

# **Pistes d'optimisation de traitement des patients atteints de néoplasmes myéloprolifératifs**

**Isabelle Plo, Ph.D**

**DR2 INSERM**

**Team co-leader « From hematopoietic stem cell to megakaryocyte »**

**INSERM U1287, Gustave Roussy**

# Traitements des NMP

Contrôler les paramètres sanguins  
Eviter complications thrombo-hémorragiques  
Traiter les symptômes

**Thrombocytémie  
Essentielle  
(TE)**

**Polyglobulie  
de Vaquez  
(PV)**

**Myélofibrose  
Primaire  
(MFP)**

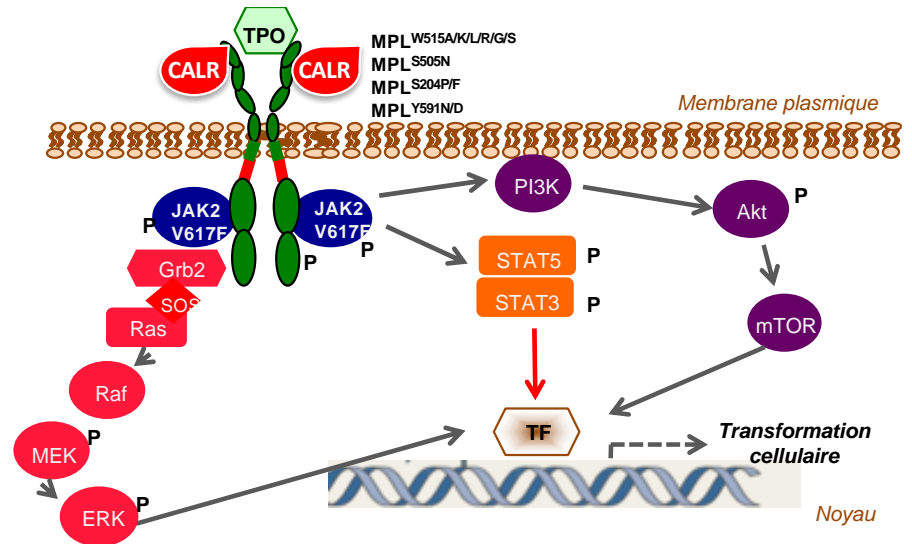
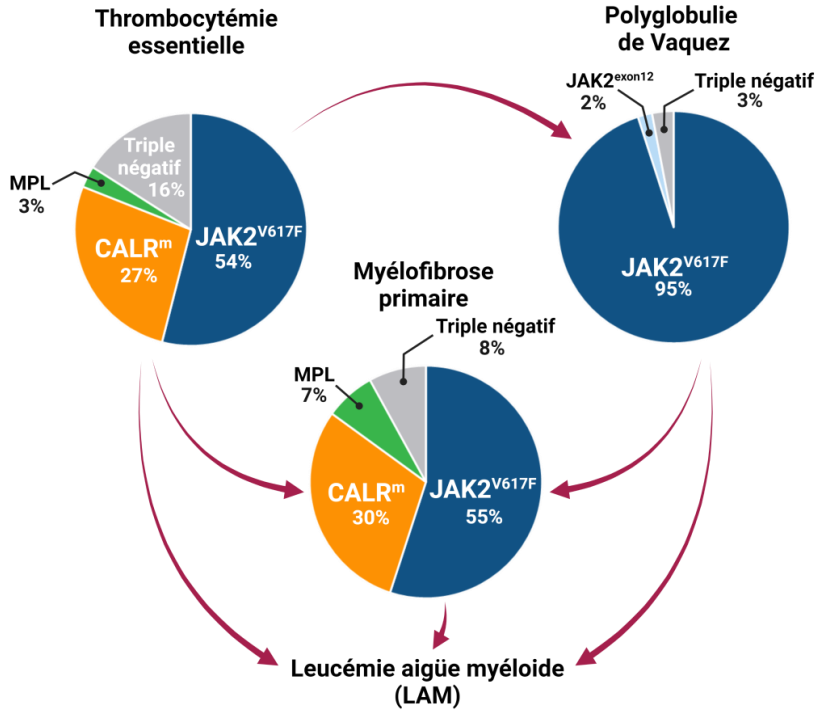
Anti-aggrégants, saignées  
or traitement cytoréducteurs  
(HU - Hydrea)  
**Interféron alpha**

Inhibiteurs JAK1/2  
(ruxolitinib/inrebic)

Transplantation de  
moelle  
allogénique

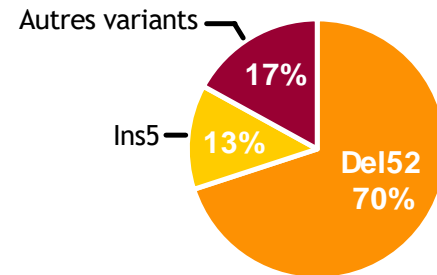
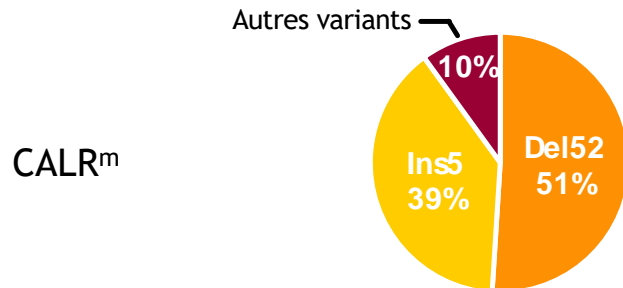
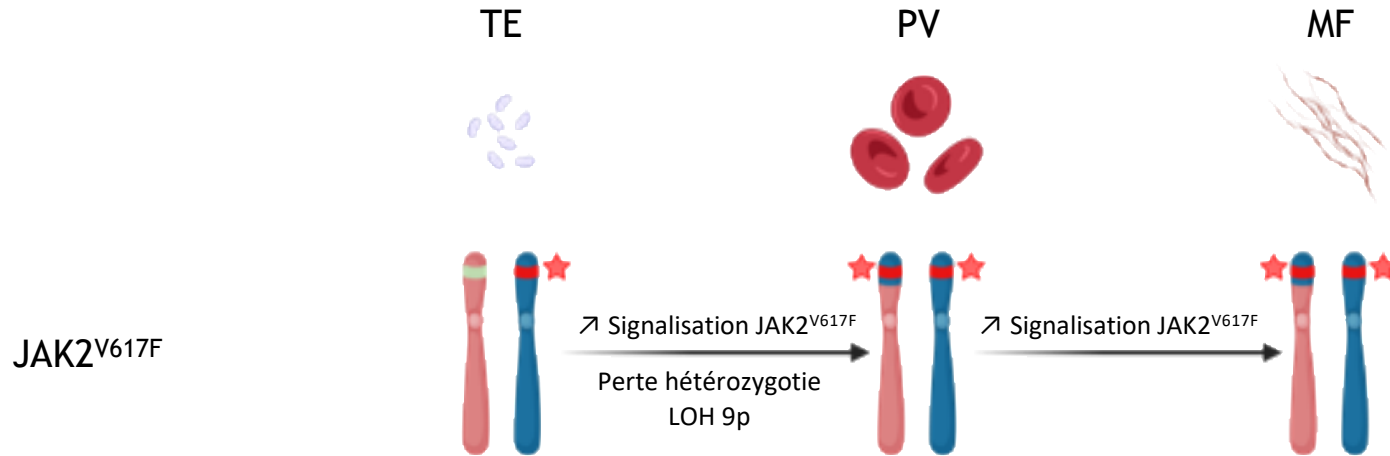
# Paysage mutationnel des NMP

## Mutations acquises sur des gènes codant pour des molécules de la voie récepteurs de cytokines/JAK2/STAT

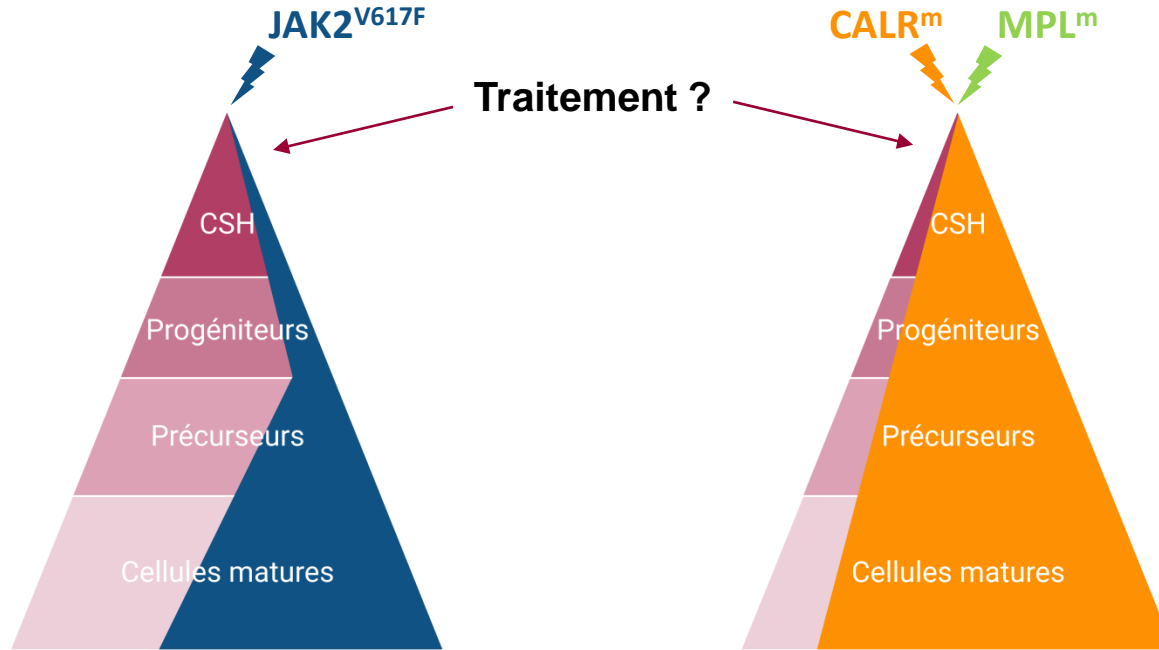


James et al., *Nature*, 2005  
 Pikman et al., *Plos Medicine*, 2006  
 Klampfl et al., *NEJM*, 2013  
 Nangalia et al., *NEJM*, 2013

