

Année 2019/2020

N°

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

Anne-Laurine TRICOCHE

Née le 4 juin 1992 à Charenton-le-Pont (94)

Douleurs osseuses dans les leucémies aiguës : physiopathologie et spécificités biologiques

Présentée et soutenue publiquement le 18 décembre 2020 devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Emmanuel GYAN, Hématologie, transfusion, Faculté de Médecine – Tours

Membres du Jury :

Professeur Claude LINASSIER, Cancérologie, radiothérapie, Faculté de Médecine – Tours

Professeur Patrick EMOND, Biophysiques & mathématiques, Faculté de Pharmacie – Tours

Docteur Louis-Romée LE NAIL, Chirurgie orthopédique et traumatologique, PH, CHU – Tours

Directeur de thèse : Professeur Olivier HERAULT, Hématologie, transfusion, faculté de médecine - Tours

UNIVERSITE DE TOURS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN
Pr Patrice DIOT

VICE-DOYEN
Pr Henri MARRET

ASSESSEURS
Pr Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*
Pr Mathias BUCHLER, *Relations internationales*
Pr Theodora BEJAN-ANGOULVANT, *Moyens – relations avec l'Université*
Pr Clarisse DIBAO-DINA, *Médecine générale*
Pr François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*
Pr Patrick VOURE'H, *Recherche*

RESPONSABLE ADMINISTRATIVE
Mme Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES
Pr Emile ARON (†) – 1962-1966
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Pr Georges DESBUQUOIS (†) – 1966-1972
Pr André GOUAZE (†) – 1972-1994
Pr Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004
Pr Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES
Pr Daniel ALISON
Pr Gilles BODY
Pr Jacques CHANDENIER
Pr Alain CHANTEPIE
Pr Philippe COLOMBAT
Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL
Pr Pascal DUMONT
Pr Dominique GOGA
Pr Gérard LORETTE
Pr Dominique PERROTIN
Pr Roland QUENTIN

PROFESSEURS HONORAIRES
P. ANTHONIOZ – P. ARBEILLE – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – P. BARDOS – C. BARTHELEMY – J.L. BAULIEU
– C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – C. BONNARD – P. BONNET – P. BOUGNOUX – P. BURDIN – L.
CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – P. COSNAY – C. COUET – L. DE LA LANDE DE CALAN
– J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUDEAU – J.L. GUILMOT – N. HUTEN
– M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – O. LE FLOCH – Y. LEBRANCHU – E. LECA – P. LECOMTE –
AM. LEHR-DRYLEWICZ – E. LEMARIE – G. LEROY – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C.
MORAINE – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – A. ROBIER –
J.C. ROLLAND – D. ROYERE – A. SAINDILLE – E. SALIBA – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – D. SIRINELLI – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian.....	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BAKHOS David.....	Oto-rhino-laryngologie
BALLON Nicolas.....	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle.....	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora	Pharmacologie clinique
BERHOUE Julien	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BERNARD Anne	Cardiologie
BERNARD Louis	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle	Biologie cellulaire
BLASCO Hélène.....	Biochimie et biologie moléculaire
BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
BOURGUIGNON Thierry	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BRILHAULT Jean.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent.....	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck.....	Urologie
BUCHLER Matthias.....	Néphrologie
CALAIS Gilles.....	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent.....	Psychiatrie d'adultes
CORCIA Philippe.....	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et imagerie médicale
DE TOFFOL Bertrand	Neurologie
DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique
DESOUBEAUX Guillaume.....	Parasitologie et mycologie
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DIOT Patrice.....	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan	Médecine intensive – réanimation
FAUCHIER Laurent	Cardiologie
FAVARD Luc.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUGERE Bertrand	Gériatrie
FOUQUET Bernard.....	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & cytologie pathologiques
GAUDY-GRAFFIN Catherine.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GRUEL Yves.....	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUILLON Antoine.....	Médecine intensive – réanimation
GUYETANT Serge	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel.....	Hématologie, transfusion
HAILLLOT Olivier.....	Urologie
HALIMI Jean-Michel.....	Thérapeutique
HANKARD Régis.....	Pédiatrie
HERAULT Olivier	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe.....	Biologie cellulaire
LABARTHE François	Pédiatrie
LAFFON Marc	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert.....	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd.....	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique.....	Bactériologie-virologie
LAURE Boris.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry.....	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel.....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain.....	Pneumologie

MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel	Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MITANCHEZ Delphine	Pédiatrie
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	Gynécologie-obstétrique
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	Ophtalmologie
PLANTIER Laurent	Physiologie
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VAILLANT Loïc	Dermato-vénéréologie
VELUT Stéphane	Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie
ZEMMOURA Ilyess	Neurochirurgie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

DIBAO-DINA Clarisse
LEBEAU Jean-Pierre

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien Soins palliatifs
POTIER Alain Médecine Générale
ROBERT Jean Médecine Générale

PROFESSEUR CERTIFIE DU 2ND DEGRE

MC CARTHY Catherine Anglais

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

AUDEMARD-VERGER Alexandra Médecine interne
BARBIER Louise Chirurgie digestive
BINET Aurélien Chirurgie infantile
BRUNAUT Paul Psychiatrie d'adultes, addictologie
CAILLE Agnès Biostat., informatique médical et technologies de communication
CLEMENTY Nicolas Cardiologie
DENIS Frédéric Odontologie
DOMELIER Anne-Sophie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane Biophysique et médecine nucléaire
ELKRIEF Laure Hépatologie – gastroentérologie
FAVRAIS Géraldine Pédiatrie
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie Anatomie et cytologie pathologiques
GATAULT Philippe Néphrologie
GOUILLEUX Valérie Immunologie
GUILLON-GRAMMATICO Leslie Epidémiologie, économie de la santé et prévention

HOARAU Cyrille	Immunologie
IVANES Fabrice	Physiologie
LE GUELLEC Chantal	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
LEFORT Bruno	Pédiatrie
LEGRAS Antoine	Chirurgie thoracique
LEMAIGNEN Adrien	Maladies infectieuses
MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
MOREL Baptiste	Radiologie pédiatrique
PIVER Éric	Biochimie et biologie moléculaire
REROLLE Camille	Médecine légale
ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire
SAUTENET Bénédicte	Thérapeutique
TERNANT David	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
VUILLAUME-WINTER Marie-Laure	Génétique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia	Neurosciences
NICOGLLOU Antonine	Philosophie – histoire des sciences et des techniques
PATIENT Romuald	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

BARBEAU Ludivine	Médecine Générale
RUIZ Christophe	Médecine Générale
SAMKO Boris	Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

BOUAKAZ Ayache	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
CHALON Sylvie	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
COURTY Yves	Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
DE ROCQUIGNY Hugues	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
ESCOFFRE Jean-Michel	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
GILOT Philippe	Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GOUILLEUX Fabrice	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7001
GOMOT Marie	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
HEUZE-VOURCH Nathalie	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
KORKMAZ Brice	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER Frédéric	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
MAZURIER Frédéric	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
MEUNIER Jean-Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
PAGET Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
RAOUL William	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
SI TAHAR Mustapha	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
WARDAK Claire	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE Claire	Orthophoniste
GOUIN Jean-Marie	Praticien Hospitalier

Pour l'Ecole d'Orthoptie

MAJZOUB Samuel	Praticien Hospitalier
----------------------	-----------------------

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE Béatrice	Praticien Hospitalier
------------------------	-----------------------

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate, je promets et je jure d'être
fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de
la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne
verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à
corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes
promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes
confrères si j'y manque.

- Remerciements

Au jury

Je tiens tout d'abord à remercier le Professeur Olivier Hérault pour m'avoir confié un sujet à la fois complexe et stimulant, ainsi que pour avoir consacré du temps à encadrer ce travail.

Je remercie le Professeur Emmanuel Gyan de me faire l'honneur d'être le président du jury. J'espère que mon travail est digne de cette belle spécialité qui est l'hématologie, qu'elle soit clinique ou biologique.

Je remercie le Professeur Claude Linassier d'être présent en tant que membre du jury. L'apport de l'oncologie a rendu mon travail de recherche d'autant plus intéressant.

Je remercie le Professeur Patrick Emond de faire partie du jury. L'aspect biophysique m'a permis d'élargir mes connaissances personnelles et d'enrichir ce travail.

Je remercie le Docteur Louis-Romée Le Nail, membre de ce jury également. Merci d'avoir accepté de juger ce travail et d'y apporter votre expertise.

A ma famille

Ma première pensée va à mes parents.

A ma mère Corinne, mon modèle depuis toujours et qui a tant fait pour moi. Merci pour ton amour inconditionnel et ton soutien depuis toutes ces années.

A mon père Laurent, qui compte plus que tout. Merci de m'encourager et me pousser à aller un peu plus loin chaque fois.

Un merci infini à vous deux.

Une énorme pensée pour mon petit frère Alexandre, complice de toujours et allié de taille. Tu as ce profil atypique qui te rend exceptionnel. Il n'y a pas de mot pour exprimer la chance que j'ai d'avoir une personne comme toi à mes côtés. 大好き !

A tous ceux qui sont loin et que je ne vois pas souvent. Je ne vous oublie pas.

A mes collègues et amis

J'adresse bien évidemment un clin d'œil tout particulier au quatuor infernal de l'internat. Denis, Hermann, Jérémy et Stéfan, je n'oublierai pas votre humour débordant. Nos jeux, nos soirées déjantées et nos conversations tardives resteront un souvenir impérissable pour moi. Chacun de vous est un personnage unique en son genre. Chacun m'a apporté un petit quelque chose à sa manière ...

Je vous souhaite le meilleur !

Je salue mes collègues biologistes, internes, externes et techniciens. Je remercie avec sincérité toutes les personnes qui m'ont épaulée pendant mon cursus médical et ceux qui m'ont fait aimer l'hématologie et la cytologie. J'ai l'espoir que mon travail puisse leur être utile.

Une très bonne continuation à tous !

- Liste des abréviations

- ❖ ABC (« *ATP Binding Cassette* »)
- ❖ ALDH (Aldéhyde Déshydrogénase)
- ❖ Ang (Angiopoïétine)
- ❖ Ang-1 (Angiopoïétine 1)
- ❖ Ang-2 (Angiopoïétine 2)
- ❖ Ang-3 (Angiopoïétine 3)
- ❖ ATP (Adénosine Triphosphate)
- ❖ BCL2 (« *B-Cell Lymphoma 2* »)
- ❖ bFGF (« *basic Fibroblast Growth Factor* »)
- ❖ BMP (« *Bone Morphogenic Protein* »)
- ❖ BMP-2 (« *Bone Morphogenic Protein 2* »)
- ❖ CAR (Cellule Adventitielle Réticulaire)
- ❖ Cbl-b (« *Casitas B-lineage lymphoma proto-oncogene b* »)
- ❖ CCL2 (« *Chemokine (C-C motif) Ligand 2* »)
- ❖ CCL3 (« *Chemokine (C-C motif) Ligand 3* »)
- ❖ CCL5 (« *Chemokine (C-C motif) Ligand 5* »)
- ❖ C2GnT (« *N-glycans of core2 β (1,6)-N-acetylglucosaminyltransferase* »)
- ❖ SCFR (« *Mast/Stem Cell growth Factor Receptor* »)
- ❖ CMH I (Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe I)
- ❖ CMH II (Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe II)
- ❖ CSH (Cellule Souche Hématopoïétique)
- ❖ CSF (« *Colony-Stimulating Factor* »)
- ❖ CSL (Cellule Souche Leucémique)
- ❖ CSM (Cellule Souche Mésoenchymateuse)
- ❖ CTLA-4 (« *Cytotoxic T-Lymphocyte Associated protein 4* »)
- ❖ CXCL1 (« *Chemokine (C-X-C motif) Ligand 1* »)
- ❖ CXCL2 (« *Chemokine (C-C motif) Ligand 2* »)
- ❖ CXCL4 (« *Chemokine (C-X-C motif) Ligand 4* »)
- ❖ CXCL11 (« *Chemokine (C-X-C motif) Ligand 11* »)
- ❖ CXCL12 (« *Chemokine (C-X-C motif) Ligand 12* »)
- ❖ CXCL16 (« *Chemokine (C-X-C motif) Ligand 16* »)
- ❖ CXCR2 (« *Chemokine (C-X-C motif) Receptor 2* »)
- ❖ CXCR4 (« *Chemokine (C-X-C motif) Receptor 4* »)
- ❖ CXCR6 (« *Chemokine (C-X-C motif) Receptor 6* »)
- ❖ CXCR7 (« *Chemokine (C-X-C motif) Receptor 7* »)
- ❖ EPO (Erythropoïétine)
- ❖ FABP4 (« *Fatty Acid Binding Protein 4* »)
- ❖ FGF (« *Fibroblast Growth Factor* »)
- ❖ Flt3 (« *Fms-like tyrosine kinase 3* »)
- ❖ G-CSF (« *Granulocyte-Colony Stimulating Factor* »)
- ❖ GM-CSF (« *Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor* »)
- ❖ HGF (« *Hepatocyte Growth Factor* »)
- ❖ HIF (« *Hypoxia Inducible Factor* »)
- ❖ HIF-1 alpha (« *Hypoxia Inducible Factor 1 alpha* »)
- ❖ HO-1 (Hème Oxygénase 1)
- ❖ IDO1 (Indoleamine 2,3-Dioxygénase 1)
- ❖ IGF (« *Insulin Growth Factor* »)
- ❖ IGF-1 (« *Insulin Growth Factor 1* »)

- ❖ IGF-2 (« *Insulin Growth Factor 2* »)
- ❖ IL-2 (Interleukine 2)
- ❖ IL-3 (Interleukine 3)
- ❖ IL-4 (Interleukine 4)
- ❖ IL-6 (Interleukine 6)
- ❖ IL-7 (Interleukine 7)
- ❖ IL-8 (Interleukine 8)
- ❖ IL-10 (Interleukine 10)
- ❖ IL-11 (Interleukine 11)
- ❖ IL-15 (Interleukine 15)
- ❖ IL-17 (Interleukine 17)
- ❖ IL-1 beta (Interleukine 1 beta)
- ❖ INF-gamma (Interféron gamma)
- ❖ JAG1 (« *Jagged canonical Notch ligand 1* »)
- ❖ LAL (Leucémie Aiguë Lymphoblastique)
- ❖ LAM (Leucémie Aiguë Myéloblastique)
- ❖ LDH (Lactate Déshydrogénase)
- ❖ LepR (« *Leptine Receptor* »)
- ❖ LFA (« *Lymphocyte Function Associated* »)
- ❖ LLC (Leucémie lymphoïde chronique)
- ❖ LMC (Leucémie Myéloïde Chronique)
- ❖ MAPK (« *Mitogen-Activated Protein Kinases* »)
- ❖ M-CSF (« *Macrophage-colony stimulating factor* »)
- ❖ MIF (« *Macrophage migration Inhibitory Factor* »)
- ❖ MIP-2 (« *Macrophage Inflammatory Protein 2* »)
- ❖ MIP-1 alpha (« *Macrophage Inflammatory Protein 1 alpha* »)
- ❖ MIP-1 beta (« *Macrophage Inflammatory Protein 1 beta* »)
- ❖ MMP (Métalloprotéase Matricielle)
- ❖ MMP2 (Métalloprotéase Matricielle 2)
- ❖ MMP9 (Métalloprotéase Matricielle 9)
- ❖ NG2 (« *Neural/Glial antigen 2* »)
- ❖ NGF (« *Nerve Growth Factor* »)
- ❖ Nf-kB (« *Nuclear factor-kappa B* »)
- ❖ Cellule NK (« *Natural Killer* »)
- ❖ NO (« *Nitric Oxide* »)
- ❖ NOS2 (« *Nitric Oxide Synthase 2* »)
- ❖ OPG (Ostéoprogérine)
- ❖ OPN (Ostéopontine)
- ❖ PD1 (« *Programmed cell Death 1* »)
- ❖ PDGF (« *Platelet Derived Growth Factor* »)
- ❖ PDL1 (« *Programmed cell Death Ligand 1* »)
- ❖ PGE2 (Prostaglandine E2)
- ❖ PlGF (« *Placental Growth Factor* »)
- ❖ PI3K (Phosphoinositide 3 Kinase)
- ❖ PKB (Protéine kinase B)
- ❖ PPAR gamma (« *Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma* »)
- ❖ PTH (« *Parathyroid Hormon* »)
- ❖ PTHrP (« *Parathyroid Hormon related Protein* »)
- ❖ RANK (« *Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B* »)
- ❖ RANKL (« *Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B Ligand* »)

- ❖ ROS (« *Reactive Oxygen Species* »)
- ❖ RT-PCR (« *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* »)
- ❖ SCF (« *Stem Cell Factor* »)
- ❖ SDF1 (« *Stromal Cell Derived Factor* »)
- ❖ SNO (« *simple Shaped N-cadherin + CD45- Osteblastic cells* »)
- ❖ SMD (Syndrome Myélodysplasique)
- ❖ SMP (Syndrome Myéloprolifératif)
- ❖ TGF-alpha (« *Transforming Growth Factor alpha* »)
- ❖ TGF-beta (« *Transforming Growth Factor beta* »)
- ❖ TGF-beta 1 (« *Transforming Growth Factor beta 1* »)
- ❖ TIM3 (« *T-cell Immunoglobulin Mucin domain 3* »)
- ❖ TNF (« *Tumor Necrosis Factor* »)
- ❖ TNF-alpha (« *Tumor Necrosis Factor alpha* »)
- ❖ TNF-beta (« *Tumor Necrosis Factor beta* »)
- ❖ TPO (Thrombopoïétine)
- ❖ VCAM-1 (« *Vascular Cell Adhesion Molecule 1* »)
- ❖ VEGF (« *Vascular Endothelial Growth Factor* »)
- ❖ VLA4 (« *Very Late Antigen 4* »)
- ❖ VLA5 (« *Very Late Antigen 5* »)

- Table des matières

Introduction	p.17
I. Douleurs osseuses des hémopathies malignes : aspects cliniques.....	p.20
I.1. Hémopathies lymphoïdes	p.20
I.1.1. Leucémies aiguës lymphoblastiques B et T	p.20
I.1.2. Myélome multiple.....	p.25
I.1.3. Autres hémopathies lymphoïdes.....	p.27
I.2. Hémopathies myéloïdes	p.27
I.2.1. Leucémies aiguës myéloblastiques	p.27
I.2.2. Syndromes myélodysplasiques et myéloprolifératifs	p.29
I.3. Prise en charge thérapeutique	p.32
I.3.1. Thérapies anti-cancéreuses.....	p.32
I.3.2. Traitements ostéo-protecteurs	p.32
I.3.2.1. Thérapies anti-résorptives.....	p.32
I.3.2.2. Antalgiques et co-antalgiques	p.33
I.3.2.3. Corticostéroïdes.....	p.33
I.3.2.4. Mesures hygiéno-diététiques.....	p.33
I.3.2.5. Radiothérapie	p.34
I.3.2.6. Traitements orthopédiques et chirurgicaux.....	p.35
II. Anatomie de la moelle osseuse physiologique	p.35
II.1.Introduction	p.35
II.2.Concept de niche : microenvironnement osseux complexe	p.36
II.2.1. Structure anatomique et fonctionnelle	p.36
II.2.2. Niche endostéale et vasculaire	p.38
II.2.3. Vascularisation	p.41
II.2.4. Stroma	p.44
II.2.4.1. Matrice extra cellulaire	p.44
II.2.4.2. Cellules	p.45
II.2.5. Communication au sein de la niche hématopoïétique	p.47
II.2.5.1. Molécules d'adhésion et chimiokines	p.47
II.2.5.2. Facteurs de croissance	p.48
II.2.5.3. Autres composants acellulaires de la matrice	p.50
II.2.5.4. Voies de signalisation.....	p.50

II.2.6. Innervation	p.54
II.2.7. Hypoxie	p.54
II.2.8. Conclusion.....	p.54
III. Hématopoïèse leucémique	p.56
III.1. Cellules souches leucémiques	p.56
III.2. Niche leucémique.....	p.57
III.2.1. Changements structuraux et fonctionnels de la niche leucémique	p.59
III.2.2. Altérations du stroma	p.61
III.2.3. Dysfonction dans la communication.....	p.63
III.2.3.1. Environnement pro-inflammatoire	p.63
III.2.3.2. Molécules d'adhésion et chimiokines.....	p.63
III.2.3.3. Vésicules, « <i>gap-junctions</i> » et nanotubes	p.64
III.2.3.4. Voies de signalisation	p.64
III.2.4. Hypoxie	p.65
III.2.5. Neuropathie sympathique.....	p.66
III.2.6. Répression immunitaire	p.66
III.2.7. Hétérogénéité et plasticité	p.68
III.2.8. Conclusion.....	p.69
IV. Physiopathologie des douleurs osseuses : métastases osseuses et leucémies aiguës	p.71
IV.1. Résorption osseuse.....	p.71
IV.1.1. Acteurs de la résorption osseuse physiologique	p.71
IV.1.2. Métastases osseuses des tumeurs solides	p.71
IV.1.3. Résorption osseuse locale et systémique des tumeurs solides	p.72
IV.1.4. Résorption osseuse dans les leucémies aiguës	p.73
IV.1.5. Résorption osseuse locale et systémique des leucémies aiguës	p.78
IV.1.6. Conclusion.....	p.78
IV.2. Inflammation et sécrétome	p.79
IV.2.1. Métastases osseuses	p.79
IV.2.2. Leucémies aiguës.....	p.85
IV.2.3. Conclusion.....	p.88
IV.3. Innervation.....	p.89
IV.3.1. Tumeurs solides	p.89
IV.3.1.1. Site tumoral primaire	p.89
IV.3.1.2. Foyer métastatique médullaire	p.93

IV.3.2. Leucémies aiguës.....	p.97
IV.3.3. Conclusion.....	p.98
IV.4. Pression.....	p.101
IV.4.1. Tumeurs solides.....	p.101
IV.4.1.1. Site tumoral primaire.....	p.101
IV.4.1.2. Foyer métastatique médullaire.....	p.104
IV.4.2. Leucémies aiguës.....	p.107
IV.4.3. Conclusion.....	p.108
V. Discussion	p.109
Références bibliographiques	p.112

Résumé

Les douleurs osseuses sont courantes lors du diagnostic de leucémies aiguës. Ces douleurs sont le plus souvent liées à des lésions lytiques, parfois sclérosantes, voire mixtes des os longs et du rachis principalement. De rares formes sévères avec réaction périostée massive et lésions hyperostotiques étendues ont été décrites chez des cas pédiatriques. En parallèle aux traitements de chimiothérapie visant à obtenir la rémission de l'hémopathie, les douleurs osseuses des leucémies aiguës font l'objet d'une prise en charge thérapeutique identique aux douleurs osseuses causées par les métastases de tumeurs solides ; cette prise en charge consiste essentiellement en une thérapie anti-résorption.

Les connaissances concernant les mécanismes physiopathologiques des douleurs osseuses dans les leucémies aiguës restent succinctes et incomplètes ; les acteurs, leur mode d'action et la chronologie exacte des événements osseux suivant le stade de la maladie leucémique restent incomplètement élucidés. D'autre part, la valeur pronostique de ces douleurs au cours des leucémies aiguës est controversée. Au contraire, la physiopathologie des douleurs osseuses qui résultent des métastases tumorales a été très étudiée au cours des dernières années et il est désormais admis que la dissémination de cellules malignes au sein de la moelle témoigne d'un stade avancé de la maladie. Par conséquent, la présence de douleurs osseuses est corrélée à un pronostic défavorable dans les tumeurs métastatiques, ce qui n'est pas avéré pour les leucémies aiguës.

Pourtant, la physiopathologie imputable aux douleurs osseuses au cours des leucémies aiguës est sensiblement comparable en certains points à la physiopathologie décrite dans les métastases osseuses de tumeurs solides. En effet, les leucémies aiguës sont à l'origine d'un dérèglement du turnover osseux et d'une résorption accrue médiée par le système de ligand/récepteur « *Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B Ligand* » (RANKL) et « *Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B* » (RANK) grâce à des mécanismes d'action locale et probablement systémique. Les cellules présentes dans l'environnement leucémique accompagnent cette résorption osseuse *via* une production de nombreuses chimiokines et cytokines dans le microenvironnement des leucémies aiguës. Le secrétome dans son ensemble, bien que non complètement connu, favorise indirectement la progression de la maladie leucémique et contribue aux douleurs osseuses. D'autre part, le système nerveux autonome est aujourd'hui en phase de devenir un élément capital dans le développement des lésions et douleurs osseuses des leucémies aiguës, tout comme il favorise la progression des métastases osseuses. Ces découvertes restent néanmoins récentes et mal caractérisées. Enfin,

le développement de la masse leucémique au sein de la moelle exerce une pression sur les structures osseuses qui contribue très probablement aux douleurs. Ce phénomène de pression tumorale est bien décrit dans les tumeurs solides en général, y compris au cours du développement de cellules malignes disséminées dans la moelle osseuse.

