MM symptomatique, avec peut-être une moindre incidence de t(4;14) [126].

2. Hyperdiploïdie :

La seconde anomalie en termes de fréquence est l'hyperdiploïdie (50 à 60 % des patients). Sans être à proprement parler une anomalie chromosomique en soi, l'hyperdiploïdie est reconnue comme telle de par ses caractéristiques. En effet, la nature des chromosomes en excès n'est pas aléatoire, et touche tout particulièrement les chromosomes impairs (3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 et 21). L'hyperdiploïdie dans le MM représente très probablement une voie oncogénique distincte de celle liée aux t(14q32). En effet, les réarrangements récurrents impliquant la région 14q32 sont pratiquement incompatibles avec une hyperdiploïdie. De plus, tout comme les t(14q32), l'hyperdiploïdie a été démontrée dans les GMSI, montrant ainsi le caractère précoce de survenue de ces anomalies [123].

3. Délétion du bras long du chromosome 13 :

La troisième anomalie est la perte de matériel chromosomique sur le chromosome 13. Cette anomalie a été l'une des premières à être reconnue dans les études cytogénétiques. Initialement décrites comme des pertes centrées sur la région 13q14, il a été montré par la suite que la très grande majorité de ces anomalies correspondaient en fait à des monosomies 13 [123]. Il n'est d'ailleurs pas certain que les rares délétions partielles (< 10 % des anomalies du 13) aient la même traduction biologique que les pertes complètes. Tout comme les précédentes anomalies, les anomalies du 13 ont été décrites dans les GMSI, avec une incidence similaire à celle retrouvée dans le MM, soit de l'ordre de 40–50 % [126]. La distribution de ces anomalies ne semble pas aléatoire. Alors qu'elles sont rarement retrouvées chez les patients hyperdiploïdes, elles sont à l'inverse pratiquement constantes chez les patients présentant une t(4;14), une t(14;16) ou une del(17p).

À ce jour, la traduction biologique de ces pertes de matériel n'est pas connue. On peut imaginer un mécanisme de type perte de gène suppresseur de tumeurs, mais compte tenu de la taille de ces délétions, des hypothèses portant sur des effets de dosage génique peuvent tout aussi bien être avancées.

4. Gains de copies du bras long du chromosome 1 :

La quatrième anomalie, par ordre de fréquence est représentée par les gains de copies supplémentaires du bras long du chromosome 1 (ou gains de 1q). Cette anomalie n'est pas spécifique au myélome, mais a été décrite dans de très nombreuses hémopathies malignes, mais également dans de nombreux types de tumeurs solides. L'équipe de Little Rock a rapporté des données d'analyse de profils d'expression génique, montrant une très forte corrélation entre des gains de 1q et l'hyperexpression d'un gène dénommé CKS1B [127]. Par analyse FISH, ils ont montré que tous les cas d'hyperexpression de ce gène étaient associés à la présence de 1 à quatre copies supplémentaires de ce gène.

5. Délétion du bras court du chromosome 17 :

La dernière anomalie récurrente, sans doute importante au plan biologique dans le myélome, est la perte du bras court du chromosome 17. Les études se sont concentrées sur le gène de la p53, situé en 17p13. Par analyse FISH, la plupart des études montrent une perte de ce gène chez près de 10 % des patients atteints de MM, mais exceptionnellement dans les cas de GMSI. La cible principale de ces délétions n'est pas connue à ce jour. En effet, toutes les études se sont focalisées de manière arbitraire sur le gène TP53, sans aucun rationnel scientifique. En effet, ce gène est très rarement muté au diagnostic dans le MM, et même en phase terminale, le taux de mutation est faible. De même, la perte d'un allèle de ce gène nécessiterait une mutation du second allèle pour avoir une implication biologique. Tout cela plaide plutôt pour une cible autre que la p53, qui reste toutefois à découvrir [123].

C. L'environnement médullaire du MM :

Le microenvironnement médullaire comprend une population hétérogène de cellules et un compartiment extracellulaire, le tout étant organisé en une architecture complexe. Les MMC, localisées au sein de la moelle osseuse, coexistent et interagissent avec les protéines de la matrice extracellulaire et le compartiment non hématopoïétique caractérisé par les cellules stromales (BMSC) contenant les cellules souches mésenchymateuses, les ostéoclastes, les ostéoblastes, les cellules endothéliales et les adipocytes. Les autres composantes de la moelle sont issus du compartiment hématopoïétique composé par les monocytes, les polynucléaires et les lymphocytes (*Figure 14*) [128].

Rappelons que le cycle cellulaire des MMC est dérégulé (avec en particulier une expression élevée de cyclines D). Cette dérégulation du cycle n'est cependant pas suffisante à engendrer la survie et la prolifération des MMC : en dehors de l'environnement médullaire, les MMC meurent rapidement par apoptose. Ces différents acteurs moléculaires et cellulaires jouent ainsi un rôle essentiel dans le développement et la progression du MM. Par ailleurs, certaines données indiquent que l'environnement myélomateux contribue aux phénomènes de résistance à la chimiothérapie.

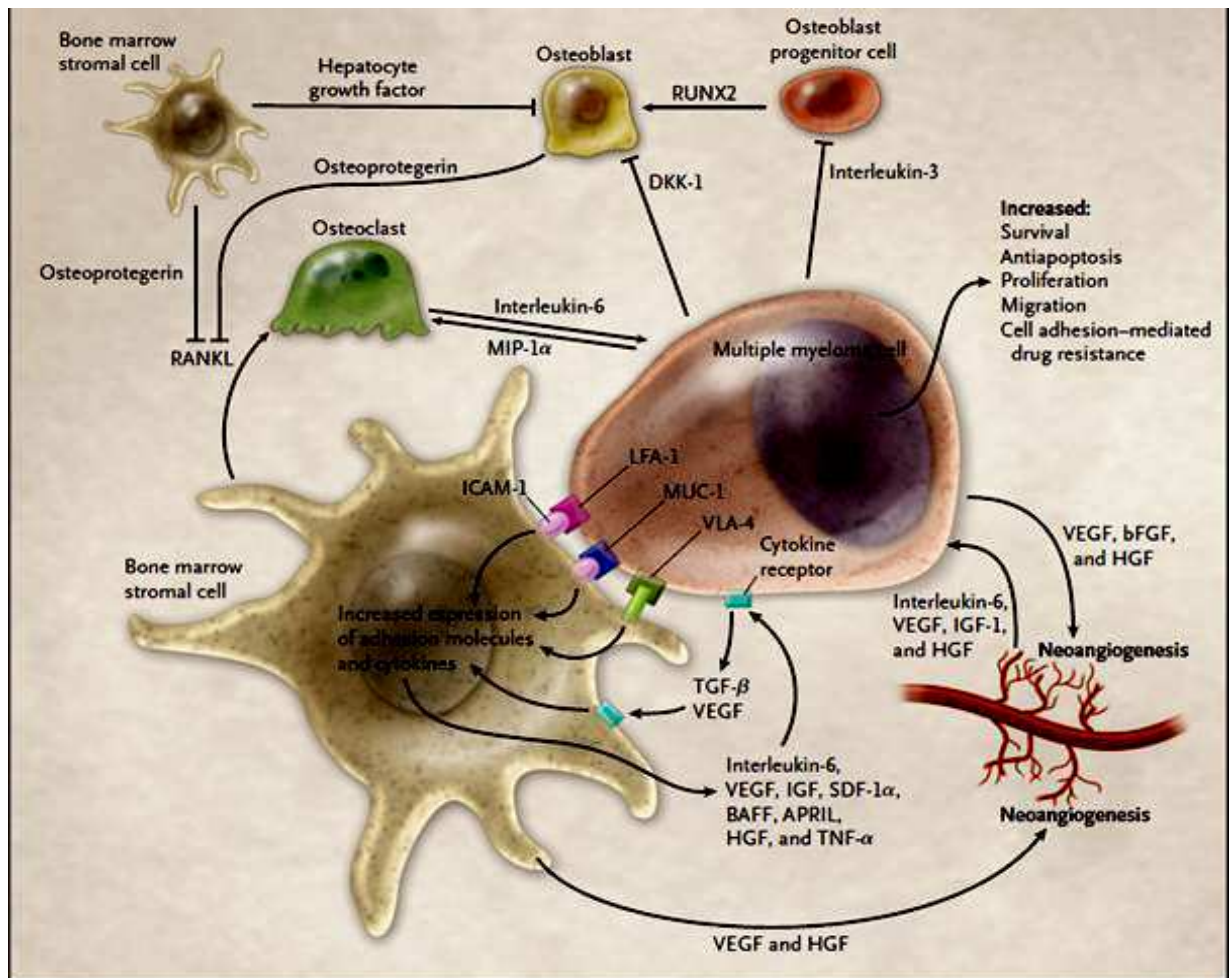


Figure 14. Interactions entre les cellules du MM et le micro environnement médullaire.

[129]

D. L'adhésion des cellules de myélome multiple aux cellules stromales et aux protéines de la matrice extracellulaire :

L'expression de CXCR4 par les plasmocytes et la présence de la chimiokine SDF-1 α dans la MO permet le recrutement des MMC dans la MO [130]. Ces cellules vont ensuite adhérer aux protéines de la matrice extracellulaire (telles que le collagène, la fibronectine, la laminine et la vitronectine) et aux cellules stromales grâce à l'expression de molécules d'adhésion.

Les MMC expriment 3 principales molécules d'adhésion qui permettent une liaison des MMC impliquées dans ces interactions :

- VLA-4 et VLA-5 (very-late-activating antigens 4 et 5), qui se lient à la fibronectine et à la laminine de la matrice extracellulaire ou à VCAM-1 présent sur les cellules stromales [131].
- LFA-1, qui se lie à ICAM-1 présent sur les cellules stromales [132].
- Syndecan-1 qui se lie au collagène de type I de la matrice extracellulaire [133].

Ces adhésions sont renforcées par la présence de cytokines présentes dans le milieu. SDF-1 α modulerait ainsi l'expression de VLA-4 par les MMC [130] et le TNF- α induirait, par un mécanisme dépendant de la voie *nuclear factor kappa-B* (NF- κ B) une augmentation à la surface des cellules de l'expression d'ICAM-1 et de VCAM-1.

Ces différentes adhésions entre MMC, protéines de la matrice extracellulaire et cellules stromales ne permettent pas seulement la localisation de ces cellules dans la moelle, mais favorisent également la survie et la croissance des MMC. L'adhésion des MMC à la fibronectine par VLA-4 et VLA-5 inhibe l'apoptose induite par FAS *via* une activation de la caspase 8 [134]. Cette résistance aux drogues (CAM-DR) est liée par une augmentation de l'expression de la protéine p27 et à un arrêt du cycle cellulaire [135].

De plus, les interactions des MMC avec les BMSC induisent une activation des voies de signalisation impliquées dans la survie et la prolifération des MMC :

- la voie Ras/Raf/mitogen-activated protein (MAPK) kinase (MEK), qui engendre une prolifération des cellules de MM,
- la voie Janus kinase (JAK)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), qui bloque l'apoptose des MMC,
- la voie NF- κ B, qui active le cycle cellulaire et inhibe l'apoptose,
- la voie phosphatidylnol-3 kinase (PI3K)/AKT, qui favorise le cycle cellulaire,
- une migration et un effet anti-apoptotique (via NF- κ B).

Ces mécanismes induits soit par contact direct avec les cellules stromales soit indirectement par une sécrétion de facteurs solubles entraînent une induction des cyclines D, des protéines anti-apoptotiques (Bcl-2, Mcl-1) et une activité télomérase dans les MMC [136].

E. Rôle des cytokines et des facteurs de croissance dans le myélome multiple :

Le caractère peu mitotique des plasmocytes malins suggère que le MM est essentiellement une maladie d'accumulation avec un index apoptotique faible. Les plasmocytes de MM ne se différencient pas totalement, mais dépendent pour leur survie, leur prolifération et leur différenciation, de facteurs de croissance ou cytokines. À côté de ces facteurs qui favorisent la survie des cellules myélomateuses humaines existent des éléments inhibiteurs.

Le MM est une maladie à localisation essentiellement médullaire. Les interactions qui se créent entre la cellule plasmocytaire maligne et les différents types cellulaires de son environnement osseux constituent une sorte de « niche osseuse » favorable à la survie des plasmocytes.

1. L'interleukine-6 (IL-6) :

L'IL-6 est le facteur de croissance le plus important des cellules myélomateuses. Ce facteur de croissance est produit majoritairement par les BMSC et peu par les cellules de MM [137]. Sa sécrétion est régulée dans les cellules de MM par une activation de CD40 [138] et dans les cellules stromales soit par des cytokines (TNF- α , VEGF, FGF-2 et IL-1 β) [139], soit par l'adhésion avec les MMC. L'interaction des MMC avec les BMSC induit une activation de NF- κ B, qui active elle-même la transcription du gène codant pour l'IL-6 puis la sécrétion

de cette cytokine. A l'inverse, une inhibition de cette voie entraîne une régulation négative de la sécrétion d'IL-6 [140].

Plusieurs éléments indiquent que l'IL-6 a un rôle essentiel dans la physiopathologie du MM :

- l'IL-6 fait proliférer les cellules myélomateuses des patients in vitro et s'oppose aux effets proapoptotiques de la dexaméthasone sur ces cellules ;
- les cellules myélomateuses peuvent synthétiser de l'IL-6 et expriment un récepteur fonctionnel alpha-bêta de haute affinité ;
- les taux d'IL-6 circulants sont augmentés au cours du MM et semblent corrélés à l'évolutivité de la maladie ;
- des anticorps anti-IL-6 peuvent inhiber la prolifération des cellules myélomateuses fraîches et de lignées de cellules myélomateuses dépendantes d'IL-6 in vitro ;
- l'utilisation d'anticorps bloquants in vivo a une certaine efficacité anti-tumorale chez certains patients.

La production d'IL-6 au cours du MM est essentiellement paracrine, et nécessite une interaction étroite entre cellules myélomateuses et cellules stromales. En synthétisant du *transforming growth factor* (TGF β), du *tumor necrosis factor* (TNF- α) et de l'IL-1 β le plasmocyte induit la synthèse d'IL-6 par les cellules stromales et par les ostéoblastes.

L'IL-6 a un rôle essentiel dans la survie des plasmocytes et induit l'expression des protéines à fonction anti-apoptotique de la famille Bcl-2 [141].

2. L'insulin-like growth factor-1 (IGF-1) :

Les taux sériques d'IGF-1 sont augmentés au cours du MM, et cette augmentation semble associée à un mauvais pronostic. L'IGF-1 est un facteur de survie et de prolifération des plasmocytes in vitro, et agit comme l'IL-6 selon un mode paracrine. L'IGF-1 est

synthétisé par les cellules stromales, et cette synthèse est accrue localement en réponse à une dégradation de la matrice extracellulaire [141].

3. Vascular endothelial growth factor (VEGF) :

Les cellules myélomateuses synthétisent du VEGF (*vascular endothelial growth factor*), facteur de croissance qui stimule l'angiogenèse locale et dont les récepteurs sont exprimés par les cellules stromales médullaires et les cellules myéloïdes et monocytaires [142].

Ce facteur induit la phosphorylation de FLT-1 (VEGF-R1) et une activation des voies de signalisation de type MAPK et PI3K/PKC dans les HMCL et MMC. Ceci induit une modeste prolifération mais majore le potentiel de migration des cellules [143]. Le VEGF, au même titre que l'IL-6, induit l'expression de la protéine anti-apoptotique Mcl-1 [144]. Des études ont montré que des Ac anti-VEGF ou des inhibiteurs du VEGFR induisent l'apoptose (inhibition Mcl-1) et bloquent la prolifération et la migration des cellules de MM ainsi que la sécrétion d'IL-6 et du VEGF *in vitro* [145]. Cette inhibition a été confirmée *in vivo* dans un modèle murin avec une réduction de la tumeur associée à une augmentation de l'apoptose, une diminution de l'angiogenèse ainsi qu'une prolongation de la survie [146,147].

4. Interferon alpha (INF α) :

L'INF α n'a pas d'effet prolifératif. Il a un rôle anti-apoptotique sur les cellules myélomateuses en situation de déprivation en IL-6 et en présence de dexaméthasone. Ces effets biologiques expliquent probablement les résultats décevants des essais de traitement par l'INF α au cours du MM [141].