# Type de mutations dans les NMP



# Les mutations motrices sont acquises au niveau des cellules souches hématopoïétiques



Chaligné *et al.*, Blood, 2007

Dupont *et al.*, Blood, 2007

Shubha Anand *et al.*, Blood, 2011

El-Khoury *et al.*, Oncogene, 2020

## OBJECTIFS

**Comprendre la dynamique des CSH mutées au cours du développement de la maladie**

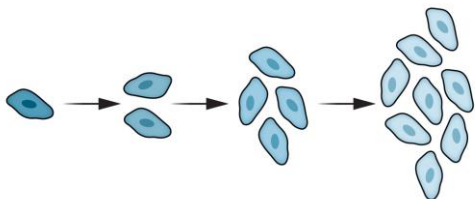
**Connaître l'âge d'apparition des mutations dans les CSH  
Décrypter les dynamiques d'expansion des CSH mutées  
Investiguer les voies de signalisation activées dans les CSH**



# Reconstruction rétrospective de l'histoire de la maladie

## JAK2<sup>V617F</sup> prolifère lentement et survient des années avant le début de la maladie

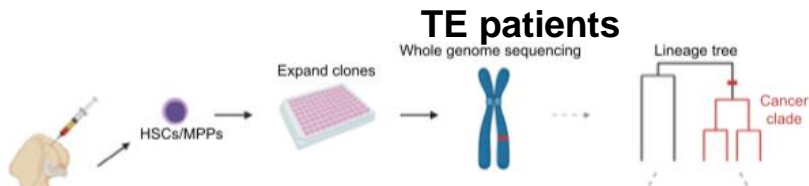
### Retrospective lineage tracing



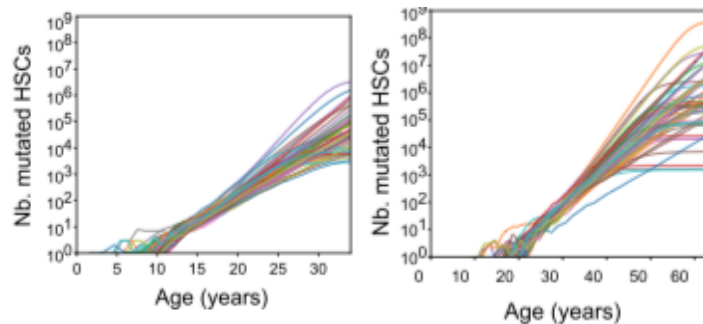
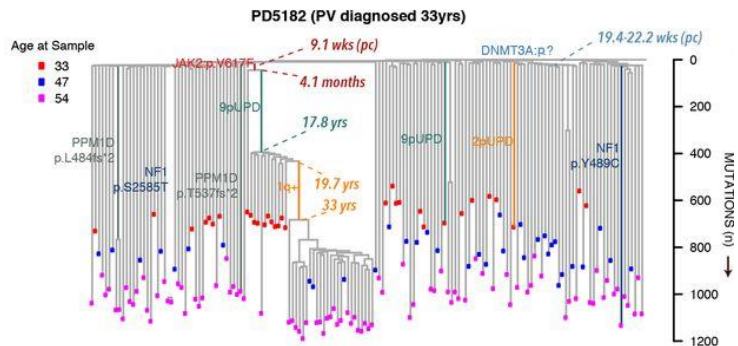
Trace backward

Identify sequence variation and infer ancestry

*Sankaran et al., Science, 2022*



### Arbres phylogénétiques des mutations



*Williams et al. Nature 2022*

*Van Egeren et al. Cell Stem Cell 2021*

# Modèle mathématique pour reconstruire l'histoire de la maladie

## Age d'apparition des mutations et auto-renouvellement

(Collab: PH Cournède, Centralesupelec)

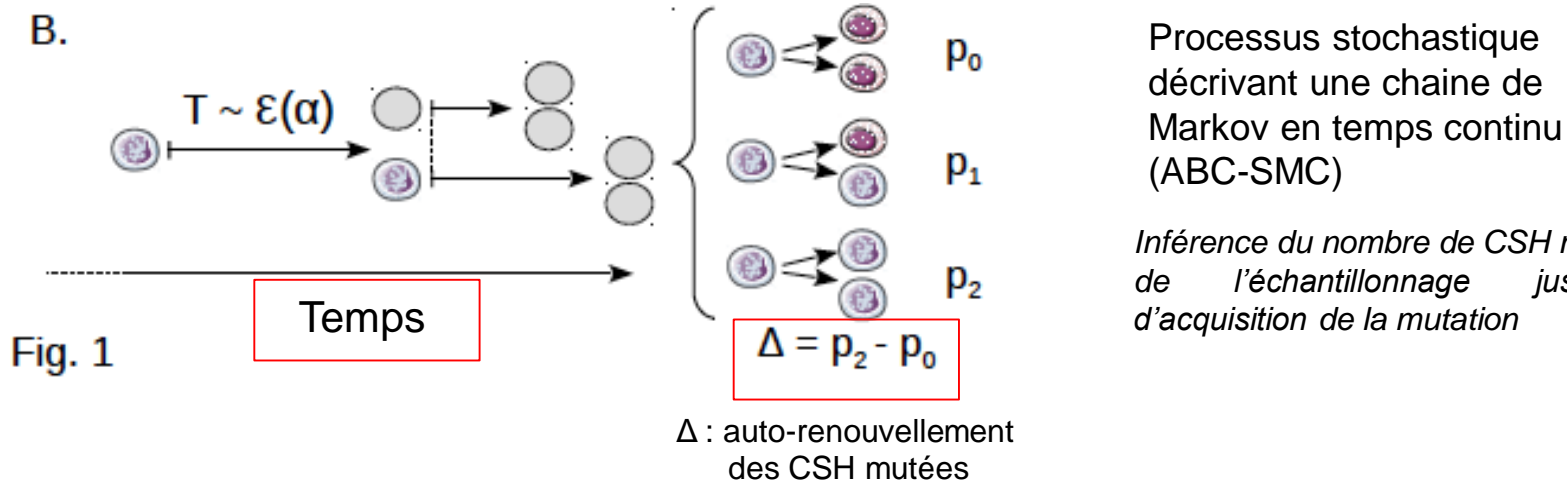
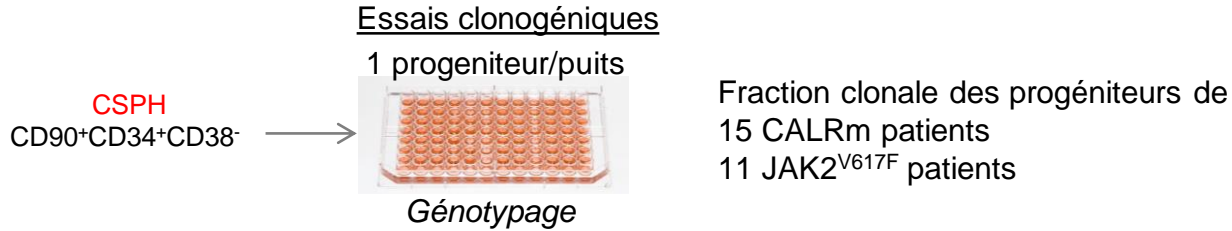


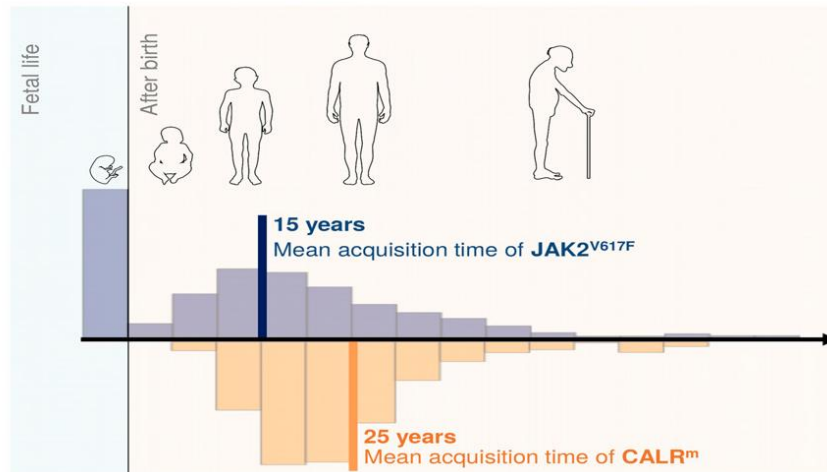
Fig. 1



# Modèle mathématique pour reconstruire l'histoire de la maladie

## Age d'apparition des mutations et auto-renouvellement

(Collab: PH Cournède, Centralesupelec)



