

Décryptage de l'histoire naturelle des néoplasmes myéloprolifératifs grâce à une approche d'arbres phylogénétiques

Jackson Josil¹, Eva Thuillier¹, Laetitia Chambrun¹, Isabelle Plo^{2,3,4}

¹M1 Biologie-Santé Université Paris-Saclay, Orsay, France.

²Inserm UMR 1287, Gustave Roussy, Villejuif, France.

³Université Paris-Saclay, Inserm UMR 1287, Gustave Roussy, Villejuif, France.

⁴Gustave Roussy, Inserm UMR 1287, Villejuif, France.

josil.jackson@universite-paris-saclay.fr

eva.thuillier@ens-paris-saclay.fr

laetitia.chambrun@universite-paris-saclay.fr

isabelle.plo@gustaveroussy.fr

► Déterminer les étapes initiales d'un cancer et l'histoire naturelle de son développement est un enjeu important pour la prédiction des patients à risque, la prévention de ce cancer et son traitement précoce. Les cancers sont des maladies multi-étapes qui résultent généralement de l'accumulation de différentes mutations dans une même cellule et qui aboutissent à une prolifération cellulaire excessive accompagnée ou pas d'une différenciation anormale. Williams *et al.* ont publié récemment dans la revue *Nature* une étude importante sur les néoplasmes myéloprolifératifs classiques (NMP) ayant pour objectif de dater l'apparition des mutations motrices et leur dynamique d'expansion grâce à une étude phylogénétique [1].

Physiopathologie des NMP

Les NMP classiques sont des hémopathies malignes chroniques dont la prévalence est d'environ 1/1 000 et dont l'incidence augmente avec l'âge. Les NMP regroupent 3 maladies : la thrombocythémie essentielle, la polyglobulie de Vaquez et la myélofibrose primaire, qui sont toutes caractérisées par une production excessive de cellules myéloïdes (plaquettes, granulocytes, globules rouges). Leurs principales complications sont les hémorragies, les thromboses et une transformation vers des leucémies de très mauvais pronostics. Ces maladies sont d'excellents modèles de leucémo-genèse car elles évoluent de façon lente et permettent de suivre les différentes étapes de la transformation [2]. Les NMP

sont dus au départ à l'acquisition d'une mutation dite « motrice » dans une cellule souche hématopoïétique (CSH). Ces mutations, dont la plus récurrente est *JAK2*^{V617F} [1], sont « gain-de-fonction » et affectent des gènes impliqués dans les voies de signalisation récepteur de cytokine/*JAK2*/*STAT* [3]. Les CSH mutées sont aussi susceptibles d'acquies d'autres anomalies génétiques ou des mutations additionnelles de façon linéaire ou branchée (accumulation de mutations successives dans le clone *JAK2*^{V617F} initial ou dans des sous-clones de façon simultanée). Ces dernières mutations sont moins spécifiques des NMP puisqu'elles sont retrouvées dans d'autres hémopathies malignes mais expliquent en partie leur hétérogénéité. Elles affectent des facteurs impliqués dans l'épigénétique (*DNMT3A* [*DNA methyl-3-transferase*] ou *TET2* [*ten-eleven translocation 2*]), l'épissage, et ou la transcription [3]. Dans certains cas, des mutations comme celles affectant *TET2* ou *DNMT3A* peuvent précéder l'acquisition de la mutation *JAK2*^{V617F}, ce qui peut conduire à l'amplification en parallèle de CSH mutées seulement pour *TET2* ou pour *DNMT3A*, ou co-mutés avec *JAK2*^{V617F}.

¹ *JAK2*^{V617F} correspond à une mutation dans le gène *JAK2* qui a pour conséquence le changement d'une valine en position 617 de la protéine en phénylalanine, ce qui aboutit à une activation constitutive de cette kinase et à une prolifération incontrôlée des cellules. La mutation est retrouvée dans la moitié des thrombocythémies essentielles et myélofibroses primaires et plus de 95 % des polyglobulies de Vaquez.

Comprendre l'histoire naturelle de la maladie : quelle méthodologie ?