Bien que les mécanismes physiopathologiques en cause dans ces douleurs se rapprochent des mécanismes à l'origine des douleurs osseuses métastatiques, le manque de recul et de connaissances ne permet pas de caractériser ces mécanismes individuellement en terme pronostique. Il demeure alors difficile d'accorder une valeur pronostique globale aux douleurs osseuses dans les leucémies aiguës sur une base de données encore incomplètes.

Des études modélisant la niche leucémique *in vitro* avec les contraintes de pression devraient permettre des avancées notables dans la physiopathologie des leucémies aiguës.

Mots-clés : Leucémies aiguës, douleurs osseuses, lésions lytiques, niche leucémique, physiopathologie, pronostic, pression.

Introduction

Les leucémies aiguës, tout phénotype confondu, s'accompagnent de douleurs osseuses ou articulaires dans 25% des cas lors du diagnostic initial de la maladie (1, 4, 5). Ces manifestations squelettiques ont été décrites pour la première fois en 1913, lors du diagnostic d'une leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) de phénotype B chez un enfant (2). Les douleurs osseuses sont en effet plus communément présentes dans les phénotypes lymphoblastiques (1, 7, 8) et concernent donc davantage de cas pédiatriques (2, 3, 7, 9). L'accumulation rapide de la masse osseuse et la fragilité des métaphyses rend le squelette en croissance particulièrement exposé aux atteintes leucémiques (2, 3, 55). Ces douleurs osseuses se voient beaucoup plus rarement dans les phénotypes myéloblastiques, où les signes d'insuffisance médullaire prédominent.

Les douleurs osseuses leucémiques concernent le plus souvent le squelette périphérique. Leur localisation anatomique préférentielle se trouve aux extrémités des os longs des membres inférieurs qui sont impactées dans 53% des cas. Les membres supérieurs sont concernés par ces douleurs dans 20% des cas, tandis que les douleurs osseuses vertébrales ne totalisent que 24% des cas (2). Les douleurs du squelette axial se rencontrent plus fréquemment dans les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) de l'adulte (3). Il est rapporté par la littérature de très rares cas de patients présentant des douleurs osseuses sur une atteinte squelettique extensive.

Sur le plan clinique, ces douleurs sont uniques ou multiples, s'accompagnent parfois de signes généraux à type de fièvre, d'asthénie, de sueurs nocturnes (1). Des signes d'insuffisance médullaire et un syndrome tumoral (5) peuvent faire partie du tableau clinique. D'autres signes aspécifiques se rencontrent chez certains patients, comme un œdème, un rash ou une éruption érythémateuse liée à une infiltration leucémique cutanée (6, 9).

La biologie sanguine réalisée chez les patients présentant des douleurs osseuses peut révéler une ou plusieurs cytopénies (4). Si ces douleurs osseuses correspondent à des lésions importantes ou étendues du squelette, elles sont possiblement associées à des perturbations du métabolisme phosphocalcique (2, 4). Les formes agressives des leucémies aiguës se caractérisent par une augmentation des lactates déshydrogénases (LDH) ou de l'acide urique dans le sang (1).

Les clichés radiologiques des patients sujets aux douleurs osseuses leucémiques montrent des lésions lytiques ostéopéniantes, sclérosantes ou mixtes, voire exceptionnellement une hyperostose généralisée (4).

Lorsqu'elles sont isolées, les douleurs osseuses ou articulaires sont alors le seul élément clinique qui révèle le diagnostic de leucémie aiguë (2, 4). Elles ne sont pas pathognomoniques des hémopathies malignes et simulent volontiers un tableau inflammatoire, rhumatismal (9), pseudo-infectieux (2, 4, 6), ou oncologique (9). Plusieurs semaines ou mois peuvent s'écouler avant que le diagnostic de leucémie aiguë ne soit formellement établi (4) (5). Quel que soit le contexte clinique, une localisation atypique des douleurs osseuses, une recrudescence nocturne, une intensité majorée ou disproportionnée au vu d'une imagerie quelques fois complètement normale, une résistance aux traitements symptomatiques ou la présence de signes généraux doit alerter le clinicien (2, 5, 9, 10).

La physiopathologie des douleurs osseuses dans les leucémies aiguës reste encore non complètement élucidée. La masse leucémique extensive au sein de la cavité médullaire, la pression exercée par les clones leucémiques ou blastes sur le tissu osseux, la sécrétion de cytokines responsables d'une lyse osseuse (4, 9), ou encore l'infiltration du périoste osseux ou articulaire (6) sont les mécanismes récurrents mis en exergue par la littérature. Néanmoins, la connaissance exacte et précise de l'ensemble des mécanismes imputables à ces douleurs osseuses restent à investiguer.

D'autre part, à l'heure actuelle, la valeur pronostique accordée aux douleurs osseuses dans les leucémies aiguës reste sujette à controverse. Certaines études ne rapportent pas de valeur pronostique clairement établie (2, 4, 5), voire même aucun impact pronostique (9) quant aux douleurs osseuses au moment du diagnostic de LAL. Des publications rapportent des cas de douleurs osseuses de LAM et sous-tendent l'idée que la survie globale des patients n'en est pas impactée (23). En revanche, la littérature répertorie aussi des cas de LAM pour lesquels la présence de lésions lytiques avec douleurs osseuses est associée à un pronostic péjoré. La présence de douleurs osseuses ne fait d'ailleurs pas partie des critères classiquement appréhendés dans la stratification des risques et l'évaluation du pronostic des patients atteints de leucémies aiguës.

L'ensemble de ces données mène à l'idée que le faible intérêt pronostic accordé aux douleurs osseuses dans les leucémies aiguës est probablement en lien avec le manque de données quant à la physiopathologie de ces douleurs.

A l'opposé, sont à disposition un panel d'informations et des connaissances beaucoup plus larges concernant les mécanismes physiopathologiques imputés aux douleurs des métastases osseuses. Par conséquent, il est admis que la dissémination de cellules malignes dans la moelle correspond à un stade avancé de la maladie et que les douleurs osseuses qui en

découlent sont corrélées à un pronostic défavorable. De nombreuses études portant sur les tumeurs solides métastatiques mettent d'ailleurs en relief un lien étroit entre la présence de douleurs osseuses et un pronostic assombri chez les patients.

Il s'agit donc d'effectuer une analyse approfondie des acteurs physiopathologiques des douleurs osseuses, de leurs rôles et de la chronologie des mécanismes au décours des leucémies aiguës, et ce afin de déterminer si ces douleurs pourraient constituer une entité pronostique à part entière chez les patients atteints, au même titre que les douleurs osseuses dans les tumeurs solides métastatiques.

Afin de répondre à cette question, cette revue de la littérature sera subdivisée en quatre parties. Il sera mis en exergue l'ensemble des connaissances disponibles à ce jour quant aux douleurs osseuses des leucémies aiguës. Dans un premier temps, une description de la clinique des douleurs osseuses en ce qui concerne les hémopathies malignes en général sera effectuée, ainsi qu'un rappel des traitements symptomatiques habituellement utilisés dans la lutte contre ces douleurs. Puis il sera abordé la composition de la niche hématopoïétique physiologique. Ensuite, cette étude se focalisera sur la niche leucémique comme une entité structuro-fonctionnelle favorable au développement des leucémies aiguës. Enfin, il sera discuté de la possibilité de mettre sur le même plan les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les douleurs osseuses des métastases et les mécanismes physiopathologiques des douleurs osseuses dans les leucémies aiguës. Pour ce faire, cette comparaison se déclinera en quatre points. Le fonctionnement de la résorption osseuse, le contexte inflammatoire, le rôle du système nerveux autonome et la pression tumorale sur le tissu osseux y seront détaillés. Cette revue de la littérature sera conclue de manière à mettre en relief la valeur pronostique de chaque type de mécanisme pour les tumeurs solides métastatiques et les leucémies aiguës.

I. Douleurs osseuses des hémopathies malignes, aspects cliniques

I.1. Hémopathies lymphoïdes

I.1.1. Leucémies aiguës lymphoblastiques

Les douleurs osseuses sont très souvent présentes au diagnostic initial des LAL (2, 4, 6, 9), notamment dans les phénotypes B (2). Les LAL de type T, de par leur évolution rapide, se manifestent en priorité par des signes cliniques hématologiques et les douleurs osseuses sont secondaires (2).

Sur le plan clinique, elles touchent principalement les extrémités des os longs du squelette périphérique et notamment les os des membres inférieurs, bien avant le squelette axial (2, 9). Les douleurs osseuses sont généralement bilatérales et symétriques, de type inflammatoire, de recrudescence nocturne (9). Elles persistent malgré un traitement symptomatique et évoluent progressivement sur plusieurs mois. Elles peuvent occasionner des boiteries chez l'enfant, un ralentissement de la croissance, ainsi que des déformations du rachis à type de cyphose ou lordose suivant leur localisation (5, 6). En raison d'une infiltration synoviale ou périostée, les grosses articulations sont parfois touchées par des douleurs à caractère migrant (3, 6). L'atteinte est généralement pauci articulaire, asymétrique, sans raideur à l'examen, avec un épanchement peu abondant, voire absent. Les atteintes articulaires sont moins fréquentes et rarement révélatrices dans les LAL (9). Quelles qu'en soient leurs caractéristiques, les douleurs osseuses ne sont pas pathognomoniques de ce type d'hémopathie maligne, d'où un risque de tableau clinique trompeur, d'errance ou de retard diagnostic (4-6, 14, 15, 21), en particulier chez l'enfant devant la plus grande difficulté à identifier les plaintes.

Les douleurs osseuses lymphoblastiques peuvent correspondre à une ou plusieurs lésions lytiques (15) situées sur les os longs fémoraux et huméraux, ou les os plats du crâne (Figure 1), des côtes, du bassin voire de la ceinture scapulaire (9). Elles peuvent aussi être la conséquence d'une diminution de la densité osseuse (15) allant d'une ostéopénie plus ou moins diffuse (9) à une véritable ostéoporose généralisée (5, 6). Il arrive que certains patients ne présentent qu'une ostéoporose seule sans lésions lytiques associées. Chez l'enfant en croissance, les zones métaphysaires du squelette sont plus particulièrement touchées (2, 3, 15); l'ostéopénie se caractérise typiquement à l'imagerie sous la forme de bandes claires métaphysaires (15) près des plateaux tibiaux et fémoraux, des extrémités radiales distales et



Figure 1 : Radiographie montrant des lésions ostéolytiques du crâne chez un garçon de trois ans atteint de LAL.
D'après Pécheux, L., et al. 2018 (2).

humérales proximales (9) (Figure 2). L'infiltration osseuse par les clones leucémiques est susceptible d'entraîner des réactions périostées (6, 9, 15) qui se manifestent par des néoformations osseuses, allant parfois jusqu'à une rupture de la corticale des os longs.

Les douleurs osseuses en lien avec des lésions osseuses majeures s'accompagnent plus ou moins d'une hypercalcémie dues à des perturbations du métabolisme phosphocalcique par la maladie (2, 4, 5, 18).

Les douleurs osseuses peuvent être un signe clinique inaugural isolé dans les LAL (4), avec une atteinte osseuse extensive dans seulement 1% des cas (14), ou bien être d'emblée accompagnées de complications squelettiques à type de fractures (2, 5, 6). Les sites de prédilection des fractures pathologiques sont les vertèbres (9) dorsales basses et lombaires hautes (2). Les fractures pathologiques concernent davantage l'adulte que l'enfant. Il s'agit essentiellement de tassements vertébraux et de fractures vertébrales cunéiformes (4, 6) (Figure 3). On estime que 8,7% des patients présentent une complication fracturaire lors du diagnostic initial de LAL.

L'intensité des douleurs osseuses leucémiques n'est pas forcément corrélée à l'importance et l'extension des lésions observées à l'imagerie. Ainsi, un patient très douloureux peut avoir des clichés normaux ou subnormaux, tandis qu'un autre patient peut présenter des lésions étendues sur les clichés radiologiques tout en étant complètement asymptomatique (6).



Figure 2 : Radiographie standard montrant des bandes claires métaphysaires fémorales et tibiales droites dans une LAL.
D'après Siemons, W., et al. [Medecine Key], 2017 (9).



Figure 3 : Radiographie montrant une atteinte osseuse vertébrale et un tassement de la vertèbre L5 lors du diagnostic d'une LAL chez un enfant de cinq ans.

D'après Pécheux, L., et al. 2018 (2).

I.1.2. Myélome multiple

Le myélome multiple est sans doute l'hémopathie maligne pour laquelle les douleurs osseuses sont les plus fréquentes et les mieux caractérisées (11, 16, 23, 28). En effet, 90% des patients atteints de myélome se plaignent de douleurs osseuses. Elles touchent essentiellement le rachis et les côtes, mais sont parfois plus diffuses. Le patient peut présenter une ou plusieurs tuméfactions en regard des os douloureux (13). Ces douleurs sont de survenue brutale, aggravées par le port de charge, rarement nocturnes. Lorsqu'elles sont d'allure banale, elles peuvent être trompeuses.

Les douleurs osseuses myélomateuses traduisent la présence de lésions lytiques multiples, de micro lacunes dites géodes « à l'emporte-pièce » chez 80% des patients (13) (Figure 4). Elles sont en lien avec un dérèglement du remodelage osseux dont les mécanismes sont spécifiques aux plasmocytes. Les trois quarts des lésions ostéolytiques concernent les vertèbres dorsales. On observe chez certains patients des lacunes avec soufflure des os longs, ou une déminéralisation diffuse dans les formes de myélomes décalcifiantes (13). Seulement 3% des patients sont concernés par des lésions ostéocondensantes (13). Plus de la moitié des patients ont des fractures pathologiques secondaires au myélome multiple (13) et 15% d'entre eux ont une hypercalcémie.

Certaines formes de myélome multiple s'accompagnent d'un plasmocytome osseux (13), en particulier au niveau des vertèbres. La lyse et l'évidement osseux vertébral occasionnent des douleurs.

La leucémie à plasmocytes est cliniquement plus agressive que le myélome multiple. Les lésions osseuses sont similaires, mais sont en nombre plus faible ou sont moins étendues (13).

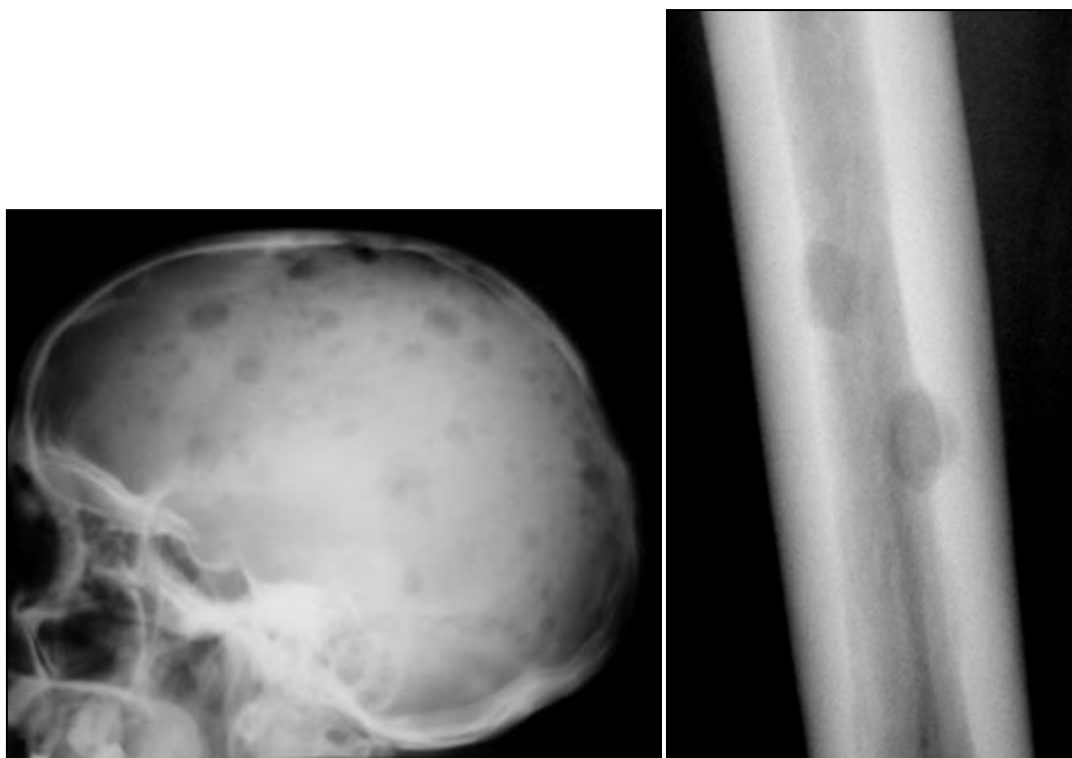


Figure 4 : *Radiographies montrant des géodes à l'emporte-pièce du crâne et des os longs, de taille sensiblement identiques, caractéristiques dans le myélome multiple.*
D'après Société Française d'Hématologie. 2018 (11).

I.1.3. Autres hémopathies lymphoïdes

Les études font référence à la présence de lésions osseuses, que l'on suppose douloureuses, chez les patients atteints de lymphomes ou leucémies à cellules T, d'autres lymphomes non hodgkiniens, ainsi que dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC), la leucémie à tricholeucocytes ou encore dans la maladie de Waldenström (15, 16, 21, 23). Ces hémopathies ne seront pas détaillées dans cette revue.

I.2. Hémopathies myéloïdes

I.2.1. Leucémies aiguës myéloblastiques

De manière générale, les douleurs osseuses sont beaucoup plus rares dans les hémopathies de type myéloïde. Les cas de patients avec douleurs osseuses dans les LAM répertoriés à travers la littérature sont donc moins nombreux (7, 15, 21, 23, 24). Ils incluent des cas pédiatriques (14, 19, 22, 29) et des cas chez l'adulte (16, 18, 21, 23).

Les douleurs osseuses sont parfois le seul signe inaugural des LAM (23). Elles sont épisodiques et d'aggravation progressive pendant plusieurs mois chez certains patients, parfois en bon état général (14, 15, 23). Pour d'autres patients, des signes cliniques et biologiques variables viennent compléter le tableau et sont d'emblée associés à ces douleurs ; une fièvre, une asthénie inhabituelle, un rash cutané, un syndrome tumoral, des signes d'insuffisance médullaires avec cytopénies à la biologie sanguine, ou des blastes visibles à l'étalement sanguin sont à rechercher. Une fibrose médullaire peut être présente dans certains sous-types de LAM (14, 15, 17-21).

Les douleurs osseuses rapportées sont le plus souvent vertébrales et localisées au niveau de la colonne thoraco-lombaire (14, 18, 21). Elles s'associent donc dans la majorité des cas à des lésions ostéolytiques multiples des vertèbres (16, 18, 23), ou encore des os du bassin, du sacrum (17, 18, 23), mais aussi des os longs des membres (15, 16, 21), voire des scapula. Les lésions uniques sont peu fréquentes. Ces lésions sont moins souvent sclérosantes ou mixtes, auquel cas une réaction périostée peut être visible sur les clichés radiographiques (15); elles sont rarement nécrosantes, le risque étant une rupture de la corticale des os longs (9, 15) (Figure 5). Quelques cas de patients douloureux sont décrits comme ne présentant aucune lésion à l'imagerie standard (14).



Figure 5 : *Radiographie d'une lésion ostéolytique métaphyso-diaphysaire avec rupture de la corticale fémorale et réaction périostée dans un contexte de LAM mégacaryocytaire chez un enfant.*

D'après Siemons, W., et al. [Medecine Key], 2017 (9).

Certains patients présentent une collection de cellules malignes infiltrant les os du crâne, de la face, ou du squelette axial, sous la forme d'un granulome sarcoïde, encore appelé sarcome myéloïde ou chlorome osseux (9, 16, 17, 23, 29). Les granulomes peuvent entraîner des douleurs osseuses. Ce type d'atteinte concerne surtout les hémopathies myéloïdes, dont les LAM ; ils sont rarement observés dans les LAL (9).

Des cas exceptionnels de douleurs osseuses sont décrits avec une atteinte extensive du squelette; des lésions lytiques destructrices et une réaction périostée inflammatoire étendue impactent tous les os longs symétriquement y compris les clavicules, ainsi que les os de la face, les mâchoires et les os courts de la main (18, 19, 22, 29). Des déformations et gonflements des extrémités osseuses sont perceptibles à l'examen clinique en regard des zones atteintes (19, 22). Ces lésions hautement destructrices concernent essentiellement des cas pédiatriques de LAM mégacaryocytaires (16, 18, 29, 30) (Figure 6).

1.2.2. Syndromes myélodysplasiques et myéloprolifératifs

Les douleurs osseuses sont décrites chez des patients atteints d'un syndrome myélodysplasique (SMD) (16) ou syndrome myéloprolifératif (SMP) en phase d'acutisation. La leucémie myéloïde chronique (LMC) en phase d'accélération présente des lésions lytiques ou sclérosantes des os des membres (15, 23, 25). La polyglobulie de Vaquez, notamment si une myélofibrose est associée, est susceptible d'entraîner des lésions lytiques également (18) (24, 28). Des douleurs osseuses sont évoquées dans le tableau clinique de la splénomégalie myéloïde chronique (26, 27). Dans la littérature, un cas de SMD pédiatrique grave témoigne d'une hyperostose diffuse et symétrique, de lésions mixtes du squelette axial, périphérique, et des os de la face. Il se complique d'une fracture pathologique en regard d'un granulome du plancher orbitaire (Figure 7).

Plus généralement, les douleurs osseuses sont l'apanage de toute hémopathie maligne. Elles peuvent traduire une transformation aiguë *de novo* ou une rechute.

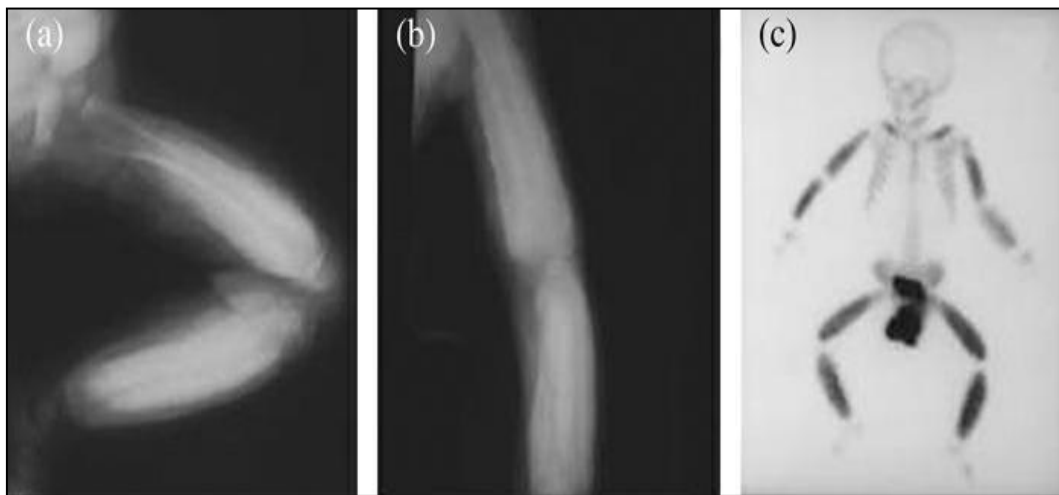


Figure 6 : Clichés montrant une réaction périostée massive des membres inférieurs (a), supérieurs (b) en radiographie standard, avec fixation extensive et importante des os longs des membres et des clavicules à la scintigraphie au Tc99m (c) chez un cas pédiatrique de LAM mégacaryocytaire.

D'après Ueda, T., et al. 2007 (22).

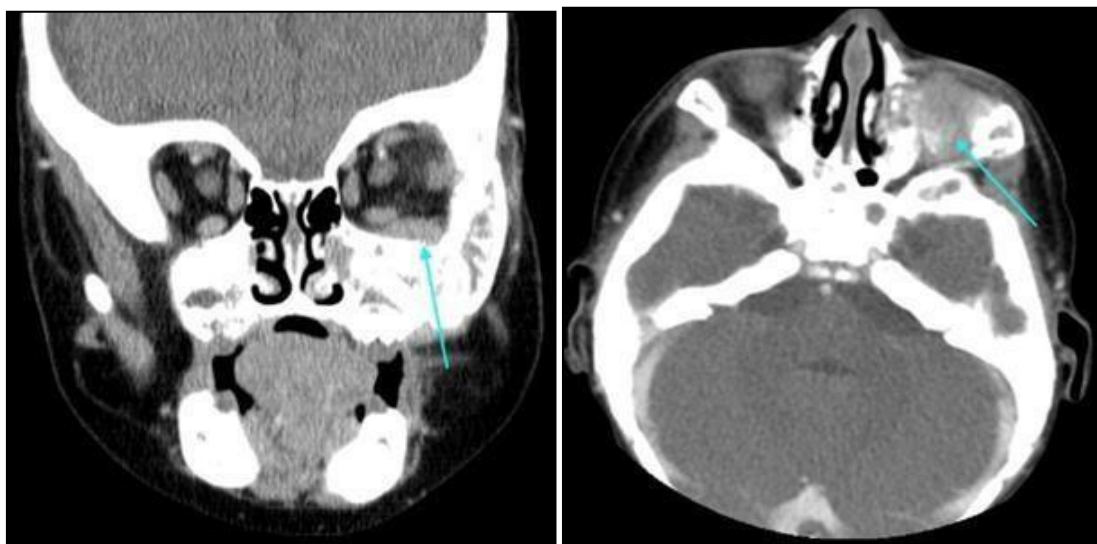


Figure 7 : Scanner maxillo-facial montrant une fracture du plancher orbitaire gauche avec collection de blastes sur coupe coronale (gauche) et transversale (droite), chez un enfant de 8 mois atteint d'un SMD en phase de transformation leucémique.
D'après Franco, A., et al. 2010 (29).