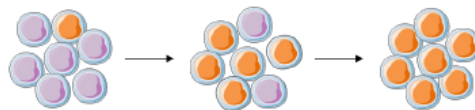
$JAK2^{V617F}$



Time

$$\Delta_{CALR^m} > \Delta_{JAK2^{V617F}}$$

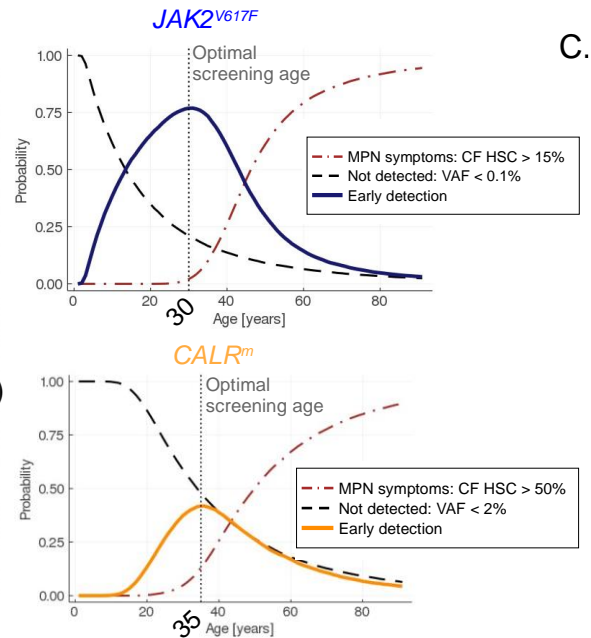
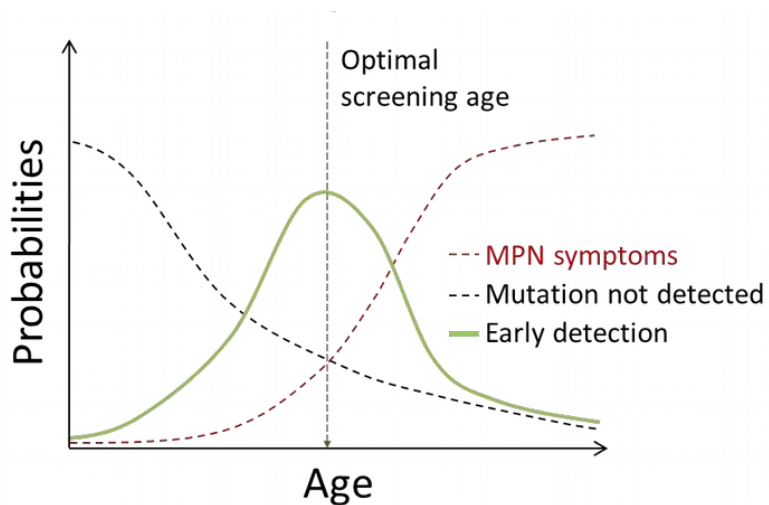
$CALR^m$



0.027

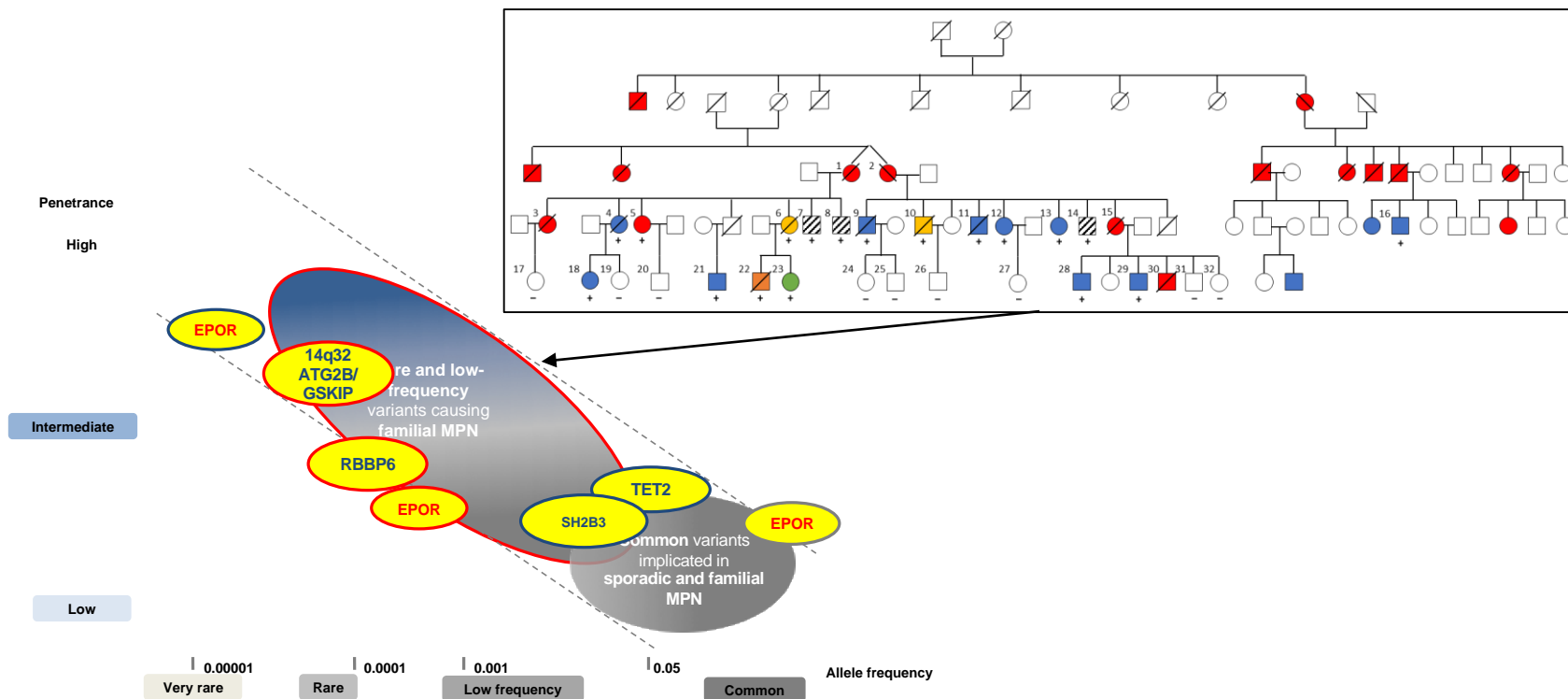
0.017

# Détection des patients à risque de développer un NMP dans la population générale par détermination de l'âge optimal de criblage des mutations $JAK2^{V617F}$ and $CALR^m$

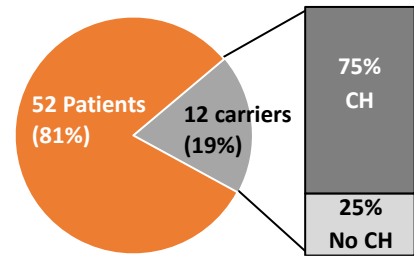
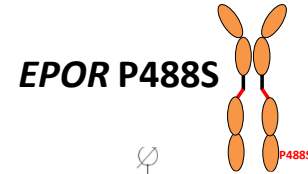
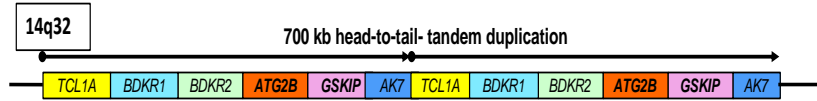


# Identification de facteurs de prédisposition germinaux dans les familles de NMP

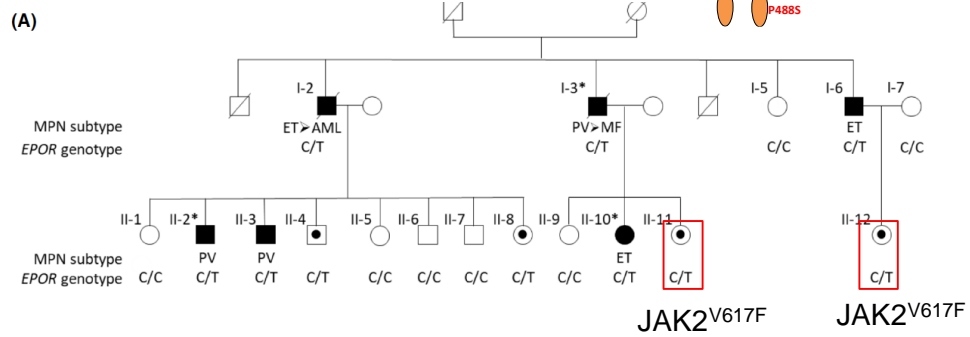
## Détection des porteurs asymptomatiques



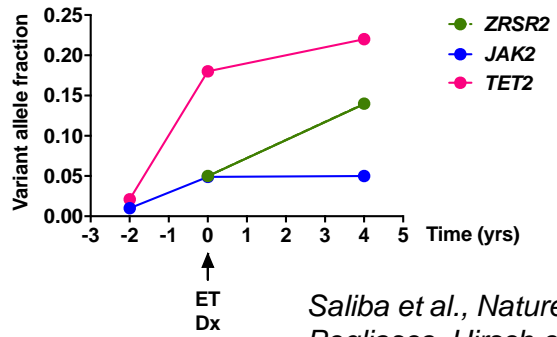
# Les porteurs asymptomatiques développent des hématoïèses clonales très précoces