5. Le tumor necrosis factor α (TNF α) :

Le TNF α est présent en quantité augmentée dans le microenvironnement médullaire des patients porteurs de MM. Il régule positivement l'expression de molécules d'adhésion impliquées dans l'interaction entre le plasmocyte et le stroma médullaire. Le TNF α induit la prolifération des plasmocytes en activant la voie de signalisation NF- κ B [141].

6. Hepatocyte growth factor (HGF) :

Le taux sérique d'HGF est plus élevé chez les patients atteints de MM que chez les sujets sains. Ce taux augmente avec l'évolution de la maladie (stade I-II vs III) et est associé à un facteur de mauvais pronostic. L'expression de son récepteur, c-Met, suggère la présence de boucles autocrines dans les cellules de MM. Derksen et ses collaborateurs ont montré que l'HGF est un facteur de survie et de prolifération des cellules de MM en activant les voies de signalisation PI3K/AKT et MAPK. Cette signalisation HGF/c-Met est médiée par syndecan-1 qui lie l'HGF [148]. De plus, il est décrit que l'HGF est activé dans le milieu extracellulaire par la protéase HGF-A (HGF activator) produite par les MMC [149], ce qui suggère que l'activation de l'HGF par les MMC joue un rôle important dans la signalisation et la boucle autocrine HGF/c-Met. L'HGF stimule également l'adhésion des HMCL à la fibronectine ainsi que la migration des cellules [150,151]. Une publication récente décrit une synergie entre l'HGF et l'IL-6 dans la prolifération et la migration des cellules de MM [152]. Une étude sur un inhibiteur de c-Met utilisé sur un modèle murin montre une inhibition de la croissance des tumeurs ainsi qu'une réduction de l'angiogenèse [153].

7. Les membres de la famille epidermal growth factor (EGF) :

Grâce à une analyse de comparaison d'expression de gènes codant pour des molécules intracellulaires entre des MMC et des lignées lymphoblastoïdes autologues, l'HB-EGF

(heparin-binding EGF-like growth factor) a été retrouvé surexprimé dans les HMCLs. Mahtouk et ses collaborateurs ont ainsi pu identifier l'HB-EGF et d'autres membres de la famille EGF tels que l'amphireguline (AREG) et la neuréguline-1 (NRG-1) comme facteurs de croissance du MM [154,155,156]. Ces 3 facteurs sont produits par les cellules de l'environnement. Les MMC et les plasmocytes normaux produisent également l'AREG et le NRG-1 à des concentrations plus élevées que les cellules B ou plasmablastiques. Les cellules de MM expriment les récepteurs des membres de la famille EGF : ErbB1, ErbB2, ErbB3 ou ErbB4. Par ces études, l'HB-EGF en présence d'une concentration faible en IL-6, favorise la croissance des cellules en activant la voie PI3K [154]. L'AREG a une fonction double : il stimule la croissance des cellules stromales en favorisant leur sécrétion en IL-6 et il agit comme un facteur autocrine des MMC [155]. Il est également montré que la NRG-1 est un facteur de croissance des cellules de MM. Ces 3 facteurs ont une propriété commune : un domaine de liaison à l'héparine qui permet de se fixer à syndecan-1. Ce protéoglycane spécifique des cellules plasmocytaires est essentiel à l'activation des membres de la famille ErbB car des inhibiteurs de la fixation à syndecan-1 (héparine, héparitinase) abolissent les effets de prolifération de l'HB-EGF, de l'AREG et de la NRG1. Ces données sont confirmées avec un inhibiteur spécifique d'ErbB qui entraîne une apoptose des MMC cultivées *in vitro* dans leur environnement.

8. B cell activating factor of the TNF family/a proliferation-inducing ligand (BAFF/APRIL) :

BAFF et APRIL, 2 membres de la superfamille TNF, jouent un rôle essentiel dans le développement des cellules B et leur survie à long terme [157]. Ces facteurs de croissance ont été identifiés grâce à leurs récepteurs : BCMA (B cell maturation antigen) et TACI (transmembrane activator and CAML interactor). En effet, une comparaison de profils d'expression de gènes entre plasmocytes tumoraux et normaux par rapport aux cellules B normales a révélé une surexpression de BCMA et TACI dans les plasmocytes [158]. BAFF

et APRIL sont produits par les ostéoclastes et leurs récepteurs TACI, BCMA et BAFF-R (BAFF receptor) sont présents dans les cellules de MM. BAFF et APRIL favorisent la croissance des cellules de MM en activant les voies PI3K, MAPK et NF- κ B [158,159]. Les taux sériques de BAFF et d'APRIL sont plus élevés chez les patients atteints de MM [158]. Il a été démontré qu'un inhibiteur de BAFF et d'APRIL, TACI-Fc induisait l'apoptose des HMCL *in vitro* et engendrait une inhibition de la croissance des MMC *ex vivo* dans un modèle murin [158,160]. Un essai thérapeutique basé sur l'utilisation d'un inhibiteur de BAFF/APRIL vient d'être publié. Cet inhibiteur de BAFF/APRIL a permis de stabiliser la croissance de la tumeur chez les patients atteints de MM avec une réduction des Ig sériques [161].

9. SDF-1 α :

SDF-1 α est le ligand du récepteur de chimiokines CXCR4 permettant la migration et le maintien des cellules souches hématopoïétiques dans la MO. SDF-1 α favorise l'adhésion cellulaire en augmentant l'expression de VLA-4 dans les MMC présents dans l'environnement médullaire. Il induit également une modeste prolifération et une protection contre l'apoptose induite par les drogues des cellules de MM en activant les voies de signalisation ERK, PI3K et NF- κ B [130]. SDF-1 α est régulé par le TGF- β et il est inducteur de la sécrétion de l'IL-6 et du VEGF par les BMSC. Une étude a montré que le taux circulant de SDF-1 α était corrélé à l'angiogenèse et à la présence de lésions osseuses [162,163]. Un inhibiteur de CXCR4 bloque la formation des ostéoclastes stimulée par les cellules de MM, ceci confirme que SDF-1 α joue un rôle dans le recrutement et l'activité des ostéoclastes dans la MO [163]. Des études sur un autre inhibiteur de CXCR4, AMD3100, ont montré un rôle majeur de SDF-1 α /CXCR4 dans la migration et le « homing » des MMC. L'AMD3100 bloque la migration des MMC *in vitro* mais également *in vivo* en augmentant la mobilisation des MMC dans la circulation sanguine et donc pourrait palier à la résistance aux drogues des MMC [164,165].

10. Les ligands de Notch : JAG1 et JAG2 :

Des études ont montré que la voie Jagged/Notch joue un rôle important dans la biologie du MM. Les récepteurs Notch-1 et 2 sont exprimés par les cellules de MM et les ligands de Notch, JAG1 et JAG2, par les cellules de MM et les cellules stromales. L'activation de la voie Notch par JAG1 dans les cellules de MM engendre la croissance des MM. L'interaction des MMC avec les BMSC active la voie Notch dans les MMC, ce qui confère aux MMC une protection contre l'apoptose induite par les chimiothérapies *via* une régulation positive de la p21 [166,167]. Une autre étude a montré que les MMC et les HMCLs surexpriment JAG2 qui interagit avec Notch présent sur les cellules stromales et cette activation induit une sécrétion d'IL-6, d'IGF-1 et de VEGF par les BMSC [168]. La surexpression de JAG2 a été récemment expliquée par une acétylation aberrante du promoteur de JAG2 dans les MMC et les HMCLs due à une diminution de l'expression du corépresseur de HDAC, SMRT (silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptors) [169]. Une inhibition de Notch induit l'apoptose des MMC et les cellules stromales ne protègent plus les cellules de MM de l'apoptose induite par les chimiothérapies. Cet effet cytotoxique est dû à une diminution de Hes1 (Hairy and enhancer of split 1) et une augmentation de la protéine pro-apoptotique Noxa [170]. Une publication récente montre que la signalisation Notch est impliquée dans l'activation des ostéoclastes médiée par une interaction directe avec des lignées de myélome [171].

11. Les Wnt (wingless integration site) :

Les Wnt sont une famille de glycoprotéines sécrétées comprenant 19 membres qui se fixent aux récepteurs frizzled. L'activation des Wnt entraîne une inhibition de l'activité GSK-3 β et un blocage de la phosphorylation et de la dégradation par le protéasome de la β -caténine accumulée dans le cytoplasme. La β -caténine est ensuite transloquée dans le noyau pour activer ses gènes cibles. Derksen et ses collaborateurs décrivent une surexpression de la β -caténine dans les cellules de MM due à une activation de la voie Wnt qui entraîne une

prolifération des cellules de MM [172]. Deux inhibiteurs de la β -caténine (SDX-308 et PKF115-584) qui bloquent sa translocation dans le noyau entraînent l'apoptose des MMC et confèrent une sensibilité des cellules aux drogues *in vitro* et *ex vivo* en ciblant l'interaction MMC/BMSC [173]. *In vivo*, dans un modèle murin, l'inhibiteur de la β -caténine diminue la croissance de la tumeur, cette observation étant associée à une survie prolongée [174]. Deux autres études, offrent un point de vue contradictoire. L'activation de la Wnt possède 2 effets *in vivo*. Il favorise la croissance des cellules de MM dans les niches endostéales. A l'inverse, au niveau de l'os, la signalisation médiée par Wnt3a entraîne une inhibition des lésions osseuses ainsi qu'une diminution du volume de la tumeur [175,176].

12.Le fibroblast growth factor-2 (FGF-2) :

Le FGF-2 est un facteur angiogénique au cours du MM. La t(4 ; 14) conduit à la surexpression de la protéine FGFR3, qui correspond au récepteur du *fibroblast growth factor* (FGF). On suppose que le FGF produit par les cellules stromales stimule la prolifération et/ou la survie des cellules myélomateuses exprimant anormalement la protéine FGFR3. Dans certaines lignées de MM, des mutations activatrices situées dans le domaine d'activité kinase de FGFR3 ont été identifiées, conduisant à une activité kinase constitutive du récepteur. L'expression d'une forme constitutivement activée de FGFR3 dans des cellules de lignée myélomateuse dépendantes d'interleukine IL-6 pour leur prolifération, les rend indépendantes d'IL-6 et résistantes à l'apoptose de déprivation [141].

13.Le transforming growth factor β (TGF- β):

Le TGF- β est sécrété par les MMC et entraîne la production d'IL-6 par les BMSC. Il augmente aussi la croissance des MMC médiée par l'IL-6. Un inhibiteur de TGF- β SD-208, n'inhibe pas seulement la transcription et la sécrétion d'IL-6 et de VEGF par les BMSC mais également l'adhésion des MMC aux BMSC. De plus, le SD-208 diminue la croissance de la

tumeur médiée par l'adhésion MMC/BMSC, ce qui suggère que le TGF- β a un rôle dans la croissance, la survie, la résistance aux drogues et la migration des MMC dans l'environnement médullaire [177].

14.L'interleukine-10, -15 et -21 (IL-10, IL-15 et IL-21) :

L'IL-10 est un facteur de croissance des cellules myélomateuses humaines qui agit par un mécanisme indépendant de l'IL-6. L'IL-10 pourrait induire l'expression du récepteur au LIF et à l'IL-11 à la surface des lignées myélomateuses indépendantes d'IL-6 pour leur prolifération. Dans les lignées dépendantes d'IL-6, l'IL-10 induirait une boucle autocrine impliquant l'oncostatine M. Les taux sériques d'oncostatine M semblent augmentés au cours du MM et corrélés à l'évolutivité de la maladie. Cette cytokine pourrait faire proliférer les cellules myélomateuses en interagissant avec le récepteur du LIF induit par l'IL-10 et la gp130 constitutivement exprimée par les cellules de MM.

L'IL-15 pourrait avoir un rôle important dans la survie des cellules myélomateuses, proche de celui exercé par l'IL-6. Les cellules de MM la synthétisent et expriment des récepteurs de haute affinité pour l'IL-1. Le mécanisme d'action serait essentiellement autocrine.

L'IL-21, principalement synthétisée par les lymphocytes T activés, est aussi un facteur de croissance et de survie de plasmocytes dont la fonction in vivo reste à déterminer [141].

15.Les inhibiteurs des voies de signalisation activées dans le MM :

De nombreux facteurs de croissance myélomateux activent principalement 4 voies de signalisation : MAPK, JAK/STAT, NF- κ B et PI3K/AKT. Ces voies activées qui entraînent la survie et la prolifération des MMC font donc figure de cibles thérapeutiques potentielles.

a) L'inhibition de la voie JAK/STAT :

Dans le MM, la voie de signalisation JAK/STAT est majoritairement activée par l'IL-6 [178]. La gp130 de l'IL-6R active les JAK qui activent à leur tour les facteurs de transcription STAT1 et STAT3. Ils forment alors des hétérodimères STAT1/STAT3 ou STAT3/STAT3 qui migrent dans le noyau et activent des gènes cibles [179]. Un inhibiteur de JAK2, l'AG490, inhibe la prolifération et induit l'apoptose des lignées de MM IL-6-dépendantes. Il bloque également via IL-6 l'activation de JAK2, ERK2 et STAT3 [180]. D'autres inhibiteurs des JAK (la pyridone 6 et l'INCB20) ont par la suite été publiés. La pyridone 6 est décrite comme étant plus spécifique dans la mesure où elle inhibe uniquement l'activation de STAT et non d'ERK2 [181]. Ces inhibiteurs induisent de la même façon l'apoptose et l'inhibition de la croissance des lignées en présence d'IL-6 ou en présence de BMSC [181,182].

Un autre type d'inhibiteur a été étudié par la suite : l'atiprimod, un inhibiteur de STAT3. L'atiprimod inhibe la croissance des MMC et induit l'apoptose *via* l'activation des caspases 3. Il bloque la phosphorylation de JAK/STAT médiée par l'IL-6 et celle de NF- κ B médiée par le TNF- α . Il diminue l'expression des protéines anti-apoptotiques Bcl-2, Bcl-x1 et Mcl-1 [183,184]. *In vitro*, l'atiprimod inhibe la sécrétion de l'IL-6 et du VEGF par les BMSC et a un effet anti-angiogénique. L'inhibition de l'interaction entre BMSC et MMC a été confirmée *in vivo* dans un modèle murin par une diminution du taux sérique d'IL-6R soluble [185].

b) L'inhibition de la voie PI3K/AKT :

Dans le MM, la voie PI3K/AKT qui est activée par l'IL-6, l'IGF-1, le VEGF, SDF-1 α et BAFF/APRIL confère une résistance des cellules de MM aux chimiothérapies conventionnelles [158,186,187]. La phosphorylation d'AKT par ces différents facteurs de croissance va activer diverses protéines en aval qui participent à la progression du cycle

cellulaire et au blocage de l'apoptose, en particulier mTOR, GSK-3 β (glycogen synthase kinase-3 β), P70S6-kinase et FKHR (forkhead) [188].

La perifosine (alkylphospholipid) inhibe l'activation d'AKT engendrée par l'IL-6 ou l'IGF-1, possède un effet cytotoxique, y compris vis-à-vis des lignées de myélome en coculture avec les BMSC. Il contrecarre donc l'effet CAM-DR [189]. La perifosine augmente l'effet de plusieurs thérapeutiques tels que le bortezomib, la dexaméthasone, la doxorubicine et le melphalan [189]. Cet inhibiteur d'AKT induit l'apoptose des cellules de MM en activant c-jun N-terminal kinase (JNK) qui active les caspases 8/9 et le clivage de PARP (poly (ADP)-ribose polymerase cleavage) [189].

Une autre cible de la voie PI3K/AKT a été étudiée : mTOR (mammalian target of rapamycin) qui est activé par AKT. CCI-779, un inhibiteur de mTOR, induit l'apoptose des MMC *in vitro* [190] et dans un modèle murin [191]. *In vivo*, son effet anti-tumoral est associé à une inhibition de la prolifération et de l'angiogenèse, à une induction de l'apoptose et à une réduction de la taille de la tumeur en relation avec une diminution du taux de cycline D1 et de c-Myc et une augmentation de l'expression de la p27 [191].