I.3. Prise en charge thérapeutique

La prise en charge des douleurs osseuses dans les leucémies aiguës se modèle sur celle des métastases osseuses de tumeurs solides et des myélomes multiples.

I.3.1. Thérapie anti-cancéreuse

La prise en charge des douleurs osseuses leucémiques nécessite dans un premier temps l'obtention de la rémission hématologique de la maladie par des traitements conventionnels anti-cancéreux, incluant chimiothérapies, corticothérapie et thérapies ciblées (12, 13). Ces traitements possèdent leur toxicité osseuse propre (2), apportent leur lot de douleurs supplémentaires et justifient d'autant plus la mise en place de traitements de préservation de la densité osseuse.

I.3.2. Traitements ostéo-protecteurs

Dans un second temps, cette prise en charge est axée sur un ensemble de thérapies qui luttent contre la résorption osseuse. Ces traitements stimulent la formation osseuse, diminuent le risque de fractures vertébrales et périphériques (31, 32).

I.3.2.1. Thérapies anti-résorptives

Les biphosphonates, parmi lesquels le pamidronate en intraveineux, l'acide zolédronique en intraveineux, et le clodronate per os ont tous les trois une activité anti-ostéoclastique (6, 12). Ils freinent la résorption (13), augmentent la densité osseuse et diminuent l'incidence des fractures vertébrales, ainsi que les complications qui en découlent (12). On observe une diminution significative des douleurs osseuses, donc une plus grande indépendance physique et une amélioration de la qualité de vie. Ils s'associent aux thérapies d'induction anti-cancéreuses et sont indiqués pour toute atteinte osseuse, notamment dans la prise en charge du myélome multiple (12).

Le denosumab par voie sous-cutanée en administration mensuelle est une biothérapie anti RANKL (12) qui inhibe la résorption osseuse. En cas de contre-indication aux biphosphonates, les essais cliniques ont démontré que cette alternative est efficace contre les douleurs osseuses et prévient la survenue de complications osseuses secondaires (12).

Le tanezumab est un anticorps monoclonal dirigé contre « *Nerve Growth Factor* » (NGF) actuellement en cours d'évaluation quant à son efficacité dans les douleurs osseuses métastatiques des tumeurs solides.

La calcitonine en solution injectable inhibe la résorption osseuse *via* une action négative directe sur ses récepteurs ostéoclastiques. Ses effets antalgiques ont été démontrés sur des modèles animaux. Elle est employée pour lutter contre la perte osseuse dans divers contextes cliniques et dans le traitement de l'hypercalcémie maligne (6).

I.3.2.2. Antalgiques et co-antalgiques

Les antalgiques d'action nociceptive et de paliers adaptés à l'intensité de la douleur sont employés dans la prise en charge des douleurs osseuses.

Les co-antalgiques comprennent les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anxiolytiques, les antidépresseurs. Une prise en charge psychologique est souhaitable en complément à ce type de traitement.

I.3.2.3. Corticostéroïdes

La prednisone et la dexaméthasone sont des adjuvants au traitement des métastases osseuses et inclus dans le traitement de certaines hémopathies réfractaires ou en rechute (12). Ils réduisent les douleurs osseuses. Ils sont particulièrement efficaces dans les poussées douloureuses ou au cours de la radiothérapie (12).

I.3.2.4. Mesures hygiéno-diététiques

Des apports calciques suffisants de l'ordre de 1g par jour sont nécessaires. Les apports en vitamine D doivent permettre aux patients de maintenir des taux de vitamine D sériques supérieurs à 30ng/mL. Si ces besoins ne sont pas couverts par une alimentation équilibrée, une supplémentation peut être mise en place (6). La consommation d'une eau minéralisée peut être conseillée. L'éviction des boissons gazeuses est préconisée. Il est recommandé d'effectuer une activité physique régulière en charge et d'éviter l'immobilité. Une rééducation visant à prévenir les chutes peut venir compléter la prise en charge chez le patient âgé. Un arrêt du tabac et une éviction des boissons alcoolisées sont recommandés (6).

I.3.2.5. Radiothérapie

La radiothérapie seule est très efficace sur les lésions osseuses douloureuses et localisées (12). Les taux de réponse sont de 85% et la moitié des patients constatent une diminution des douleurs osseuses dans les deux semaines après traitement par rayons (12). Elle agit par réduction immédiate de l'inflammation (12). Une dose standard de 8 Gy peut être fractionnée et répartie sur plusieurs séances, ou administrée en une seule fois (12). Elle est indiquée en cas de lésions lytiques et douleurs persistantes malgré la prise de biphosphonates couplée à la chimiothérapie d'induction, en cas de lésions avec menace de complications fracturaires ou dans l'éradication d'un plasmocytome solitaire.

I.3.2.6. Traitements orthopédiques et chirurgicaux

Les traitements orthopédiques à type de mise en décharge ou le port de corset rigide sont de mise devant une lésion lytique douloureuse et menaçante. La chirurgie palliative est employée dans les lésions douloureuses à risque de fracture menaçante. La chirurgie vertébrale percutanée, qu'il s'agisse d'une vertébroplastie ou d'une kyphoplastie, permet une stabilisation des lésions par l'injection de ciment de type polyméthylméthacrylate. L'antalgie est obtenue grâce à un effet mécanique qui restaure la hauteur vertébrale, stabilise la fracture et grâce à un effet cytotoxique local sur les tissus tumoraux (12).

II. Anatomie de la moelle osseuse physiologique

II.1. Introduction

Les cellules sanguines matures ont une durée de vie limitée dans l'organisme. Chaque jour, 200.10^9 hématies, 100.10^9 plaquettes et entre 50 et 100.10^9 polynucléaires neutrophiles sont produits par la moelle osseuse. Cette production est assurée par les cellules souches hématopoïétiques (CSH) (34). Les CSH sont des cellules pluripotentes et capables de reconstituer une hématopoïèse complète après transplantation chez la souris. Elles représentent 1/20 millions des cellules nucléées de la moelle, soit 0,003% des cellules totales (34). Elles sont CD34+ CD38- Lin-, indifférenciées, immatures et au contact des travées osseuses des niches endostéales. Elles s'apparentent morphologiquement à de petits lymphocytes matures. Leurs marqueurs de type récepteur « *Chemokine (C-X-C motif) Receptor 4* » (CXCR4), CD34 et leurs intégrines de surface leur permettent de regagner la moelle après

passage dans la circulation générale grâce à des interactions de type récepteurs/ligands. Ce processus est médié par des facteurs de croissance et chimiokines diverses, tels que le « *Granulocyte-Colony Stimulating Factor* » (G-CSF) et le « *Stem Cell Factor* » (SCF) en particulier. Elles sont capitales et très sollicitées tout au long de la vie, elles assurent leur propre renouvellement et la formation des progéniteurs précoces des lignées sanguines grâce à leur capacité de division asymétrique (33). On estime à un million le nombre de cellules matures produites à partir d'une seule CSH au cours de vingt cycles de division en moyenne, mais pouvant atteindre jusqu'à cinquante cycles. Néanmoins, la grande majorité de ces cellules demeure en phase G0 du cycle cellulaire. Cette quiescence est en lien avec leur métabolisme qui repose essentiellement sur la phosphorylation oxydative mitochondriale. Cela leur confère de faibles niveaux de « *Reactive Oxygen Species* » (ROS) et donc une plus grande stabilité génomique. Une étude récente portant sur la quantification des ROS dans les produits de thérapie cellulaire confirme grâce à la cytométrie en flux d'un contenu en ROS plus faible dans les CSH par rapports aux progéniteurs hématopoïétiques, plus matures (35).

Avec l'âge, la succession des divisions et le raccourcissement des télomères, il y a une accumulation de mutations génétiques pré-leucémiques au sein des CSH, avec un risque majoré d'émergence de clones pathologiques. L'hématopoïèse clonale est fréquente et concerne 40% des adultes sains dès l'âge de cinquante ans (36).

II.2. Concept de niche : microenvironnement osseux complexe

II.2.1. Structure anatomique et fonctionnelle

Les CSH sont issues du mésoderme (34); localisées au départ dans le foie et la rate chez le fœtus, elles colonisent la moelle par voie hématogène où elles atteignent leur domicile définitif (33). Au cours de la croissance, la moelle osseuse se réduit. A l'âge adulte, les trois quarts de la moelle hématopoïétique, ou moelle rouge, se concentre dans les vertèbres, les os plats du bassin, le sternum et les extrémités proximales des os longs des membres. Sur une biopsie, le tissu osseux est occupé à 50% par des amas graisseux, dite moelle jaune, et 50% par des amas de cellules hématopoïétiques qui entourent les sinusoides vasculaires. L'os chez l'adulte est constitué à 80% par de l'os corticale et 20% par de l'os spongieux ou trabéculaire. Les travées osseuses constituent de petites logettes, espace inextensible et richement vascularisé, où les cellules immatures sont au contact de l'os. Cette interface entre la corticale

osseuse et la moelle constitue l'endostéum ou endoste. Les régions endostées se répartissent entre la métaphyse et la partie centrale de la diaphyse et sont le signe d'une hématopoïèse active, car riche en CSH et progéniteurs (34) (Figure 8).

Les progéniteurs et précurseurs, issus de la division des CSH, s'engagent dans différentes voies de différenciation, myéloïdes ou lymphoïdes, en réponse à des facteurs de croissance spécifiques. Leur potentialité est donc plus limitée. A mesure que ces cellules avancent dans leur différenciation et leur maturation, elles quittent progressivement la niche endostéale pour se rapprocher des sinusoides de la moelle centrale (34).

Les cellules hématopoïétiques matures représentent 99% des cellules de la moelle rouge. Leur omniprésence assure une cohésion au sein du tissu hématopoïétique. Elles produisent des facteurs capables d'influencer les CSH ou autres cellules de la niche. Les polynucléaires neutrophiles et leurs précurseurs par exemple contribuent à la migration et la rétention médullaire des CSH, car ils produisent des métalloprotéases matricielles (MMP) et de l'élastase capables de dégrader le récepteur CXCR4 présent à la surface des CSH. Ils facilitent la mobilisation des CSH. Autre exemple, les mégacaryocytes sont des inhibiteurs de la prolifération des CSH; grâce à une production de « *Chemokine (C-X-C motif) Ligand 4* » (CXCL4) et de « *Transforming Growth Factor beta 1* » (TGF-beta 1), ils maintiennent les CSH quiescentes et les protègent de la survenue de mutations ponctuelles possiblement oncogènes. Les cellules hématopoïétiques matures gagnent ensuite la microcirculation médullaire. Des cellules stromales nourricières sont indispensables au maintien à long terme des cellules hématopoïétiques.

L'ensemble des constituants du tissu médullaire s'organisent selon ce qu'on appelle la niche hématopoïétique. Par définition, la niche désigne l'unité structurale et fonctionnelle contenant les CSH, dont certaines entrent en division tandis que d'autres restent quiescentes, et ce grâce à des signaux et interactions complexes avec le microenvironnement (33). C'est un espace anatomique où cellules et stroma communiquent par des signaux décisifs dédiés à la fonction hématopoïétique. L'ultrastructure de la niche et l'occupation de l'espace médullaire est telle que cela permet aux acteurs de l'hématopoïèse d'assurer au mieux le renouvellement des lignées cellulaires sanguines et la production de cellules matures au sein d'un microenvironnement spécialisé. Ce processus physiologique a lieu tout au long de la vie de l'individu (34).

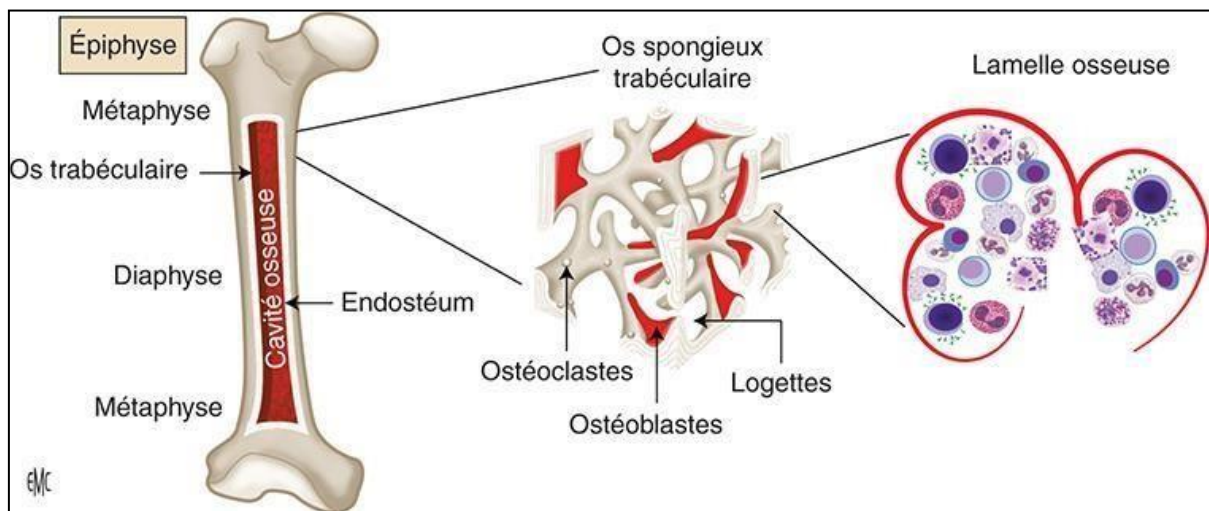


Figure 8 : Illustration montrant la localisation des CSH et des progéniteurs hématopoïétiques dans la cavité osseuse chez l'adulte. Dans l'environnement médullaire adulte, l'hématopoïèse a lieu dans l'os trabéculaire formé par les lamelles d'os cortical et qui délimite des logettes où les cellules immatures sont en contact avec l'environnement osseux. L'interface entre l'os cortical et la cavité osseuse constitue l'endostéum ou endoste. Les régions endostéales juxta-trabéculaires des os se répartissent entre la métaphyse, région proche de l'extrémité épiphysaire de l'os, et la partie centrale ou diaphyse. D'après Foudi, A., et al. 2018 (34).

II.2.2. Niche endostéale et vasculaire

On distingue deux types de niches (Figure 9) :

- La niche ostéoblastique, endo-osseuse ou encore endostéale, qui comprend environ 30% des CSH, majoritairement en quiescence (34).
- La niche vasculaire, qui contient la plus grande fraction des CSH ; celles-ci sont plus actives (34). Cette niche se subdivise elle-même en deux sous-types, qui diffèrent de par leur composition en cellules souches mésenchymateuses (CSM), endothéliales et nerveuses, ainsi que par leur composition en cellules hématopoïétiques, à savoir les monocytes-macrophages et les mégacaryocytes :
 - La niche péri-artériolaire
 - La niche sinusoïdale

Le rôle biologique exact de chacune des niches n'est pas bien déterminé ; une hypothèse plausible serait que l'une servirait de réservoir pour les CSH, tandis que l'autre serait impliquée dans la différenciation des CSH. Toutefois, la proximité anatomique des structures osseuses et vasculaires et l'intrication des fonctions de chaque niche remettent en cause cette hypothèse (33).

La niche ostéoblastique comprend des pré-ostéoblastes qui bordent l'endoste et recouvrent la ligne de minéralisation, des ostéoblastes et des ostéocytes englobés dans la matrice minéralisée (33). Les ostéoblastes sont de deux types :

- les « *simple Shaped N-cadherin + CD45- Osteoblastic cells* » (SNO) jouent un rôle essentiel dans l'hématopoïèse au sein des travées. Ils produisent des facteurs qui régulent la quiescence, le maintien et l'activation des CSH, tels que l'angiopoïétine (Ang), l'ostéopontine (OPN), la thrombopoïétine (TPO), les protéines de type ligand « *Chemokine (C-X-C motif) Ligand 12* » (CXCL12) appelé aussi « *Stroma Cell-Derived Factor 1* » (SDF1) et « *jagged canonical Notch ligand 1* » (JAG1) (33).
- Les « *oval shaped osteoblasts* » dont le rôle n'est pas détaillé.

La niche ostéoblastique concentre la fonction hématopoïétique ; les cellules hématopoïétiques les plus primitives et immatures sont ancrées au contact de la bordure endostéale grâce aux N-cadhérines exprimées par les ostéoblastes (33). Plusieurs études sur des souris ont montré une corrélation entre la masse ostéoblastique et le pool de CSH (33).

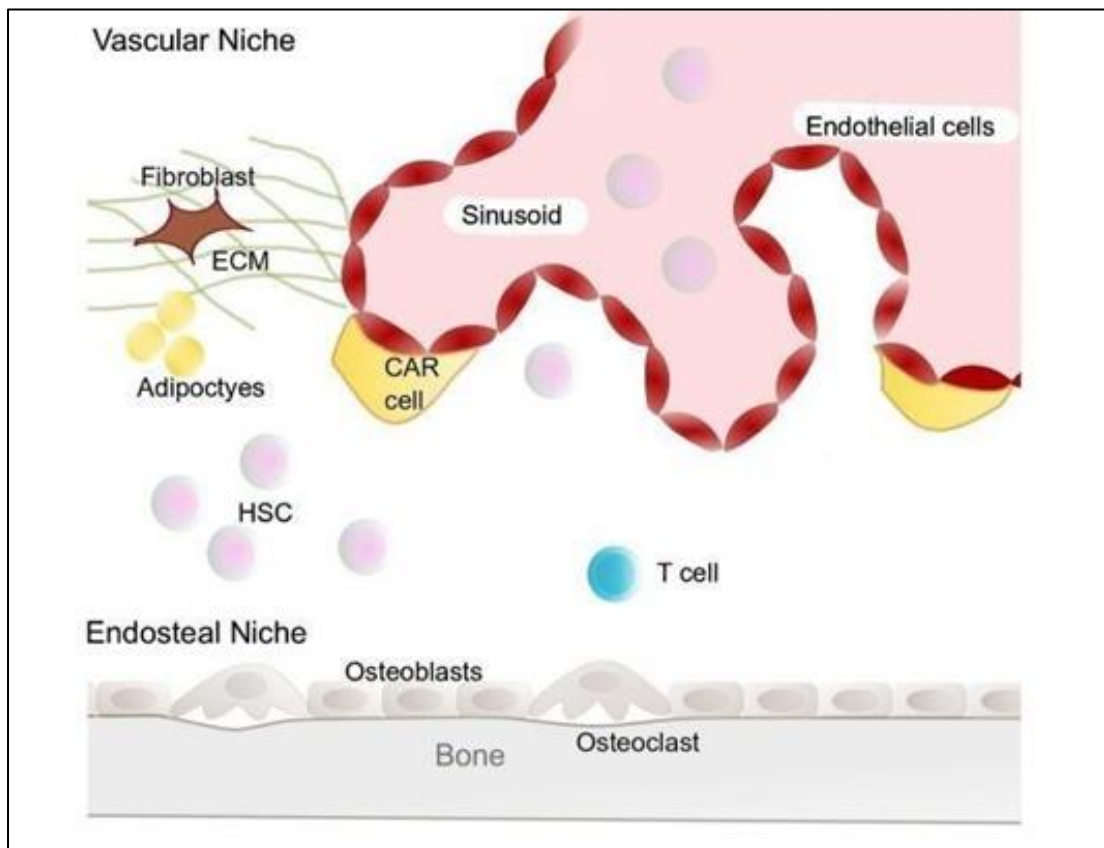


Figure 9 : Illustration de la scission de la niche hématopoïétique en une niche endostéale et une niche vasculaire (sinusoïdale).
D'après Ladikou, E. E., et al. 2020 (45).

Les ostéoblastes seraient même un support pour les progéniteurs précoces *via* la production *in vitro* de l'intégrine beta 1, la N-cadhérine, les facteurs G-CSF, « *Hepatocyte Growth Factor* » (HGF), l'angiopoïétine 1 (Ang-1) et *in vivo via* l'activation de la voie Notch. Des troubles dans l'expression des gènes des progéniteurs ostéoblastiques induisent un déficit de l'hématopoïèse et sont associés à la survenue d'une myélodysplasie, voire d'une leucémie aiguë (33). Il est également suggéré par diverses études que certaines cellules, autres que les ostéoblastes, seraient potentiellement impliquées dans la formation osseuse ou interviendraient dans le maintien des CSH. Ces cellules ne seront pas détaillées.

A l'opposé, les ostéoclastes issus de la lignée monocyttaire expriment RANKL, activent la résorption osseuse *via* le récepteur RANK ostéoblastique et creusent les cavités constituant la niche endostéale. Ils induisent également une diminution de la sécrétion de SCF, de l'OPN et CXCL12, ce qui mobilise les CSH hors de la niche endostéale. De plus, la résorption de l'os libère TGF-beta 1 et « *Bone Morphogenic Protein 2* » (BMP-2) contenus dans la matrice osseuse, deux facteurs d'homéostasie ostéoblastique.

La niche vasculaire contient la plus grande fraction des CSH et des progéniteurs ; ces cellules sont essentiellement au contact de la paroi vasculaire des sinusoides médullaires, dont les cellules endothéliales expriment une combinaison de marqueurs CD150+ CD244- CD48- CD41- Lin-. Les sinusoides sont de larges vaisseaux de 50 micromètres de diamètre, dans lesquels s'ouvrent directement les artérioles (33). Ils sont entourés par des CSM appelées cellules adventitielles réticulaires (CAR) CD146+, qui sécrètent de grandes quantités de CXCL12 et émettent des projections en contact étroits avec les CSH (33). Les CAR sont les précurseurs directs des adipocytes et des ostéoblastes.

Les cellules endothéliales des sinusoides sont à moins de 10 micromètres des CSH, ce qui suggère fortement leur rôle dans la biologie des CSH. Elles partagent d'ailleurs un progéniteur commun avec les CSH appelé hémangioblaste (33). Elles assurent les échanges en nutriments et en oxygène avec la moelle. Il est démontré que perfuser des progéniteurs endothéliaux accélère la reconstitution de l'hématopoïèse après transplantation de CSH. Selon des travaux menés *in vivo*, la délétion de divers facteurs régulateurs des cellules endothéliales altère l'hématopoïèse. Les cellules endothéliales interviennent dans la rétention et la régénération des CSH. Elles expriment à leur surface et dans le microenvironnement des régulateurs importants de la quiescence et la prolifération des CSH : la sélectine E joue un rôle dans l'entrée en cycle des CSH, l'angiopoïétine 3 (Ang-3) permet le maintien de leur quiescence,

leur auto-renouvellement, tandis que la protéine CXCL12 influence leur localisation périvasculaire. Une altération de la niche vasculaire induit un déficit hématopoïétique chez la souris (33).

II.2.3. Vascularisation

Le tissu osseux contient un réseau vasculaire dense qui occupe 30% de l'espace médullaire. Les vaisseaux sanguins sont présents dans tous les territoires. La vascularisation de la moelle s'effectue à partir des artères longeant les corticales osseuses, desquelles naissent les artérioles afférentes nourricières. Celles-ci pénètrent les os longs depuis les cavités creusées par les ostéoclastes, se ramifient ensuite en un riche réseau de capillaires interconnectés avant de s'ouvrir dans les sinusoides de la moelle centrale (34) (Figure 10).

L'imagerie haute définition a montré que les capillaires de la métaphyse et de l'endoste ont une organisation en colonnes avec peu de branchements. Ce sont des capillaires type H, qui expriment fortement CD31 et l'endomucine. Par opposition, les capillaires sinusoides sont surtout présents dans la cavité centrale médullaire et ont une organisation plus complexe, irrégulière et beaucoup moins hiérarchique. Ce sont les capillaires de type L, avec une expression faible de CD31 et de l'endomucine. La différence est non seulement structurelle, mais aussi fonctionnelle entre ces deux types de capillaires. Les capillaires artériolaires sont peu perméables, subissent des forces de cisaillement importantes, ce qui génère une signalisation mécanique régulant les CSH. Les sinusoides en revanche ont une paroi moins intègre avec peu de molécules de jonction serrées ou adhérentes. Ils sont donc le site exclusif d'échange, facilitent les flux migratoires de progéniteurs hématopoïétiques sous la dépendance des facteurs clé CXCL12, « *Vascular Cell Adhesion Molecule 1* » (VCAM-1), et de la sélectine E. Le drainage s'effectue par les veines diaphysaires centrales (Figure 11).