Orange: Patients with myeloid malignancies  
Grey: Asymptomatic carriers



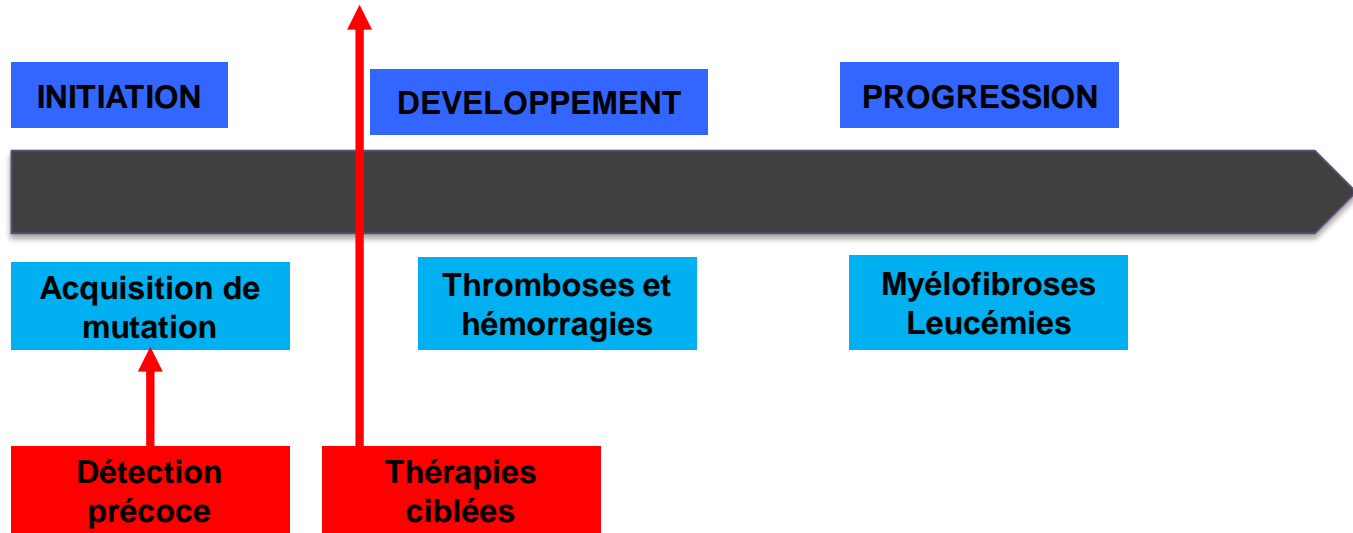
Rabdan Moraes et al., BJH, 2022



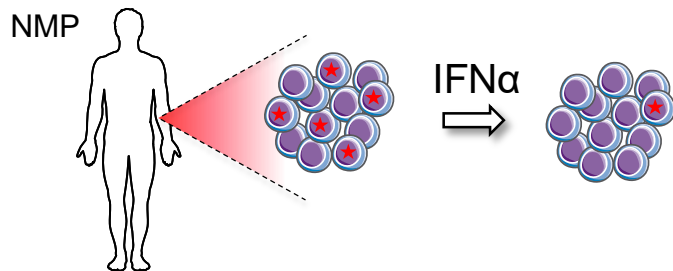
Saliba et al., Nature Genet, 2015  
Pegliasco, Hirsch et al., Leukemia, 2022

**Détection des cas à risque de NMP  
Optimisation du suivi médical et  
prévention**

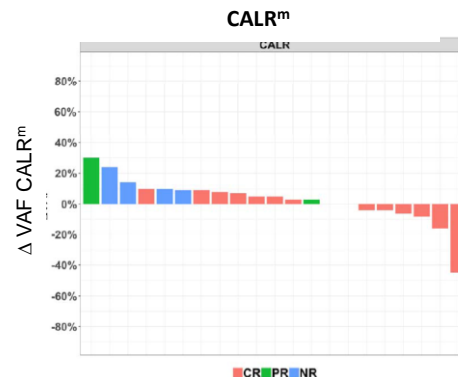
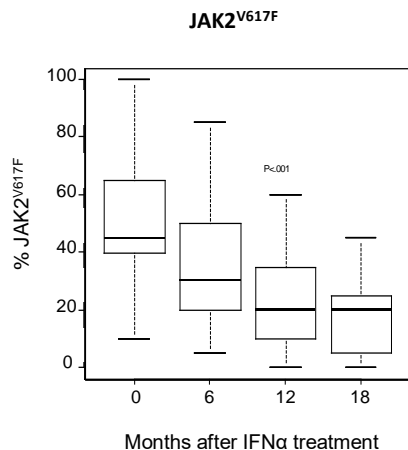
# INTERCEPTION DES NMP PAR DES THERAPIES CIBLEES?



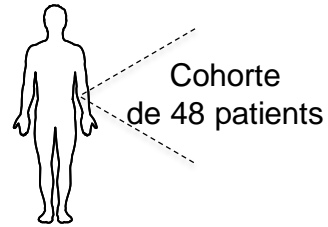
# Thérapie ciblée: l'IFN $\alpha$



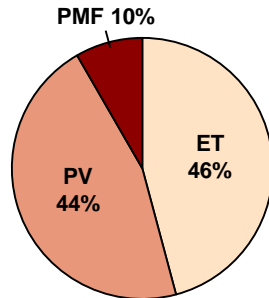
- > 70% des patients en réponse hématologique
- Réponses moléculaires
- Réponses moléculaires complètes (8-20% JAK2<sup>V617F</sup> patients)
- Réponse moléculaires complètes rares
- Long-terme => Toxicités
- Intolérance



# Etude de la dynamique des CSH mutées au cours du traitement par IFN $\alpha$ Génération d'une cohorte observationnelle longitudinale et prospective NMP traités avec IFN $\alpha$ sur plus de 5 ans

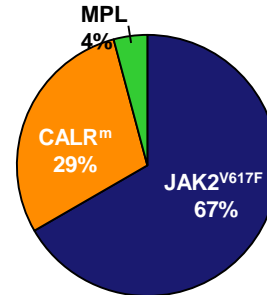


Distribution des  
NMP



n = 48

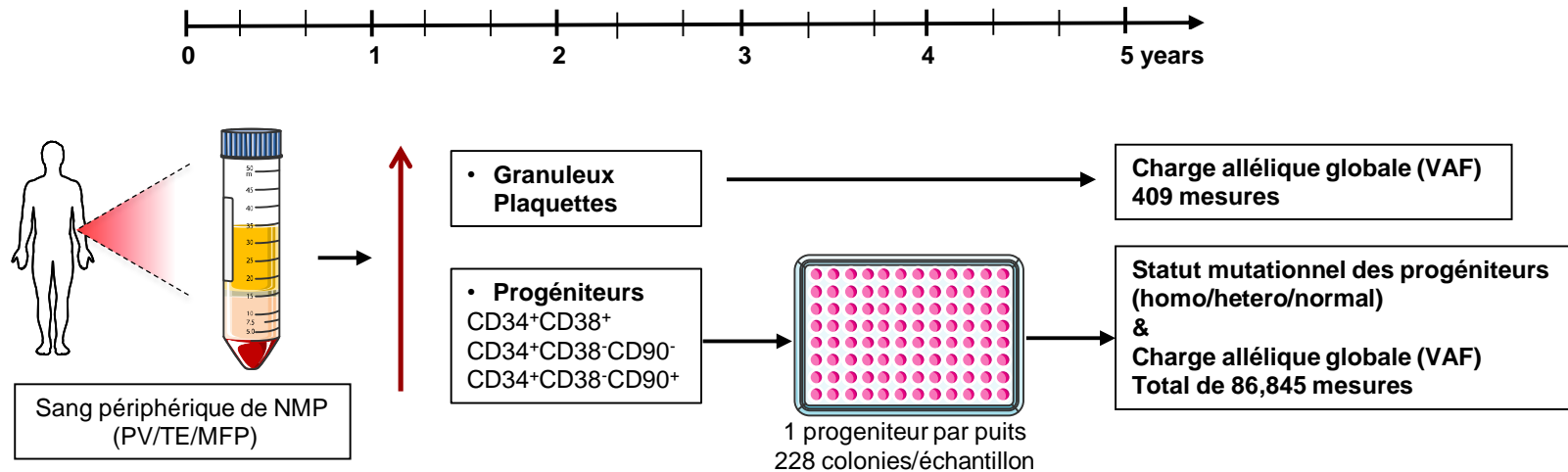
Distribution des  
mutations motrices



n = 48

# Stratégie de mesure de la réponse moléculaire des 48 patients dans les différents compartiments hématopoïétiques

- Echantillons collectés plusieurs fois /an pour chaque patient => analyses de charges alléliques des variants (**VAF**) et des fractions clonales (**CF**)



*CD34<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup> : progéniteurs myéloïdes communs*

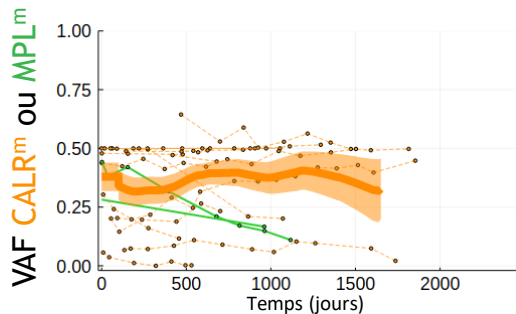
*CD34<sup>+</sup> CD38<sup>-</sup> CD90<sup>-</sup> : progéniteurs immatures*

*CD34<sup>+</sup> CD38<sup>-</sup> CD90<sup>+</sup> : progéniteurs immatures enrichis en CSH*