Un essai clinique de phase II dans lequel le CCI-779 a été administré chez des patients de MM en rechute ou réfractaire a été récemment publié. Cet inhibiteur a des effets peu concluants : 38% de réponse totale (1 partielle et 5 mineures) et de nombreux effets secondaires malgré une réduction maximale de la phosphorylation de mTOR [192].

c) L'inhibition de la voie Ras/MAPK :

MAPK activé va engendrer l'activation de Ras (*via* le complexe Shc/Grb2/SOS) puis une activation de la cascade des MAPK que sont Raf, MEK-1 et ERK1/2. C'est ERK1/2 phosphorylé qui induit les facteurs de transcription [188]. Un inhibiteur d'ERK1/2 a été étudié. ERK1/2 est activé par les facteurs de croissance (tels que l'IL-6, l'IGF-1, l'HGF, le VEGF et BAFF/APRIL) ou par l'interaction des MMC aux BMSC associée à la sécrétion de

cytokines. Un inhibiteur d'ERK1/2 bloque la prolifération et la survie des MMC induites par les facteurs de croissance de l'environnement et par l'adhésion aux BMSC. De plus, l'inhibition d'ERK1/2 a un effet anti-angiogénique en diminuant la sécrétion du VEGF [193]. *In vivo*, un inhibiteur d'ERK1/2 (l'AZD6244) bloque la croissance de la tumeur dans un modèle de souris et prolonge la survie [193]. L'AZD6244 diminue également l'expression et la sécrétion des facteurs activant les ostéoclastes par les MMC. Il bloque ainsi la différenciation des ostéoclastes et leurs fonctions [194].

d) L'inhibition de la voie NF- κ B :

La famille NF- κ B comprend NF- κ B1 (ou p50), RelA (ou p65), c-Rel, NF- κ B2 (ou p52) et RelB qui constituent des facteurs de transcriptions dimériques induisant la voie canonique (p50, p65 et/ou c-Rel) ou alternative (p52, RelB) [195]. Dans la voie canonique, le complexe I κ B kinase (IKK) comprenant IKK α et IKK β est recruté et activé. Le complexe IKK va alors dissocier l'association I κ B-NF- κ B en phosphorylant et dégradant I κ B. NF- κ B migre alors dans le noyau et active la transcription de ses gènes cibles. La voie alternative implique seulement des homodimères d'IKK α . Plusieurs inhibiteurs d'IKK β ont été étudiés dans le MM : ils engendrent l'apoptose et l'arrêt de la croissance des cellules de MM en induisant des protéines pro-apoptotiques bax et caspase 3 [196,197].

III.5 Circonstances diagnostiques :

Les symptômes les plus fréquents au moment du diagnostic sont des douleurs osseuses, présentes chez environ deux tiers des patients, une asthénie et des infections à répétition [198]. Des troubles neurologiques peuvent parfois constituer les signes de découverte d'un myélome. Dans 20% à 30% des cas, le diagnostic est posé chez un patient asymptomatique, par le biais d'une électrophorèse des protéines sériques pratiquée de routine ou lors de

l'investigation d'une anémie, d'une vitesse de sédimentation (VS) élevée ou d'une insuffisance rénale.

A. Atteinte osseuse :

L'atteinte osseuse est une cause majeure de morbidité au cours de l'évolution du myélome. Elle est responsable de douleurs chroniques, de fractures pathologiques, de compression médullaire et d'hypercalcémie. La calcémie doit être interprétée en fonction de l'albuminémie afin de déterminer la calcémie corrigée, meilleur reflet de la fraction libre active [113].

Le motif principal de consultation est le syndrome osseux dans 74,1% des cas (*Tableau III*) [6].

Tableau III. Circonstances de découverte au cours du myélome multiple

Circonstances de découvertes	Nombre	Fréquence (%)
Syndrome osseux	40	74,1
Syndrome anémique	20	37
Altération de l'état général	17	31,5
Compressions médullaires	6	11,1
Plasmocytome	5	9,3
Découverte fortuite	4	7,4
Insuffisance rénale	4	7,4
MGUS	1	1,9
Amylose	1	1,9

B. Anémie :

Une anémie est très fréquente au moment du diagnostic et quasi constante en phase avancée de la maladie. Son origine est multifactorielle, liée à l'infiltration médullaire

tumorale, à une augmentation de cytokines inflammatoires inhibant l'érythropoïèse ainsi qu'à une production insuffisante d'érythropoïétine [113].

C. Infections :

Les infections peuvent être un mode de révélation du MM, qui n'est pas une hémopathie fébrile. Les infections sont favorisées par l'hypogammaglobulinémie polyclonale. Les pneumopathies à *Streptococcus pneumoniae* restent la complication infectieuse la plus classique au cours du MM [146].

D. Insuffisance rénale :

L'insuffisance rénale est une complication fréquente du myélome. L'atteinte rénale est le plus souvent secondaire à une tubulopathie myélomateuse causée par une élimination excessive de chaînes légères dans les urines (protéinurie de Bence-Jones). Elle peut être favorisée par d'autres facteurs, tels qu'une hypercalcémie, une déshydratation (fièvre, diarrhée, diurétiques), des médicaments néphrotoxiques (anti-inflammatoires non stéroïdiens, produits de contraste iodés, antibiotiques, etc.), une infection des voies urinaires ou plus rarement une amylose rénale.

Rarement, un myélome est découvert chez un patient présentant des symptômes d'hyperviscosité (acouphènes, diminution de l'acuité visuelle, diplopie) liée à la forte augmentation du taux d'Ig [113].

E. Amylose AL :

L'amylose survient dans 15% des cas environ. Elle entraîne des manifestations rénales (syndrome néphrotique), cardiaques (insuffisance cardiaque congestive), digestives (macroglossie, hémorragies), neurologiques (canal caprien, neuropathies périphériques), hématologiques (déficit acquis en facteur X). Le pronostic est sombre [113].

III.6 Aspects biologiques :

- Une anémie est présente dans 50% des cas au diagnostic.
- Il existe une augmentation de la VS souvent supérieure à 100 mm à la première heure avec un profil électrophorétique différent de celui d'un syndrome inflammatoire puisque la fibrine et les α_2 -globulines sont normales. Elle peut être normale ou peu augmentée dans le myélome non ou peu sécrétant et le myélome à chaînes légères.
- La protidémie est augmentée (> 60 g/l).
- Une électrophorèse des protéines sériques et urinaires ainsi que l'immunofixation sont indispensables au diagnostic. L'électrophorèse montre un pic étroit (*Figure 15*) migrant le plus souvent dans la zone des γ -globulines, des β -globulines, ou plus rarement des α_2 -globulines correspondant à la production d'une protéine monoclonale de type IgG ou IgA. Le myélome à chaînes légères, quant à lui, se caractérise par la présence d'une hypogammaglobulinémie sévère, l'absence de pic monoclonal et une protéinurie à chaînes légères appelée protéines de Bence-Jones. L'immunofixation permet le typage de la chaîne lourde et la chaîne légère de la bande mince.
- Le dosage pondéral des IgG, IgA, IgM montre une augmentation de l'Ig monoclonale et un effondrement des autres classes d'Ig.
- Le myélogramme par ponction sternale ou iliaque confirme le diagnostic en montrant une richesse cellulaire, la plupart du temps normale, et une prolifération plasmocytaire supérieure à 10% des éléments nucléés avec, le plus souvent, une morphologie anormale. Il permet également l'analyse cytogénétique utilisé actuellement comme facteur pronostique. La biopsie ostéomédullaire n'est pas systématique ; elle n'est réalisée que si le doute persiste après réalisation du myélogramme par ponction sternale.
- Il est également possible de doser les chaînes légères sériques et plus particulièrement le rapport kappa/lambda. Ce dosage ne doit pas être réalisé de façon systématique ; il n'est recommandé que pour le suivi des myélomes non ou peu excréteurs, myélomes à chaînes légères, plasmocytome solitaire ou amylose AL. Leur intérêt pronostique dans les myélomes indolents ou gammopathies monoclonales de signification indéterminée (MGUS) n'est pas validé [199].

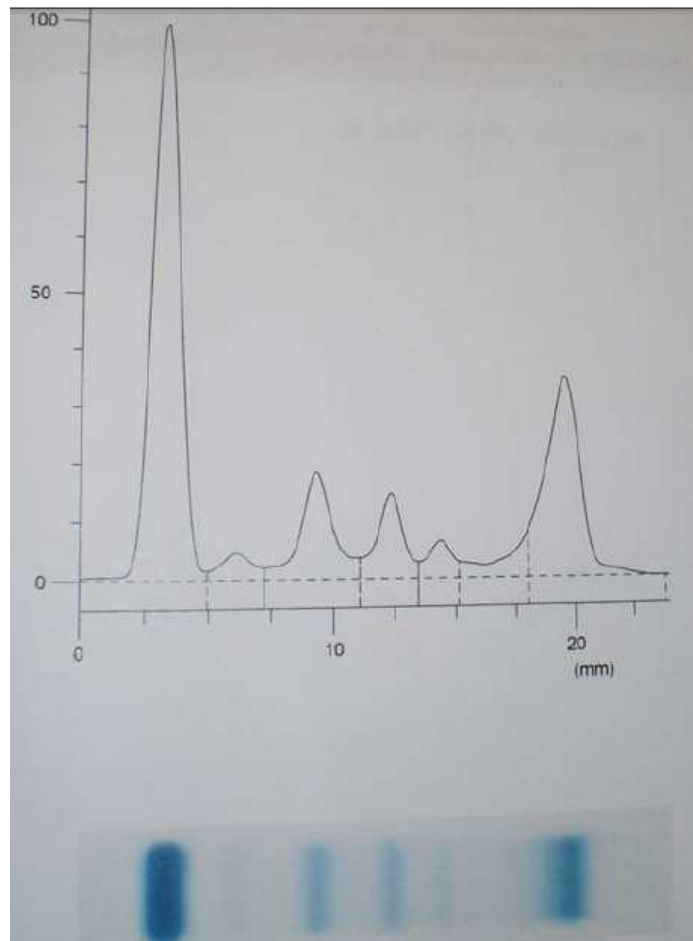


Figure 15. Electrophorèse des protéines sériques montrant un pic monoclonal migrant dans la zone des gammaglobulines

- On recherche dans les urines la présence de chaînes légères de l'Ig monoclonale appelées protéines de Benc-Jones.

D'autres examens biologiques doivent être réalisés à la recherche de complications ou à visée pronostique :

- Le dosage de la calcémie à la recherche d'une hypercalcémie corrigée supérieure à 110 mg/l (2,75 mmol/l) ;

- La créatininémie à la recherche d'une insuffisance rénale si elle est supérieure à 20 mg/l (175 μ mol/l) ;
- Le dosage de la β 2-microglobuline, sécrétée par les plasmocytes, est un facteur pronostique reconnu ; elle reflète la masse tumorale ;
- La *C reactive protein* (CRP), synthétisée par le foie, est le reflet direct de la production d'IL-6, c'est également un facteur pronostique péjoratif lorsque le taux est supérieur à 6 mg/l ;
- La lactate déshydrogénase (LDH) est un marqueur d'agressivité, elle signe le caractère prolifératif [113]. (Tableau IV)

Tableau IV. Caractéristiques biologiques [6]

	Nombre	Fréquence (%)
Hémogramme		
Hémoglobine < 12 g/dL	47	87
Leucocytes < 4000/mm ³	8	14,8
Plaquettes < 150/mm ³	18	33,3
Infiltration plasmocytaire		
> 30 %	27	50
10–30 %	15	26
< 10 %	12	24
Vitesse de sédimentation		
> 100 mm	42	77,7
Paramètres biochimiques		
Protidémie > 80 g/L	24	44,4
Albuminémie < 35 g/L	47	87
Pic monoclonal	41	75,9
Zone gamma	27	65,8
Zone bêta	8	19,5
Zone alpha 2	6	14,6
Hypercalcémie > 3 mmol/L	14	26
Créatinémie > 175 μ mol/L	10	19

III.7 Diagnostic positif du myélome multiple :

Au terme de ces examens, le diagnostic positif de myélome peut être posé.

En 2003, l'International Myeloma Working Group (IMWG) [200] a publié les critères diagnostiques regroupés dans le *Tableau V*.

A. Gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS) :

Il s'agit d'une situation fréquente puisqu'elle correspond à 60% des pics monoclonaux découverts. Sa prévalence est de 1% chez les patients de 50 ans et 3% des plus de 70 ans. Il existe un pic monoclonal inférieur à 30 g/l et une plasmocytose médullaire inférieure à 10% sans critère « hypercalcémie, insuffisance rénale, anémie, atteinte osseuse (*bone disease*) » (CRAB) [201].

Le risque de transformation en myélome est de 1% par an. Il est recommandé de surveiller régulièrement ces patients. L'IMWG [201] a donc fait paraître des recommandations quant aux délais de surveillance en fonction de la présence de facteurs de risque. Les patients dont le pic monoclonal est inférieure à 15 g/l, de type IgG avec un dosage des chaînes légères sériques normal sont ceux dont le risque de transformation est le plus faible. Chez ces patients, un contrôle de l'électrophorèse des protéines sériques à 6 mois du diagnostic est conseillé puis, en cas de stabilité, un contrôle est préconisé tous les 2 à 3 ans ou plus tôt en cas d'anomalie biologique. En cas de risque intermédiaire ou fort, un contrôle à 6 mois est réalisé, puis de façon annuelle en cas de stabilité.

B. Myélome multiple indolent :

Il se caractérise par un pic monoclonal supérieur à 30 g/l, une plasmocytose médullaire supérieure à 10% mais aucun signe d'activité selon les critères CRAB.

Le taux de transformation en MM symptomatique est de 10% par an les cinq premières années, 3% par an les cinq années suivantes, puis 1% à 2% par an la décennie suivante [201]. L'IMWG [201] a recommandé pour ces patients la réalisation d'une électrophorèse des protéines sériques de contrôle à 3 mois du diagnostic, puis tous les 4 à 6 mois pendant 1 an, puis tous les 6 mois à 1 an en cas de stabilité.

C. Myélome multiple symptomatique :

Il se caractérise par une plasmocytose médullaire supérieure à 10%, un pic monoclonal supérieur à 30 g/l et l'existence d'au moins un critère CRAB, conditions nécessaires pour entreprendre un traitement (*Tableau V*).

- Le myélome à chaînes légère (10% à 20% des myélomes) se caractérise par une VS normale, une hypogammaglobulinémie et l'absence de pic monoclonal à l'électrophorèse. La chaîne légère est entièrement filtrée par le rein et se trouve dans les urines sous la forme d'une protéinurie de Bence-Jones. La toxicité rénale est plus importante.
- Le myélome non excréteur ou non sécrétant est rare ; il se caractérise par des lésions osseuses et une plasmocytose médullaire sans composant monoclonal sanguin ou urinaire. Le diagnostic est réalisé sur la biopsie.

Tableau V. Critères diagnostiques de l'International Myeloma Working Group (IMWG)

[200,201]

MGUS	Pas de symptôme clinique	Ig monoclonale détectée mais < 30 g/l si IgG et plasmocytose < 10%
myélome multiple asymptomatique ou indolent	Pas de symptôme clinique ou d'atteinte d'organe	Ig monoclonale détectée à des taux \geq 30 g/l si IgG ou IgA monoclonale et/ou plasmocytose \geq 10%
Myélome multiple symptomatique	Symptômes cliniques avec atteinte d'organes (au moins un critère CRAB) : –Hypercalcémie > 3 mmol/l –Insuffisance rénale avec créatininémie > 177 μ mol/l –Anémie < 100 g/l –Atteinte osseuse (ostéolyse ou ostéoporose) infection bactérienne (> deux épisodes/12 mois) amylose, hyperviscosité symptomatique	Ig monoclonale détectée dans le sérum et/ou urine et plasmocytose \geq 10%
Plasmocytome isolé (quatre critères)	Localisation unique de plasmocytes monoclonaux osseux ou tissulaires confirmée par biopsie et moelle osseuse normale avec absence de plasmocytes monoclonaux et IRM du rachis et du pelvis sans autre lésion (à l'exception de l'atteinte unique si rachidienne ou pelvienne) et absence de critères CRAB	
Syndrome POEMS	présence d'un désordre plasmocytaire monoclonal et d'une neuropathie périphérique associée à au moins une des anomalies suivantes : ostéosclérose, maladie de Castelman, organomégalie, endocrinopathie, œdèmes, modifications cutanées, œdème papillaire	

MGUS : monoclonal gammopathy of undetermined significance ; Ig : immunoglobuline ; CRAB : hypercalcémie, insuffisance rénale, anémie, atteinte osseuse (bone disease); IRM: imagerie par resonance magnétique; POEMS: polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, monoclonal gammopathy and skin changes.