Ce réseau vasculaire est en lien étroit avec le système nerveux sympathique. Les vaisseaux et les fibres nerveuses pénètrent la moelle en association étroite, ce qui facilite l'apport de neuromédiateurs dans le microenvironnement.

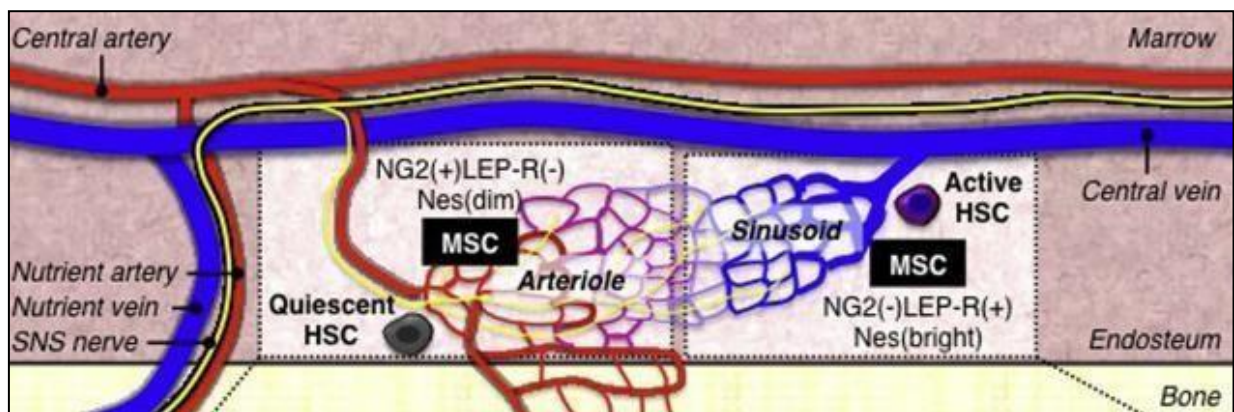


Figure 10 : Représentation de la connexion entre les artérioles et leur abouchement dans le réseau capillaire sinusoidal. Chaque région vasculaire comprend des CSM périvasculaires qui contrôlent la quiescence des CSH. Les CSH quiescentes sont en phase G0, tandis que les CSH actives sont prêtes à entrer en cycle ou quitter la moelle pour rejoindre la circulation.

D'après Schepers, K., et al. 2015 (52).

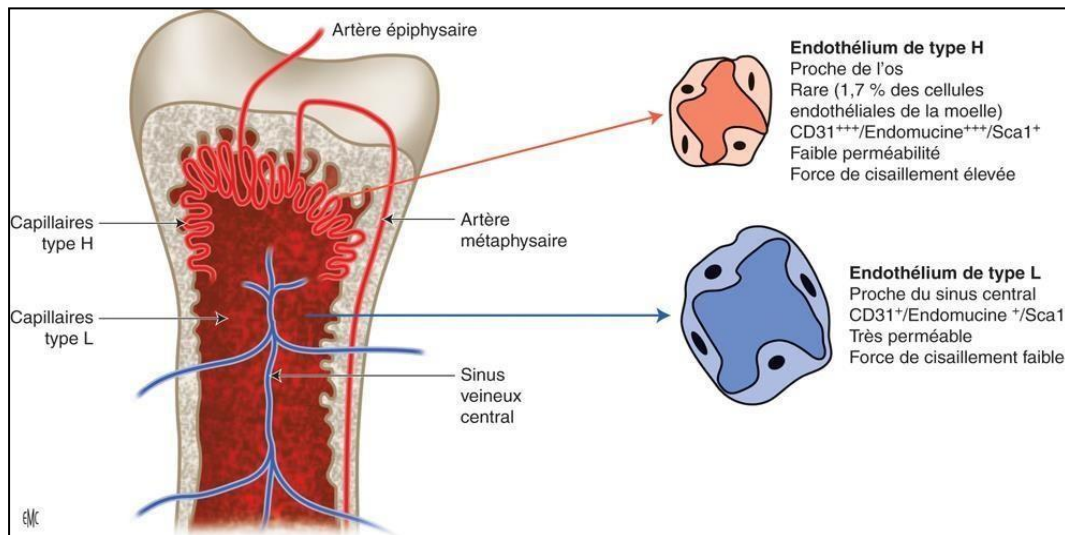


Figure 11 : Schéma détaillant de la vascularisation de la cavité osseuse. Celle-ci dépend d'artères nourricières et d'artérioles afférentes qui pénètrent la corticale des os longs. Ces artérioles se ramifient en un riche réseau de capillaires qui se connectent aux sinusoides, eux-mêmes drainés par les veines centrales au niveau de la région diaphysaire. Les capillaires de la métaphyse et de l'endostéum sont organisés en colonnes et sont appelés capillaires de type H, ils expriment fortement le CD31 et l'endomucine. Les capillaires sinusoidaux, dits de type L, majoritairement présents dans la cavité centrale médullaire ont une organisation irrégulière et forment des embranchements.

D'après Foudi, A., et al. 2018 (34).

II.2.4. Stroma

II.2.4.1. Matrice extra cellulaire

Le stroma médullaire comprend des CSM, des adipocytes, des fibroblastes, des cellules réticulaires, des ostéoblastes, des macrophages et des cellules endothéliales.

Les cellules stromales sécrètent les composants de la matrice extra cellulaire, à savoir les fibrilles de collagène, des glycoprotéines comme la fibronectine, les glycosaminoglycanes, l'acide hyaluronique, des dérivés de la chondroïtine et autres protéines comme la laminine, l'OPN et la tenascine C principalement. Ce réseau de protéines constitue un support pour les cellules.

Les cellules stromales libèrent aussi des facteurs de croissance et cytokines, impliqués dans la survie, la prolifération, la différenciation et le maintien du pool de CSH et des progéniteurs précoces, ainsi que les fonctions des cellules matures. Ces facteurs agissent plus ou moins en synergie et leurs champs d'action se recoupent pour répondre aux besoins des diverses lignées de cellules hématopoïétiques. Ils agissent localement, peuvent se fixer transitoirement aux protéines de la matrice ou à distance après passage systémique. Ils sont ainsi produits en grande quantité, notamment par les fibroblastes, les cellules endothéliales, les macrophages et les cellules immunitaires, mais aussi par les cellules péri tubulaires rénales et hépatiques pour l'érythropoïétine (EPO) et la TPO. Enfin, les cellules stromales sécrètent les molécules d'adhésion CXCL12, VCAM-1 et le SCF qui interviennent dans le homing, la croissance, le maintien du pool de CSH, mais aussi dans la communication intercellulaire, l'ancrage des progéniteurs à la matrice, aux cellules stromales elles-mêmes et à la surface de l'endothélium. Ces molécules jouent un rôle primordial dans les réponses cellulaires, conditionnent les cellules à rester dans la moelle ou à migrer dans la circulation générale.

Le profil d'expression de molécules d'adhésion diffère dans un contexte d'hémopathie maligne, car impliqué dans la croissance des clones et la progression de la maladie.

II.2.4.2. Cellules

Les CSM représentent une sous-population minoritaire dans le microenvironnement médullaire. Elles tiennent un rôle majeur dans l'hématopoïèse et la préservation du système hématopoïétique, rôle illustré par des travaux réalisés *in vitro* en coculture avec les CSH dans un premier temps, puis confirmé ensuite par des expériences menées *in vivo*. Comme toute cellule souche, elles s'auto-renouvellent et expriment des gènes de pluripotence. Elles génèrent différents types de cellules stromales matures à divers stades de développement : les adipocytes, les chondrocytes, les ostéoblastes et les fibrocytes.

On distingue plusieurs populations de CSM (Figure 12).

- Les CAR péri-sinusoïdales, juxtaposées à l'endothélium des sinusoides dans la partie centrale de la moelle. Elles sont en contact avec une partie des CSH CD150+CD48- grâce à de longues expansions cytoplasmiques. Elles sécrètent CXCL12 et SCF.
- Les cellules Nestine+ sont exclusivement dans les zones périvasculaires adjacentes à l'os, plus spécifiquement au sein des niches péri-artériolaires. Elles expriment fortement CXCL12, SCF, Ang-1, l'interleukine 17 (IL-17), et VCAM-1.
- D'autres CSM possédant le récepteur à la leptine « *Leptine Receptor* » (LepR), dites LepR+, sont associées aux terminaisons nerveuses sympathiques des régions de l'endoste ou à proximité des sinusoides. Leur action est redondante avec celle des CAR et des cellules Nestine+.
- Récemment, l'immunofluorescence en microscopie confocale associée à une modélisation informatique a mis en évidence une fraction de CSH quiescentes situées près des artérioles de l'endoste, dans un complexe vasculo-nerveux ou neuro-réticulaire constitué par des CSM, des fibres nerveuses sympathiques et des cellules de Schwann. Les CSM y expriment le protéoglycane « *Neural/Glial antigen 2* »

(NG2), CXCL12, SCF, Ang-1, VCAM-1 et l'OPN. On parle de CSM Nestine+ NG2+. Finalement, la majorité des CSM se localise près des vaisseaux artériolaires ou sinusoidaux ; leurs actions y sont parfois redondantes et visent à contrôler le comportement des CSH.

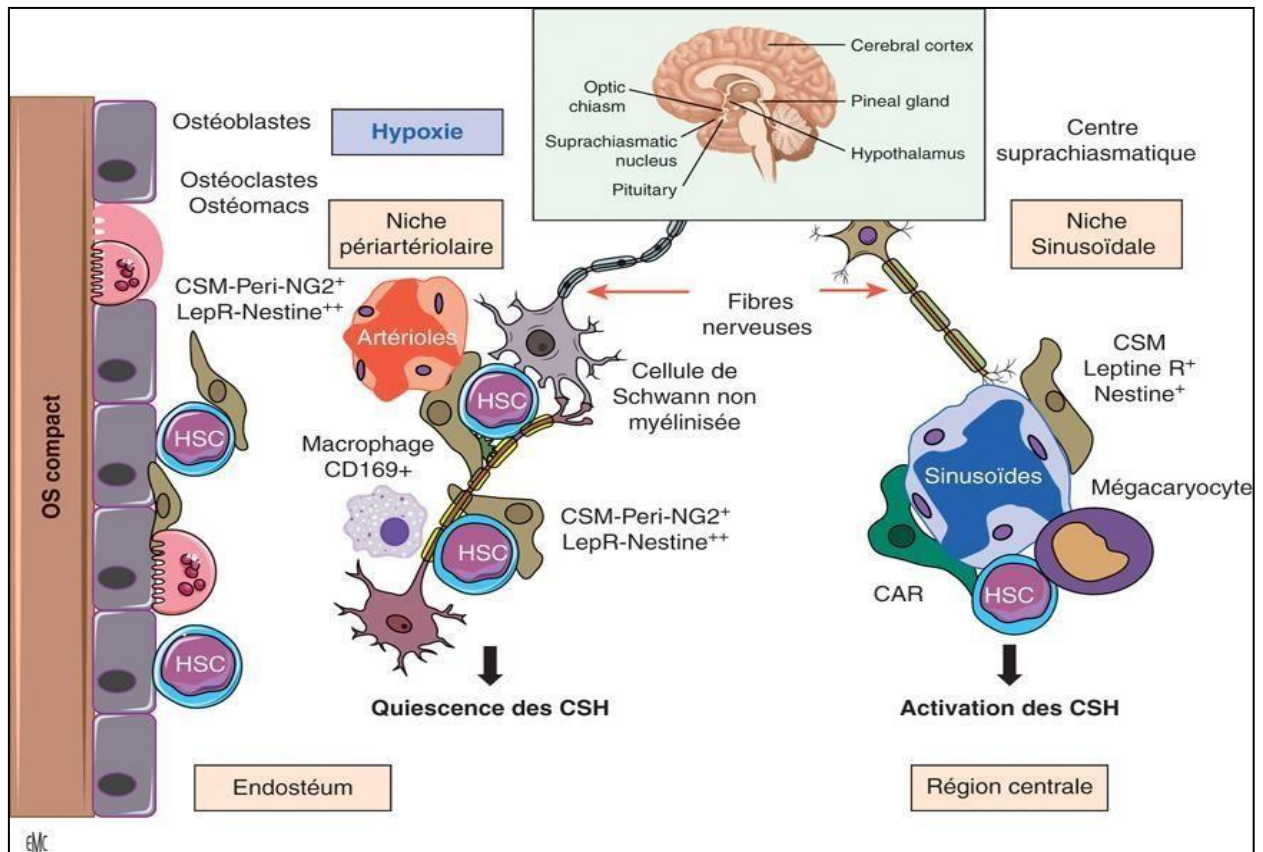


Figure 12 : Illustration des différentes populations de CSM de la moelle osseuse. Les CAR péri sinusoïdales sont juxtaposées à l'endothélium sinusoïdal de la région centrale de la moelle. Les longues extensions cytoplasmiques des CAR expriment fortement CXCL12 et SCF. Les CSM Nestine⁺ sont distribuées dans des zones exclusivement périvasculaires adjacentes à l'os et dans le parenchyme de la moelle. Ces cellules expriment fortement les facteurs CXCL12, SCF, l'angiopoïétine-1, IL-7 et VCAM-1. Les CSM LepR⁺ sont strictement périvasculaires et s'associent à des fibres nerveuses sympathiques. Les CSM Nestine⁺ NG2⁺ sont proches des petites artérioles de l'endoste, sont associées aux fibres nerveuses sympathiques et aux cellules de Schwann non myélinisées au sein de structures réticulo-nerveuses. Elles produisent des quantités élevées de CXCL12, SCF, l'angiopoïétine 1, V-CAM et l'ostéopontine. D'après Foudi, A., et al. 2018 (34).

Les adipocytes se développent à partir de la différenciation des CAR. Ils tiennent un rôle probable mais encore incompris et controversé dans la moelle, éventuellement en association avec d'autres types cellulaires. Des expériences ont mis en évidence des changements de comportement des adipocytes en réponses à certains stimuli. Ainsi, une moelle aplasique accumule un plus grand nombre d'adipocytes qui se remplissent de lipides, occupent l'espace médullaire et compriment les vaisseaux (33). D'ailleurs, les individus en surpoids ou âgés ont une moelle jaune en quantité plus importante et présentent simultanément une altération de leur fonction hématopoïétique (46). Inversement, la lipolyse médullaire induit une réouverture des vaisseaux, restaure les flux sanguins et réactive l'hématopoïèse (33). Chez la souris, l'hématopoïèse se reconstitue plus rapidement si les adipocytes sont atrophiés (33). Pourtant, ils sont une source importante de SCF, un facteur indispensable aux cellules hématopoïétiques. Ainsi, les données restent controversées quant au rôle inhibiteur ou protecteur des adipocytes envers les CSH (33, 46). Des facteurs nerveux seraient potentiellement impliqués dans leur régulation mais demeurent mal connus à l'heure actuelle.

Les macrophages semblent avoir un effet positif sur la structure de la niche. Lorsqu'ils sont associés aux ostéoblastes, ils participent à la formation osseuse (33). Ils auraient une influence sur les CSM Nestine+, mais cette communication reste à élucider (33). Ainsi, la baisse du nombre de macrophages de la moelle entraîne une baisse du nombre de CSM. Ils sont surtout impliqués dans la rétention médullaire des CSH *via* l'expression de CXCL12, et la mobilisation des CSH médiée par le G-CSF (33). Le facteur G-CSF induit une déplétion rapide en macrophages associés aux ostéoblastes et donc une baisse de l'implantation des CSH au niveau de l'endoste. Les macrophages sont donc impliqués dans les deux types de niches, périvasculaire et endostéale.

II.2.5. Communication au sein de la niche hématopoïétique

II.2.5.1. Molécules d'adhésion et chimiokines

Les cellules de la niche produisent de nombreuses protéines solubles et insolubles qui forment un réseau dense, la matrice extra cellulaire. La matrice est composée de protéines qui structurent le microenvironnement, participe à l'ancrage des CSH. Ces protéines interagissent

avec les CSH et progéniteurs hématopoïétiques *via* les récepteurs « *Very Late Antigene 4* » (VLA4), « *Very Late Antigene 5* » (VLA5) et CD44 (34).

Certaines protéines, comme la N-cadhérine et l'OPN, sont plus spécialisées, et exprimées plus spécifiquement par les cellules ostéogéniques matures et immatures. L'OPN se lie aux intégrines et au récepteur CD44 hématopoïétique et favorise le maintien du pool de CSH et progéniteurs au contact de la paroi endostéale (33, 34).

Les cellules stromales, les macrophages et les cellules hématopoïétiques sécrètent au sein de cette matrice des MMP et des sérines protéases qui facilitent la migration et la sortie des cellules hématopoïétiques vers la circulation (34).

CXCL12 est un ligand produit dans le microenvironnement médullaire, se lie à son récepteur CXCR4 à la surface des CSH. L'axe CXCL12/CXCR4 influence la rétention et la quiescence des CSH dans la moelle grâce à une puissante action chimiotactique, ce qui les protège de l'apoptose, des agressions et du stress oxydatif (Figure 13). Une déplétion d'un élément de l'axe CXCL12/CXCR4 induit une circulation anarchique des CSH (34).

II.2.5.2. Facteurs de croissance

Le SCF se lie à son récepteur « *Mast/Stem Cell growth Factor Receptor* » (SCFR) ou CD117. Le récepteur SCFR est fortement exprimé par les CSH et progéniteurs hématopoïétiques. Il influence le homing des cellules.

Le SCF existe sous forme lié à la membrane ou sous forme soluble, il exerce une action dans la survie, la prolifération, la différenciation des cellules hématopoïétiques et potentialise les effets d'autres cytokines telles que « *Fms-like tyrosine kinase 3* » (Flt3), la TPO (33), l'interleukine 3 (IL-3), l'interleukine 6 (IL-6) et l'interleukine 11 (IL-11). Il existe une synergie d'action entre SCF et le facteur « *Colony-Stimulating Factor* » (CSF) pour stimuler la différenciation des CSH (34).

D'autres facteurs modulent les capacités d'auto-renouvellement des CSH, tels que « *Vascular Endothelial Growth Factor* » (VEGF), Ang-1 (33) et la TPO (34).

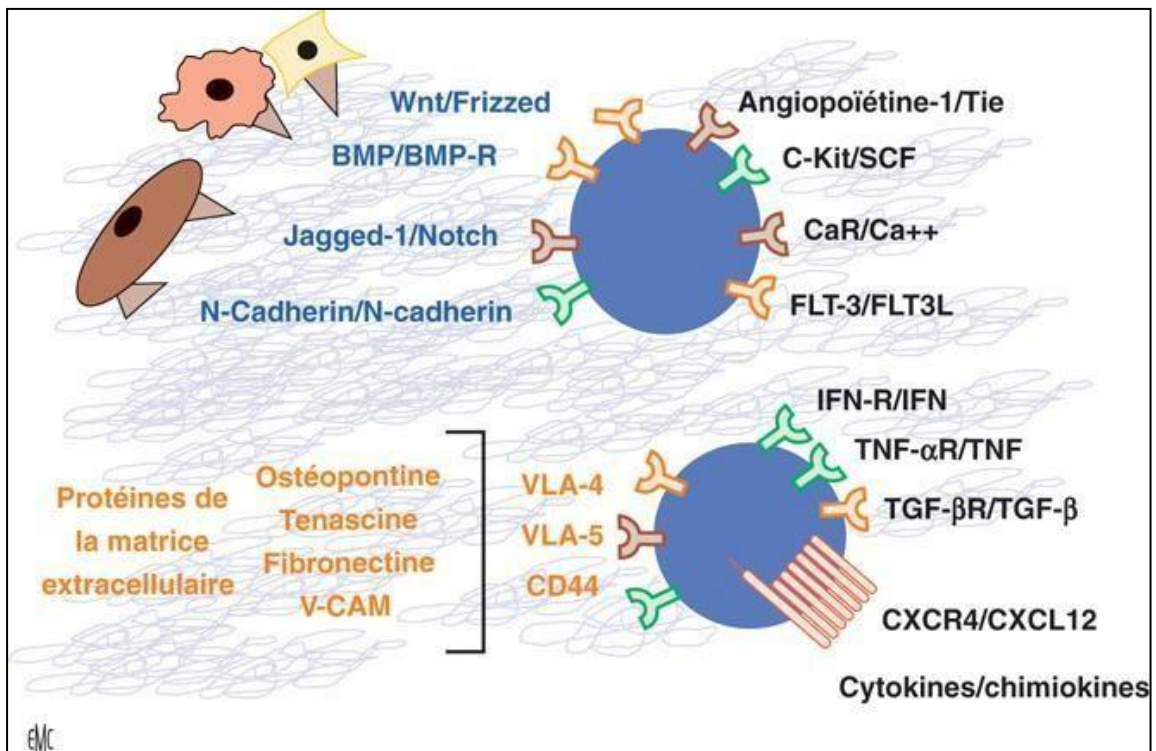


Figure 13 : Illustration des principaux composants moléculaires de la niche hématopoïétique. La matrice extracellulaire est composée de collagène, de fibronectine, d'ostéopontine, de laminine et de tenascine C principalement. Ces protéines de matrice constituent un réseau de soutien et interagissent avec les CSH et les progéniteurs grâce à différents récepteurs comme les intégrines VLA4, VLA5 et le marqueur CD44. Les facteurs de croissance nécessaire aux cellules hématopoïétiques, comme SCF principalement, adhèrent aux protéines de la matrice. La chimiokine CXCL12 est produite par les cellules du microenvironnement et interagit avec son récepteur CXCR4 de la membrane des CSH, ce qui les retient dans le microenvironnement médullaire.

D'après Foudi, A., et al. 2018 (34).

II.2.5.3. Autres composants acellulaires de la matrice

Le calcium, issu du remodelage osseux, agit sur les récepteurs transmembranaires au calcium CaSR situés sur les CSH. Il influence la domiciliation des CSH dans la moelle. Le rôle exact du calcium n'est pas encore bien connu dans l'hématopoïèse physiologique et pathologique.

II.2.5.4. Voies de signalisation

Une multitude de voies de signalisation est impliquée dans le système hématopoïétique. Les voies principales sont celles du TGF bêta, la voie Notch et la voie Wnt. Leurs effets dépendent d'un équilibre entre activation et inhibition. La voie du « *Transforming Growth Factor beta* » (TGF-beta) joue un rôle majeur dans la quiescence des CSH par l'intermédiaire d'inhibiteurs de kinases spécifiques (34). La voie Notch est activée par les ligands JAG1 et Delta; JAG1 produit par les ostéoblastes clive la partie cytosolique du récepteur Notch des CSH et progéniteurs hématopoïétiques, ce qui augmente leur population, accroît le nombre de divisions symétriques et inhibe leur différenciation (33, 34). La voie Wnt est une voie régulatrice clé dans divers types de cellules souches *via* l'activation de la protéine beta caténine ou la voie canonique. Elle amplifie le pool des CSH. Dans l'endoste, elle régule la masse osseuse. Elle aurait donc un rôle potentiel dans l'architecture de la niche (33, 34). Les cellules stromales apportent des cytokines susceptibles d'agir selon un mode d'action paracrine sur plusieurs voies de signalisation. Facteurs et voies de signalisation sont nombreux au sein de la niche, mais ne sous-tendent essentiellement que quelques fonctions critiques relatives au phénotype ou à la mobilisation des CSH.

II.2.6. **Innervation**

La moelle osseuse est richement innervée par le système nerveux autonome. Les fibres nerveuses traversent l'os en association avec les vaisseaux sanguins, apportent des neuromédiateurs dans le microenvironnement médullaire et sont interconnectées avec le système hématopoïétique (Figure 14).