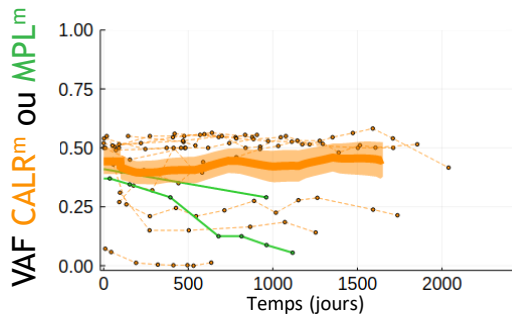


# Dynamique des cellules sous IFN $\alpha$ en fonction des mutations motrices

Progéniteurs CD34<sup>+</sup>

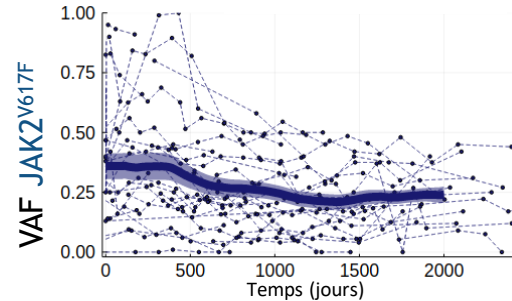
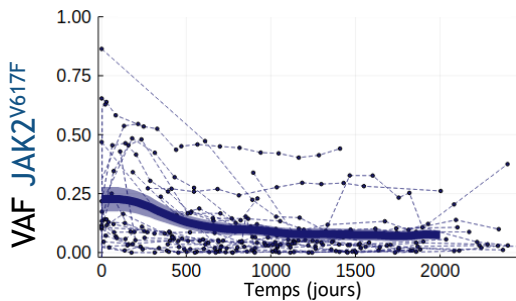


Cellules matures (PNN)



- CALR<sup>m</sup>
- MPL<sup>m</sup>
- CALR<sup>m</sup> (moyenne)

VAF : variant allele frequency (charge allélique)



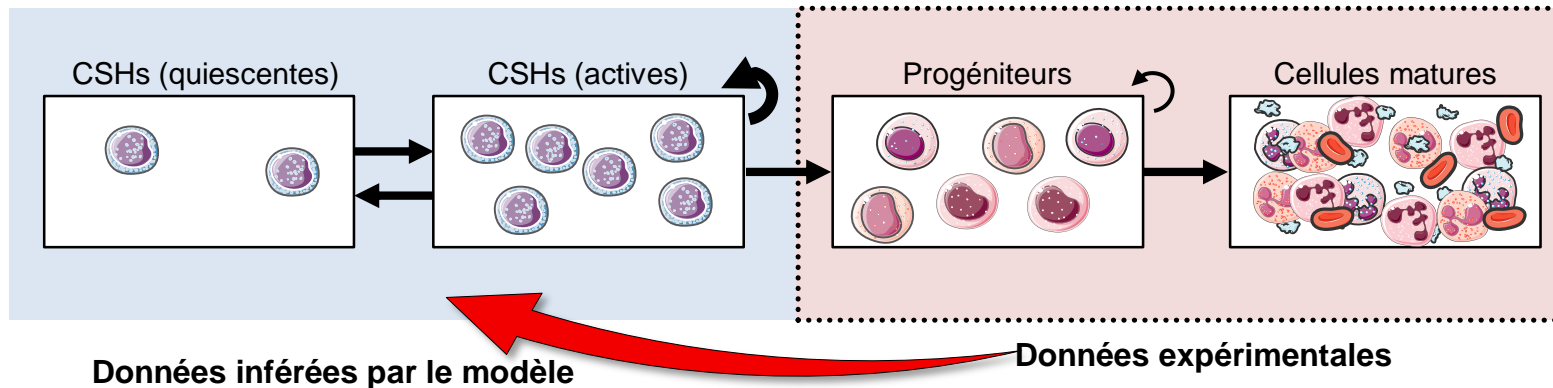
- JAK2<sup>V617F</sup>
- JAK2<sup>V617F</sup> (moyenne)

Diminution lente de JAK2<sup>V617F</sup> au cours du traitement à l'IFN $\alpha$  dans les progéniteurs et les PNN **contrairement** à CALR<sup>m</sup>

## Génération d'un nouveau modèle mathématique pour inférer le comportement à long-term des CSH mutées

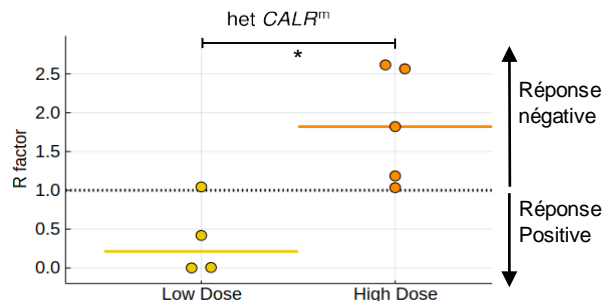
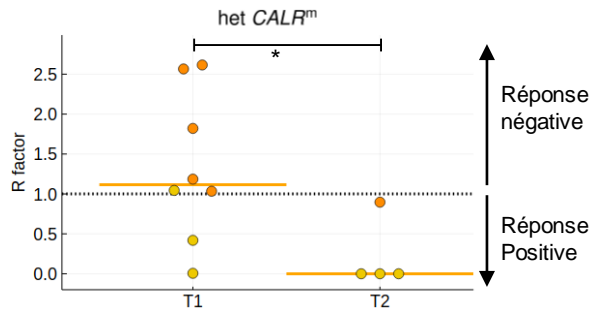
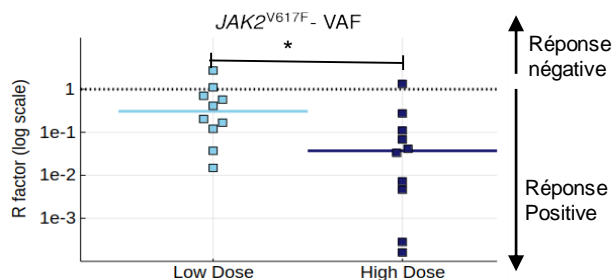
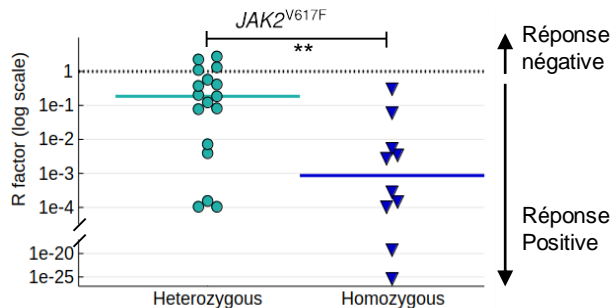
Modèle mathématique compartimental fait sur mesure combiné à une analyse hiérarchique Bayésienne

Adapted from Michor *et al.*, Nature, 2005



# Les CSH sont ciblées différemment selon le type de mutation, leur zygote, et les doses IFN $\alpha$ après 3000 days

Facteur de réponse ( $R$ ) = proportion des CSH mutées à 3000 jours par rapport à sa valeur initiale

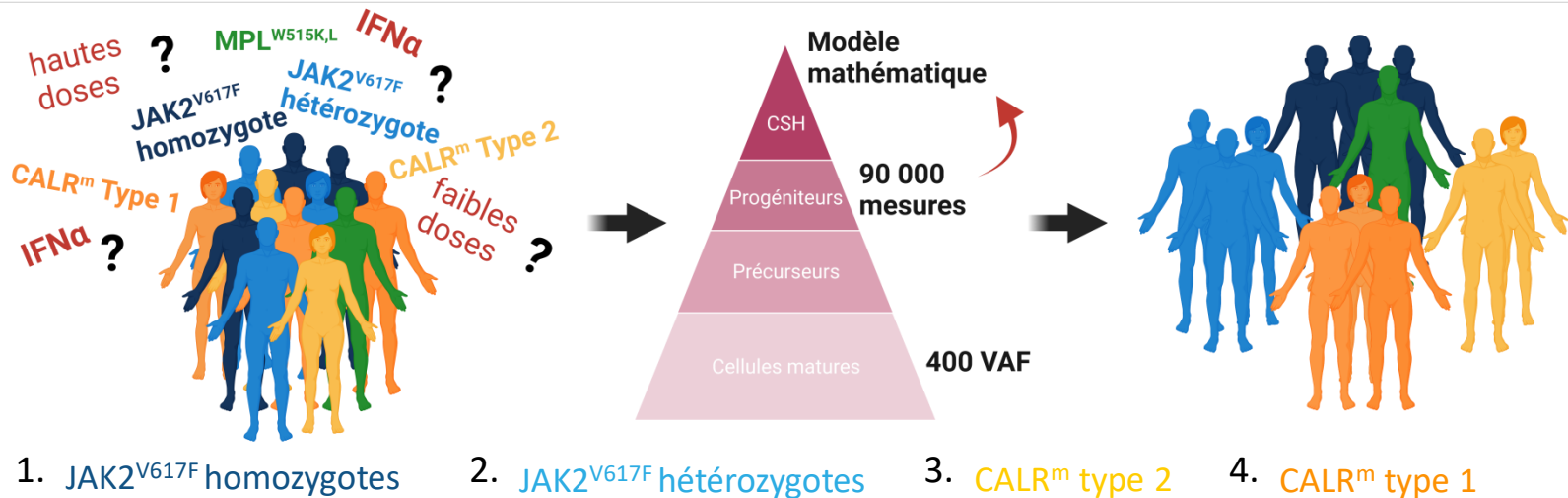


## IFN $\alpha$ cible mieux les CSH:

- JAK2<sup>V617F</sup> que les CALR<sup>m</sup>
- JAK2<sup>V617F</sup> homozygotes que les hétérozygotes
- CALR T2 que CALR T1
- JAK2<sup>V617F</sup> à des hautes doses
- CALR<sup>m</sup> à des faibles doses

