

Caractérisation phénotypique par cytométrie de masse des cellules souches leucémiques dans les leucémies aiguës myéloblastiques

Gwendolyn Marguerit¹ (gwendolyn.marguerit@gustaveroussy.fr), Alexia Alfaro¹, Cyril Catelain¹, Philippe Rameau¹, Jean-Edouard Martin², Véronique Saada²

¹ Plateforme d'imagerie et cytométrie, Gustave Roussy, Villejuif, France

² Laboratoire d'Hématologie, Gustave Roussy, Villejuif, France

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) sont des hémopathies malignes définies par l'atteinte clonale d'un progéniteur myéloïde conduisant à une dérégulation des mécanismes de différenciation, de prolifération et d'apoptose. Elles aboutissent à l'accumulation dans la moelle de cellules myéloïdes immatures (blastes). Une LAM constitue un système hiérarchisé, à l'origine duquel un compartiment minoritaire de cellules très immatures (CD34+/CD38low) évolue et « se différencie » pour produire la population leucémique majoritaire. Ces cellules dites souches leucémiques (LSC), partagent des propriétés avec les cellules souches hématopoïétiques normales (HSC), elles se divisent peu, sont relativement résistantes à la chimiothérapie et constituent un réservoir potentiel de rechute. Le taux de LSC au diagnostic et leur persistance au cours du suivi sont reconnus comme impactant le risque de rechute et la survie des patients atteints de LAM.

Nous avons analysé de façon exhaustive les prélèvements médullaires de patients atteints de LAM au diagnostic (n=17) et de sujets contrôles non leucémiques (n=8). L'analyse a été réalisée sur un cytomètre de masse Hélios.

Le compartiment le plus immature de la population leucémique a été étudié à l'aide d'un fenêtrage CD34+/CD38low (région où se concentrent les LSC). L'analyse a ensuite été réalisée avec l'algorithme de clustering FlowSOM permettant de regrouper les cellules en fonction de leurs phénotypes dans des nœuds. Chaque nœud a été analysé individuellement afin de garder uniquement ceux spécifiques à chaque condition (contrôles ou LAM). Ces nœuds ont été visualisés sur un arbre MST et les clusters obtenus sur une représentation UMAP dans le logiciel Kaluza.

L'analyse FlowSOM de cette population a permis d'identifier 59 nœuds spécifiques chez les patients (absents des moelles contrôles) parmi les 100 nœuds totaux. La majorité des cellules CD34+/CD38low de patients porteurs de LAM, présente un phénotype distinct des HSC ; les marqueurs différentiellement exprimés sont : CD97, CD99, CD123, CD18, CD45RA, CD54 et CD33. Cette stratégie d'analyse appliquée au suivi de deux patients a montré que la persistance de LSC était très prédictive de l'évolution de la leucémie. Ces résultats apportent une piste intéressante pour l'établissement d'un panel d'anticorps permettant un suivi optimisé par cytométrie en flux de routine.

Mots clés : Cytométrie de masse - FlowSOM - Cellules souches leucémiques.