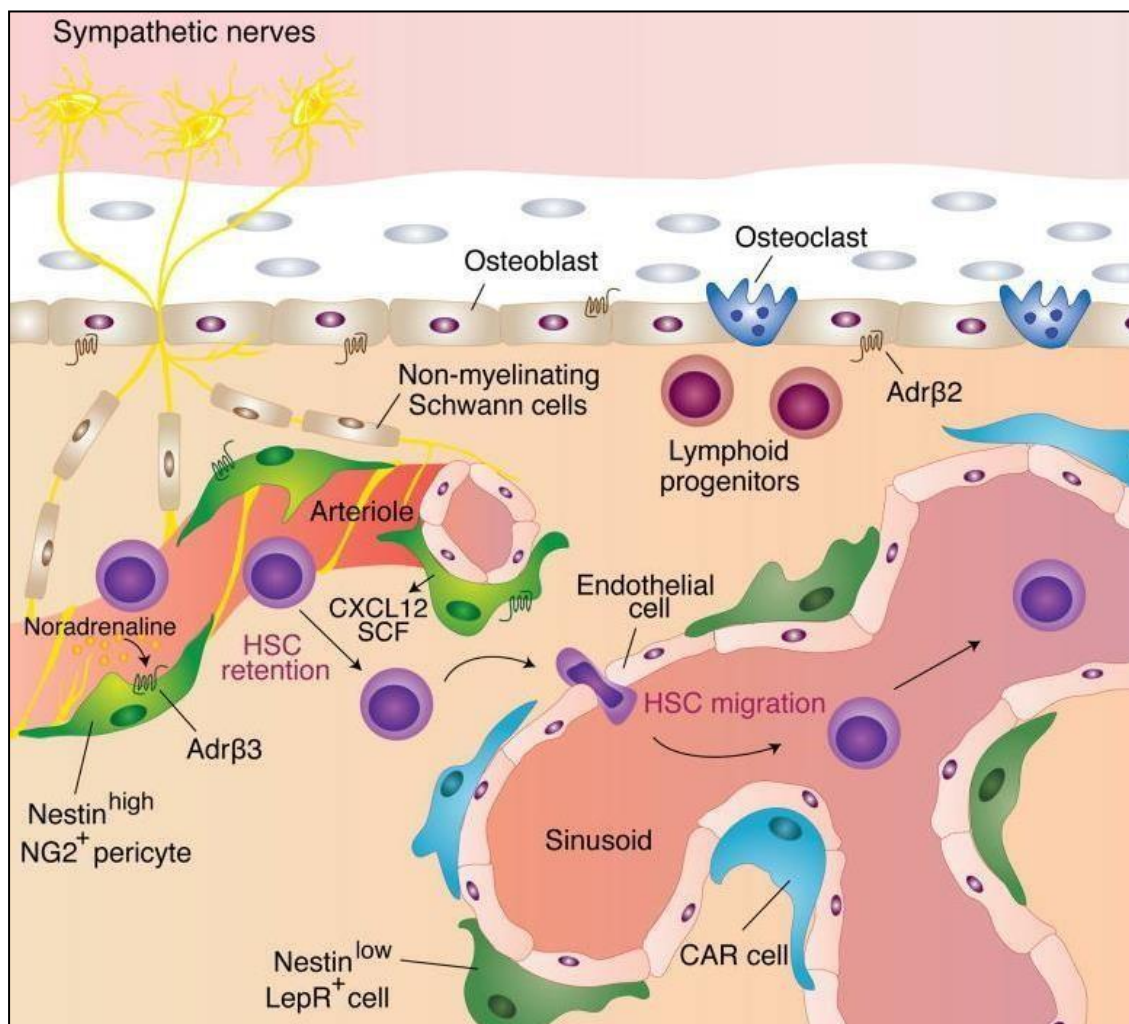


Figure 14 : Le système nerveux autonome régule la fonction hématopoïétique. Les CSM Nestine⁺ périvasculaires, les cellules endothéliales et les CAR régulent le maintien de la population de CSH. Les ostéoblastes sont impliqués dans la survie des CSH et la régulation des lignées de progéniteurs lymphoïdes. Les fibres nerveuses sympathiques et les cellules de Schwann non myélinisées maintiennent la quiescence des CSH. La sécrétion de noradrénaline selon un rythme circadien par les fibres sympathiques influence l'expression de CXCL12 à la surface des CSM Nestine⁺, et donc le passage systémique des CSH. La signalisation est médiée par les récepteurs beta 3 adrénergique. Les CSH sont localisées à proximité des vaisseaux artériolaires, au sein de structures réticulo-nerveuses incluant les CSM NG2⁺ et les fibres nerveuses sympathiques. Lorsqu'elles sont activées, ces CSH vont se localiser à proximité des sinusoides et des CSM LepR⁺. Les fibres sympathiques régulent la masse osseuse via les récepteurs beta 2 adrénergiques à la surface des ostéoblastes.

D'après Hanoun, M., et al. 2015 (101).

La branche sympathique du système nerveux autonome est à proximité des cellules ostéogéniques de l'endoste et des régions péri-artériolaires contenant les CSM Nestine⁺. Les fibres sympathiques forment des synapses avec les cellules périvasculaires ou péricytes ou CSM Nestine⁺ NG2⁺, ce qui constitue le complexe neuro-réticulaire ou vasculo-nerveux. Elles libèrent des catécholamines, dont la dopamine, la noradrénaline et l'adrénaline en grande quantité. Elles stimulent les CSM Nestine⁺ *via* leurs récepteurs beta 3 adrénergiques, ce qui a pour effet d'inhiber leur différenciation en ostéoblastes et diminuer l'expression de CXCL12 dans le microenvironnement. Ce processus intervient dans le relargage des CSH et progéniteurs hématopoïétiques dans la circulation ; il a lieu selon un rythme circadien régulé par la lumière (33). De plus, la libération de catécholamines s'accompagne d'une augmentation de l'expression de CXCL12 circulant et une mobilisation rapide des CSH.

Les catécholamines stimulent également les récepteurs beta 2 adrénergiques des ostéoblastes et régulent directement la masse osseuse. D'autre part, les CSH et progéniteurs expriment des récepteurs beta 2 adrénergiques, ce qui suggère un rôle probable du système nerveux sympathique dans la régulation de l'hématopoïèse basale ou sous l'effet d'un stress.

D'autres cellules dérivées des crêtes neurales, les cellules de Schwann non myélinisées, sont à proximité des CSH et impliquées dans le maintien de leur quiescence.

Toutes ces données sous-tendent l'importance des neuromédiateurs dans la mobilisation et la régénération du compartiment hématopoïétique après un stress. Avec l'âge, la diminution du nombre de fibres sympathiques (37) et des cellules de Schwann induit un remodelage des niches avec expansion des CSM et mégacaryocytaires. Cela a pour conséquence une prolifération des CSM et une modification dans la distribution et la régénération des CSH (Figure 15).

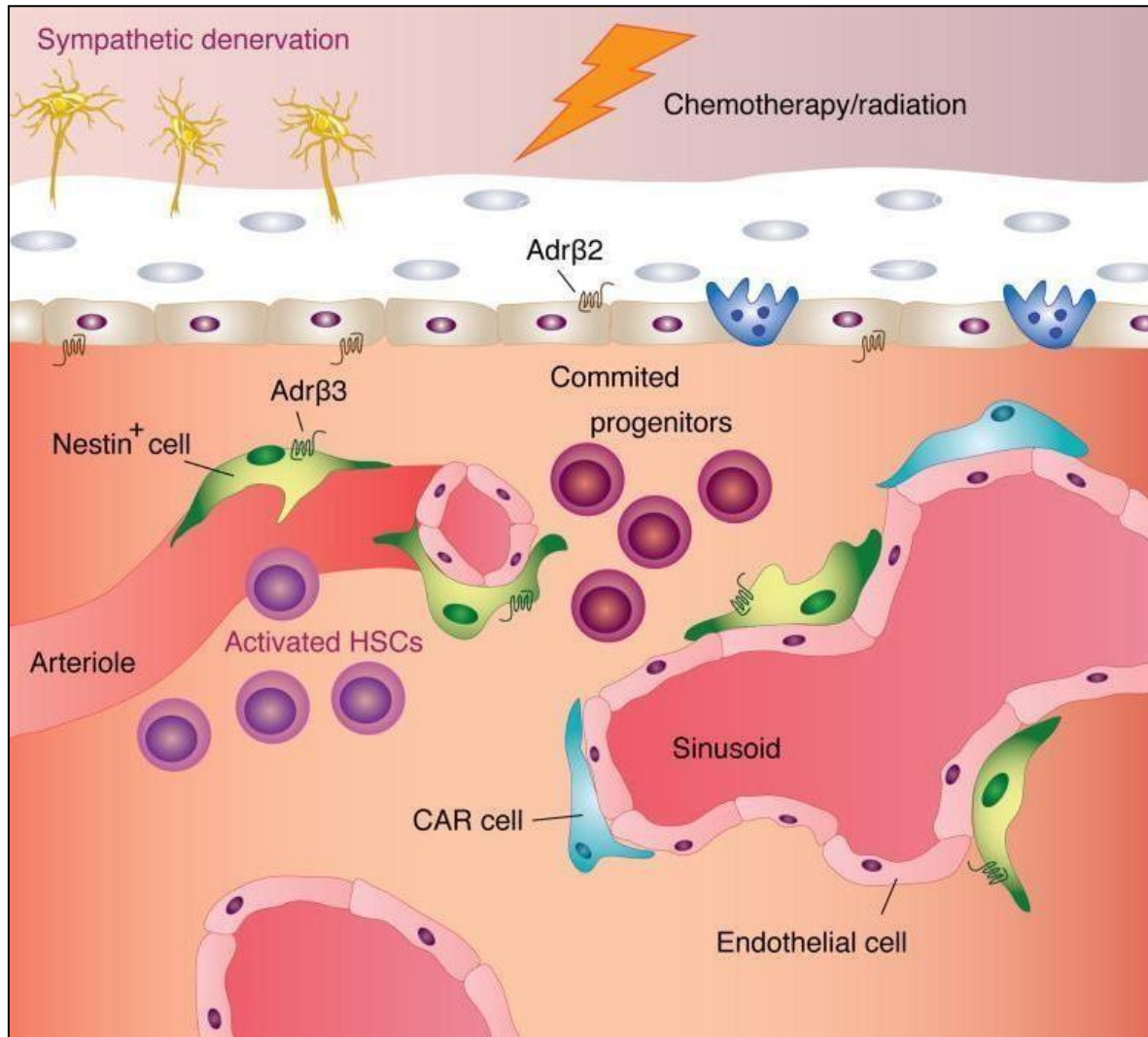


Figure 15 : La dénervation sympathique compromet la fonction hématopoïétique et la régénération des lignées cellulaires. Les dommages des fibres entraînent une prolifération des CSM Nestine + et des cellules endothéliales. Ces mécanismes entraînent une rupture de l'équilibre quant à la mobilisation des CSH et la régénération des progéniteurs.

D'après Hanoun, M., et al. 2015 (101).

II.2.7. Hypoxie

La pression partielle en oxygène est d'environ 1% au sein du tissu médullaire (33). Elle est donc faible en comparaison avec d'autres organes et ce malgré la forte vascularisation médullaire. Cette hypoxie est graduelle et augmente à mesure que l'on s'éloigne des régions périvasculaires vers l'endoste (33). Les CSH sont localisées dans les régions les plus hypoxiques de la moelle osseuse. Cette hypoxie induit une activation des facteurs de la famille « *Hypoxia Inducible Factor* » (HIF) de type alpha en intracellulaire. Elle contrôle la transcription en aval de gènes relatifs au caractère souche, à la quiescence et la mobilisation cellulaire. La faible teneur médullaire en oxygène diminue la production de ROS dans les CSH. Les ROS proviennent de la phosphorylation oxydative mitochondriale. Ces faibles taux de ROS maintiennent une stabilité génétique favorable à la survie des CSH. L'hypoxie impacte d'autres types cellulaires. L'activation de « *Hypoxia Inducible Factor 1 alpha* » (HIF-1 alpha) dans les CSM contribue à leur potentialité. Les facteurs de la famille HIF permettent à certaines cellules stromales de produire SCF, CXCL12 et VEGF. L'hypoxie est nécessaire à l'acquisition et au maintien des propriétés à long terme des CSH, soit par action directe ou indirecte en agissant sur les cellules stromales.

II.2.8. Conclusion

Après plusieurs décennies, le concept de niche hématopoïétique a été validé par des données expérimentales obtenues principalement chez l'animal. Les connaissances évoluent, les CSH sont désormais mieux caractérisées et la liste des facteurs qui régulent l'homéostasie de la niche ne cesse de s'allonger (Figure 16). Ces progrès sous-tendent les recherches visant à préserver l'intégrité de l'hématopoïèse soumise à un stress ou en réponse au vieillissement. Mais il reste à déterminer les mécanismes exacts qui participent au développement des hémopathies.

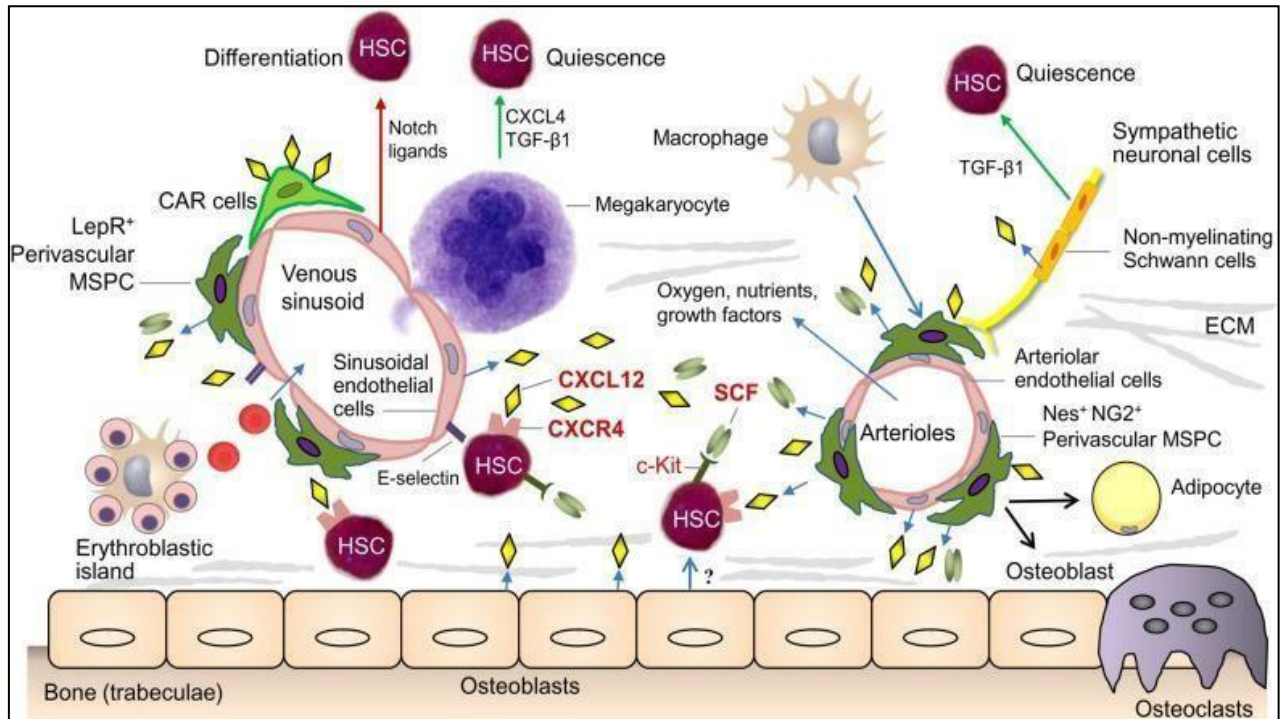


Figure 16 : Schéma récapitulatif de la composition de la niche hématopoïétique physiologique. Le microenvironnement médullaire et la représentation de la niche hématopoïétique. La niche hématopoïétique est composée essentiellement de CSM périvasculaires et de cellules endothéliales. Les CSM produisent CXCL12 et SCF, deux chimiokines requises pour le maintien du pool de CSH et leur rétention dans la moelle. Les cellules endothéliales expriment des molécules d'adhésion spécifiques, les E- sélectines, qui interviennent dans le homing et l'ancrage des CSH. Les CAR régulent à la fois la maturation des progéniteurs lymphoïdes et la rétention des progéniteurs myéloïdes. Les fibres nerveuses sympathiques qui entourent les artérioles régulent la mobilisation des CSH à partir d'une libération de noradrénaline selon un rythme circadien, ce qui module la différenciation des CSM en ostéoblastes et donc abaisse l'expression de CXCL12 à la surface des ostéoblastes. La matrice extracellulaire et les cellules stromales, incluant les macrophages, les mégacaryocytes et les progéniteurs ostéogéniques, participent également à la structure de la niche. D'après Schroeder, T., et al. 2016 (93).

III. Hématopoïèse leucémique

III.1. Cellules souches leucémiques

De nombreuses études s'accordent à dire que, de manière très similaire à ce qui est observé dans la niche hématopoïétique physiologique, il existe une hiérarchie au sein d'un ensemble de cellules leucémiques. A la tête de cette hiérarchie, une fraction mineure de cellules souches leucémiques (CSL) constitue le cœur de la niche leucémique, soit environ 1/1 000 000 de l'ensemble des clones. Les CSL se distinguent des cellules leucémiques plus différenciées qui construisent à proprement parler la masse leucémique (42, 46).

Mise en évidence il y a une vingtaine d'année par cytométrie en flux, les CSL partagent les caractéristiques cardinales des CSH et qui sont celles retrouvées chez toute cellule souche. Elles ont une capacité d'auto-renouvellement. Leur division asymétrique leur permet de maintenir leur population tout en favorisant l'expansion et l'invasion de la moelle osseuse par les clones leucémiques. Elles sont multipotentes, indifférenciées, quiescentes. Elles expriment bon nombre de molécules d'adhésion que l'on retrouve chez les CSH, tel que le récepteur CXCR4 qui les retient dans la moelle, ou le récepteur VLA-4 qui les lie aux cellules endothéliales (46). Elles expriment à leur surface plusieurs marqueurs communs avec ceux des CSH puisqu'elles sont CD34+CD38-, rarement CD34-. En revanche, d'autres marqueurs sont davantage exprimés par les CSL comme CD33, CD123 ou encore des marqueurs de résistance comme la protéine « *ATP Binding Cassette* » (ABC) ou l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH). Elles sont résistantes face aux agressions extérieures, aux toxiques médicamenteux et au stress oxydatif. Elles empruntent les grandes voies de signalisation nécessaires à leur fonctionnement Notch et Wnt. Un déséquilibre dans l'activation de ces voies est en partie imputable à la genèse leucémique (38, 40, 42).

Toutes ces données sous-tendent l'idée que CSL et CSH ont probablement une origine commune, bien que cela reste un sujet controversé. Les CSL proviendraient de CSH ou de progéniteurs précoces mutés, de cellules matures transformées ou encore de la fusion entre une CSH et une cellule hématopoïétique mature saine (42, 45). L'origine pourrait varier suivant le patient et le type d'hémapathie considérée. Ainsi, les CSL sont à la niche leucémique ce que les CSH sont à la niche hématopoïétique, des cellules responsable de l'initiation du processus malin, qui assurent l'expansion de la masse leucémique, la progression de la maladie et sa résistance aux agressions.

Les CSL ont d'ailleurs une forte valeur pronostique dans les leucémies aiguës, car en cause dans les hémopathies réfractaires aux traitements ou les rechutes. Plus leur nombre dans la moelle est grand, plus la survie du patient est menacée (40-42).

III.2. Niche leucémique

Divers travaux témoignent d'une occupation par les CSH saines et les CSL des mêmes territoires médullaires. Elles entrent en compétition dans un espace osseux restreint pour bénéficier des mêmes ressources (Figure 17), ce qui à terme réduit le nombre de niches fonctionnelles saines et affaiblit le système hématopoïétique. L'environnement devient permissif au développement des clones leucémiques (39, 45). Ces clones gagnent progressivement en autonomie, deviennent de moins en moins dépendants des signaux du microenvironnement et plus aptes à l'invasion médullaire (45).

La niche leucémique est empreinte à un ensemble de modifications, aussi bien intrinsèques génétiques dans les clones leucémiques, qu'extrinsèques structurelles et fonctionnelles au sein du microenvironnement. La transformation du microenvironnement est la résultante de signaux émis par les CSL. L'environnement promeut en retour la malignité et les propriétés souches des CSL. Ces interactions bidirectionnelles témoignent d'une altération profonde, propre à la niche leucémique et qui favorise la progression de la maladie.

L'élément primaire initiateur de la maladie est source de débats, qu'il s'agisse de mutations génétiques et épigénétiques à l'origine de l'émergence de clones pathologiques qui transforment leur environnement, ou inversement l'altération des constituants du microenvironnement qui influencent le devenir et la malignité des cellules hématopoïétiques. Il est montré par exemple que les CSM dans les niches leucémiques possédaient des mutations différentes de celle des clones pathologiques (44). De même, de rares cas de leucémies secondaires à une greffe de CSH ont été répertoriés; le microenvironnement du receveur pourrait être la cause de la transformation des CSH transplantées et la survenue de l'hémopathie (54). Ces données montrent que le microenvironnement est appréhendé comme un facteur de prédisposition aux leucémies aiguës.

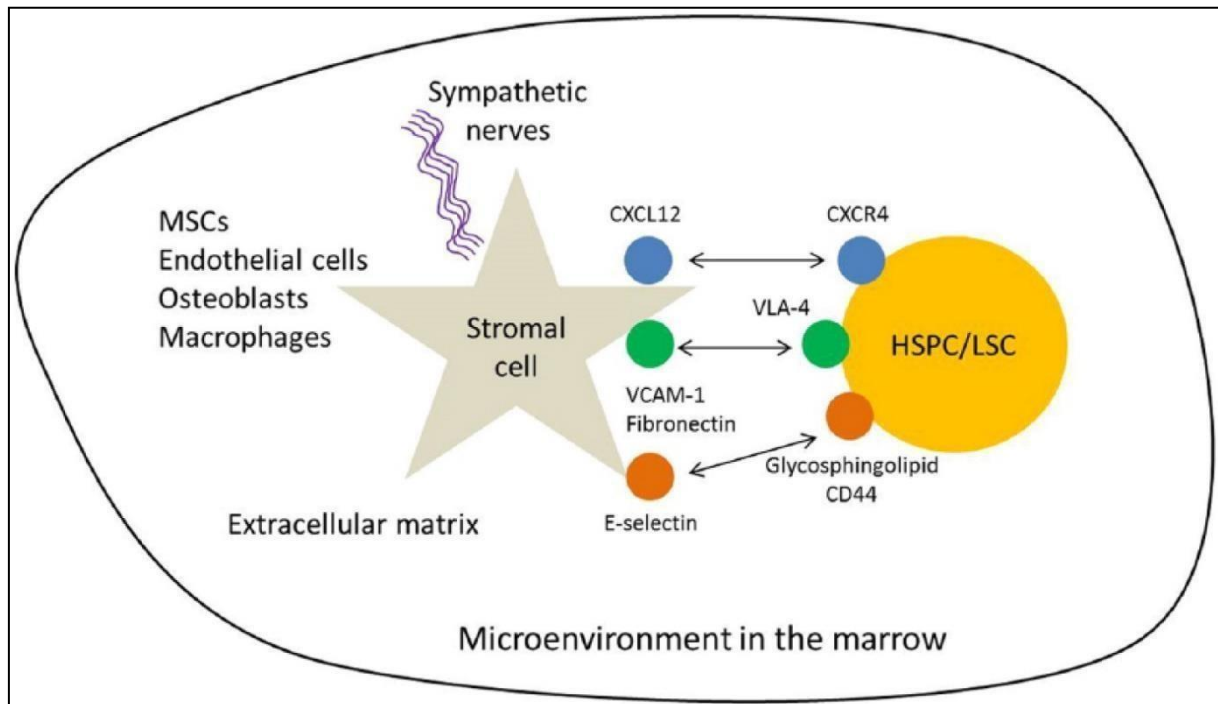


Figure 17 : Les CSH et les CSL entrent en compétition au sein du microenvironnement médullaire, exploitent bon nombre de ressources et mécanismes communs dans le fonctionnement de leur niche respective.

D'après Rashidi, A., et al. 2016 (104).

A l'heure actuelle, le microenvironnement est considéré comme un acteur majeur de la physiopathologie des hémopathies en général. Bien au-delà du champ de l'hématologie, il est bien connu que le milieu influence le phénotype et le comportement d'une cellule. L'impact de l'environnement sur le comportement des cellules malignes et inversement est un phénomène très étudié en cancérologie. Des travaux chez la souris permettent d'affirmer cette communication entre cellules et microenvironnement. En revanche, peu de données sont disponibles sur des modèles humains. Ces travaux sont d'autant plus rares en ce qui concerne la physiopathologie des leucémies aiguës (44).

En résumé, les CSL évoluent donc dans un environnement spécialisé qu'elles transforment afin de le rendre favorable à leur développement et supplanter le fonctionnement de la niche physiologique. La niche leucémique apparaît donc comme un sanctuaire pour les CSL, nécessaire à la survie et la propagation des clones leucémiques (39).

III.2.1. Changements structurels et fonctionnels de la niche leucémique

Dans les leucémies aiguës, l'architecture des niches est profondément remaniée. Une augmentation de la densité des sinusoides vasculaires est observable à la partie centrale de la moelle, en particulier dans les LAM (Figure 18) (39, 46). C'est la toute première altération de structure observée. Les CSL libèrent des facteurs pro-angiogéniques, tels que VEGF, les protéines Ang-1 et l'angiopoïétine 2 (Ang-2) (39) qui activent la voie Notch des cellules endothéliales. Cela entraîne une néoformation vasculaire anarchique, tortueuse et inefficace. Les taux de « *Nitric Oxide* » (NO) accrus dans les vaisseaux sont associés à une plus grande perméabilité vasculaire et donc à des échanges réduits (39). Par conséquent, la mauvaise suppléance vasculaire contribue à accroître l'hypoxie médullaire, surtout dans les régions éloignées de l'endoste qui abritent les CSL. Ces modifications des sinusoides s'accompagnent d'une déplétion des cellules du stroma périvasculaire de soutien et donc une déstabilisation des niches vasculaires (50). On observe également dans les LAM une réduction des vaisseaux artériolaires des régions endostéales et trabéculaires, probablement sous l'effet de cytokines anti-angiogéniques. En revanche, ces mêmes vaisseaux artériolaires semblent conserver leur structure dans les LAL (50).