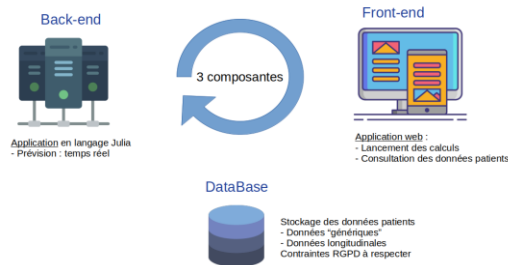
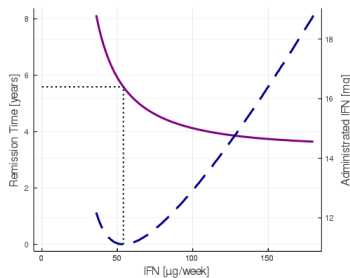
Faible dose < 90  $\mu$ g/semaine  
Haute dose > 90  $\mu$ g/semaine

# Stratification des patients pour la réponse moléculaire à long terme au traitement à l'IFNα



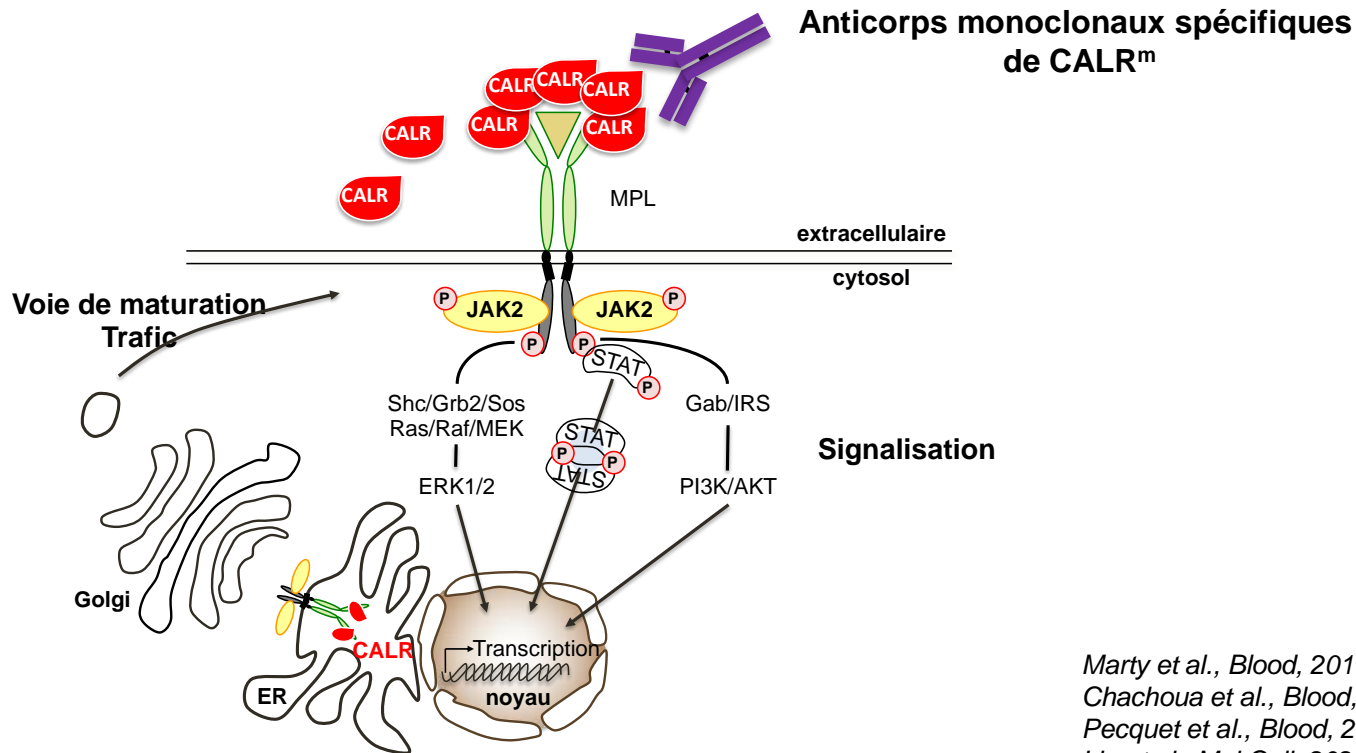
Mosca\*, Hermange\*, Tisserand\*, Noble\* et al., Blood, 2021

## Optimisation and prédiction pour les nouveaux patients en traitement



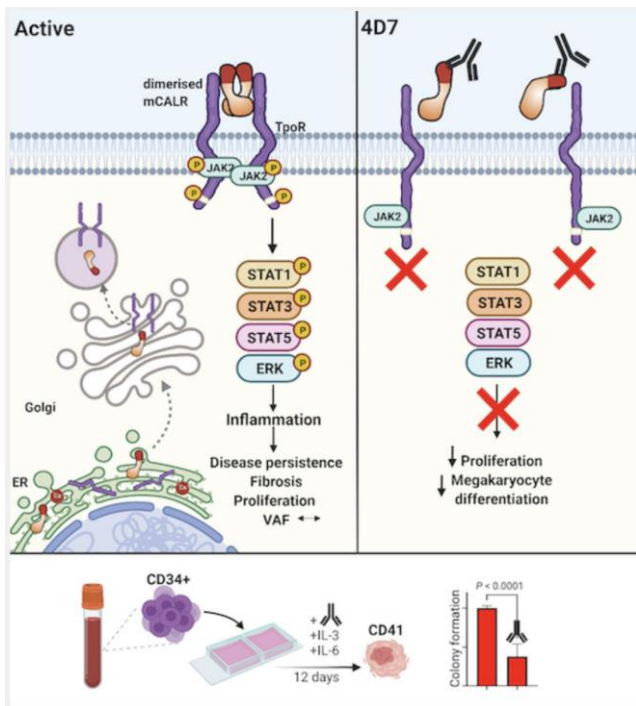
# CALR<sup>m</sup> se fixe et active MPL à la surface cellulaire

## Thérapies ciblées pour les patients CALR<sup>m</sup> : anticorps monoclonaux



Marty et al., *Blood*, 2016  
Chachoua et al., *Blood*, 2016  
Pecquet et al., *Blood*, 2019  
Liu et al., *Mol Cell*, 2020  
Di Buduo et al., *Blood*, 2020  
Pecquet\*, Tisserand\* et al., *Blood*, 2022

# Thérapies ciblées pour les patients $CALR^m$ : anticorps monoclonaux



ASH, Plenary session, 2022

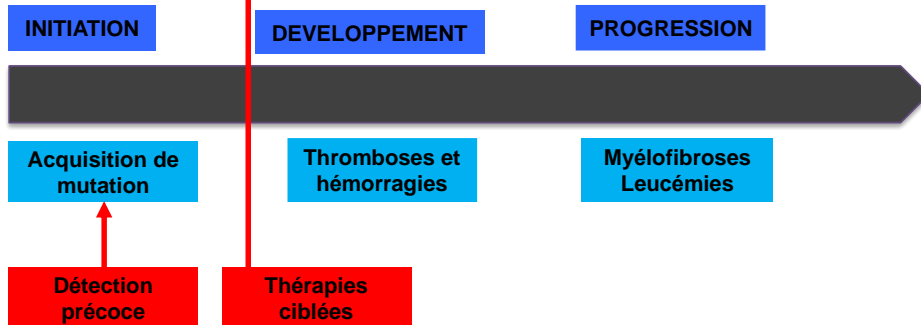
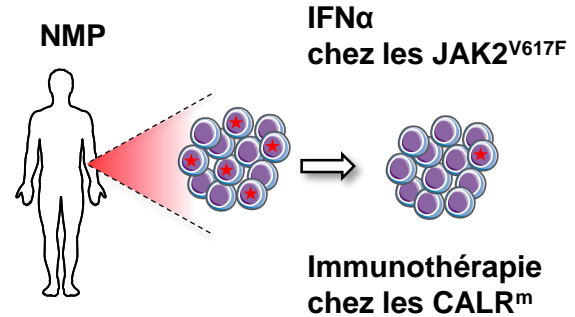
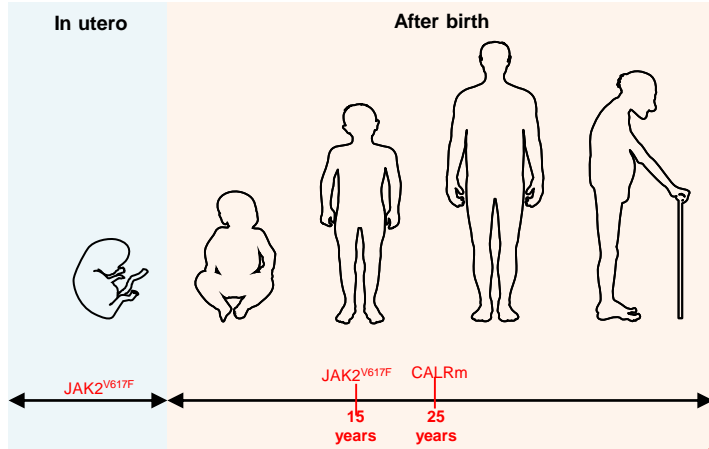
[Discovery of INCA033989, a Monoclonal Antibody That Selectively Antagonizes Mutant Calreticulin Oncogenic Function in Myeloproliferative Neoplasms \(MPNs\)](#)

Edimara Reis, PhD<sup>1\*</sup>, Rebecca Buonpane<sup>1\*</sup>, Hamza Celik, PhD<sup>1\*</sup>, Caroline Marty, PhD<sup>2\*</sup>, Angela Lei<sup>1\*</sup>, Fatoumata Jobe<sup>1\*</sup>, Mark Rupal<sup>1\*</sup>, Yue Zhang<sup>1\*</sup>, Darlise DiMatteo<sup>1\*</sup>, Rahel Awdew<sup>1\*</sup>, William Vainchenker, MD, PhD<sup>2\*</sup>, Jing Zhou<sup>1\*</sup>, Ian Hitchcock, PhD<sup>3</sup>, Isabelle Plo<sup>2\*</sup>, Horacio Nasti<sup>1\*</sup> and Patrick Mayes<sup>1\*</sup>