D. Plasmocytome solitaire :

On regroupe sous ce terme les plasmocytomes osseux et extra-osseux.

Le plasmocytome localisé osseux est rare. Il se présente sous la forme d'une lésion le plus souvent lytique, trabéculaire, accompagnée dans la moitié des cas d'une Ig monoclonale en faible quantité. La lésion siège au bassin, aux os longs ou au rachis sous la forme d'une lacune entourée d'une ostéoclérose. Il n'existe pas d'infiltration médullaire et le diagnostic repose sur la biopsie de la lésion. Cependant dans 50% à 60% des cas survient ultérieurement une dissémination sous forme d'un MM. Le risque de transformation est plus élevé dans le cas de plasmocytome osseux.

La moelle n'est pas le seul site de la prolifération plasmocytaire. Le plasmocytome extra-osseux peut être isolé, tous les organes peuvent être touchés. Lorsque la tumeur plasmocytaire extra-osseuse est isolée, les récurrences sont exceptionnelles après radiothérapie et l'évolution vers le MM est rare [113].

E. Leucémie à plasmocytes :

Elle est définie par un chiffre absolu de plasmocytes sanguins supérieur à 2 000/mm³ ; elle peut correspondre à l'évolution terminale d'un myélome connu ou survenir d'emblée. La survie moyenne est de 6 mois. La leucémie à plasmocytes réalise un tableau de leucémie aiguë avec :

- Insuffisance médullaire marquée ;
- Hépatosplénomégalie ;
- Présence de signes généraux, fièvre ;
- Plasmocytose circulante supérieure ou égale à 20% [113].

III.8 Facteurs pronostiques :

La classification de Salmon et Durie publiée en 1975 permet de refléter l'importance de la masse tumorale [202] (*Tableau VI*).

Un nouvel indice pronostique international, l'International Staging System [203] (ISS), a été établi et devrait remplacer la classification de Salmon et Durie. Il comprend le dosage de la β 2-microglobuline, reflet de la masse tumorale et de l'insuffisance rénale, et le dosage de l'albuminémie (*Tableau VII*).

Il existe d'autres facteurs pronostiques tels que l'anémie, taux de CRP ou le taux de LDH. La cytogénétique réalisée dans le temps du myélogramme a également une valeur pronostique importante [121].

L'analyse cytogénétique couplée au dosage de la β 2-microglobuline permet d'identifier trois groupes de patients présentant un pronostic différent [120]. Le groupe ayant le pronostic le plus péjoratif est celui présentant l'une des trois anomalies suivantes : t(4 ;14), del(17p), t(14 ;16), associée à un taux de β 2-microglobuline élevé. La survie médiane de ces patients ne dépasse pas 20 mois. En revanche, les patients ne présentant pas ces trois anomalies et dont le taux de β 2-microglobuline est normal ont une probabilité de survie à 5 ans de 80%. Les autres patients ont un pronostic intermédiaire. Il n'existe pas de consensus à l'heure actuelle mais l'analyse de ces différents facteurs pronostiques devrait permettre une approche thérapeutique adaptée.

Dans la MGUS, le type et le taux d'Ig, ainsi que le dosage des chaînes légères sériques sont des facteurs pronostiques importants [200]. Le dosage des chaînes légères trouve son intérêt dans cette indication puisqu'un ratio anormal est corrélé à un risque accru de transformation myélomateuse. Concernant le myélome indolent, l'IMWG a identifié que la quantité de l'Ig monoclonale et le pourcentage d'infiltrat plasmocytaire dans la moelle osseuse sont les principaux facteurs de risque associés à la progression de la maladie [113].

Tableau VI. Stade selon la classification de Durie-Salmon

	Stade I (myélome multiple asymptomatique) < 0,6 10 ¹² cellules/m ² de la surface corporelle	Stade II > 0,6 10 ¹² cellules/m ² de la surface corporelle	Stade III > 1,2 10 ¹² cellules/m ² de la surface corporelle
Critères	Tous les critères suivants –Hb > 10 g/dl –Structure osseuse normale à l'examen radiologique (échelle 0) ou lésion osseuse unique –Taux faible de l'Ig monoclonale IgG < 50 g/l ou IgA < 30 g/l Chaîne légère de l'Ig monoclonale urinaire détectée en électrophorèse < 4 g/24h	Ne comprend pas les éléments du stade I ni ceux du stade III	Au moins un des critères suivants –Hb < 8,5 g/dl –Calcium sérique > 3 mmol/l –Lésions lytiques osseuses avancées (grade 3) –Taux élevé de l'Ig monoclonale IgG > 70 g/l ou IgA > 50 g/l Chaîne légère de l'Ig monoclonale urinaire détectée en électrophorèse > 12 g/24h
Sous-classification (A/B) en fonction de l'atteinte de la fonction rénale			
Fonction rénale	Stade A : créatinine sérique < 177µmol/l → pas d'atteinte de la fonction rénale	Stade B : créatinine sérique ≥ 177µmol/l → atteinte de la fonction rénale	

Tableau VII. Définition des stades de l'International Staging System (ISS) et impact sur la survie

	Stade I	Stade II	Stade III
Critères	β ₂ -microglobuline < 3,5 mg/l et albumine > 3,5 g/dl	β ₂ -microglobuline < 3,5 mg/l et albumine < 3,5 g/dl ou 3,5 mg/l < β ₂ -microglobuline < 5,5 mg/l	β ₂ -microglobuline < 5,5 mg/l
Survie médiane	62 mois	44 mois	29 mois

III.9 Bilan radiographique :

A. Radiographie standard :

Le bilan radiographique standard doit être réalisé systématiquement lors du bilan initial. Il comprend une radiographie du crâne de face et de profil, des humérus et des fémurs de face, du gril costal, bilatérale, du bassin et de la totalité du rachis.

Bien que sa sensibilité soit imparfaite, elle reste la technique d'imagerie de référence à l'heure actuelle. La lésion caractéristique est une lacune à l'emporte-pièce de taille variable sans liseré ostéocondensant périphérique. La localisation préférentielle est située sur la voûte crânienne (*Figure 16*) mais on peut également en retrouver sur les os longs, le bassin ou encore le gril costal.

Dans d'autres cas, il peut s'agir d'une déminéralisation osseuse diffuse isolée sans ostéolyse liée à l'infiltration médullaire osseuse et à l'activité ostéoclastique simulant une ostéoporose post-ménopausique. On peut également observer des fractures souvent vertébrales, multiples aspécifiques.

Les clichés standards ont une bonne spécificité mais il faut une destruction d'au moins 50% de la trame osseuse pour que l'ostéolyse soit visible sur les radiographies ce qui leur confère une faible sensibilité. D'autres techniques d'exploration sont donc parfois nécessaires.

B. Tomodensitométrie (TDM) :

La TDM est particulièrement utile pour examiner l'os cortical. Contrairement à la radiographie standard, c'est un examen qui bénéficie d'une bonne sensibilité et d'une bonne spécificité. Elle permet de détecter une ostéolyse (*Figure 17*) à un stade précoce et d'apprécier l'instabilité et le risque fracturaire. En revanche, cette technique d'imagerie est peu sensible pour évaluer l'infiltration médullaire osseuse qui ne s'accompagne pas forcément d'une ostéolyse [204,205].

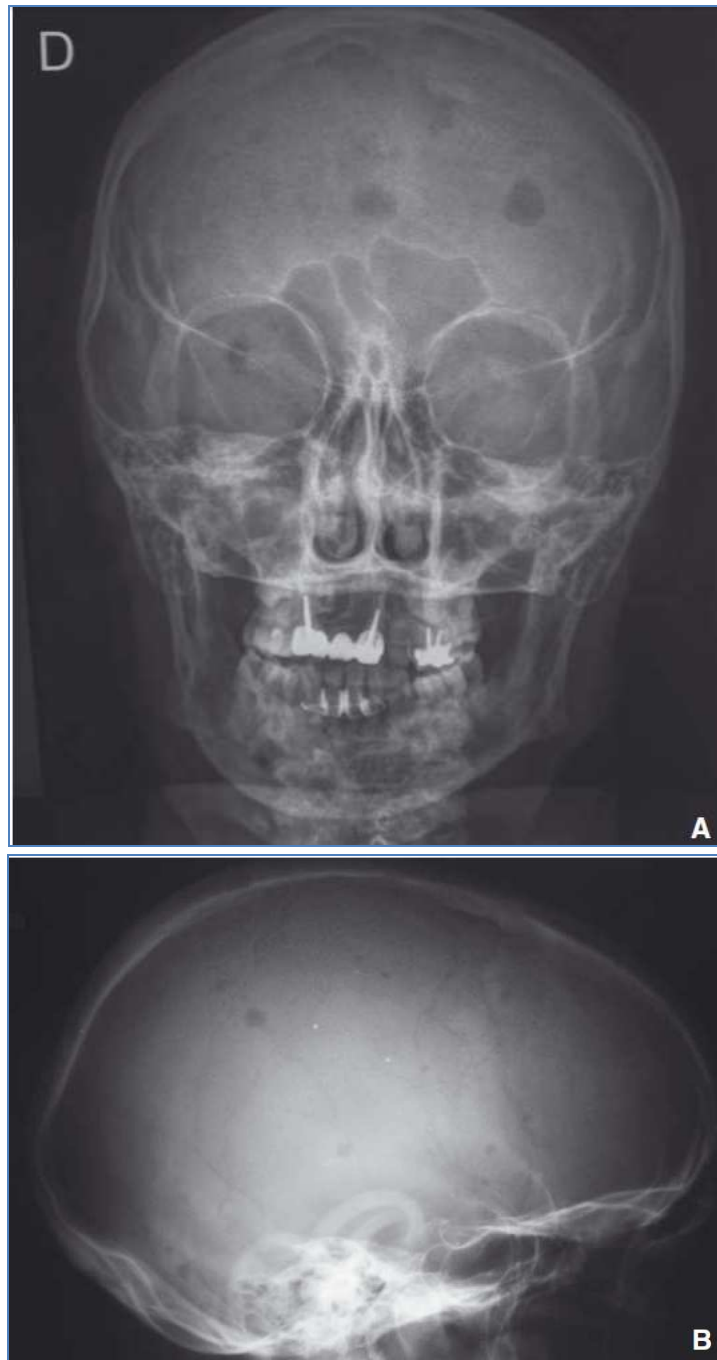


Figure 16. Radiographie de crâne de face (A) et de profil (B) : Multiples géodes à l'emporte-pièce sans liseré condensant en rapport avec des lésions myélomateuses multiples.



Figure 17. Tomodensitométrie lombaire : lyse étagée (A) des corps vertébraux de L3, L4 et L5. Atteinte du mur postérieur de L5. Volumineuse lésion lytique de l'aile iliaque droite (B).

C. Imagerie par résonance magnétique (IRM) :

L'IRM est l'examen le plus performant pour l'étude de l'infiltration médullaire, pour l'exploration du rachis et particulièrement des structures nerveuses. Elle permet de diagnostiquer les compressions médullaires ou radiculaires et les atteintes des tissus mous périrachidiens. Les lésions myélomateuses en IRM apparaissent en hyposignal T1, en hypersignal plus ou moins important en T2 et *short tau inversion recovery* (Stir) ; les lésions fixent le gadolinium ; l'aspect particulier de lésions en « cocarde » à centre hypo-intense en pondération T1 avant et après injection de gadolinium a été décrit et semble assez évocateur du myélome (*Figure 18*).

L'IRM a par ailleurs une valeur pronostique : le nombre de lésions à l'IRM semble en effet corrélé avec la réponse sous traitement et la durée de survie des patients [206]. Son intérêt réside dans le suivi du myélome non paucisécrétant, indications dans lesquelles la tomographie par émission de positons au 18-fluorodésoxyglucose couplée au scanner (18-FDG TEP-TDM) est moins performante compte tenu du peu d'activité en FDG de ces cellules myélomateuses.



Figure 18. Imagerie par résonance magnétique rachidienne dorsolombaire pondérée en T1 (A) puis T1 gadolinium (B) : rachis hétérogène avec multiples hyposignaux T1 médullaires vertébraux. Rehaussement après injection de gadolinium.

D. Tomographie par émission de positons au 18-FDG couplée au scanner :

La FDG TEP-TDM utilise un métabolite cellulaire, le désoxyglucose, lié à un traceur radioactif à demi-vie courte (110 min), le fluor-18, appelé 18-fluorodésoxyglucose. L'examen est basé sur le passage transmembranaire du 18-FDG, du fait d'un fonctionnement exagéré de la glycolyse au sein de la cellule tumorale. La 18-FDG TEP-TDM associe une TEP à un scanographe multibarrettes. Elle permet un repérage anatomique très précis des anomalies hypermétaboliques et l'acquisition d'une imagerie corps entier en un seul examen. Elle est très spécifique et sensible pour détecter l'infiltration myélomateuse focale, diffuse ou mixte et permet de distinguer atteintes intra et extramédullaires. En revanche, sa sensibilité est insuffisante pour la mise en évidence des lésions infracentimétriques. Sur le plan diagnostique, elle permet de distinguer le myélome actif du myélome indolent et la MGUS qui sont classiquement négatifs à la TEP-TDM [207].

L'autre intérêt de la 18-FDG TEP-TDM est le suivi des patients sous traitement. Il existe en effet une diminution, voire une disparition des lésions osseuses hypermétaboliques sous traitement. Ainsi la persistance de lésions hypermétaboliques pourrait signifier une rechute précoce ou une résistance au traitement et permettrait de modifier le programme thérapeutique [204]. Dans le plasmocytome solitaire [208], la 18-FDG TEP-TDM semble être un outil diagnostique performant dans le classement des plasmocytomes et permettrait de détecter des lésions infracliniques ignorées par les autres techniques d'imagerie.

La 18-FDG TEP-TDM est en revanche moins performante que l'IRM pour détecter l'infiltration rachidienne [209].

TROISIEME PARTIE :
BASES ACTUELLES DU
TRAITEMENT DU
MYELOME MULTIPLE

I. INTRODUCTION :

Le MM est un cancer incurable, néanmoins la survie médiane dans la population globale excède 5 ans avec les thérapies actuelles. Sachant qu'un MM asymptomatique qui représente environ 20% des cas peut rester stable une longue période sans traitement, il n'y a pas actuellement d'indication à introduire un traitement jusqu'à progression. Les facteurs de risques de progression mis en évidence dans les études menées dès la fin des années 80 permettent d'identifier plusieurs paramètres (4) dont 2 particulièrement importants [210]:

- Les indicateurs de masse plasmocytaire: concentration de paraprotéine, proportion d'infiltration médullaire.
- Le ratio des chaînes légères libres sériques.

Un traitement est donc introduit dans le MM symptomatique. Deux différentes stratégies thérapeutiques s'offrent aux patients: s'agit-il d'un patient éligible pour une chimiothérapie intensive (HDT) et autogreffe de cellules souches hématopoïétiques périphériques (ASCT) ou s'agit-il d'un patient non éligible pour une thérapie intensive?

Cette distinction est essentiellement liée à l'âge; les patients de ≤ 65 ans sont habituellement considérés comme éligibles pour HDT et ASCT. Toutefois, en raison d'importantes comorbidités chez le patient jeune ou au contraire d'un excellent état général chez le patient de plus de 65 ans, cette distinction peut être modulée.

II. SUBSTANCES UTILISEES (très souvent en association) :

II.1 Agents alkylants et corticostéroïdes :

Le melphalan reste une molécule essentielle dans la prise en charge du MM que ce soit à dose intensive chez le sujet jeune ou à faible doses et en association chez le sujet âgé. Les corticostéroïdes sont partie intégrante de tous les traitements dans le MM, le plus souvent

sous forme de Dexaméthasone ou chez les patients âgés de Prednisone. Le cyclophosphamide est également utilisé en association en traitement d'induction ou en progression [211].