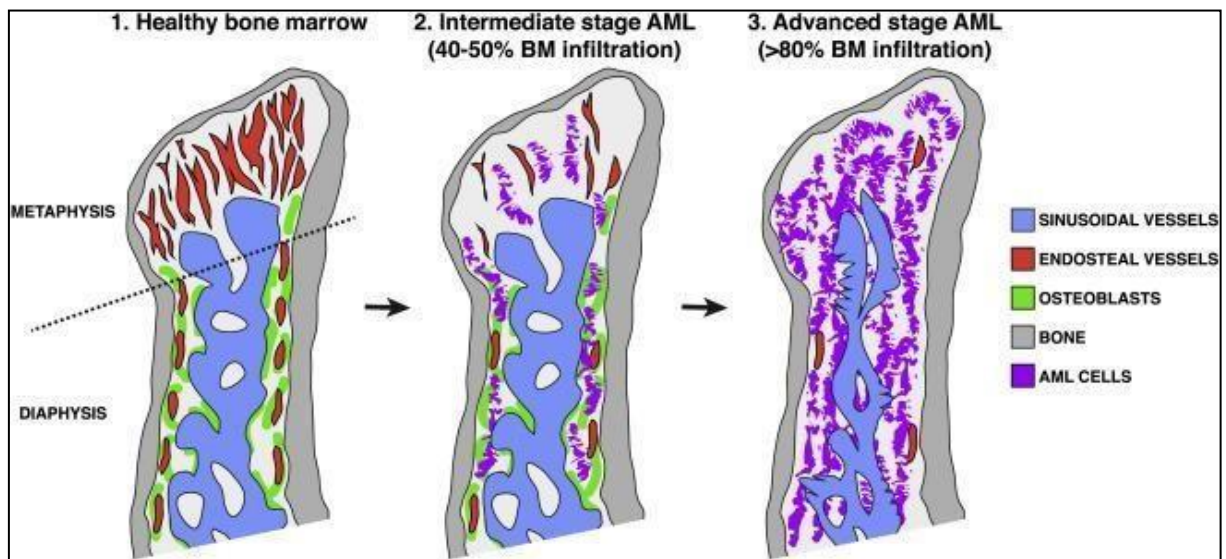


Figure 18 : Dans la moelle osseuse physiologique (1), les métaphyses sont enrichies en vaisseaux artériolaires ; tandis que la moelle centrale diaphysaire comprend surtout des vaisseaux sinusoidaux. A partir d'un modèle de LAM, lors d'une infiltration modérée par les clones leucémiques (2), les vaisseaux artériolaires de l'endoste sont réduits. A la phase avancée de la maladie (3) s'ajoutent une réduction et une rétraction des vaisseaux sinusoidaux, ainsi qu'une perte ostéoblastique.
D'après Tamplin, O. J. 2018 (50).

D'autre part, de nombreuses publications montrent un lien étroit entre les clones leucémiques et les cellules endothéliales grâce aux molécules d'adhésion E sélectine, P sélectine et VCAM-1 (39, 43). Cela facilite la communication à la fois paracrine et autocrine entre ces cellules au sein des niches vasculaires. Les cellules leucémiques et endothéliales possèdent toutes deux les récepteurs aux facteurs pro-angiogéniques. En réponse au VEGF sécrété par les clones leucémiques, les cellules endothéliales sécrètent du « *Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor* » (GM-CSF), un facteur mitogène dans les LAM (45, 46, 52).

Les cellules endothéliales permettent également le passage des blastes dans la circulation systémique.

La perte ostéoblastique apparaît plus tardivement dans l'évolution de la maladie leucémique par induction de l'apoptose des ostéoblastes (39). Elle est un élément majeur de la transformation de la niche leucémique, bien mieux caractérisée dans les LAL dans lesquelles on observe une plus grande fréquence des lésions osseuses (51, 54). Dans les LAM, elle serait imputable en partie aux effets de facteurs synthétisés par les clones leucémiques, tels que la « *Chemokine (C-C motif) Ligand 3* » (CCL3) (46) et la TPO. Ces facteurs altèrent la différenciation des CSM Nestine+. Les ostéoblastes issus de cette différenciation sont incapables d'achever une transformation complète et dégénèrent. Dans le phénotype myéloblastique, d'autres cytokines, telles que « *Macrophage Inflammatory Protein 1 alpha* » (MIP-1 alpha) et le CSF sécrétés par les clones leucémiques sont décrites à un stade plus avancé de la maladie et présenteraient un effet négatif sur le nombre d'ostéoblastes et les fonctions des CSH.

III.2.2. Altérations du stroma

Comme cité précédemment, des arguments de plus en plus nombreux sont en faveur du rôle du stroma dans la transformation des cellules et dans l'émergence des leucémies aiguës (44). Le nombre de CSM est augmenté dans la niche leucémique. Elles soutiennent le développement des clones leucémiques. Des blastes placés sous observation en coculture avec des CSM saines et malignes prolifèrent dans les deux cas. Les CSM sécrètent des cytokines pro-inflammatoires nécessaires à la survie des CSL et à l'angiogenèse. L'analyse du profil des cytokines en présence de CSM *in vitro* a montré une élévation des taux de « *Macrophage migration Inhibitory Factor* » (MIF) et de l'interleukine 8 (IL-8), deux facteurs impliqués dans la survie. L'effet pro-leucémique des CSM est donc très probable et a été prouvé comme

étant indépendant de leur statut mutationnel. Néanmoins, leur rôle dans la leucémogénèse reste encore à étudier. La différenciation des CSM s'oriente préférentiellement en ostéoblastes plutôt qu'en adipocytes dans la niche leucémique, car les ostéoblastes sont indispensables à l'expansion de la maladie dans sa phase initiale (45, 46).

Les adipocytes ont besoin d'être davantage investigués dans les leucémies aiguës. Chez la souris, les adipocytes servent de réservoir métabolique pour les clones leucémiques (46). Ils sont un support de croissance dans les LAM *in vitro* et *in vivo* ; les blastes phosphorylent la lipase des adipocytes et active la lipolyse. La coculture de blastes avec des adipocytes augmente l'expression du récepteur à l'adiponectine à leur surface et la lutte contre le stress *via* la voie des « *Mitogen-Activated Protein Kinases* » (MAPK). Dans les LAM monocyttaire, la bêta-oxydation des acides gras est corrélée à une plus grande expression de CD36 et des gènes pro-tumoraux « *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma* » (PPAR gamma), « *Fatty Acid Binding Protein 4* » (FABP4), et « *B-Cell Lymphoma 2* » (BCL2) (45). D'autre part, l'exposition à une chimiothérapie serait susceptible d'induire l'adipogénèse dans la moelle leucémique comme mécanisme de protection face à la biodisponibilité des toxiques (46, 47).

Les fibroblastes sont favorables à la survie, la prolifération et la migration des clones leucémiques *in vitro*. Il existe plusieurs types de fibroblastes associés aux leucémies. Ils sécrètent des cytokines pro-inflammatoires, des facteurs pro-angiogéniques et des facteurs anti-apoptotiques. Ils produisent les protéines de la matrice extracellulaire qui servent à l'ancrage et la mobilité cellulaire. Les données concernant les fibroblastes de la niche leucémique sont assez limitées, contrairement aux fibroblastes associés aux tumeurs solides, davantage étudiés (45, 46).

La matrice extra cellulaire de la moelle leucémique est plus riche en fibres de collagène. Ces fibres exercent un stress mécanique sur les clones leucémique. Elles activent entre autre la voie de signalisation médiée par la protéine kinase B (PKB) impliquée dans leur migration.

III.2.3. Dysfonction dans la communication

III.2.3.1. Environnement pro-inflammatoire

La création d'un microenvironnement pro-inflammatoire est une étape clé dans la progression de toute hémopathie maligne (54). Il s'agit d'établir un déséquilibre de la balance entre cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 1 beta (IL-1 beta), « *Tumor Necrosis Factor alpha* » (TNF-alpha) (45) ou encore IL-6, et les cytokines anti-inflammatoires, comme TGF-beta et l'interleukine 10 (IL-10). L'origine de ce déséquilibre n'est pas bien comprise (53). Ainsi, les leucémies aiguës sont caractérisées par une signature cytokinique bien spécifique. Les cytokines produites par les clones leucémiques et certaines cellules stromales contribuent à former un milieu propice aux modifications épigénétiques.

Le domaine de l'épigénétique se réfère à l'ensemble du réseau de protéines qui encadrent la transcription de gènes clés. Des altérations de ce réseau sont très propices à la transformation leucémique. Les LAL de phénotype B, par exemple, expriment un large panel de cytokines parmi lesquelles l'interleukine 7 (IL-7), IL-10, l'interleukine 15 (IL-15), l'interféron gamma (INF-gamma), qui créent un cadre favorable au développement de la maladie (47). Le profil cytokinique d'une leucémie aiguë peut même être modulé par l'exposition à une éventuelle chimiothérapie comme un mécanisme d'échappement, d'adaptation de la maladie (47).

III.2.3.2. Molécules d'adhésion et chimiokines

Le rôle de protection du stroma envers les CSL est rendu possible grâce à deux classes majeures de chimiokines ; il s'agit des couples ligands-récepteurs CCL/CCR et CXCL/CXCR (45). L'axe CXCL12/CXCR4 est un élément critique dans la phase initiale des leucémies aiguës (39). Les CSL expriment le récepteur CXCR4 pour accéder aux zones endostéales des niches, normalement occupées par les CSH. Tandis que les CSH sont délogées, les CSL demeurent alors protégées des agressions éventuelles (44). CXCR4 possède un rôle chimiotactique et protecteur clé pour les CSL. Son expression est d'ailleurs accrue en réponse à un traitement de chimiothérapie (46, 47). En parallèle, CXCL12 est fortement exprimé par les ostéoblastes et les CSM associés à la niche leucémique.

Les clones leucémiques expriment également la protéine VLA-4 qui se lie à son récepteur VCAM-1 situé sur les CSM et les cellules endothéliales (39). Cet axe entraîne l'activation de

la voie de signalisation « *Nuclear factor-kappa B* » (Nf-kB) à leur surface, ce qui favorise leur survie (46).

Bien d'autres chimiokines et facteurs solubles sont retrouvés au sein de la niche leucémique, tels que « *Chemokine (C-X-C motif) Ligand 11* » (CXCL11), « *Chemokine (C-X-C motif) Receptor 2* » (CXCR2), « *Chemokine (C-X-C motif) Receptor 7* » (CXCR7) ou encore « *Lymphocyte Function Associated* » (LFA) (45, 47). Ils sont évoqués au travers de la littérature, leur importance semble plus relative. Ils ne seront pas détaillés au travers de cette revue.

III.2.3.3. Vésicules, « gap-junctions » et nanotubes

A partir de la membrane des CSL et des cellules stromales de la niche leucémique sont libérées des vésicules, nano vésicules ou encore exosomes, contenant des fragments d'ADN, des micro ARN, des transcrits, des médiateurs inflammatoires utiles au fonctionnement de la niche leucémique (47). Ce mode de communication émergent est de plus en plus impliqué dans la progression des leucémies aiguës (49).

Les « *gap-junctions* », constituées d'un assemblage de connexines spécifiques de la niche leucémique, jouent un rôle dans la communication entre les cellules stromales et les cellules leucémiques, et donc par conséquent la reprogrammation métabolique des clones. Cibler la formation de ces « *gap-junctions* » permettrait de réduire la chimiorésistance dans les leucémies aiguës (48).

La communication entre CSL et cellules stromales a également lieu en partie grâce aux nanotubes. Ces nanotubes permettent le transfert de mitochondries depuis le cytoplasme des cellules stromales vers les CSL, en lien avec la phosphorylation oxydative. Les nanotubes induisent aussi une sécrétion importante par les cellules leucémiques de cytokines de survie et de facteurs chimiotactiques. Ce mode de signalisation intracellulaire est impliqué dans la survie, la lutte contre l'apoptose et la chimiorésistance (49).

III.2.3.4. Voies de signalisation

Il existe une rupture dans l'équilibre de voies de signalisation dans la niche leucémique. Ce déséquilibre concerne des voies de signalisation majeures qui régulent les fonctions cellulaires primordiales, avec par conséquent un impact important sur la progression de la maladie. L'activation des voies Notch et Wnt est dérégulée à la surface des clones

leucémiques, notamment dans les LAL. Cela a pour conséquence une augmentation de la cadence des cycles de division cellulaire et donc un accroissement rapide de la masse leucémique (47). L'activation excessive des voies Notch et Wnt stimule la sécrétion de MMPs par les cellules stromales et facilite l'invasion des clones leucémiques (47).

Les données restent peu nombreuses quant aux implications autres de ces mêmes voies de signalisation.

III.2.4. Hypoxie

La majoration de l'hypoxie préexistante au sein de la moelle provient de la structure vasculaire altérée et l'inefficacité des échanges vasculaires. Les CSL se situent au plus près de l'endoste et fonctionnent dans les zones les plus hypoxiques. L'hypoxie stabilise les facteurs de type HIF, notamment le marqueur le mieux caractérisé HIF-1 alpha. HIF-1 alpha stimule les voies de signalisation majeures Notch, la voie phosphoinositide 3-kinase (PI3K) et Wnt à la surface des CSL et active la transcription de gènes relatifs au phénotype souche. L'hypoxie apparaît comme un facteur nécessaire au fonctionnement des CSL (39, 47). Plus généralement, l'hypoxie modifie le transcriptome de gènes en lien avec la progression de la maladie. Ces gènes sont ceux impliqués dans la transition épithéliale-mésenchymateuse pro-invasive, les gènes codant pour des molécules d'adhésion telle que CXCR4, ou encore ceux qui codent pour des facteurs pro-angiogéniques. Ils sont susceptibles d'être impactés de manière variable au cours des leucémies aiguës (47). L'hypoxie est en partie responsable de la reprogrammation métabolique (39). Elle crée un environnement hostile où le manque d'oxygène vient s'ajouter au manque de nutriments, et vient sélectionner les cellules leucémiques les plus aptes à mettre en place des mécanismes de survie.

Les CSL privilégient la phosphorylation oxydative (39) grâce à une plus grande machinerie mitochondriale qu'elles héritent des CSM. Elles produisent ainsi moins de ROS et conservent une meilleure stabilité génétique. A l'opposé, les cellules leucémiques différenciées sont plus actives, plus éloignées des niches endostéales et évoluent donc dans un milieu moins hypoxique. Leurs besoins en adénosine triphosphate (ATP) les forcent à utiliser la glycolyse pour produire leur énergie (39). Il en résulte une augmentation des lactates, une acidification du microenvironnement favorable à l'inactivation des toxiques et à la répression immunitaire. De plus, l'entretien de zones hypoxiques abaisse fortement l'infiltration par les cellules immunitaires qui ont besoin d'oxygène pour fonctionner (39).

L'hypoxie est donc un élément capital, non seulement pour l'entretien du phénotype des CSL et pour l'adaptation métabolique des cellules leucémiques. Elle intervient aussi dans l'altération de la structure et la composition de la niche leucémique.

III.2.5. Neuropathie sympathique

Les leucémies aiguës présentent une altération du contingent nerveux sympathique (39). Cette neuropathie est caractérisée par une perte du nombre de fibres sympathiques adrénergiques sous l'effet de cytokines pro-inflammatoires sécrétées par les clones leucémiques, tel qu'IL-1 (52). Ces fibres, comme cela a été vu précédemment, sont un support trophique pour les CSM Nestine⁺ et les cellules de Schwann, toutes deux indispensables au maintien de la population des CSH. Par conséquent, de cette altération nerveuse résulte une perte de la quiescence des CSM Nestine⁺ et une expansion de leur population sous forme d'ostéoblastes altérés. Ces ostéoblastes ne peuvent plus servir d'ancrage aux CSH. La neuropathie accélère la perte du système hématopoïétique physiologique (45, 46).

III.2.6. Répression immunitaire

L'échappement aux réponses immunitaires antitumorales est crucial pour la progression leucémique. Le rôle des lymphocytes T dans la défense antitumorale est majeur et désormais bien connu. Hors, les études avancent des arguments en faveur d'une dérégulation des lymphocytes T et d'une inhibition de leurs fonctions au cours des leucémies aiguës. Cette répression immunitaire affecte les lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques et les lymphocytes T CD4⁺ régulateurs.

Les lymphocytes T CD8⁺ sont à un stade plus différencié dans la niche leucémique. En comparaison avec les lymphocytes T CD8⁺ du sang périphérique, ils expriment donc des facteurs relatifs au vieillissement cellulaire en quantité plus importante, présentent une réduction de leurs fonctions cytotoxiques et une baisse de leur production de cytokines (45). Dans les LAM, les CSL et autres cellules leucémiques sécrètent en quantité importante des molécules co-régulatrices et co-inhibitrices des lymphocytes T, telles que « *Programmed cell Death Ligand 1* » (PDL1) et « *Cytotoxic T-Lymphocyte Associated protein 4* » (CTLA-4). Ces molécules se lient à leurs récepteurs respectifs « *Programmed cell Death 1* » (PD1) et CD80/86 à la surface des lymphocytes T CD8⁺; elles provoquent un vieillissement prématuré et abaissent leurs fonctions antitumorales (39, 45-47). Le co-régulateur PDL1 est aussi exprimé par les

macrophages et les cellules dendritiques présentatrices d'antigène présents dans la niche leucémique (46, 47). Des facteurs autres produits par les CSL et les clones leucémiques sont capables d'entraver les réponses immunitaires ; les enzymes immunosuppressives comme CD73, CD39, l'argininase II ou encore certaines galectines dégradent les métabolites requis pour le fonctionnement des lymphocytes T CD8⁺ et des macrophages (45). Ces enzymes produisent à leur tour des ROS qui accélèrent le vieillissement des cellules immunitaires présentes dans la niche leucémique.

D'autre part, les CSL et les clones leucémiques produisent des molécules co-stimulatrices qui augmentent le recrutement de lymphocytes T CD4⁺ régulateurs. Cette sous-classe de lymphocytes est impliquée dans la tolérance immunitaire, modulent les effets cytotoxiques des lymphocytes T CD8⁺ et abaissent l'intensité des réponses antitumorales (45) (47). La coopération qui se met en place entre les CSL et les lymphocytes T CD4⁺ régulateurs majore la répression immunitaire.

Les lymphocytes T helper ou Th17, ainsi que d'autres sous-populations lymphocytaires, sont évoquées dans des publications comme acteurs de la répression immune au cours des leucémies aiguës (45, 53). Leur action dépend de leur profil d'expression cytokinique.

Cette répression ou dérégulation immune concerne tout autant les réponses adaptatives que les réponses innées. Les macrophages favorisent la progression des leucémies aiguës, bien que leur rôle ne soit pas suffisamment connu (46).

Le contexte pro-inflammatoire amplifie la répression immune au cours des leucémies aiguës. En effet, les cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 4 (IL-4), TGF-beta et IL-10 exercent un blocage des cytokines anti-inflammatoires INF-gamma et IL-15 sécrétées par les progéniteurs sains restants. En conditions physiologiques, les cytokines anti-inflammatoires servent aux fonctions des lymphocytes T et des cellules « *Natural Killer* » (NK) (39).

Les CSM possèdent quelques fonctions immunitaires. Elles affaiblissent les réponses adaptatives et innées. Leurs enzymes, l'indoleamine 2,3-Dioxygénase 1 (IDO1) (46), l'hème oxygénase 1 (HO-1), les arginases, l'enzyme « *Nitric Oxide Synthase 2* » (NOS2), et leurs facteurs HGF, TGF-beta (47), IL-10, la prostaglandine E2 (PGE2) inhibent la prolifération des lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques et entraînent une expansion du nombre de

lymphocytes T CD4+ régulateurs. Le facteur TGF-beta en particulier induit une réduction du nombre de récepteurs fonctionnels à la surface des cellules NK (39).

A cela s'ajoute la notion que les clones leucémiques n'expriment que faiblement les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH I) et de classe II (CMH II) à leur surface. Elles échappent donc plus facilement à l'action des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques (39).

Ces effets immunosuppresseurs sont susceptibles de varier suivant le type de leucémie aiguë et les régulateurs impliqués. A titre d'exemple, il est cité le marqueur CD200 présent à la surface des clones leucémiques dans les LAM avec translocation t(8 ;21) et son rôle dans la suppression des fonctions des macrophages et des cellules NK. Un second exemple concerne le marqueur CD48 à la surface des clones leucémiques dans les LAM avec inv(16) ; celui-ci se lie directement à la molécule CD244 présent sur les cellules NK et en altère les fonctions. Cet ensemble de mécanismes mis en jeu par les clones leucémiques les protège des cellules immunitaires. Des études ultérieures, autres que chez la souris, sont requises afin d'élucider complètement les acteurs et mécanismes de la répression immunitaire au cours des leucémies aiguës.

III.2.7. Hétérogénéité et plasticité

La composition et les conditions du microenvironnement médullaire diffèrent suivant les zones de la niche leucémique. Cela a une influence sur l'expression génique, le phénotype et le comportement des clones leucémiques. Ce phénomène est à l'origine d'une grande hétérogénéité de populations au sein d'une même masse leucémique (43).

La plasticité est une propriété caractéristique des cellules leucémiques. En effet, le phénotype d'une cellule leucémique est réversible. Elle est capable de changer de phénotype, voire de retrouver un statut souche par une reprogrammation cellulaire. Cette plasticité dépend des conditions du microenvironnement, est sous-tendue par des facteurs épigénétiques et permet le maintien du pool des CSL à tout prix afin de perpétuer le développement de la maladie (43).

III.2.8. Conclusion

Les leucémies aiguës requièrent de nombreux mécanismes quant au fonctionnement de la niche leucémique. Ces mécanismes préexistent pour la plupart dans la niche hématopoïétique physiologique et sont exploités par les cellules leucémiques. A terme, il se produit un remodelage complet de la niche, aussi bien structurel et fonctionnel, qui impacte cellules saines et stroma. Cela conduit à une destruction irréversible de la niche avec suppression de la fonction hématopoïétique physiologique (Figure 19).

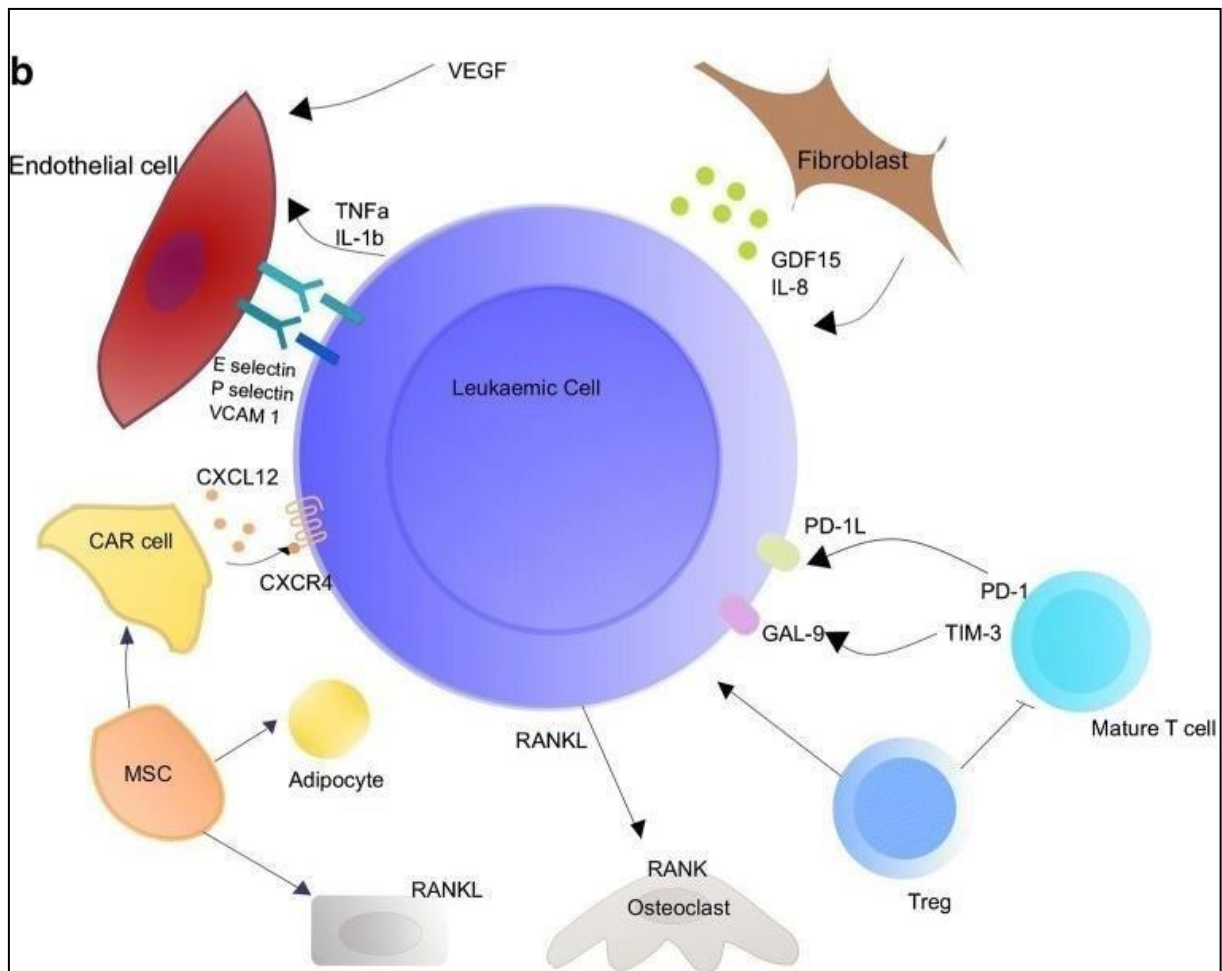


Figure 19 : Schéma résumant les interactions entre les clones leucémiques et les constituants de la niche leucémique.