Une question majeure pour comprendre le développement de ces maladies est d'identifier la date d'apparition de ces mutations « motrices » au niveau des CSH et leur dynamique d'expansion en fonction des anomalies génétiques associées. Dans cette étude, Williams *et al.* ont reconstruit l'histoire naturelle du développement clonal en étudiant de façon détaillée des patients atteints de NMP. Pour cela, ils ont purifié et mis en culture à l'échelle unicellulaire des cellules souches et progénitrices hématopoïétiques provenant de la moelle osseuse de 12 patients. Chaque progéniteur a donné naissance à une colonie de cellules dont l'ADN a été extrait et soumis à un séquençage entier du génome (*whole genome sequencing*, WGS) en parallèle de l'ADN germlinal de cellules de l'épithélium buccal ou de lymphocytes T de chaque patient. Une analyse différentielle des variants du génome a été conduite sur un total de 1 000 colonies et a permis d'identifier toutes les mutations somatiques passagères apparues lors de l'hématopoïèse de chaque patient. En identifiant les mutations somatiques communes ou différentes des colonies et en déterminant les ancêtres communs, les auteurs ont construit des arbres généalogiques des mutations, appelés arbres phylogénétiques. Ceux-ci ont été couplés à une échelle de temps puisque les auteurs ont découvert que les mutations passagères sont acquises de façon linéaire au cours de la vie avec un taux d'environ 18 muta-