II.2 Les inhibiteurs du protéasome :

Le bortezomib et le carfilzomib. L'inhibition du protéasome conduit à une accumulation intracellulaire de protéines résistantes à la dégradation, à une inhibition du facteur transcriptionnel NF- κ B et à un arrêt du cycle cellulaire puis à l'apoptose des cellules myélomateuses [211].

II.3 Les «imides» :

Thalidomide, lenalidomide et pomalidomide sont des agents antiangiogéniques très efficaces dans le MM. Ces agents agissent non seulement en inhibant l'angiogenèse mais surtout en induisant l'apoptose des cellules myélomateuses, en réduisant leur adhésion aux cellules stromales de l'environnement médullaire et en inhibant la sécrétion de facteurs de croissance, de survie et de migration des cellules malignes [211].

II.4 Les anthracyclines :

La doxorubicine reste utilisée en association dans certains régimes de rattrapage [211].

II.5 Les bisphosphonates :

Les bisphosphonates réduisent les complications osseuses dans le MM et diminuent en particulier les fractures vertébrales. Un effet anti-tumoral est également attribué aux

bisphosphonates par le biais de différents mécanismes: induction de l'apoptose, modulation de molécules d'adhésion et expansion de lymphocytes T cytotoxiques. Leur utilité en parallèle au traitement est indiscutable et la récente large revue Cochrane de 2012 n'a pas montré de supériorité des non-aminobisphosphonates mais probablement une supériorité du zoledronate [212].

III. OPTIONS ET PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES :

Le traitement du MM a beaucoup évolué cette dernière décennie notamment grâce à l'avènement des nouveaux agents thérapeutiques: thalidomide puis bortezomib et lenalidomide ce qui a permis d'améliorer la survie des patients. Toutefois, les vastes possibilités d'associations de ces molécules et de chronologie de leur administration ont créé des différences dans l'approche du traitement du MM.

III.1 Traitement du patient éligible pour une autogreffe :

Le traitement du patient jeune (≤ 65 ans) répond à une logique qui vise à obtenir la meilleure réponse possible après un court traitement «d'induction» pour pouvoir ensuite procéder à un traitement intensif «de consolidation» afin de prolonger le plus longtemps possible la survie sans progression. En effet, il a été démontré, chez le sujet jeune autogreffé, une meilleure évolution globale chez les patients en rémission complète [213]. Il est intéressant de noter que cette approche s'accompagne d'une survie globale à 5 ans bien plus élevée (52%) lorsque comparée aux traitements «conventionnels» utilisés dans le début des années 90 (12%) [214]. Actuellement, l'arrivée des nouveaux agents thérapeutiques resserre cette différence de survie entre l'alternative «intensive» versus celle n'incluant pas d'autogreffe.

Les associations de trois molécules en induction ont montré d'excellent taux de VGPR/CR dans les différentes études de phase III, toutefois ces études montrent un impact sur la survie sans progression après traitement de première ligne mais aucun résultat significatif en termes de survie globale. Pour cette raison et dans le traitement d'un MM de risque standard, une induction à deux molécules reste une approche acceptée.

Les traitements d'induction, de deux ou trois molécules, comportent habituellement du bortezomib et de la Dexaméthasone (VD) [215]. On associe le plus souvent au VD de la thalidomide (VTD) [216], de la lenalidomide (VRD) [217] ou encore du cyclophosphamide (VCD) [218] habituellement pour 3 à 4 cycles. Aucune étude de phase III ne compare ces trois régimes d'induction. Il est important néanmoins de souligner le caractère onéreux de ce type d'association et en particulier du VRD, et qu'il faut toujours s'assurer au préalable la prise en charge asséculologique des médicaments choisis.

La suite du traitement standard implique une chimiothérapie intensive de melphalan à haute dose et autogreffe de cellules souche hématopoïétiques périphériques autologues. La chronologie du traitement intensif reste sujette à débat, en effet une autogreffe retardée reste également une option thérapeutique.

Afin de maximaliser la durée de survie sans progression, certaines études de phase III ont démontré le bénéfice d'un traitement de maintenance de lenalidomide [219]. Certains groupes recommandent également un bref traitement de «consolidation» après autogreffe comportant du bortezomib et/ou un «imide» afin d'augmenter le nombre de patients en CR/VGPR, toutefois les résultats des études manquent et il s'agit de recommandations d'experts.

La greffe allogénique à conditionnement réduit (RIC-allo) a été étudiée dans plusieurs études prospectives, comparant notamment la double autogreffe à une autogreffe suivie de RIC-allo si un donneur était disponible; en raison du risque de mortalité lié à la greffe allogénique, les résultats sont plus fréquemment négatifs. Cette option thérapeutique reste

discutée «au cas par cas» chez le jeune patient présentant des facteurs de mauvais pronostic cytogénétiques [220].

III.2 Traitement du patient non éligible pour une autogreffe :

Le standard de traitement pour le patient non éligible pour un traitement intensif suivi d'une autogreffe (≥ 65 ans) est l'association de melphalan-prednisone per os avec du bortezomib selon un schéma décrit dans l'étude VISTA [221] ou avec une dose hebdomadaire de bortezomib [222]. L'association melphalan-prednisone et thalidomide est également considéré comme un traitement standard et a fait récemment l'objet d'une méta-analyse des 6 études randomisées publiées [223]. L'association lenalidomide Dexaméthasone est également une option thérapeutique chez le sujet âgé en première ligne ou en progression [224]. Des adaptations de doses sont proposées par différents experts dans la littérature en fonction de l'âge avancé et des comorbidités [225].

III.3 Traitement à la rechute :

Tous les patients présentant un MM sont amenés à rechuter. La durée de rémission subséquente diminue avec chaque nouvelle ligne de traitement et est d'autant plus courte si le patient devient réfractaire au bortezomib ou «aux imides». Des schémas de traitement associant bortezomib et lenalidomide sont habituellement utilisés. D'autres agents comme la doxorubicine liposomale ou la ribomustine peuvent être efficaces dans le MM en progression ou réfractaire. A l'avenir, les dernières générations «d'imides» comme la pomalidomide ou d'inhibiteur du proteasome comme le carfilzomib, qui ne sont pas encore enregistrés en Suisse mais qui font l'objet des derniers essais cliniques, feront partie de l'assortiment thérapeutique pour traiter le MM [211].

CONCLUSION

Des progrès considérables ont été réalisés au cours des deux dernières décennies dans la connaissance des mécanismes régulateurs du cycle cellulaire et dans la meilleure compréhension des mécanismes moléculaires de la cancérisation au cours des hémopathies malignes, et plus particulièrement au cours du MM.

Malgré la profusion de travaux sur le sujet, aucune implication de pratique clinique ne s'est réellement dégagée, mais de nouvelles stratégies thérapeutiques sont en cours d'évaluation. Par exemple, la nouvelle génération des inhibiteurs compétitifs de l'ATP des CDK sont en cours d'essais cliniques, ainsi que des molécules capables d'inhiber les checkpoints des cellules cancéreuses permettant ainsi d'augmenter les réponses cytotoxiques des chimiothérapies déjà en cours d'utilisation.

Cependant, en matière de prise en charge du MM, l'espérance de vie médiane dépasse maintenant les six ans et une rémission complète, autrefois rarissime, est obtenue chez plus de la moitié des malades de moins de 65 ans, laissant alors espérer une survie dépassant la dizaine d'années. Ces progrès sont dus en partie à l'amélioration des traitements symptomatiques (bisphosphonates, érythropoïétine, traitement de l'insuffisance rénale). Mais ce sont surtout les progrès dans le traitement même de l'hémopathie qui ont transformé le pronostic. Stratégie non encore utilisée auparavant dans cette maladie réputée « à cinétique lente », le traitement intensif (en général à base de hautes doses de melphalan), a été facilité par l'usage des transfusions de cellules souches périphériques et s'est imposé comme la stratégie de référence pour beaucoup d'équipes dans le monde.

Des questions restent encore posées dont on peut attendre de nouveaux progrès : l'intérêt des associations de nouvelles molécules, notamment en phase initiale; la confirmation de la validité des stratégies intensives à l'ère de ces nouvelles molécules; l'intérêt des traitements d'entretien; la durée du traitement à préconiser en phase de rémission; la place de l'allogreffe de moelle à conditionnement atténué.

RESUMES

Résumé

Titre : Régulation du cycle cellulaire et hémopathies malignes : Le myélome multiple comme modèle.

Auteur : Hasnaa TAKI IMRANI

Directeur de thèse : Pr. Azlarab MASRAR

Mots clés : Régulation – Cycle cellulaire – Hémopathies malignes – Myélome multiple.

La connaissance des mécanismes régulant la division des cellules eucaryotes a progressé très rapidement au cours des dernières années. Les molécules régulatrices du cycle cellulaire connues à nos jours sont impliquées dans les processus cancéreux.

Les différents mécanismes de régulation mis en jeu au cours de l'hématopoïèse permettent de répondre rapidement et de manière très efficace à des stress hématologiques, grâce à la double capacité d'auto-renouvellement et de différenciation de la population des cellules souches hématopoïétiques (CSH). Le statut de prolifération des CSH doit ainsi être finement contrôlé pour assurer une production continue de progéniteurs hématopoïétiques. Un tel contrôle nécessite une régulation appropriée de l'entrée et de la progression dans le cycle cellulaire. L'activité des régulateurs du cycle cellulaire varie selon la population hématopoïétique considérée et par conséquent selon son niveau de différenciation hématopoïétique. La perturbation de l'hématopoïèse peut donc être à l'origine d'une hémopathie maligne.

Le myélome multiple, ou maladie de Kahler, répond à cette règle autant sur le plan physiopathologique, diagnostique, pronostique que thérapeutique. En effet, le traitement du myélome a longtemps reposé sur des traitements alkylants (melphalan, cyclophosphamide), doxorubicine et corticoïdes. De nouveaux traitements ont fait leur apparition et ont révolutionné la prise en charge du myélome, particulièrement chez le sujet de plus de 65 ans. Il s'agit des agents immunomodulateurs (imide) comme le thalidomide le lénalidomide et le pomalidomide de structure voisine mais plus puissants, et du bortézomib et carfilzomib inhibiteurs sélectifs du protéasome. L'inhibition du protéasome entraîne un arrêt du cycle cellulaire et une apoptose.

Summary

Title : Cell cycle regulation and hematological malignancies : The multiple myeloma as a model

Author : Hasnaa TAKI IMRANI

Raporter : Pr. Azlarab MASRAR

Key-words : Regulation – Cell cycle – Hematological malignancies – Multiple myeloma.

Knowledge of the mechanisms regulating the eukaryotic cell division has progressed very rapidly in recent years. The nowadays known regulatory molecules of cell cycle are involved in cancer process.

Different regulatory mechanisms involved during hematopoiesis allow answering quickly and very effectively hematological stress way, thanks to the double capacity of self-renewal and differentiation of hematopoietic stem cells (HSCs) population. So the proliferations status of HSCs must be finely controlled to ensure continuous production of hematopoietic progenitors. Such control requires an appropriate regulation of the entry and the progression through the cell cycle. The activity of cell cycle regulators varies according to the hematopoietic population considered and therefore according to its level of hematopoietic differentiation. Disruption of hematopoiesis may be the cause of hematological malignancies.

Multiple myeloma or Kahler's disease responds to this rule as the pathophysiological, diagnostic, prognostic and therapeutic. Indeed, the treatment of myeloma has long relied on alkylating therapy (melphalan, cyclophosphamide), doxorubicin and corticosteroids. New treatments have emerged and have revolutionized the treatment of myeloma, particularly in subjects over 65 years old. It is immunomodulatory agents (imide) as thalidomide lenalidomide and pomalidomide with adjacent structure but more powerful, and bortezomib and carfilzomib selective inhibitors of the proteasome. Inhibition of the proteasome results in cell cycle arrest and apoptosis.

ملخص

العنوان : تنظيم دورة الخلية والأورام الخبيثة الدموية: النقيوم المتعدد كنموذج

الكاتبة : تاقى عمراني حسناء

الأستاذ الموجه : مسرار عز العرب

الكلمات الأساسية : التنظيم - دورة الخلية - الأورام الخبيثة الدموية - النقيوم المتعدد.

إن معرفة آليات تنظيم انقسام الخلايا حقيقية النواة قد تقدمت سريعا جدا في السنوات الأخيرة. و تشارك الجزيئات التنظيمية لدورة الخلية المعروفة اليوم في عملية السرطان.

إن مختلف الآليات التنظيمية المتدخلة في تكون الدم تسمح بالإجابة السريعة و العالية الفعالية على حالات إجهاد دموي ، وذلك بفضل القدرة المزدوجة على تجديد الذات و على تمايز فئة الخلايا الجذعية المكونة للدم (HSCs). وهكذا فيجب التحكم بدقة في وضع تكاثر HSCs لضمان الإنتاج المستمر من الأسلاف المكونة للدم . يتطلب مثل هذا التحكم تنظيما مناسباً للدخول و التقدم في دورة الخلية. يختلف نشاط منظمي دورة الخلية حسب الفئة المكونة للدم، وبالتالي حسب مستوى التمايز المكون للدم لهذه الفئة. قد يكون إذن تعطل تكون الدم سببا في الأورام الخبيثة الدموية.

يستجيب النقيوم المتعدد أو مرض "كالر" لهذه القاعدة سواء على المستوى الفيزيومي، التشخيصي، التكهني أو العلاجي. في الواقع، قد اعتمدت معالجة النقيوم طويلا على العلاجات المؤكدة (مفلان، سيكلوفوسفاميد)، دوكسوروبيسين و الكورتيكويدات. فظهرت علاجات جديدة أحدثت ثورة في علاج النقيوم، وخاصة لدى المريض ذي الأكثر من 65 عاما. إنها العوامل المناعية (إيميد) كثاليدومايد، ليناليدومايد و بوماليدومايد ذات البنية المتجاورة لكن الأكثر قوة، و بورتيزومايد و كارفيلزومايد مثبتات انتقائية للبروتيازوم . يؤدي تثبيط البروتيازوم إلى توقف دورة الخلية و إلى موت الخلايا المبرمج.