D'après Ladikou, E. E., et al. 2020 (45).

IV. Physiopathologie des douleurs osseuses : métastases osseuses et leucémies aiguës

IV.1. Résorption osseuse

IV.1.1. Acteurs et mécanismes de la résorption osseuse physiologique

Au sein du tissu osseux, les ostéoblastes synthétisent et minéralisent la matrice de l'os en y incorporant de nombreux facteurs, tels que « *Bone Morphogenic Protein* » (BMP), « *Insulin Growth Factor 1* » (IGF-1), et TGF-beta. Les ostéoclastes ont une action contraire et sont chargés de résorber l'os grâce à la production de diverses enzymes, comme des MMP ou la cathepsine K. La résorption libère les facteurs inclus dans la matrice osseuse, qui agissent en retour sur les cellules stromales immatures de la moelle pour produire de nouveaux ostéoblastes. Ostéoblastes et ostéoclastes agissent selon un équilibre qui peut être modifié aux besoins de l'organisme.

L'action de résorption et de renouvellement du tissu osseux est rendue possible grâce au système RANKL/RANK/Ostéoprogérine (OPG). Lorsque RANKL situé sur la membrane ostéoblastique rencontre le récepteur RANK à la surface des ostéoclastes, l'activation du facteur de transcription Nf-kB stimule la formation et l'activité des ostéoclastes. L'activation RANKL/RANK/Nf-kB est régulée par l'OPG sécrétée par les précurseurs ostéoclastiques ; cette protéine a une action négative sur l'ostéoclastogénèse puisqu'elle bloque le récepteur RANK pour empêcher la liaison avec son ligand (55).

IV.1.2. Métastases osseuses des tumeurs solides

Les métastases osseuses correspondent à une interaction locale entre les cellules malignes disséminées dans la cavité médullaire et le microenvironnement osseux. Elles exploitent le système RANKL/RANK, ce qui se traduit par un déséquilibre de l'homéostasie du tissu osseux.

En ce qui concerne les métastases ostéolytiques, il existe une forte ostéoclastogénèse et une importante résorption osseuse d'un point de vue histologique. Et pour cause, les cellules tumorales modulent les fonctions des ostéoclastes, mais n'exercent pas de résorption à proprement parler. Elles libèrent dans un premier temps la protéine apparentée à l'hormone parathyroïdienne (PTHrP). La PTHrP augmente l'expression de RANKL à la surface des ostéoblastes et cellules stromales, et réduit la synthèse d'OPG. RANKL active les ostéoclastes dans le voisinage immédiat de la micrométastase. D'autres cytokines tumorales

ont également un effet positif sur la fonction des ostéoclastes et sur la résorption, à savoir IL-1, IL-6, « *Tumor Necrosis Factor* » (TNF), « *Transforming Growth Factor alpha* » (TGF-alpha), et quelques prostaglandines. La résorption libère les facteurs de la matrice osseuse IGF-1, BMP, TGF-beta, du calcium et du collagène. Les fragments de collagène libérés depuis la matrice osseuse ont un pouvoir chimiotactique vis à vis des cellules tumorales circulantes, augmentent leur recrutement vers la moelle osseuse. TGF-beta est un puissant promoteur de la croissance tumorale et stimule à son tour la synthèse de la PTHrP. Cellules malignes et cellules ostéogéniques fonctionnent ainsi selon une boucle de rétroaction-positive qui stimule la résorption de l'os et accroît la taille de la métastase, notamment dans les cancers du sein et du poumon.

Dans les métastases ostéocondensantes, les cellules malignes synthétisent la PTHrP, mais aussi IL-8 et d'autres protéases diverses qui favorisent l'invasion tumorale. A nouveau, la PTHrP stimule les ostéoblastes et initie la résorption osseuse. Les facteurs TGF-beta, IGF-1 et « *Insulin Growth Factor 2* » (IGF-2), « *Fibroblast Growth Factor* » (FGF), BMP, et l'endothéline 1 sont libérés par les cellules tumorales, en particulier dans les cancers de prostate. Ces facteurs activent les ostéoclastes et recrutent les ostéoblastes à proximité du foyer métastatique. A ce moment-là, les protéases tumorales inactivent en partie la PTHrP, clivent et libèrent « *Insulin Growth Factor* » (IGF) actif, ce qui augmente indirectement l'activité mitotique des ostéoblastes ainsi que la croissance des cellules malignes. Les ostéoblastes néo formés produisent à leur tour IL-6 et TGF-beta et concourent à la prolifération des cellules malignes et la croissance des métastases. Les métastases ostéocondensantes allient une stimulation de la l'activité des ostéoblastes en plus de l'ostéoclastogenèse. Le remodelage est en faveur d'une néoformation osseuse.

Les interactions entre cellules tumorales et cellules ostéogéniques fonctionnent selon un cercle vicieux sensiblement identique dans les deux types de métastases. La présence de cellules tumorales dans la moelle osseuses déséquilibre les taux de cytokines au profit de la destruction du tissu osseux. Ces mécanismes sont impliqués dans la survenue des douleurs osseuses métastatiques (55, 56).

IV.1.3. Résorption osseuse locale et systémique des tumeurs solides

En dehors du foyer métastatique où les facteurs et cytokines induisent une résorption osseuse locale, les publications rapportent que bon nombre de ces cytokines inflammatoires sont retrouvées à des taux plasmatiques circulants significatifs. Leurs effets sur la résorption osseuse pourraient s'étendre à l'échelle systémique, bien que ce ne soit pas explicitement

exprimé à travers la littérature. C'est d'ailleurs le cas de bon nombre de maladies inflammatoires. Certaines arthrites entraînent une résorption osseuse accrue localement sur le site de l'inflammation sous l'effets des facteurs RANKL, TNF, PGE2, PTHrP, IL-1, IL-6, et IL-17, mais aussi à distance des articulations atteintes. Les lésions et douleurs osseuses articulaires s'accompagnent donc parfois d'une ostéoporose plus généralisée. Ainsi, il n'est pas aberrant de penser que les douleurs osseuses provoquées par la dissémination de cellules malignes dans la moelle osseuse puissent inclure une composante systémique liée au passage des facteurs inflammatoires dans la circulation (55, 57). D'autant plus que les cellules immunitaires associées aux tumeurs expriment RANKL/RANK. En passant dans la circulation générale, ces cellules pourraient être en partie la cause d'une ostéolyse plus généralisée (Figure 20).

Enfin, il est bien connu que certaines tumeurs solides s'accompagnent classiquement d'un syndrome tumoral. Les facteurs sécrétés par la tumeur primaire, comme la parathormone (PTH) et la PTHrP agissent *via* la circulation générale et peuvent être source de lésions et de douleurs osseuses.

I.1.1. Résorption osseuse des leucémies aiguës

Les leucémies aiguës sont caractérisées par une altération du turnover osseux centrée sur le système RANKL/RANK, en particulier dans les phénotypes lymphoblastiques, et est en cause dans les douleurs. La perte osseuse est confirmée par la diminution des marqueurs sériques de formation osseuse et l'augmentation des marqueurs urinaires de la résorption osseuse. Les analyses histomorphologiques sur biopsie de patients leucémiques témoignent d'ailleurs de cette rupture de l'homéostasie osseuse de par la diminution de l'épaisseur des corticales osseuses, des trabécules de l'os spongieux et de par une baisse de la densité minérale dans les leucémies aiguës (58, 59, 66).

Dans les LAL, la résorption osseuse est le plus souvent dépendante de la PTHrP (63), bien que son rôle exact ne soit pas totalement connu (63, 67). Pour illustrer ce propos, une étude rapporte le cas d'une patiente de trente-sept ans, avec douleurs vertébrales associées à des lésions osseuses lytiques dans un contexte de LAL ; la PTHrP sérique était mesurée à des taux significatifs, ce qui suggère son rôle dans la résorption et les douleurs leucémiques (60). De façon similaire, une autre patiente de soixante-sept ans atteinte de LAL a montré une PTHrP sérique accrue, probablement en cause dans la résorption et les douleurs osseuses qui

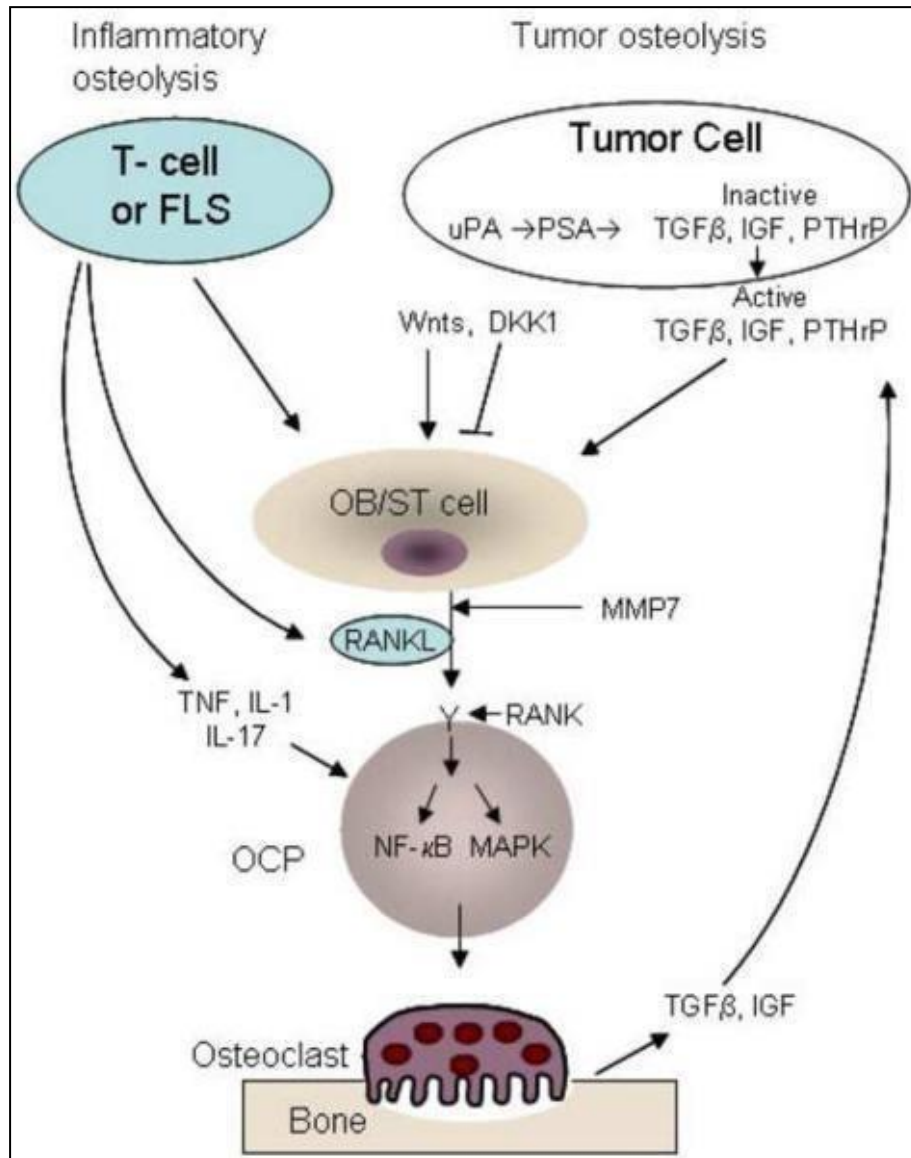


Figure 20 : Illustration des acteurs impliqués dans la résorption des métastases osseuses tumorales et la résorption osseuse en réponse à une réaction inflammatoire systémique.

D'après Abu-Amer, Y. 2009 (57).

en découlaient selon l'étude (61). Il en va de même pour d'autres cas de LAL pédiatriques; par ailleurs, chez ces enfants, la PTHrP a pu être mise en évidence directement au sein des clones leucémiques par technique immunohistochimique (64).

La PTHrP stimulent la synthèse de RANKL à la surface des ostéoblastes et tend augmenter l'activité des ostéoclastes. RANKL est aussi parfois directement synthétisé par les clones leucémiques (66) (Figure 21).

La PTHrP n'est malheureusement pas toujours retrouvée dans le sérum des patients leucémiques (77). D'autres facteurs et cytokines sont impliquées dans la résorption osseuse au cours des LAL, mais ces mécanismes indépendants de la PTHrP restent moins bien caractérisés (67, 69). Ces facteurs concourent à la résorption osseuse en agissant en synergie avec la PTHrP (69). Ils sont retrouvés de manière variable chez les patients étudiés. Un exemple parlant est celui d'un cas de LAL chez une femme de cinquante-trois ans présentant des lésions lytiques multiples. Les facteurs IL-6, TNF-alpha et le récepteur soluble à l'interleukine 2 (IL-2) retrouvés dans le sérum de la patiente sont possiblement impliqués dans la résorption osseuse (68). D'autre part, quatre cas pédiatriques de patients atteints de LAL décrivent des lésions ostéolytiques extensives et des taux sériques de TNF-alpha, IL-6, « *Macrophage-colony stimulating factor* » (M-CSF) ou encore de prostaglandine E2 accrus (67, 69, 70). Des études *in vitro* montrent que la prostaglandine E2 est directement fabriquée au sein des clones leucémiques (69). Pourtant, la PTHrP n'était détectable que dans le sérum d'un seul de ces quatre patients (70). Tous ces facteurs sont connus pour leur rôle pro- résorption osseuse et semblent coopérer dans la résorption osseuse au cours des LAL (70, 71).

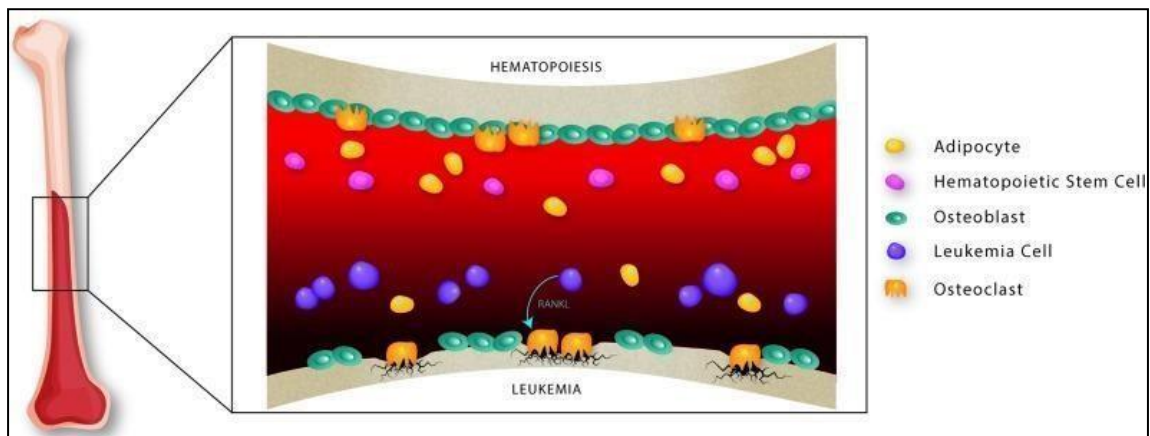


Figure 21 : Représentation schématique du microenvironnement médullaire dans un contexte de LAL. Lors de l'invasion par les blastes exprimant RANKL, il en résulte une augmentation de la résorption osseuse médiée par le récepteur RANK des ostéoclastes, ainsi qu'une réduction du nombre d'ostéoblastes et des adipocytes.

D'après Kotecha, R. S., et al. 2019 (66).

Les acteurs de la résorption osseuse sont souvent bien mieux identifiés dans d'autres hémopathies malignes et leur connaissance a servi de point de départ quant à l'investigation des acteurs responsables de la résorption et des douleurs osseuses dans les leucémies aiguës (65, 77). Ainsi, les plasmocytes sécrètent localement RANKL, TNF-alpha, IL-6 et MIP-1 alpha responsables de lésions ostéolytiques caractéristiques du myélome multiple (73). Certains lymphomes entraînent également une résorption osseuse localisée, suivie d'une infiltration de l'os avec risque de saignement intra-médullaire et nécrose secondaire (72, 76) (77). Dans d'autres cas, les lymphomes peuvent s'accompagner d'une augmentation paranéoplasique de la PTHrP, de MIP-1 alpha, RANKL, TNF-alpha, « *Tumor Necrosis Factor beta* » (TNF-beta), IL-1, IL-6, de la prostaglandine E2, des analogues de la vitamine D et induisent une résorption osseuse à médiation humorale (73, 74). Les analyses immunohistochimiques menées *in vitro* sur cellules lymphomateuses révèlent la présence directe de PTHrP au sein des clones pathologiques (74). Dans les lymphomes T, RANKL agit en association avec M-CSF pour stimuler l'activité des ostéoclastes (75). D'autre part, la PTHrP a pu être mesurée à des taux significatifs dans le sérum cours d'une jeune patiente de quatorze ans atteinte de leucémie lymphocytaire avec lésions ostéolytiques multiples. La PTHrP a d'ailleurs été mise en évidence comme directement synthétisée par les clones lymphocytiques grâce à une analyse immunohistochimique complétée d'une « *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* » (RT-PCR) chez deux patients (62, 76). La LLC en phase avancée de la maladie entraîne une augmentation des taux sériques de TNF-alpha (73). Enfin, la littérature rapporte également des taux sériques de PTHrP augmentés dans des cas de LMC en phase blastique et notamment la présence de PTHrP détectée dans le milieu de culture des clones (78).

Les données quant aux mécanismes physiopathologiques de la résorption osseuse dans les leucémies aiguës sont plus controversées et plus éparpillées que celles disponibles pour les tumeurs solides métastatiques. En effet, l'investigation des acteurs de la résorption nécessite que ceux-ci soient décelables et mesurables biologiquement. Hors, les techniques de dosage disponibles ne sont pas toujours adaptées pour ce type d'analyse, ou bien les facteurs mesurés ne donnent pas toujours de valeurs significatives. C'est le cas d'un patient de vingt-quatre ans chez qui a été posé le diagnostic de LAL pré-B ; l'absence de technique fiable dans la détection des facteurs impliqués dans la résorption osseuse ne permet donc pas d'expliquer ces mécanismes avec exactitude (72). Un autre cas concerne un enfant de huit mois atteint d'une LAM mégacaryocytaire chez qui la PTHrP sérique n'a pas pu être mesurée (79). Dans ces

deux cas, les dosages des facteurs suspectés comme responsables des lésions et douleurs osseuses n'ont pas été probants.

Les mécanismes et facteurs impliqués dans la résorption osseuse des leucémies aiguës ne sont donc pas bien identifiés (72). Peu de cas ont pu être investigués, contrairement aux autres hémopathies malignes comme le myélome multiple ou le lymphome. Aucun mécanisme concernant les rares lésions ostéocondensantes ne sont décrits.

IV.1.5. Résorption osseuse locale et systémique des leucémies aiguës

Les douleurs osseuses des leucémies aiguës résultent très probablement d'un mécanisme d'action local des facteurs de la résorption (80). Une résorption accrue est souvent le résultat d'une prolifération importante des clones leucémiques (81). Néanmoins, certaines publications interrogent sur cette dualité des modes d'action, à la fois locaux et systémiques, des facteurs de la résorption osseuse (80). Ainsi, chez un patient de dix-huit ans, l'immunohistochimie positive réalisée sur moelle témoigne de la présence de RANKL, MIP-1 alpha et « *Macrophage Inflammatory Protein 1 beta* » (MIP-1 beta) au sein des clones pathologiques. Ces analyses témoignent de l'interaction probable entre les clones et les ostéoclastes. Malgré cela, les auteurs de cet article précisent qu'il ne peut être exclu un mécanisme humoral d'activation de la résorption osseuse (80). Par ailleurs, comme décrits précédemment, nombreux sont les cas de leucémies aiguës pour lesquels on retrouve les facteurs de résorption dans le sérum des patients, qui présentent pour certains des lésions ostéolytiques parfois disséminées, voire une déminéralisation extensive.

Toutes ces données laissent à penser que les leucémies aiguës pourraient occasionner des douleurs osseuses exacerbées par un mécanisme d'activation humorale ou systémique, c'est-à-dire une activation des ostéoclastes à distance du foyer leucémique, médiée par la circulation générale.

IV.1.6. Conclusion

Le concept de métastases osseuses est connu et bien décrit comme une destruction locale résultant d'une interaction entre les cellules malignes et le microenvironnement osseux. Les lésions sont lytiques, condensantes ou mixtes et responsables de douleurs osseuses dans les tumeurs solides. Il est probable qu'il existe une diffusion des facteurs impliqués dans les lésions

osseuses à travers la circulation générale. Ainsi, les douleurs osseuses seraient alors médiées par des mécanismes à la fois locaux et systémiques. Les mécanismes exacts responsables des lésions lytiques et les douleurs osseuses associées aux leucémies aiguës sont moins connus.

Dans tous les cas, il existe une certaine analogie des mécanismes de résorption dans les tumeurs solides métastatiques et les leucémies aiguës. Le système RANKL/RANK reste au carrefour de ces lésions et douleurs osseuses. Dans les leucémies aiguës, on décrit essentiellement une stimulation ostéoclastique locale *via* la PTHrP à laquelle s'ajoutent les effets d'autres cytokines sécrétées par les clones leucémiques. Leur action systémique reste discutable. Aucune donnée n'est disponible quant aux lésions ostéocondensantes.

IV.2. Inflammation et sécrétome

IV.2.1. Métastases osseuses

Les cellules et constituants du microenvironnement médullaire forment un environnement permissif pour la croissance des métastases osseuses et sont plus ou moins directement en lien avec les douleurs osseuses (82) (Figure 22).

Pour commencer, les cellules ostéogéniques jouent un rôle majeur dans les lésions et les douleurs osseuses métastatiques, comme décrit précédemment. Les ostéoblastes adoptent un comportement pro-tumoral. Ils expriment CXCL12, facteur chimiotactique et d'adhésion cellulaire. Ils facilitent la colonisation de la moelle par les cellules malignes circulantes possédant le récepteur CXCR4 et leur ancrage au niveau de l'endoste. Les ostéoblastes expriment à leur surface des E et N cadhérines en présence des cellules tumorales, ce qui régule leur dormance et leur persistance au sein de la moelle. Ils sécrètent les facteurs RANKL, mais aussi IL-6, « *Macrophage Inflammatory Protein 2* » (MIP-2) et VEGF à des taux cinquante fois supérieurs en présence de cellules malignes. Cela leur confère non seulement un rôle dans le recrutement des précurseurs ostéoclastiques, mais cela amplifie aussi leur action de résorption. Les ostéoblastes sont des régulateurs de l'ostéoclastogenèse. Ils interviennent dans l'angiogenèse et la survie des cellules malignes grâce à leurs nombreux récepteurs cytokiniques. Ils réorganisent la matrice osseuse, déstructurent les molécules de jonction entre les cellules ostéogéniques et suppriment l'alignement normal des fibres de collagène, ce qui fragilise la matrice osseuse et la rend plus sensible aux lésions osseuses.