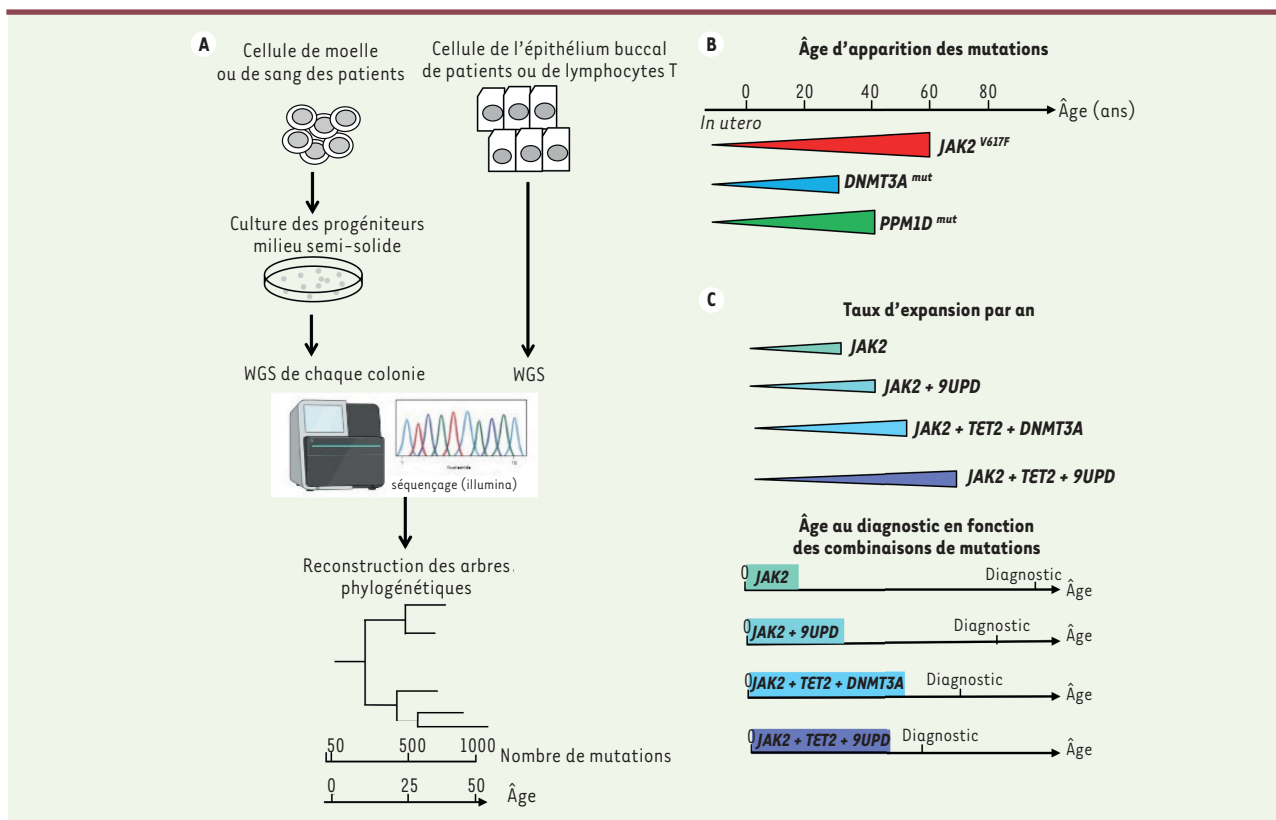


Figure 1. Méthodologie et conclusions sur l'origine des mutations et le déclenchement de la maladie. **A.** Description schématique de la méthodologie employée. Les cellules de la moelle ou du sang des patients atteints de NMP ont étéensemencées en milieu semi-solide. Cette technique permet d'obtenir des colonies de progéniteurs qui ont ensuite été analysées par séquençage entier du génome (WGS). Les mutations acquises durant l'hématopoïèse ont ensuite été identifiées pour chaque patient en comparant le génome de chaque progéniteur hématopoïétique avec le génome des cellules de l'épithélium buccal ou des lymphocytes T. Après cette étape, les auteurs ont reconstruit les arbres phylogénétiques des mutations acquises en les couplant à leur âge d'apparition en fonction du nombre de mutations par colonie. **B, C.** Le déclenchement de la maladie dépend de plusieurs paramètres : 1) de l'âge d'apparition des mutations qui surviennent le plus souvent *in utero* ou dans l'enfance et 2) du nombre de mutations associées qui influence le taux d'expansion/an des cellules souches mutées. Ainsi, la latence de la maladie jusqu'au diagnostic varie selon le type et le nombre de mutations dans un même clone. Par exemple, *JAK2*^{V617F} seul a une expansion très hétérogène avec un maximum de 73 % par an, cette expansion est très augmentée en présence de mutations multiples (*TET2*, *DNMT3A*, *9UPD*) et peut aller jusqu'à 303 % par an.

tions/cellule/an. Ainsi, le nombre de mutations dans les progéniteurs à un temps donné peut servir d'horloge moléculaire (Figure 1A). Grâce à cette méthode, les auteurs ont pu dater l'origine des mutations « motrices », comme celles de *JAK2*^{V617F}, *TET2* ou *DNMT3A*, leur ordre d'apparition et leur impact sur la prolifération des CSH.

Apparition précoce de la mutation *JAK2*^{V617F}, des décennies avant le diagnostic

Cette étude a permis de caractériser une certaine hétérogénéité et com-

plexité génétique des NMP dans les CSH. D'abord, elle révèle l'apparition fréquente d'anomalies génétiques similaires, principalement sur les gènes *JAK2*, *DNMT3A*, *TET2*, dans différentes CSH d'un même patient à des temps différents, ce qui souligne « une évolution clonale en parallèle ». Elle décrit aussi de multiples acquisitions de perte d'hétérozygotie du chromosome (chr) 9p, des acquisitions d'autres anomalies cytogénétiques indépendantes, ou pas, de l'acquisition de *JAK2*^{V617F}, des acquisitions de plusieurs autres muta-

DNMT3A et *PPM1D* (*protein phosphatase, Mg²⁺/Mn²⁺ dependent ID*), qui évoluent dans le même clone que *JAK2*^{V617F} ou en parallèle dans des clones séparés. Ensuite, de façon très nouvelle et inattendue, contrairement au fait que les NMP soient des maladies du sujet âgé, les auteurs ont observé que les mutations *JAK2*^{V617F} et celles de *DNMT3A* et *PPM1D* surviennent très tôt au cours de la vie des individus, quel que soit l'âge du diagnostic (Figure 1B). Alors que chez 10 patients, les mutations apparaissent au cours de la première décennie de l'enfance, pour 2 autres



patients, les mutations sont acquises *in utero* (à 33 semaines post-conception pour *JAK2*^{V617F} et à 8 semaines post-conception pour *DNMT3A*). De manière intéressante, les auteurs montrent aussi que l'acquisition de mutations additionnelles peut survenir longtemps après celle de *JAK2*^{V617F} et que des clones génétiquement plus complexes peuvent prendre le pas sur les clones initiaux. Une modélisation mathématique a ensuite été conduite en se fondant sur les arbres phylogénétiques pour déduire le taux d'expansion par an des différents clones mutés (ou *fitness*) ; celle-ci a aussi été corrélée à la latence de la maladie. Ainsi, il est apparu que le taux de croissance du clone *JAK2*^{V617F} seul est très hétérogène selon les patients avec un maximum de 73 % par an, ce taux semble très augmenté en présence de mutations multiples (*TET2*, *DNMT3A*, *9UPD*) et peut aller jusqu'à 303 % par an, ce qui conduit au diagnostic plus précoce de la maladie par rapport à un patient qui a un clone muté uniquement *JAK2*^{V617F}. Ainsi, deux patients peuvent être diagnostiqués au même âge et avoir une dynamique d'expansion très différente à cause du nombre/type de mutations. (Figure 1C) L'expansion peut néanmoins être ralentie par les traitements, comme cela a été mis en évidence chez un patient traité par l'IFN- α . Enfin de façon assez surprenante, la mutation *DNMT3A*, la plus récurrente dans l'hématopoïèse clonale de signification indéterminée (définie par l'expansion d'un clone chez des individus sans maladie), présente une expansion très lente quand elle est isolée.