REFERENCES

- [1] **Hanahan D. and Weinberg R.A.**, The hallmarks of cancer. *Cell*, (2000) 100 p: 57-70
- [2] **DeVita V.T., Jr. and Canellos G.P.**, The lymphomas. *Semin Hematol*, (1999) p: 36, 84-94
- [3] **Henderson E. S.** Acute Leukemia. In: William W J BEUTLER, ERSLER et al. *Haematology*. McGraw-Hill, New York (USA), (1972).
- [4] **April Fritz [et al]**, Classification internationale des maladies pour l'oncologie, 3e éd; Catalogage à la source: Bibliothèque de l'OMS, (2008) p : 17
- [5] **Viallard J.F., Lacombe F., Belloc F., Pellegrin J.L., Reiffers J.**, Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Mécanismes moléculaires contrôlant le cycle cellulaire : aspects fondamentaux et implications en cancérologie, *Cancer/Radiother* ; (2001) 5 : 109-29
- [6] **Bouatay A., Hizem S., Ben Youssef Y., Sayari F., Braham N., Khélif A., Kortas M.**, Myélome multiple, aspect clinique, diagnostic biologique et pronostic, *Immuno-analyse et biologie spécialisée* (2013) 28, 30-35
- [7] **Robert J.**, Signalisation cellulaire et cancer, Collection oncologie pratique, Springer-Verlag France Paris, (2010) p : 199-300
- [8] **Castro A, Vigneron S, Lorca T, Labbe JC.** Mitosis under control. *Med Sci (Paris)*. (2003); 19:309-17
- [9] **Vial JP, Praloran V.** Hématopoïèse et sa régulation dans *Hématologie clinique et biologique* 2e éd. Rueil-Malmaison : Arnette, (2005), p. 9-16
- [10] **Sears C, Armstrong S.A**, Microarrays to identify new therapeutic strategies for cancer, *Adv. Cancer Res.* 96 (2007) 51-74

- [11] Dupasquier S, Quittau-Prévostel C, C. R. Biologies 332, Elsevier Masson SAS (2009) 1-14
- [12] Clark S.J., Melki J., DNA methylation and gene silencing in cancer: which is the guilty party? Oncogene 21 (2002) 5380-5387
- [13] Bird A, DNA methylation patterns and epigenetic memory, Genes Dev. 16 (2002) 6-21
- [14] Pakneshan P., Szyf M., Rabbani S.A., Hypomethylation of urokinase (uPA) promoter in breast and prostate cancer: prognostic and therapeutic implications, Curr. Cancer Drug Targets 5 (2005) 471-488
- [15] Vu T.H., Jirtle R.L., Hoffman A.R., Cross-species clues of an epigenetic imprinting regulatory code for the IGF2R gene, Cytogenet, Genome Res. 113 (2006) 202-208
- [16] Esteller M., epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hyper-methylome, Hum. Mol. Genet. 16 (Spec. No 1) (2007) R50-R59
- [17] Halkidou K., Gaughan L., Cook S., Leung H.Y., Neal D.E., Robson C.N., Upregulation and nuclear recruitment of HDAC1 in hormone refractory prostate cancer, Prostate 59 (2004) 177-189
- [18] Huang B.H., Laban M., Leung C.H., Lee L., Lee C.K., Salto-Tellez M., Raju G.C., Hooi S.C., Inhibition of histone deacetylase 2 increases apoptosis and p21Cip1/WAF1 expression, independent of histone deacetylase 1, Cell Death Differ. 12 (2005) 395-404
- [19] Duesberg P., Does aneuploidy or mutation start cancer? Science 307 (2005) 41
- [20] Weaver B.A., Cleveland D.W., Does aneuploidy cause cancer? Curr. Opin. Cell Biol. 18 (2006) 658-667

- [21] Schmitz R., Renne C., Rosenquist R., Tinguely M., Distler V., Menestrina F., Lestani M., Stankovic T., Austen B., Brauninger A., Hansmann M.L., Kuppers R.,** Insights into the multistep transformation process of lymphomas: IgH-associated translocations and tumor suppressor gene mutations in clonally related composite Hodgkin's lymphomas, *Leukemia* 19 (2005) 1452-1458
- [22] Tupler R., Perini G., Green M.R.,** Expressing the human genome, *Nature* 409 (2001) 832-833
- [23] Sherr C.J., McCormick F.,** The RB and p53 pathways in cancer, *Cancer Cell* 2 (2002) 103-112
- [24] Watermann D.O., Tang Y., Zur Hausen A., Jager M., Stamm S., Stickeler E.,** Splicing factor Tra2-beta1 is specifically induced in breast cancer and regulates alternative splicing of the CD44 gene, *Cancer Res.* 66 (2006) 4774-4780
- [25] Huang C.S., Shen C.Y., Wang H.W., Wu P.E., Cheng C.W.,** Increased expression of SRp40 affecting CD44 splicing is associated with the clinical outcome of lymph node metastasis in human breast cancer, *Clin. Chim. Acta* 384 (2007) 69-74
- [26] Butler J.S.,** The yin and yang of the exosome, *Trends Cell Biol.* 12 (2002) 90-96
- [27] Chen C.Y., Gherzi R., Ong S.E., Chan E.L., Raijmakers R., Pruijijn G.J., Stoecklin G., Moroni C., Mann M., Karin M.,** AU binding proteins recruit the exosome to degrade ARE-containing mRNAs, *Cell* 107 (2001) 451-464
- [28] Lopez De Silanes I., Lal A., Gorospe M.,** HuR : post-transcriptional paths to malignancy, *RNA Biol.* 2 (2005) 11-13
- [29] Bartel D.P.,** MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function, *Cell* 116 (2004) 281-297

- [30] Calin G.A., Liu C.G., Sevignani C., Ferracin M., Felli N., Dumitru C.D., Shimizu M., Cimmino A., Zupo S., Dono M., Dell'aquila M.L., Alder H., Rassenti L., Kipps T.J., Bullrich F., Negrini M., Croce C.M., MicroRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (2004) 11755-11760
- [31] Cimmino A., Calin G.A., Fabbri M., Iorio M.V., Ferracin M., Shimizu M., Wojcik S.E., Aqeilan R.I., Zupo S., Dono M., Rassenti L., Alder H., Volinia S., Liu C.G., Kipps T.J., Negrini M., Croce C.M., miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102 (2005) 13944-13949
- [32] Si M.L., Zhu S., Wu H., Lu Z., Wu F., Mo Y.Y., miR-21-mediated tumor growth, *Oncogene* 26 (2007) 2799-2803
- [33] Clemens M.J., Targets and mechanisms for the regulation of translation in malignant transformation, *Oncogene* 23 (2004) 3180-3188
- [34] Zimmer S.G., Debenedetti A., Graff J.R., Translational control of malignancy: the mRNA cap-binding protein, eIF-4E, as a central regulator of tumor formation, growth, invasion and metastasis, *Anticancer Res.* 20 (2000) 1343-1351
- [35] Wendel H.G., Silva R.L., Malina A., Mills J.R., Zhu H., Ueda T., Watanabe-Fukunaga R., Fukunaga R., Teruya-Feldstein J., Pelletier J., Lowe S.W., Dissecting eIF4E action in tumorigenesis, *Genes Dev.* 21 (2007) 3232-3237
- [36] Yang S.X., Hewitt S.M., Steinberg S.M., Liewehr D.J., Swain S.M., Expression levels of eIF4E, VEGF, and cyclin D1, and correlation of eIF4E with VEGF and cyclin D1 in multi-tumor tissue microarray, *Oncol. Rep.* 17 (2007) 281-287
- [37] Lopez-Otin C., Matrizian L.M., Emerging roles of proteases in tumor suppression, *Nat. Rev. Cancer* 7 (2007) 800-808

- [38] **Gstaiger M., Jordan R., Lim M., Catzavelos C., Mestan J., Slingerland J., Krek W.**, Skp2 is oncogenic and overexpressed in human cancers, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (2001) 5043-5048
- [39] **Adams J.**, The development of proteasome inhibitors as anticancer drugs, *Cancer Cell* 5 (2004) 417-421
- [40] **Pei X.Y., Dai Y., Grant S.**, Synergistic induction of oxidative injury and apoptosis in human multiple myeloma cells by the proteasome inhibitor bortezomib and histone deacetylase inhibitors, *Clin. Cancer Res.* 10 (2004) 3839-3852
- [41] **Passegue E, Jamieson CH, Ailles LE, Weissman IL.** Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 Suppl 1 (2003) 11842-9
- [42] **Till JE, Mc CE.** A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res* 14 (1961) 213-22
- [43] **Morrison SJ, Wandycz AM, Hemmati HD, Wright DE, Weissman IL.** Identification of a lineage of multipotent hematopoietic progenitors. *Development* 124 (1997) 1929-39
- [44] **Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL.** Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 414 (2001) 105-11
- [45] **Passegue E, Wagers AJ, Giuriato S, Anderson WC, Weissman IL.** Global analysis of proliferation and cell cycle gene expression in the regulation of hematopoietic stem and progenitor cell fates. *J Exp Med* 202 (2005) 1599-611
- [46] **Wagers AJ, Sherwood RI, Christensen JL, Weissman IL.** Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science* 297 (2002) 2256-9

- [47] Camargo FD, Chambers SM, Drew E, McNagny KM, Goodell MA.** Hematopoietic stem cells do not engraft with absolute efficiencies. *Blood* 107 (2006) 501-7
- [48] Hess DA, Meyerrose TE, Wirthlin L, Craft TP, Herrbrich PE, Creer MH et al.** Functional characterization of highly purified human hematopoietic repopulating cells isolated according to aldehyde dehydrogenase activity. *Blood* 104 (2004) 1648-55
- [49] Hess DA, Wirthlin L, Craft TP, Herrbrich PE, Hohm SA, Lahey R et al.** Selection based on CD133 and high aldehyde dehydrogenase activity isolates long-term reconstituting human hematopoietic stem cells. *Blood* 107 (2006) 2162-9
- [50] Osawa M, Hanada K, Hamada H, Nakauchi H.** Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science* 273 (1996) 242-5
- [51] Zhou S, Morris JJ, Barnes Y, Lan L, Schuetz JD, Sorrentino BP.** Bcrp1 gene expression is required for normal numbers of side population stem cells in mice, and confers relative protection to mitoxantrone in hematopoietic cells in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 (2002) 12339-44
- [52] Andrews RG, Singer JW, Bernstein ID.** Monoclonal antibody 12-8 recognizes a 115-kd molecule present on both unipotent and multipotent hematopoietic colony-forming cells and their precursors. *Blood* 67 (1986) 842-5
- [53] Bhatia M, Wang JC, Kapp U, Bonnet D, Dick JE.** Purification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating immune-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 94 (1997) 5320-5
- [54] Ho AD, Wagner W.** The beauty of asymmetry: asymmetric divisions and self-renewal in the haematopoietic system. *Curr Opin Hematol* 14 (2007) 330-6

[55] Miller CL, Eaves CJ. Expansion in vitro of adult murine hematopoietic stem cells with transplantable lympho-myeloid reconstituting ability. Proc Natl Acad Sci U S A 94 (1997) 13648-53

[56] Karanu FN, Murdoch B, Gallacher L, Wu DM, Koremoto M, Sakano S et al. The notch ligand jagged-1 represents a novel growth factor of human hematopoietic stem cells. J Exp Med 192 (2000) 1365-72

[57] Chadwick N, Nostro MC, Baron M, Mottram R, Brady G, Buckle AM. Notch signaling induces apoptosis in primary human CD34+ hematopoietic progenitor cells. Stem Cells 25 (2007) 203-10

[58] Bhardwaj G, Murdoch B, Wu D, Baker DP, Williams KP, Chadwick K et al. Sonic hedgehog induces the proliferation of primitive human hematopoietic cells via BMP regulation. Nat Immunol 2: (2001) 172-80

[59] Reya T. Regulation of hematopoietic stem cell self-renewal. Recent Prog Horm Res 58: (2003) 283-95

[60] Huang S, Law P, Francis K, Palsson BO, Ho AD. Symmetry of initial cell divisions among primitive hematopoietic progenitors is independent of ontogenic age and regulatory molecules. Blood 94: (1999) 2595-604

[61] Punzel M, Zhang T, Liu D, Eckstein V, Ho AD. Functional analysis of initial cell divisions defines the subsequent fate of individual human CD34(+) CD38(-) cells. Exp Hematol 30: (2002) 464-72

[62] Punzel M, Liu D, Zhang T, Eckstein V, Miesala K, Ho AD. The symmetry of initial divisions of human hematopoietic progenitors is altered only by the cellular microenvironment. Exp Hematol 31: (2003) 339-47

- [63] Wilson A, Murphy MJ, Oskarsson T, Kaloulis K, Bettess MD, Oser GM et al.** c-Myc controls the balance between hematopoietic stem cell self-renewal and differentiation. *Genes Dev* 18: (2004) 2747-63
- [64] Wilson A, Trumpp A.** Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nat Rev Immunol* 6: (2006) 93-106
- [65] Visnjic D, Kalajzic Z, Rowe DW, Katavic V, Lorenzo J, Aguila HL.** Hematopoiesis is severely altered in mice with an induced osteoblast deficiency. *Blood* 103: (2004) 3258-64
- [66] Taichman RS, Reilly MJ, Emerson SG.** Human osteoblasts support human hematopoietic progenitor cells in vitro bone marrow cultures. *Blood* 87: (1996) 518-24
- [67] Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW, Weber JM, Olson DP, Knight MC et al.** Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 425: (2003) 841-6
- [68] Zhang J, Niu C, Ye L, Huang H, He X, Tong WG et al.** Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature* 425: (2003) 836-41
- [69] Jung Y, Wang J, Havens A, Sun Y, Jin T, Taichman RS.** Cell-to-cell contact is critical for the survival of hematopoietic progenitor cells on osteoblasts. *Cytokine* 32: (2005) 155-62
- [70] Jung Y, Song J, Shiozawa Y, Wang J, Wang Z, Williams B et al.** Hematopoietic stem cells regulate mesenchymal stromal cell induction into osteoblasts thereby participating in the formation of the stem cell niche. *Stem Cells* 26: (2008) 2042-51
- [71] Priestley GV, Scott LM, Ulyanova T, Papayannopoulou T.** Lack of alpha4 integrin expression in stem cells restricts competitive function and self-renewal activity. *Blood* 107: (2006) 2959-67

- [72] **Barker JE.** Early transplantation to a normal microenvironment prevents the development of Steel hematopoietic stem cell defects. *Exp Hematol* 25: (1997) 542-7
- [73] **Rahn JJ, Shen Q, Mah BK, Hugh JC.** MUC1 initiates a calcium signal after ligation by intercellular adhesion molecule-1. *J Biol Chem* 279: (2004) 29386-90
- [74] **Fortunel NO, Hatzfeld JA, Monier MN, Hatzfeld A.** Control of hematopoietic stem/progenitor cell fate by transforming growth factor-beta. *Oncol Res* 13: (2003) 445-53
- [75] **Larsson J, Goumans MJ, Sjostrand LJ, van Rooijen MA, Ward D, Leveen P et al.** Abnormal angiogenesis but intact hematopoietic potential in TGF-beta type I receptordeficient mice. *EMBO J* 20: (2001) 1663-73
- [76] **Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K et al.** Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell* 118: (2004) 149-61
- [77] **de Haan G, Weersing E, Dontje B, van Os R, Bystriykh LV, Vellenga E et al.** In vitro generation of long-term repopulating hematopoietic stem cells by fibroblast growth factor-1. *Dev Cell* 4: (2003) 241-51
- [78] **Long MW, Briddell R, Walter AW, Bruno E, Hoffman R.** Human hematopoietic stem cell adherence to cytokines and matrix molecules. *J Clin Invest* 90: (1992) 251-5
- [79] **Dufour S, Duband JL, Thiery JP.** Role of a major cell-substratum adhesion system in cell behavior and morphogenesis. *Biol Cell* 58: (1986) 1-13
- [80] **Schofield KP, Humphries MJ, de Wynter E, Testa N, Gallagher JT.** The effect of alpha4 beta1-integrin binding sequences of fibronectin on growth of cells from human hematopoietic progenitors. *Blood* 91: (1998) 3230-8

- [81] Oostendorp RA, Dormer P.** VLA-4-mediated interactions between normal human hematopoietic progenitors and stromal cells. *Leuk Lymphoma* 24: (1997) 423-35
- [82] Stier S, Ko Y, Forkert R, Lutz C, Neuhaus T, Grunewald E et al.** Osteopontin is a hematopoietic stem cell niche component that negatively regulates stem cell pool size. *J Exp Med* 201: (2005) 1781-91
- [83] Nilsson SK, Haylock DN, Johnston HM, Occhiodoro T, Brown TJ, Simmons PJ.** Hyaluronan is synthesized by primitive hemopoietic cells, participates in their lodgment at the endosteum following transplantation, and is involved in the regulation of their proliferation and differentiation in vitro. *Blood* 101: (2003) 856-62
- [84] Li J, Zhang X, Sejas DP, Bagby GC, Pang Q.** Hypoxia-induced nucleophosmin protects cell death through inhibition of p53. *J Biol Chem* 279: (2004) 41275-9
- [85] Kiel MJ, Yilmaz OH, Iwashita T, Terhorst C, Morrison SJ.** SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell* 121: (2005) 1109-21
- [86] Gothot A, Pyatt R, McMahel J, Rice S, Srour EF.** Functional heterogeneity of human CD34(+) cells isolated in subcompartments of the G0 /G1 phase of the cell cycle. *Blood* 90: (1997) 4384-93
- [87] Cheshier SH, Morrison SJ, Liao X, Weissman IL.** In vivo proliferation and cell cycle kinetics of long-term self-renewing hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: (1999) 3120-5
- [88] Cheng T, Rodrigues N, Shen H, Yang Y, Dombkowski D, Sykes M et al.** Hematopoietic stem cell quiescence maintained by p21^{CIP1/WAF1}. *Science* 287: (2000) 1804-8