# INTERCEPTION DES NMP PREDICTION DES PATIENTS A RISQUE ET TRAITEMENTS CURATEURS

Prédire les patients à risque  
dans la population générale et les familles de NMP

Thérapies ciblées  
Prédire l'efficacité  
de traitements



# ACKNOWLEDGMENTS

**INSERM, U1287**  
**Gustave Roussy**  
**Villejuif, France**

Hana Raslova  
Caroline Marty  
Iléana Antony-Debré  
William Vainchenker  
Monika Wittner  
Christine Bellanné-Chantelot

## Ph.D

Matthieu Mosca  
Amandine Tisserand  
Jean Pegliasco  
Mira Elkhoury

## Engineers

Elodie Rosa  
Maxime Evrard

**Centralesupelec, Saclay,**  
**France**  
Paul-Henry Cournède  
Gurvan Hermange

**Ludwig Institute for Cancer**  
**Research**  
**de Duve Institute, Brussels**  
Stefan Constantinescu  
Gaëlle Vertenoel

**CHU Dijon**  
François Girodon



**Gustave Roussy,**  
**Service clinique d'hématologie**  
Florence Pasquier  
Jean Baptiste Micol  
Eric Solary  
Christophe Marzac

**Hôpital Saint Antoine**  
François Delhommeau  
Pierre Hirsch

**Hôpital Saint-Louis**  
Jean Jacques Kiladjian  
Bruno Cassinat

**Cytometry platform**  
Yann Lecluse  
Philippe Rameau

**Genomic platform**  
Nathalie Droin

**Engineers/ Post-doc positions available**





**Research axis to optimize treatments**

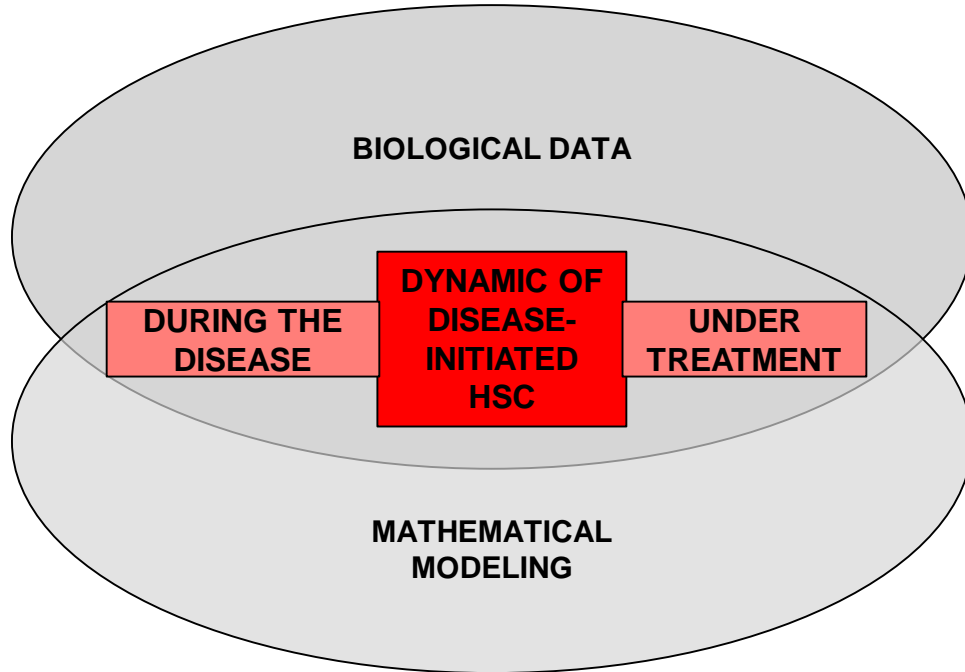
**INITIATION**

**DEVELOPPEMENT**

**PROGRESSION**

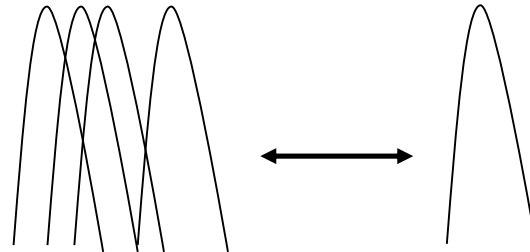
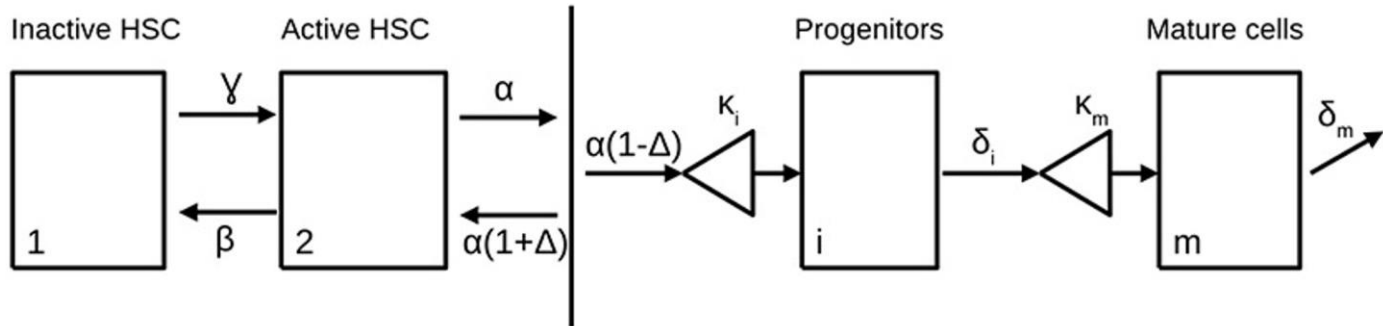


**MPN  
INTERCEPTION  
AND  
CURATIVE  
TREATMENT**



# Generation of a new mathematical model to infer the long-term behavior of mutated HSC

Tailor-made compartmental mathematical model combined with hierarchical Bayesian analysis

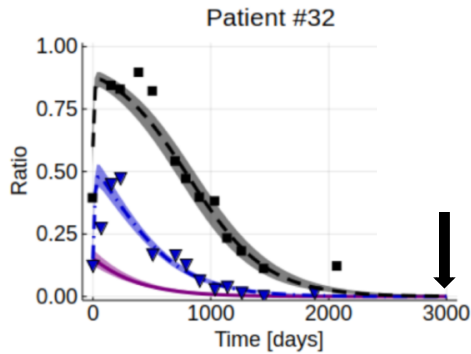


Parameters of each individual

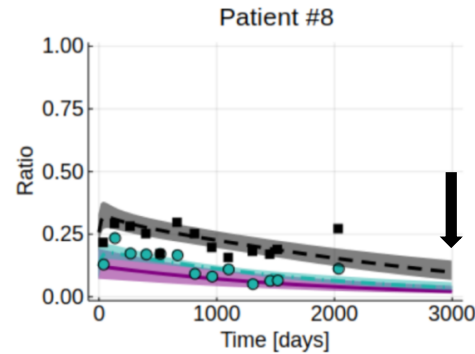
Hyperparameters of the group

# Model fit and inferred dynamics in $JAK2^{V617F}$ patients with the mathematical model including those in HSC

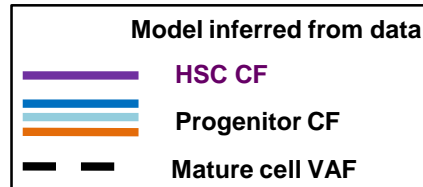
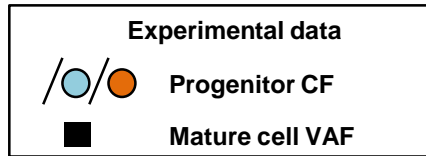
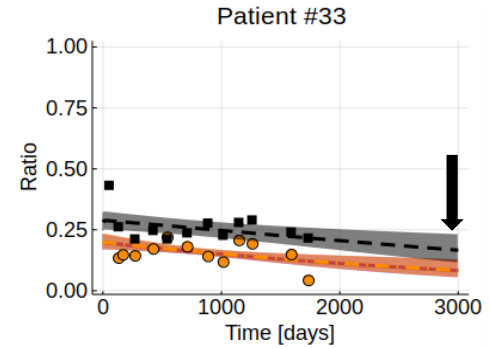
$JAK2^{V617F}$  homozygous cells