Vers une stratégie de dépistage et d'intervention précoce

Dans l'ensemble, l'aspect le plus intéressant de ce travail est de montrer que les mutations comme *JAK2*^{V617F}, *DNMT3A* ou *PPM1D* arrivent tôt au cours de la vie des individus (*in utero* ou dans l'enfance), soit des dizaines d'années avant le diagnostic de la

maladie. Il souligne la latence longue entre l'acquisition de la mutation et le déclenchement de la maladie et vient conforter avec la même méthode mais avec plus de patients un travail précédent de l'équipe de van Egeren *et al.* (Figure 1C) [4]. Cette étude vient aussi étayer le travail de Hirsch *et al.* [6], montrant la présence de la mutation *JAK2*^{V617F} dans le sang de cordon, et celui de Watson *et al.* [7] montrant l'expansion lente du clone *JAK2*^{V617F} dans la population générale. Un autre aspect très intéressant est de souligner que d'autres facteurs modifient cette latence du NMP en particulier les anomalies génétiques associées, comme celles affectant l'épigénétique. En outre, les variabilités de latence observées avec une mutation *JAK2*^{V617F} seule suggèrent fortement que tous ces clones n'évoluent pas forcément vers un NMP mais augmentent seulement la probabilité de déclencher une maladie. Ainsi, comprendre quels sont les autres facteurs, génétiques (somatiques ou germinaux) ou extrinsèques, qui, une fois combinés, entraînent la maladie est une perspective intéressante de cet article. Les données demandent cependant à être confirmées avec d'autres approches et avec de plus larges cohortes de patients plus hétérogènes en âges. À la suite de ce travail, l'équipe de Hermange *et al.* a validé les mêmes conclusions en utilisant des données d'architecture clonale de progéniteurs de patients et un modèle mathématique, ce qui pourrait permettre la mise en place de méthodes de dépistage précoce [5]. Cette étude étend largement nos connaissances sur la progression des NMP et pourrait être pertinente pour d'autres tumeurs malignes myéloïdes et pour les tumeurs solides. Elle ouvre aussi des perspectives médicales intéressantes notamment sur la détection des patients à risque de développer ces maladies dans la population générale. Identifier ces individus pourrait permettre de pré-

dire une éventuelle apparition de NMP et permettrait de traiter les patients précocement avec des anticoagulants avant qu'ils ne développent des hémorragies/thromboses souvent inaugurales. Alternativement, des thérapies comme l'IFN- α limitant le développement de la maladie ou mettant en rémission moléculaire certains patients pourraient être utilisées pour éviter le développement de la maladie [8,9]. Une intervention thérapeutique précoce pourrait être une approche prometteuse dans la grande majorité des cancers avant l'acquisition par le clone malin d'une architecture clonale complexe associée à une résistance à toute thérapie. \diamond

Natural history of myeloproliferative neoplasms by a phylogenetic tree-based approach

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Williams N, Lee J, Mitchell E, *et al.* Life histories of myeloproliferative neoplasms inferred from phylogenies. *Nature* 2022 ; 602 : 162 – 8.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, *et al.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016 ; 127 : 2391 – 405.
- Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2017 ; 129 : 667 – 79.
- Van Egeren D, Escabi J, Nguyen M, *et al.* Reconstructing the Lineage Histories and Differentiation Trajectories of Individual Cancer Cells in Myeloproliferative Neoplasms. *Cell Stem Cell* 2021 ; 28 : 514–523.e9.
- Hermange G, Rakotonirainy A, Bentriou M, *et al.* Inferring the initiation and development of myeloproliferative neoplasms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2022 ; 119 : e2120374119.
- Hirsch P, Mamez AC, Belhocine R, *et al.* Clonal history of a cord blood donor cell leukemia with prenatal somatic *JAK2* V617F mutation. *Leukemia* 2016 ; 30 : 1756 – 9.
- Watson CJ, Papula AL, Poon GYP, *et al.* The evolutionary dynamics and fitness landscape of clonal hematopoiesis. *Science* 2020 ; 367 : 1449 – 54.
- Mosca M, Hermange G, Tisserand A, *et al.* Inferring the dynamics of mutated hematopoietic stem and progenitor cells induced by IFN α in myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2021 ; 138 : 2231 – 43.
- Gisslinger H, Klade C, Georgiev P, *et al.* Ropoginterferon alfa-2b versus standard therapy for polycythaemia vera (PROUD-PV and CONTINUATION-PV) : a randomised, non-inferiority, phase 3 trial and its extension study. *Lancet Haematol* 2020 ; 7 : e196 – 208.