[89] Yuan Y, Shen H, Franklin DS, Scadden DT, Cheng T. In vivo self-renewing divisions of haematopoietic stem cells are increased in the absence of the early G1-phase inhibitor, p18^{INK4C}. *Nat Cell Biol* 6: (2004) 436-42

[90] Yu H, Yuan Y, Shen H, Cheng T. Hematopoietic stem cell exhaustion impacted by p18 INK4C and p21 Cip1/Waf1 in opposite manners. *Blood* 107: (2006) 1200-6

[91] Phelps DE, Hsiao KM, Li Y, Hu N, Franklin DS, Westphal E et al. Coupled transcriptional and translational control of cyclin-dependent kinase inhibitor p18^{INK4c} expression during myogenesis. *Mol Cell Biol* 18: (1998) 2334-43

[92] Jacobs JJ, Kieboom K, Marino S, DePinho RA, van Lohuizen M. The oncogene and Polycomb-group gene bmi-1 regulates cell proliferation and senescence through the ink4a locus. *Nature* 397: (1999) 164-8

[93] Park IK, Qian D, Kiel M, Becker MW, Pihalja M, Weissman IL et al. Bmi-1 is required for maintenance of adult self-renewing haematopoietic stem cells. *Nature* 423: (2003) 302-5

[94] Leoncini L, Bellan C, De Falco G. Retinoblastoma gene family expression in lymphoid tissues. *Oncogene* 25: (2006) 5309-14

[95] Spike BT, Macleod KF. The Rb tumor suppressor in stress responses and hematopoietic homeostasis. *Cell Cycle* 4: (2005) 42-5

[96] Malumbres M, Sotillo R, Santamaria D, Galan J, Cerezo A, Ortega S et al. Mammalian cells cycle without the D-type cyclin-dependent kinases Cdk4 and Cdk6. *Cell* 118: (2004) 493-504

[97] Kozar K, Ciemerych MA, Rebel VI, Shigematsu H, Zagozdzon A, Sicinska E et al. Mouse development and cell proliferation in the absence of D-cyclins. *Cell* 118: (2004) 477-

- [98] Jiang Y, Prosper F, Verfaillie CM.** Opposing effects of engagement of integrins and stimulation of cytokine receptors on cell cycle progression of normal human hematopoietic progenitors. *Blood* 95: (2000) 846-54
- [99] Walkley CR, Shea JM, Sims NA, Purton LE, Orkin SH.** Rb regulates interactions between hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment. *Cell* 129: (2007) 1081-95
- [100] Steinman RA, Huang J, Yaroslavskiy B, Goff JP, Ball ED, Nguyen A.** Regulation of p21(WAF1) expression during normal myeloid differentiation. *Blood* 91: (1998) 4531-42
- [101] LaBaer J, Garrett MD, Stevenson LF, Slingerland JM, Sandhu C, Chou HS et al.** New functional activities for the p21 family of CDK inhibitors. *Genes Dev* 11: (1997) 847-62
- [102] Freermerman AJ, Vrana JA, Tombes RM, Jiang H, Chellappan SP, Fisher PB et al.** Effects of antisense p21 (WAF1/CIP1/MDA6) expression on the induction of differentiation and drug-mediated apoptosis in human myeloid leukemia cells (HL-60). *Leukemia* 11: (1997) 504-13
- [103] Mori A, Higashi H, Hoshikawa Y, Imamura M, Asaka M, Hatakeyama M.** Granulocytic differentiation of myeloid progenitor cells by p130, the retinoblastoma tumor suppressor homologue. *Oncogene* 18: (1999) 6209-21
- [104] Cheng T, Rodrigues N, Dombkowski D, Stier S, Scadden DT.** Stem cell repopulation efficiency but not pool size is governed by p27(kip1). *Nat Med* 6: (2000) 1235-40
- [105] Hoshikawa Y, Amimoto K, Mizuguchi R, Hatakeyama M.** Highly controlled heterologous gene expression through combined utilization of the tetracycline-repressible transactivator and the lac repressor. *Anal Biochem* 261: (1998) 211-8

- [106] Yaroslavskiy B, Watkins S, Donnenberg AD, Patton TJ, Steinman RA.** Subcellular and cell-cycle expression profiles of CDK-inhibitors in normal differentiating myeloid cells. *Blood* 93: (1999) 2907-17
- [107] de Koning JP, Soede-Bobok AA, Ward AC, Schelen AM, Antonissen C, van Leeuwen D et al.** STAT3-mediated differentiation and survival and of myeloid cells in response to granulocyte colony-stimulating factor: role for the cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1). *Oncogene* 19: (2000) 3290-8
- [108] Taniguchi T, Endo H, Chikatsu N, Uchimaru K, Asano S, Fujita T et al.** Expression of p21(Cip1/Waf1/Sdi1) and p27(Kip1) cyclin-dependent kinase inhibitors during human hematopoiesis. *Blood* 93: (1999) 4167-78
- [109] Ferlay J et al.** International Agency for Research on Cancer (IARC). GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. Lyon, France: IARCPress; (2004)
- [110] Registre des cancers de la région du grand Casablanca (2004)**
- [111] Remontet L, Esteve J, Bouvier AM, Grosclaude P, Launoy G, et coll.** Cancer incidence and mortality in France over the period 1978-2000. *Rev Epidemiol Sante Publique* (2003), 51 : 3-30
- [112] Parkin DM,** International agency for research on cancer, International association of cancer registries. Cancer incidence in Five Continents. Vol VIII. IARC Sc. Publ. N° 155, Lyon, France, (2002)
- [113] Charlot-Lambrecht I, Salmon J.-H., Gagneux-Lemoussu L., Brochot P., Eschard J.-P.** Myélome multiple. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Appareil locomoteur, 14-027-B-10, (2011) p : 1-12

- [114] **Manier S., Leleu X.** Myélome multiple : diagnostic clinique et perspective de traitement. Recommandations de l'International Myeloma Working Group (IMWG). *Immunoanal Biol Spec* (2011); 26: 125-36
- [115] **Kayle RA, Rajkumar SV.** Epidemiology of the plasma-cell disorders. *Best Pract Resh Clin Haematol* (2007); 20(4): 637-64
- [116] PNPCC (Plan National de Prévention et de Contrôle du Cancer) Vol_2 ;
Axe_Epidémiologie - Situation et actions
- [117] **Barille-Nion S, Barlogie B, Bataille R, Bergsagel PL, Epstein J, Fenton RG, Jacobson J, Kuehl WM, Shaughnessy J, Tricot G.** Advances in biology and therapy of multiple myeloma. *Hematology, American Society of Hematology Education Program Book* (2003): 248-278
- [118] **Feuillard J & Raphaël M.** Différenciation lymphocytaire B et lymphomes B périphériques. *Hématologie*, (2000) 6:345-359
- [119] **Jego G, Robillard N, Puthier D, Amiot M, Accard F, Pineau D, Harousseau JL, Bataille R, Pellat-Deceunynck C.** Reactive plasmocytoses are expansions of plasmablasts retaining the capacity to differentiate into plasma cells. *Blood*, (1999) 94:701-712
- [120] **Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P.** Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroup francophone du myeloma. *Blood* (2007); 109: 3489-95
- [121] **Fonseca R, Blood E, Rue M.** Clinical and biologie implications of recurrent genomic aberrations in myeloma. *Blood* (2003); 101: 4569-75
- [122] **Avet-Loiseau H, Facon T, Grosbois B, Magrangeas F, Rapp MJ, Harousseau JL, et al.** Oncogenesis of multiple myeloma: 14q32 and 13q chromosomal abnormalities are not randomly distributed, but correlate with natural history, immunological features and clinical presentation. *Blood* (2002); 99:2185-91

[123] O. Decaux, L. Lodé, S. Minvielle, H. Avet-Loiseau. Anomalies génétiques dans le myélome : rôle dans l'oncogenèse et implications pronostiques. *La Revue de médecine interne* 28 (2007) 677–681

[124] Shaughnessy Jr. J, Gabrea A, Qi Y, Brents L, Zhan F, Tian E, et al. Cyclin D3 at 6p21 is dysregulated by recurrent chromosomal translocations to immunoglobulin loci in multiple myeloma. *Blood* (2001); 98:217–23

[125] Hanamura I, Iida S, Akano Y, Hayami Y, Kato M, Miura K, et al. Ectopic expression of MAFB gene in human myeloma cells carrying the t(14; 20)(q32;q11) chromosomal translocations. *Jpn J Cancer Res* (2001); 92: 638–44

[126] Fonseca R, Bailey RJ, Ahmann GJ, Rajkumar SV, Hoyer JD, Lust JA, et al. Genomic abnormalities in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* (2002); 100:1417–24

[127] Shaughnessy J. Amplification and overexpression of CKS1B at chromosome band 1q21 is associated with reduced levels of p27(Kip1) and an aggressive clinical course in multiple myeloma. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* (2005); 10(Suppl. 1):117–26.

[128] Kiel MJ, Morrison SJ. Uncertainty in the niches that maintain haematopoietic stem cells. *Nat Rev Immunol.* (2008); 8:290-301

[129] Harousseau J-L, Moreau P. Autologous hematopoietic stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* (2009) juin 18;360(25):2645–54

[130] Sanz-Rodriguez F, Hidalgo A, Teixido J. Chemokine stromal cell-derived factor-1alpha modulates VLA-4 integrin-mediated multiple myeloma cell adhesion to CS-1/fibronectin and VCAM-1. *Blood.* (2001); 97:346-351

- [131] Francisco S-R, Natividad R-V, Dora P-S, Joaquin T.** Characterization of VLA-4-dependent myeloma cell adhesion to fibronectin and VCAM-1. *British Journal of Haematology.* (1999); 107:825-834
- [132] Ahsmann EJ, Benschop RJ, de Gruyl TD, Faber JA, Lokhorst HM, Bloem AC.** A novel flow cytometric assay for the quantification of adhesion of subsets within a heterogeneous cell population; analysis of lymphocyte function-associated antigen-1 (LFA-1)-mediated binding of bone marrow-derived primary tumour cells of patients with multiple myeloma. *Clin Exp Immunol.* (1993); 93:456-463
- [133] Ridley RC, Xiao H, Hata H, Woodliff J, Epstein J, Sanderson RD.** Expression of syndecan regulates human myeloma plasma cell adhesion to type I collagen. *Blood.* (1993); 81:767-774
- [134] Shain KH, Landowski TH, Dalton WS.** Adhesion-Mediated Intracellular Redistribution of c-Fas-Associated Death Domain-Like IL-1-Converting Enzyme-Like Inhibitory Protein-Long Confers Resistance to CD95-Induced Apoptosis in Hematopoietic Cancer Cell Lines. *J Immunol.* (2002); 168:2544-2553
- [135] Hazlehurst LA, Damiano JS, Buyuksal I, Pledger WJ, Dalton WS.** Adhesion to fibronectin via beta1 integrins regulates p27kip1 levels and contributes to cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR). *Oncogene.* (2000); 19:4319-4327
- [136] Hideshima T, Bergsagel PL, Kuehl WM, Anderson KC.** Advances in biology of multiple myeloma: clinical applications. *Blood.* (2004); 104:607-618.
- [137] Klein B, Zhang XG, Lu ZY, Bataille R.** Interleukin-6 in human multiple myeloma. *Blood* (1995); 85:863-872
- [138] Urashima M, Chauhan D, Uchiyama H, Freeman GJ, Anderson KC.** CD40 ligand triggered interleukin-6 secretion in multiple myeloma. *Blood.* (1995); 85:1903-1912

- [139] Hideshima T, Chauhan D, Schlossman R, Richardson P, Anderson KC.** The role of tumor necrosis factor alpha in the pathophysiology of human multiple myeloma: therapeutic applications. *Oncogene.* (2001); 20:4519-4527
- [140] Hideshima T, Chauhan D, Richardson P, et al.** NF-kappa B as a therapeutic target in multiple myeloma. *J Biol Chem.* (2002); 277:16639-16647
- [141] D Bouscary, C Roux, P Ravaud.** Myélome multiple-Physiopathologie. Appareil locomoteur. Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS (2003); 14-027-B-10 p :1-9
- [142] Harousseau JL, Shaughnessy J, Richardson P.** Multiple myeloma. Hematology, American Society of Hematology Education Program Book (2004) :237-256
- [143] Podar K, Tai Y-T, Lin BK, et al.** Vascular Endothelial Growth Factor-induced Migration of Multiple Myeloma Cells Is Associated with beta 1 Integrin- and Phosphatidylinositol 3-Kinase-dependent PKCalpha Activation. *J Biol Chem.* (2002); 277:7875-7881
- [144] Le Gouill S, Podar K, Amiot M, et al.** VEGF induces MCL-1 upregulation and protects multiple myeloma cells against apoptosis. *Blood.* (2004)
- [145] Lin B, Podar K, Gupta D, et al.** The vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor PTK787/ZK222584 inhibits growth and migration of multiple myeloma cells in the bone marrow microenvironment. *Cancer Res.* (2002); 62:5019-5026
- [146] Podar K, Catley LP, Tai YT, Shringarpure R, Carvalho P, Hayashi T, et al.** GW654652, the pan-inhibitor of VEGF receptors, blocks the growth and migration of multiple myeloma cells in the bone marrow microenvironment. *Blood* (2004); 103(9):3474-9
- [147] Podar K, Tonon G, Sattler M, et al.** The small-molecule VEGF receptor inhibitor pazopanib (GW786034B) targets both tumor and endothelial cells in multiple myeloma. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* (2006); 103:19478-19483

[148] Derksen PW, de Gorter DJ, Meijer HP, et al. The hepatocyte growth factor/Met pathway controls proliferation and apoptosis in multiple myeloma. *Leukemia*. (2003); 17:764-774

[149] Tjin EP, Derksen PW, Kataoka H, et al. Multiple myeloma cells catalyze hepatocyte growth factor (HGF) activation by secreting the serine protease HGF-activator Illegitimate WNT signaling promotes proliferation of multiple myeloma cells The hepatocyte growth factor/Met pathway controls proliferation and apoptosis in multiple myeloma Cell surface proteoglycan syndecan-1 mediates hepatocyte growth factor binding and promotes Met signaling in multiple myeloma. *Blood*. (2004); 101:6122-6127

[150] Hov H, Holt RU, Ro TB, et al. A Selective c-Met Inhibitor Blocks an Autocrine Hepatocyte Growth Factor Growth Loop in ANBL-6 Cells and Prevents Migration and Adhesion of Myeloma Cells. *Clin Cancer Res*. (2004); 10:6686-6694

[151] Holt RU, Baykov V, Ro TB, et al. Human myeloma cells adhere to fibronectin in response to hepatocyte growth factor. *Haematologica*. (2005); 90:479-488

[152] Håkon H, Erming T, Toril H, et al. c-Met signaling promotes IL-6-induced myeloma cell proliferation. *European Journal of Haematology*. (2009); 82:277-287

[153] Du W, Hattori Y, Yamada T, et al. NK4, an antagonist of hepatocyte growth factor (HGF), inhibits growth of multiple myeloma cells: molecular targeting of angiogenic growth factor. *Blood*. (2007); 109:3042-3049

[154] Mahtouk K, Jourdan M, De Vos J, et al. An inhibitor of the EGF receptor family blocks myeloma cell growth factor activity of HB-EGF and potentiates dexamethasone or anti-IL-6 antibody-induced apoptosis. *Blood*. (2004); 103:1829-1837

[155] Mahtouk K, Hose D, Reme T, et al. Expression of EGF-family receptors and amphiregulin in multiple myeloma. Amphiregulin is a growth factor for myeloma cells. *Oncogene*. (2005); 24:3512-3524