$JAK2^{V617F}$  heterozygous cells



CALR<sup>m</sup> heterozygous cells



Good fit of experimental data / model

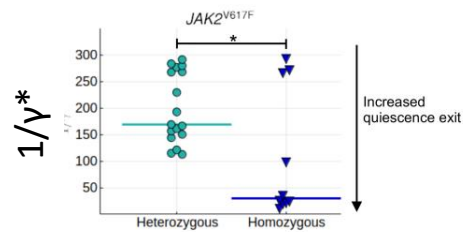
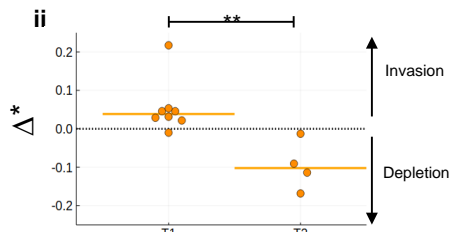
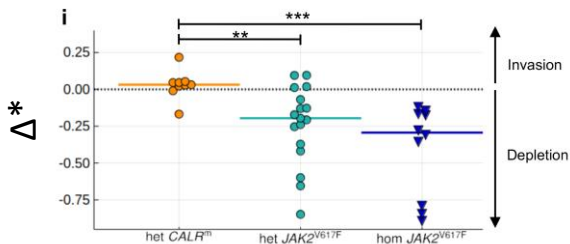
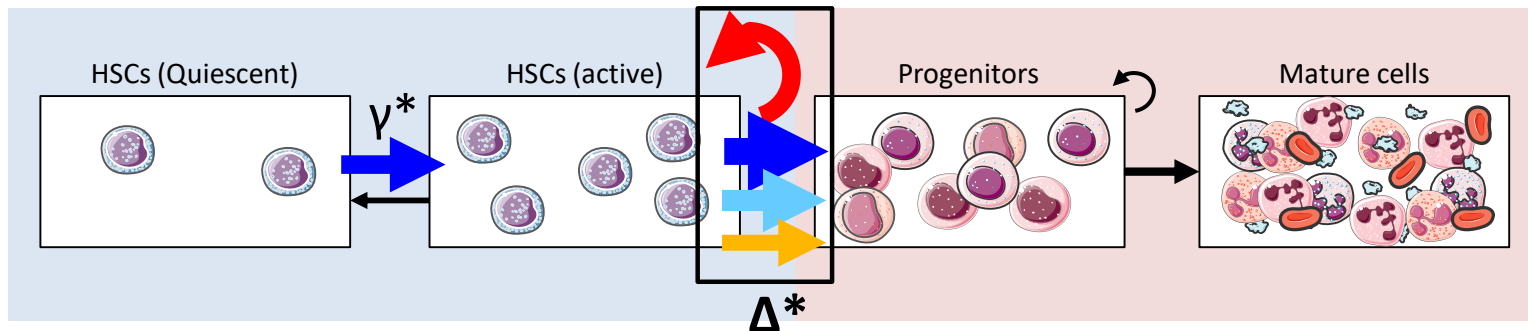
Different dynamics observed in homozygous  $JAK2^{V617F}$ , heterozygous  $JAK2^{V617F}$  cells and CALR<sup>m</sup> cells

# IFN $\alpha$ differentially impacts on $JAK2^{V617F}$ and $CALR^m$ HSC homeostasis

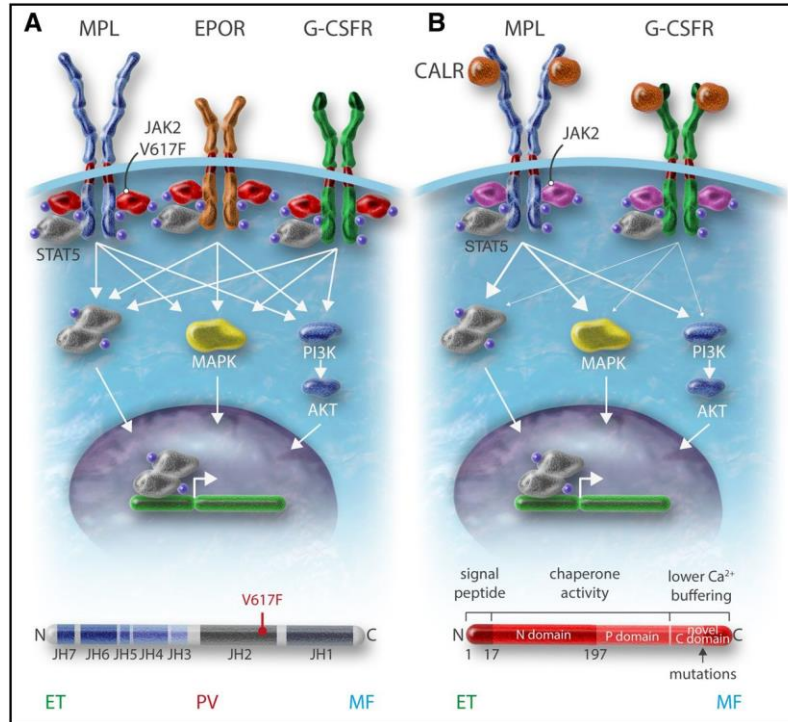
Homozygous  $JAK2^{V617F}$  + IFN $\alpha$   
 Heterozygous  $JAK2^{V617F}$  + IFN $\alpha$

$CALR^m$  heterozygous type 1 + IFN $\alpha$   
 $CALR^m$  heterozygous type 2 + IFN $\alpha$

$\Delta^*$ : self renewal divisions of mutated HSCs under IFN $\alpha$   
 $\gamma^*$ : rate at which quiescent mutated HSC become active



# JAK2<sup>V617F</sup>, CALR et MPL mutants are gain-of-function They constitutively activate JAK2/STAT pathway



From Vainchenker and Kralovics, **Blood**, 2017

- Marty *et al.*, **Blood**, 2015
- Chachoua *et al.*, **Blood**, 2015
- Araki *et al.*, **Blood**, 2015
- Elf *et al.*, **Cancer Discovery**, 2016
- Vainchenker *et al.*, **Blood**, 2017
- Lu *et al.*, **PNAS**, 2005

# MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS (MPN)

## WHO classification

CML

CNL

CEL

classical MPN

Rare MPN

Mastocytosis

BCR/ABL

Polycythemia  
Vera  
(PV)

Essential  
Thrombocythemia  
(ET)

Primary  
Myelofibrosis  
(PMF)



Red blood cells



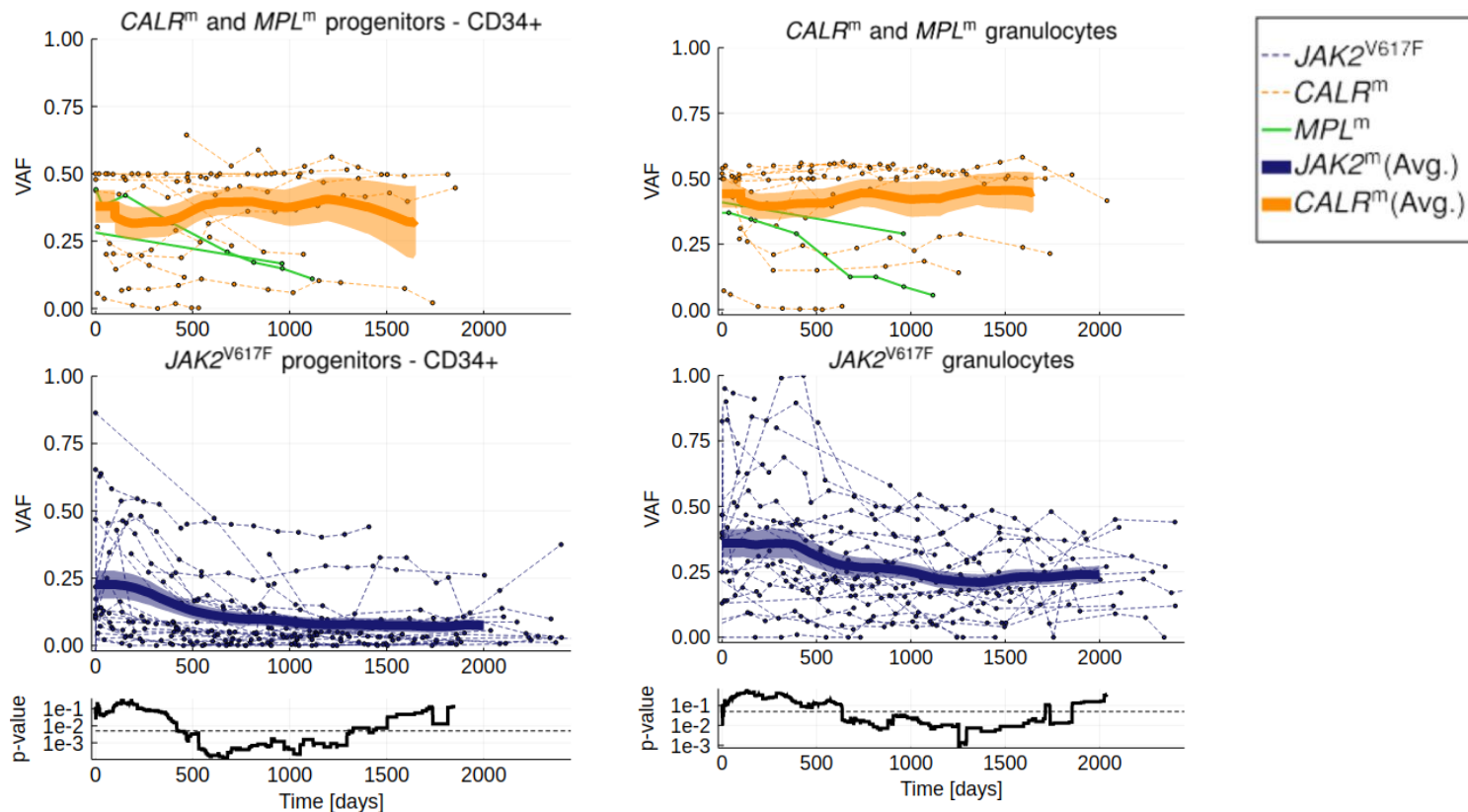
Platelets



Megakaryocytes / Granulocytes

Klampfl et al., NEJM, 2013  
Nangalia et al., NEJM, 2013  
James et al., Nature, 2005

# Dynamiques des cellules mutées au cours du traitement par IFN $\alpha$



IFN $\alpha$  cible mieux les cellules JAK2<sup>V617F</sup> and MPL<sup>m</sup> que les cellules CALR<sup>m</sup>