- [156] Mahtouk K, Cremer FW, Reme T, et al.** Heparan sulphate proteoglycans are essential for the myeloma cell growth activity of EGF-family ligands in multiple myeloma. *Oncogene*. (2006); 25:7180-7191
- [157] Benson MJ, Dillon SR, Castigli E, et al.** Cutting edge: the dependence of plasma cells and independence of memory B cells on BAFF and APRIL. *J Immunol*. (2008); 180:3655-3659
- [158] Moreaux J, Legouffe E, Jourdan E, et al.** BAFF and APRIL protect myeloma cells from apoptosis induced by interleukin 6 deprivation and dexamethasone. *Blood*. (2004); 103:3148-3157
- [159] Novak AJ, Darce JR, Arendt BK, et al.** Expression of BCMA, TACI, and BAFF-R in multiple myeloma: a mechanism for growth and survival. *Blood*. (2004); 103:689-694
- [160] Yaccoby S, Pennisi A, Li X, et al.** Atacicept (TACI-Ig) inhibits growth of TACI(high) primary myeloma cells in SCID-hu mice and in coculture with osteoclasts. *Leukemia*. (2008); 22:406-413
- [161] Rossi JF, Moreaux J, Hose D, et al.** Atacicept in relapsed/refractory multiple myeloma or active Waldenstrom's macroglobulinemia: a phase I study. *Br J Cancer*. (2009); 101:1051-1058
- [162] Martin SK, Dewar AL, Farrugia AN, et al.** Tumor Angiogenesis Is Associated with Plasma Levels of Stromal-Derived Factor-1{alpha} in Patients with Multiple Myeloma. *Clin Cancer Res*. (2006); 12:6973-6977
- [163] Zannettino AC, Farrugia AN, Kortessidis A, et al.** Elevated serum levels of stromal-derived factor-1alpha are associated with increased osteoclast activity and osteolytic bone disease in multiple myeloma patients. *Cancer Res*. (2005); 65:1700-1709

- [164] **Alsayed Y, Ngo H, Runnels J, et al.** Mechanisms of regulation of CXCR4/SDF-1 (CXCL12)-dependent migration and homing in multiple myeloma. *Blood.* (2007); 109:2708-2717
- [165] **Azab AK, Runnels JM, Pitsillides C, et al.** CXCR4 inhibitor AMD3100 disrupts the interaction of multiple myeloma cells with the bone marrow microenvironment and enhances their sensitivity to therapy. *Blood.* (2009); 113:4341-4351
- [166] **Jundt F, Probsting KS, Anagnostopoulos I, et al.** Jagged1-induced Notch signaling drives proliferation of multiple myeloma cells. *Blood.* (2004); 103:3511-3515.
- [167] **Nefedova Y, Cheng P, Alsina M, Dalton WS, Gabrilovich DI.** Involvement of Notch-1 signaling in bone marrow stroma-mediated de novo drug resistance of myeloma and other malignant lymphoid cell lines. *Blood.* (2004); 103:3503-3510
- [168] **Houde C, Li Y, Song L, et al.** Overexpression of the NOTCH ligand JAG2 in malignant plasma cells from multiple myeloma patients and cell lines. *Blood.* (2004); 104:3697-3704
- [169] **Ghoshal P, Nganga AJ, Moran-Giuati J, et al.** Loss of the SMRT/NCoR2 Corepressor Correlates with JAG2 Overexpression in Multiple Myeloma. *Cancer Res.* (2009); 69:4380-4387
- [170] **Nefedova Y, Sullivan DM, Bolick SC, Dalton WS, Gabrilovich DI.** Inhibition of Notch signaling induces apoptosis of myeloma cells and enhances sensitivity to chemotherapy. *Blood.* (2008); 111:2220-2229
- [171] **Schwarzer R, Kaiser M, Acikgoez O, et al.** Notch inhibition blocks multiple myeloma cell-induced osteoclast activation. *Leukemia.* (2008); 22:2273-2277
- [172] **Derksen PW, Tjin E, Meijer HP, et al.** Illegitimate WNT signaling promotes proliferation of multiple myeloma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* (2004); 101:6122-6127

- [173] **Yasui H, Hideshima T, Ikeda H, et al.** Novel etodolac analog SDX-308 (CEP-18082) induces cytotoxicity in multiple myeloma cells associated with inhibition of betacatenin/ TCF pathway. *Leukemia*. (2007); 21:535-540
- [174] **Sukhdeo K, Mani M, Zhang Y, et al.** Targeting the beta-catenin/TCF transcriptional complex in the treatment of multiple myeloma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. (2007); 104:7516-7521
- [175] **Edwards CM, Edwards JR, Lwin ST, et al.** Increasing Wnt signaling in the bone marrow microenvironment inhibits the development of myeloma bone disease and reduces tumor burden in bone in vivo. *Blood*. (2008); 111:2833-2842
- [176] **Qiang Y-W, Shaughnessy JD, Jr., Yaccoby S.** Wnt3a signaling within bone inhibits multiple myeloma bone disease and tumor growth. *Blood*. (2008); 112:374-382
- [177] **Hayashi T, Hideshima T, Nguyen AN, et al.** Transforming growth factor beta receptor I kinase inhibitor down-regulates cytokine secretion and multiple myeloma cell growth in the bone marrow microenvironment. *Clin Cancer Res*. (2004); 10:7540-7546
- [178] **Stahl N, Boulton TG, Farruggella T, et al.** Association and activation of Jak-Tyk kinases by CNTF-LIF-OSM-IL-6 b receptor components. *Science*. (1994); 263:92-95
- [179] **Stahl N, Farruggella TJ, Boulton TG, Zhong Z, Darnell JE, Jr., Yancopoulos GD.** Choice of STATs and other substrates specified by modular tyrosine-based motifs in cytokine receptors. *Science*. (1995); 267:1349-1353
- [180] **De Vos J, Jourdan M, Tarte K, Jasmin C, Klein B.** JAK2 tyrosine kinase inhibitor tyrphostin AG490 downregulates the mitogen-activated protein kinase (MAPK) and signal transducer and activator of transcription (STAT) pathways and induces apoptosis in myeloma cells. *Br J Haematol*. (2000); 109:823-828

- [181] Pedranzini L, Dechow T, Berishaj M, et al.** Pyridone 6, A Pan-Janus-Activated Kinase Inhibitor, Induces Growth Inhibition of Multiple Myeloma Cells. *Cancer Res.* (2006); 66:9714-9721
- [182] Burger R, Le Gouill S, Tai Y-T, et al.** Janus kinase inhibitor INCB20 has antiproliferative and apoptotic effects on human myeloma cells in vitro and in vivo. *Molecular Cancer Therapeutics.* (2009); 8:26-35
- [183] Hamasaki M, Hideshima T, Tassone P, et al.** Azaspirane (N-N-diethyl-8,8-dipropyl-2-azaspiro [4.5] decane-2-propanamine) inhibits human multiple myeloma cell growth in the bone marrow milieu in vitro and in vivo. *Blood.* (2005); 105:4470-4476
- [184] Amit-Vazina M, Shishodia S, Harris D, et al.** Atiprimod blocks STAT3 phosphorylation and induces apoptosis in multiple myeloma cells. *Br J Cancer.* (2005); 93:70-80
- [185] Tassone P, Neri P, Carrasco DR, et al.** A clinically relevant SCID-hu in vivo model of human multiple myeloma. *Blood.* (2005); 106:713-716
- [186] Hideshima T, Nakamura N, Chauhan D, Anderson KC.** Biologic sequelae of interleukin-6 induced PI3-K/Akt signaling in multiple myeloma. *Oncogene.* (2001); 20:5991-6000
- [187] Klein B, Tarte K, Jourdan M, et al.** Survival and proliferation factors of normal and malignant plasma cells. *Int J Hematol.* (2003); 78:106-113
- [188] Hideshima T, Podar K, Chauhan D, Anderson KC.** Cytokines and signal transduction. *Best Pract Res Clin Haematol.* (2005); 18:509-524
- [189] Hideshima T, Catley L, Yasui H, et al.** Perifosine, an oral bioactive novel alkylphospholipid, inhibits Akt and induces in vitro and in vivo cytotoxicity in human multiple myeloma cells. *Blood.* (2006); 107:4053-4062

- [190] Shi Y, Gera J, Hu L, et al. Enhanced Sensitivity of Multiple Myeloma Cells Containing PTEN Mutations to CCI-779. *Cancer Res.* (2002); 62:5027-5034
- [191] Frost P, Moatamed F, Hoang B, et al. In vivo antitumor effects of the mTOR inhibitor CCI-779 against human multiple myeloma cells in a xenograft model. *Blood.* (2004); 104:4181-4187
- [192] Farag SS, Zhang S, Jansak BS, et al. Phase II trial of temsirolimus in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *Leuk Res.* (2009)
- [193] Tai YT, Fulciniti M, Hideshima T, et al. Targeting MEK induces myeloma-cell cytotoxicity and inhibits osteoclastogenesis. *Blood.* (2007); 110:1656-1663
- [194] Breitkreutz I, Raab MS, Vallet S, et al. Targeting MEK1/2 blocks osteoclast differentiation, function and cytokine secretion in multiple myeloma. *Br J Haematol.* (2007); 139:55-63
- [195] Karin M, Lin A. NF-kappaB at the crossroads of life and death. *Nat Immunol.* (2002); 3:221-227
- [196] Jourdan M, Moreaux J, Vos JD, et al. Targeting NF-kappaB pathway with an IKK2 inhibitor induces inhibition of multiple myeloma cell growth. *Br J Haematol.* (2007)
- [197] Hideshima T, Neri P, Tassone P, et al. MLN120B, a Novel I{kappa}B Kinase {beta} Inhibitor, Blocks Multiple Myeloma Cell Growth In vitro and In vivo. *Clin Cancer Res.* (2006); 12:5887-5894
- [198] Kayle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. Review of 1 027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* (2003); 78: 21-33
- [199] Janvier M. Monoclonal gammopathy. New tools and new drugs for diagnosis and treatment in myeloma. *Joint Bone Spine* (2008); 75:358-61

[200] Criteria of the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* (2003); 121: 3412-20

[201] Kyle RA, Durie BG, Rajkumar SV, Landgren O, Blade J, Merlini G et al. International myeloma Working Group. Monoclonal gamopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma : IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* (2010); 24: 1121-7

[202] Durie BG, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer* (1975); 36: 842-54

[203] Greipp PR, San MJ, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, Blade J, et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol* (2005); 23: 3412-20

[204] Lutje S, de Rooy JW, croockewit S, Koedam E, Oyen WJ, Raymakers RA. Role of radiography, MRI and FDG-PET/CT in diagnosing staging and therapeutical evaluation of patients with multiple myeloma. *Ann Hematol* (2009); 88: 1161-8

[205] Baur-Melnyk A, Buhmann S, Becker C, Oswald Schoenberg S, Lang N, Bartl R, et al. Whole-body MRI versus whole-body MDCT for staging of multiple myeloma. *AJR Am J Roentgenol* (2008); 190: 1097-104

[206] Walker R, Barlogie B, Haessler J. Magnetic resonance imaging in multiple myeloma: diagnostic and clinical implications. *J Clin Oncol* (2007); 25: 1121-8

[207] Durie BG. The role of anatomic and functional staging in myeloma: description of Durie/Salmon plus staging system. *Eur J Cancer* (2006); 42: 1539-43

[208] Abid S. 18F-FDG PET for staging and monitoring of solitary plasmocytoma. *Med Nucl* (2010); 34: 88-95

- [209] Nanni C, Zamagni E, Farsard M, Castellucci P, Tosi P, Beksac M, Sezer O, et al.** Role of 18F-FDG PET/CT in the assessment of bone involvement in newly diagnosed multiple myeloma: preliminary results. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* (2006); 33: 525-31
- [210] Blade J, Dimopoulos M, Rosinol L, Rajkumar SV, Kyle RA.** Smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: current diagnostic criteria, new predictors of outcome, and follow-up recommendations. *J Clin Oncol* (2010), 28:690–697
- [211] Anne C, Michel AD.** Myélome multiple: diagnostic et perspectives thérapeutiques. *Forum Med Suisse* (2013); 13(38):746–751
- [212] Mhaskar R, Redzepovic J, Wheatley K, Clark OA, Miladinovic B, Glasmacher A, et al.** Bisphosphonates in multiple myeloma: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev* (2012), 5:CD003188
- [213] Lahuerta JJ, Mateos MV, Martinez-Lopez J, Rosinol L, Sureda A, de la Rubia J, et al.** Influence of pre- and posttransplantation responses on outcome of patients with multiple myeloma: sequential improvement of response and achievement of complete response are associated with longer survival. *J Clin Oncol* (2008), 26:5775–5782
- [214] Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, Sotto JJ, Fuzibet JG, Rossi JF, et al.** A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Français du Myelome. *N Engl J Med* (1996), 335:91–97
- [215] Harousseau JL, Attal M, Avet-Loiseau H, Marit G, Caillot D, Mohty M, et al.** Bortezomib plus dexamethasone is superior to vincristine plus doxorubicin plus dexamethasone as induction treatment prior to autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: results of the IFM 2005–01 phase III trial. *J Clin Oncol* (2010), 28:4621–4629
- [216] Moreau P, Avet-Loiseau H, Facon T, Attal M, Tiab M, Hulin C, et al.** Bortezomib plus dexamethasone versus reduced-dose bortezomib, thalidomide plus dexamethasone as

induction treatment before autologous stem cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* (2011), 118:5752–5758; quiz 5982

[217] Richardson PG, Weller E, Lonial S, Jakubowiak AJ, Jagannath S, Raje NS, et al. Lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone combination therapy in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* (2010), 116:679–686

[218] Reeder CB, Reece DE, Kukreti V, Chen C, Trudel S, Hentz J, et al. Cyclophosphamide, bortezomib and dexamethasone induction for newly diagnosed multiple myeloma: high response rates in a phase II clinical trial. *Leukemia* (2009), 23:1337–1341

[219] McCarthy PL, Owzar K, Hofmeister CC, Hurd DD, Hassoun H, Richardson PG, et al. Lenalidomide after stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* (2012), 366:1770–1781

[220] Rosinol L, Perez-Simon JA, Sureda A, de la Rubia J, de Arriba F, Lahuerta JJ, et al. A prospective PETHEMA study of tandem autologous transplantation versus autograft followed by reduced-intensity conditioning allogeneic transplantation in newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* (2008), 112:3591–3593

[221] Mateos MV, Richardson PG, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone compared with melphalan and prednisone in previously untreated multiple myeloma: updated follow-up and impact of subsequent therapy in the phase III VISTA trial. *J Clin Oncol* (2010), 28:2259–2266

[222] Mateos MV, Oriol A, Martinez-Lopez J, Gutierrez N, Teruel AI, de Paz R, et al. Bortezomib, melphalan, and prednisone versus bortezomib, thalidomide, and prednisone as induction therapy followed by maintenance treatment with bortezomib and thalidomide versus bortezomib and prednisone in elderly patients with untreated multiple myeloma: a randomised trial. *Lancet Oncol* (2010), 11:934–941

[223] Palumbo A, Waage A, Hulin C, Beksac M, Zweegman S, Gay F, et al. Safety of thalidomide in newly diagnosed elderly myeloma patients: a meta-analysis of data from individual patients in six randomized trials. *Haematologica* (2013), 98:87–94

[224] Rajkumar SV, Jacobus S, Callander NS, Fonseca R, Vesole DH, Williams ME, et al. Lenalidomide plus high-dose dexamethasone versus lenalidomide plus low-dose dexamethasone as initial therapy for newly diagnosed multiple myeloma: an open-label randomised controlled trial. *Lancet Oncol* (2010), 11:29–37

[225] Palumbo A, Anderson K. Multiple myeloma. *N Engl J Med* (2011), 364:1046–1060

Serment de Galien

- *Je jure en présence des maîtres de cette faculté :*
- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*



قسم الصيدلي
بسم الله الرحمن الرحيم
أقسم بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيما لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"



جامعة محمد الخامس-السويسي-

كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 96

سنة : 2013

تنظيم دورة الخلية والأورام الخبيثة الدموية:

النتيجه المتعدد كنموذج

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرفه

الآنسة : حسناء تاقى عمرانى

المزداة فى 23 غشت 1989 بالقنيطرة

لنيل شهادة الدكتوراه فى الصيدلة

الكلمات الأساسية: التنظيم - دورة الخلية - الأورام الخبيثة الدموية - النقيوم المتعدد.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: عبد القادر بلمكي

مشرف

أستاذ فى علم الدم البيولوجى

السيد: عز العرب مسرار

أستاذ فى علم الدم البيولوجى

السيد: عبد الله الدامى

أعضاء

أستاذ مبرز فى الكيمياء الإحيائية والكيميائية

السيدة: سعاد بنكيران

أستاذة مبرزة فى علم الدم البيولوجى