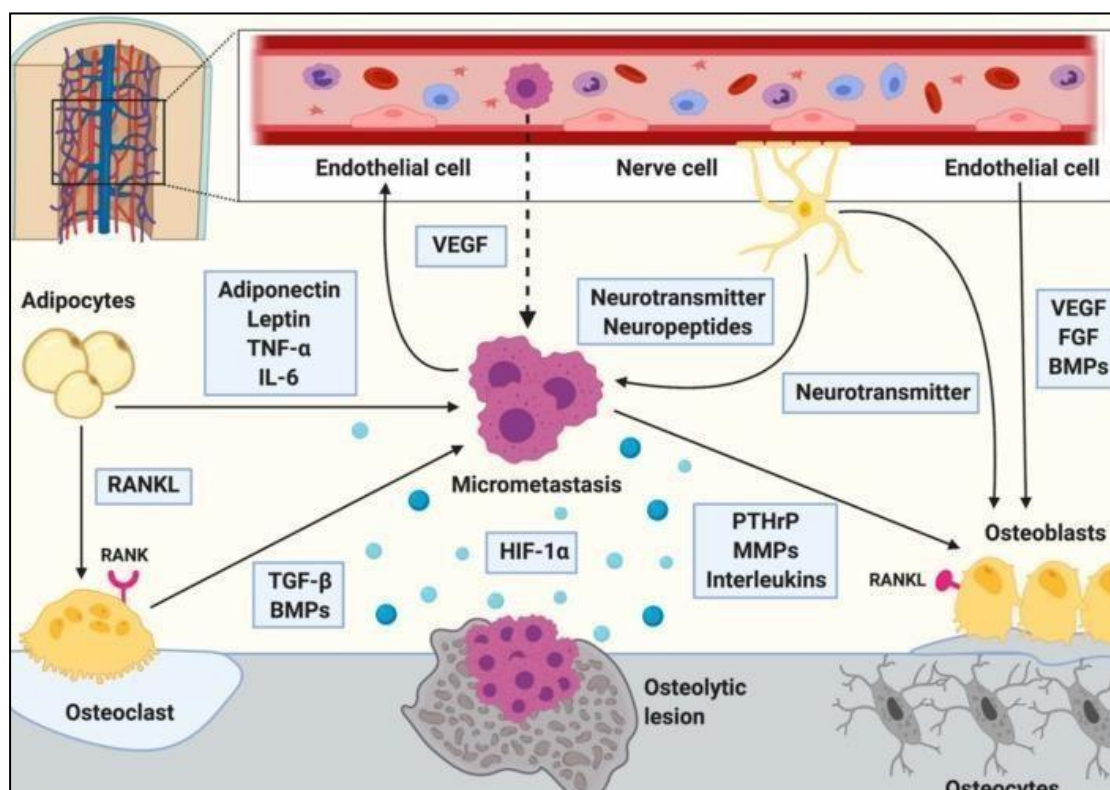


Figure 22 : Schéma illustrant les interactions entre la métastase osseuse et les constituants médullaires. La présence de cellules malignes dans la moelle rompt l'équilibre du milieu et induit la sécrétion de nombreux facteurs de croissance, cytokines et chimiokines. Les ostéoblastes expriment le RANKL qui se lie au récepteur RANK des ostéoclastes. Les ostéoclastes matures résorbent l'os et libèrent alors les facteurs contenus dans la matrice (TGF-beta, BMP). TGF-beta stimule les précurseurs ostéoclastiques et les cellules malignes. Les adipocytes expriment RANKL. Ils produisent aussi la leptine, l'adiponectine, TNF-alpha et Il-6. Les cellules tumorales se localisent souvent près des cellules endothéliales et sécrètent VEGF, stimulent l'angiogenèse. Les cellules endothéliales supportent la différenciation ostéoblastique grâce au VEGF. Les cellules nerveuses entourent les vaisseaux, libèrent des neuromédiateurs et neuropeptides nécessaires au fonctionnement des ostéoblastes et des cellules malignes. L'hypoxie favorise la croissance tumorale via la stabilisation de HIF-1 alpha. Les cellules tumorales favorisent leur propre croissance par la sécrétion de VEGF, PTHrP, de MMP et d'interleukines qui agissent sur les ostéoblastes.

D'après Zarrer, J., et al. 2020 (82).

La population des ostéoblastes est plus importante en phase métastatique précoce. Au contraire, elle est plus enclin à une apoptose et une baisse de la différenciation en phase tardive de la maladie (82, 83). L'ensemble des mécanismes attribués aux ostéoblastes, bien que plus ou moins connus, suggèrent leur capacité à décupler le potentiel invasif et la destruction osseuse par les cellules tumorales métastatiques.

Les ostéoclastes, comme vu au préalable, sont responsables de la résorption et de la libération des facteurs TGF-beta et BMP, qui stimulent en retour la croissance des métastases dans les phases précoces de l'invasion osseuse (82).

Les ostéocytes ont un rôle probable dans le développement des métastases *via* l'expression de CXCL12, mais ce rôle reste à élucider (82).

Les adipocytes médullaires contribuent au métabolisme tumoral. Ils facilitent la survie des cellules malignes et indirectement l'invasion de l'environnement médullaire. Ils peuvent sécréter les facteurs d'adhésion « *Chemokine (C-C motif) Ligand 1* » (CXCL1), « *Chemokine (C-C motif) Ligand 2* » (CXCL2), CXCL12, les cytokines pro-inflammatoires Il-6, TNF-alpha, et des adipokines. Tous ces médiateurs adipocytaires jouent un rôle dans la migration des cellules malignes et la croissance des métastases. Ils expriment RANKL et influencent la résorption par les ostéoclastes (82).

Les cellules tumorales sont pro-angiogéniques et entraînent un réarrangement vasculaire qui facilite leur colonisation au sein de la moelle. Les sinusoides médullaires expriment CXCL12 et la E séllectine qui favorisent l'invasion et la dormance des cellules tumorales dans la moelle. La proximité vasculaire des foyers métastatiques montre que les vaisseaux sanguins ont un rôle essentiel dans la suppléance en oxygène et en nutriments des cellules tumorales. Les vaisseaux nouvellement formés synthétisent du TGF-beta et des protéines de la matrice extracellulaire, la matrice étant nécessaire à la dissémination et la progression des cellules malignes au sein de la cavité médullaire. Les cellules endothéliales sont un support trophique pour les ostéoblastes de par la sécrétion de VEGF, BMP et FGF.

La vascularisation médullaire et les cellules endothéliales participent au bon fonctionnement des cellules tumorales et indirectement aux douleurs osseuses (82).

L'hypoxie stabilise HIF-1 alpha et entraîne la synthèse de VEGF, de MMPs et de CXCR4 par les cellules tumorales. Elle agit donc en faveur de la croissance des cellules malignes, d'une néoangiogenèse, d'un remodelage de la matrice extracellulaire et d'une

meilleure adhésion des cellules malignes au microenvironnement médullaire. L'hypoxie apparaît comme un élément capital dans le développement des foyers métastatiques et des douleurs osseuses (82).

Les métastases de tumeurs solides se caractérisent par un détournement de fonctions des cellules immunitaires présentes dans la moelle osseuse. Cela leur permet d'échapper à la surveillance immunitaire antitumorale. Les cellules immunitaires modifient leurs actions, leur sécrétome et interfèrent positivement avec la croissance des métastases (Figures 23 et 24). Les lymphocytes T CD4⁺ régulateurs produisent un panel de cytokines inflammatoires que sont IL-6, IL-11, IL-15, TNF-alpha ; elles recrutent les lymphocytes T CD8⁺ afin qu'ils soient plus amplement inhibés. Certaines populations de lymphocytes T CD4⁺ régulateurs sont en nombre accru. Leur trafic au sein de la moelle est fortement lié à leur expression de CXCR4. Ils sont une source importante de RANKL et deviennent acteurs de la résorption osseuse (84). Les lymphocytes T CD4⁺ helpers expriment aussi RANKL, activent l'ostéoclastogenèse. En réponse au TGF-beta libéré par la matrice osseuse, ils se différencient en lymphocytes T CD4⁺ régulateurs et contribuent à la résorption (84). Les cellules NK, au contact des foyers métastatiques, expriment les complexes « *N-glycans of core2 $\beta(1,6)$ -N-acetylglucosaminyltransferase* » (C2GnT) et « *Casitas B-lineage lymphoma proto-oncogene b* » (Cbl-b) qui diminuent leur activité antitumorale. De plus, l'environnement pro-inflammatoire riche en IL-10, TGF-beta et en ROS entraine un déséquilibre dans le fonctionnement des signaux des cellules NK et abaisse davantage leur pouvoir antitumoral (84). Les macrophages associés aux tumeurs acquièrent un phénotype M2 pro-tumoral. Ils produisent IL-10, TGF-beta. Ils deviennent immunosuppresseurs et inhibent l'activité des lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques et lymphocytes T CD4⁺ régulateurs. Ils augmentent le potentiel invasif tumoral (84). Les cellules dendritiques produisent dans ce contexte TGF-beta, IL-10, du NO, l'argininase I et probablement d'autres enzymes. Ces médiateurs sont favorables à l'immunosuppression, au recrutement des lymphocytes T CD4⁺ régulateurs et dans une moindre mesure à la stimulation de lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques. Leur rôle antitumoral nécessite des investigations supplémentaires (84). Enfin, les neutrophiles de phénotype tumoral N2 ainsi que d'autres cellules issues des lignées myéloïdes, sécrètent CXCR4, VEGF, la métalloprotéase matricielle 9 (MMP9), TGF-beta, du NO et l'argininase I. Ces cellules s'agglutinent dans la moelle tumorale et potentialise le pouvoir d'invasion des cellules malignes (84, 85).

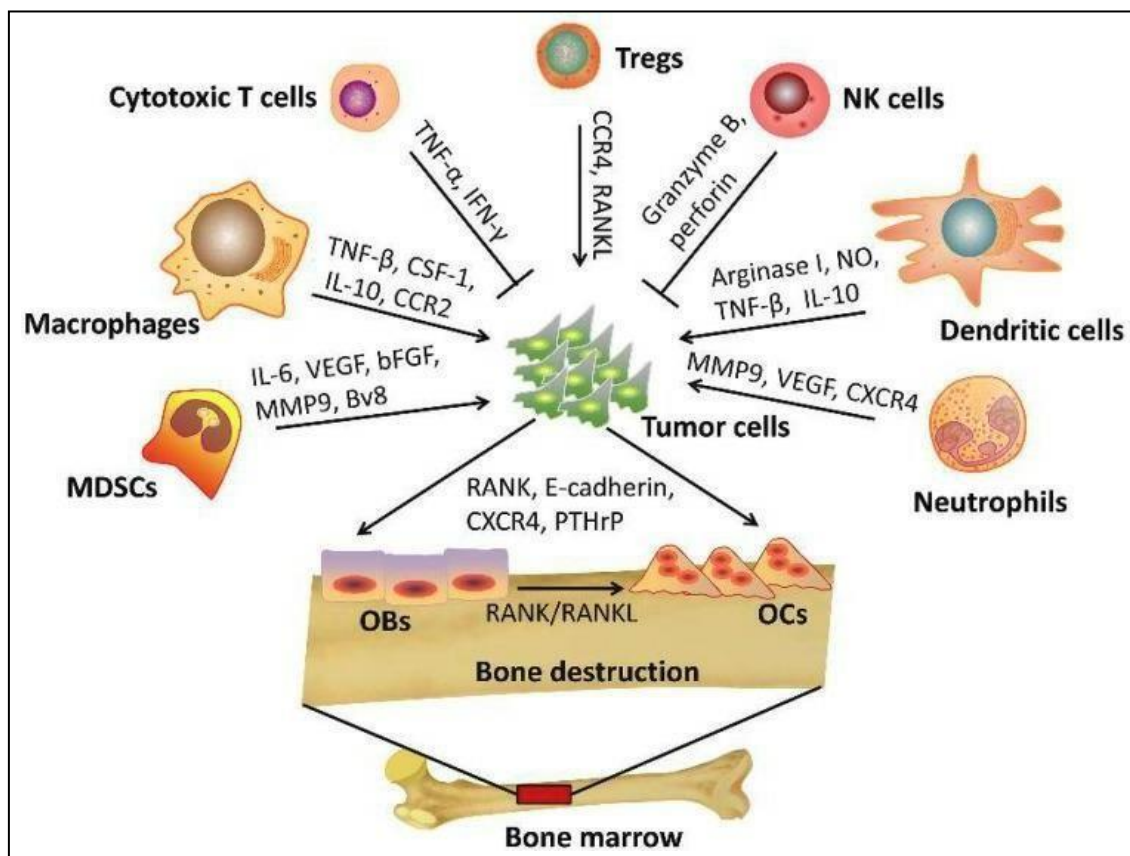


Figure 23 : Schéma représentant les interactions entre les cellules malignes et les cellules immunitaires dans le voisinage proche des foyers métastatiques osseux. Les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques libèrent TNF-alpha et IFN gamma afin d'éliminer les cellules tumorales. Les cellules NK ont aussi une action antitumorale grâce à l'action du granzyme B et des perforines pro-apoptotiques. L'action des lymphocytes T cytotoxiques et des cellules NK est inhibée par la tumeur. Les lymphocytes T CD4+ régulateurs favorisent l'invasion osseuse grâce à l'expression des chimiokines CXCR4 et RANKL. Les macrophages associés aux tumeurs favorisent l'invasion médullaire via le CSF. Ils sécrètent de forts taux d'IL-10 et TGF- beta qui diminuent l'activité des lymphocytes CD8+ et CD4+. Les cellules dendritiques suppriment les fonctions cytotoxiques des lymphocytes CD8+ en produisant l'arginase I, le NO, TGF-beta, IL-10. Ils favorisent la progression tumorale au sein de la moelle. Les suppresseurs dérivés des lignées myéloïdes libèrent des cytokines, incluant IL6, VEGF, MMP9 et facilitent la progression cancéreuse et le développement des métastases osseuses. Les neutrophiles N2 pro- tumoraux relarguent CXCR4, VEGF et MMP9 également. Les cellules malignes elles-mêmes expriment les récepteurs RANK, CXCR4, la cadherine E et la protéine PTHrP et induisent une résorption osseuse.

D'après Xiang, L., et al. 2019 (84).

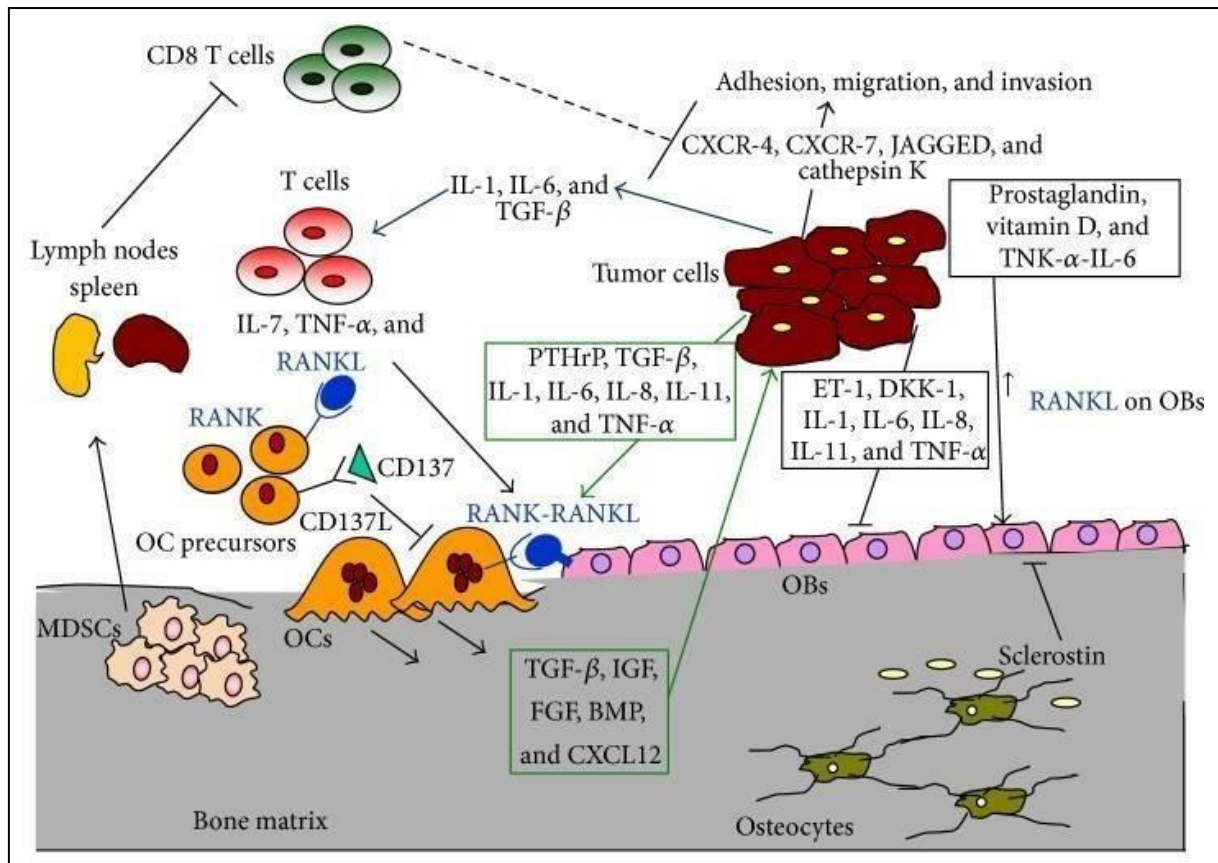


Figure 24 : Interactions entre le tissu osseux, les cellules malignes et les cellules immunitaires au sein d'un foyer métastatique. Les tumeurs libèrent un large panel de cytokines qui activent les lymphocytes T et induit leur production de facteurs de l'ostéoclastogénèse, tels que RANKL. En retour, les facteurs contenus dans la matrice osseuse sont libérés lors de la résorption et agissent positivement sur la croissance des cellules tumorales. Les cellules immunitaires dérivées des lignées myéloïdes migrent vers les organes lymphoïdes secondaires où elles inhibent les réponses antitumorales des lymphocytes T CD8+. A leur tour les cellules tumorales sécrètent des facteurs qui activent l'ostéolyse. L'ensemble de ces mécanismes forment une boucle de rétroaction positive favorable à la croissance des métastases osseuses.

D'après D'Amico, L., et al. 2015 (85).

En conclusion quant au sécrétome associé aux métastases osseuses, la présence de cellules malignes dans la moelle osseuse entraîne la création d'une niche tumorale unique. Cet environnement est très largement imputable à la progression des foyers métastatiques et donc aux douleurs osseuses. Les acteurs cellulaires qui constituent l'environnement des métastases osseuses contribuent plus ou moins directement à la destruction osseuse et aux douleurs osseuses métastatiques.

IV.2.2. Leucémies aiguës

Le microenvironnement médullaire propre aux leucémies aiguës, ou niche leucémique comme décrite précédemment, est empreint à des modifications qui permettent la progression de la maladie leucémique et participent probablement les douleurs osseuses (86). Les ostéoblastes expriment CXCL12. Les clones leucémiques expriment CXCR4 et adhèrent à l'endoste en phase précoce de la maladie. Les adipocytes se comportent comme des cellules pro-tumorales. Ils fournissent des acides gras comme substrat énergétique aux cellules leucémiques. Ils synthétisent CXCL12 et maintiennent une proximité avec les cellules leucémiques possédant CXCR4 à leur surface. Les fibroblastes produisent IL-8, des facteurs pro-angiogéniques, des protéines matricielles, des facteurs d'adhésion de type CCL et CXCL et construisent ainsi un stroma protecteur, un support d'ancrage et de migration pour les clones leucémiques.

Le réseau vasculaire est en relation étroite avec les clones leucémiques grâce aux protéines E-sélectine et VLA4. Les cellules leucémiques sécrètent les facteurs angiogéniques VEGF, Ang-1 et Ang-2. Ces facteurs agissent selon un mode d'action paracrine quant à la croissance des cellules endothéliales, mais aussi autocrine pour assurer la survie des cellules leucémiques elles-mêmes.

Les clones leucémiques ont un rôle sécrétoire important. Ils expriment les molécules d'adhésion CXCR4, VCAM-1 et adhèrent aux constituants de l'environnement. Ils sécrètent dans leur milieu des MMP qui dégradent la matrice et favorisent leur progression dans la moelle. Ces clones fabriquent les facteurs IGF-1, MIF, IL-8 nécessaires à leur survie et leur prolifération, ainsi que des enzymes protectrices qui inhibent les fonctions immunitaires.

Les CSM ont un rôle tout particulier dans la niche leucémique. Elles induisent une perte osseuse tardive, indépendamment de la résorption médiée par le système RANKL/RANK. Les mécanismes physiopathologiques et facteurs impliqués dans cette perte ostéoblastique ne sont pas déterminés avec exactitude et la plupart des données sur le remaniement des ostéoblastes proviennent d'études portant sur d'autres hémopathies malignes, en particulier la LMC en phase leucémique (86). Dans la LMC, les clones malins sécrètent les facteurs CCL3 et la TPO, établissent des contacts directs avec les CSM Nestine+. En réponse à ces stimuli, les CSM perdent leur phénotype souche, rompent leur quiescence ; leur population augmente et se différencie en ostéoblastes pendant la phase précoce de la maladie. Ces ostéoblastes sont altérés, ne peuvent achever une différenciation correcte et ne peuvent plus servir de support aux CSH. Ils sont également pro-inflammatoires et accompagnent la fibrose médullaire (86, 90, 93) (Figure 25). Ces mécanismes varient suivant le type d'hémopathie. Dans les LAM et certaines LAL de phénotype B, le facteur CCL3 associé à une augmentation des ROS dans les CSM Nestine+ sont potentiellement impliqués dans la régulation de leur quiescence (86, 89, 90, 92). Concernant certaines LAL notamment de sous-type T, les publications rapportent un arrêt de la différenciation, une apoptose ou parfois une sénescence comme responsable d'une diminution très rapide des ostéoblastes (86, 91). Les mécanismes de destruction des niches endostéales sont susceptibles de varier suivant le sous-type de LAL (86). D'autres cytokines telles que « *Chemokine (C-C motif) Ligand 2* » (CCL2), IL-2, IL-6, IL-8 ou encore des exosomes sont des médiateurs potentiellement libérés par CSM Nestine+ au contact des clones leucémiques. Ce type de réponse facilite la survie, la prolifération et les contacts intercellulaires entre les clones leucémiques et les CSM Nestine+ (88, 89, 91).

En dépit de ces mécanismes mal connus, il existe bel et bien une perte ostéoblastique leucémies aiguës, tout comme dans les métastases osseuses, et qui pourrait contribuer aux douleurs osseuses. Cette perte ostéoblastique apparaît plutôt en phase tardive dans les LAM, mais semble bien plus rapide et drastique dans les LAL (86).

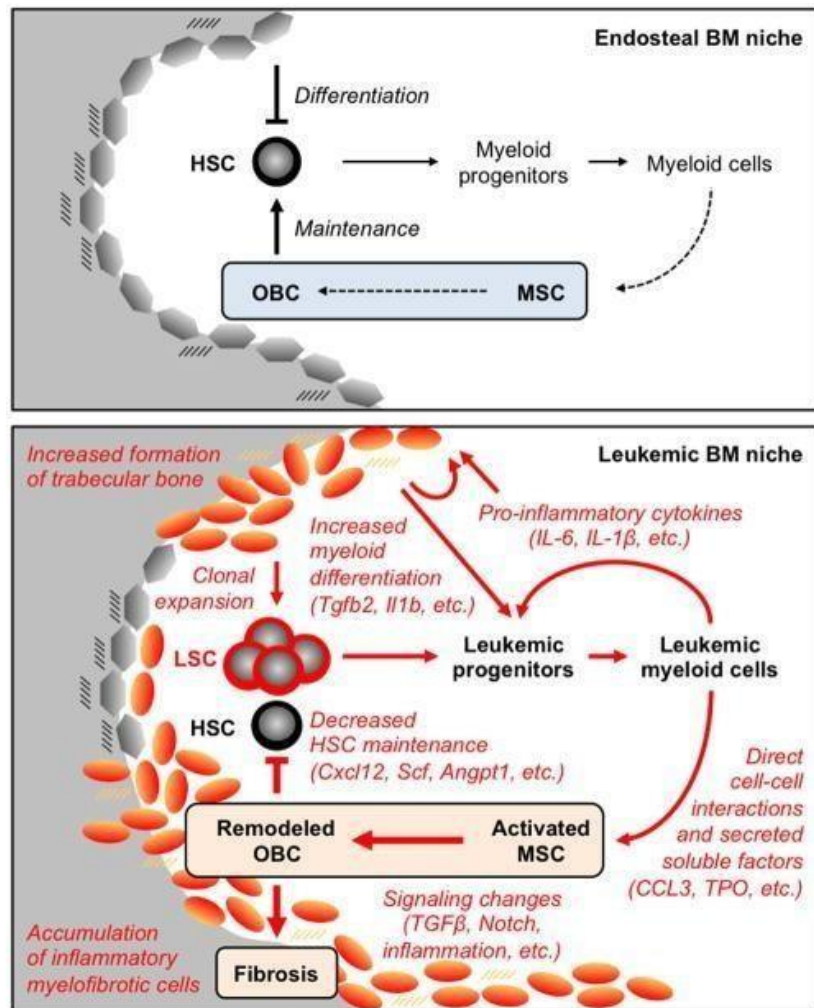


Figure 25 : Schéma qui illustre la différenciation des CSM Nestine⁺, la perte osseuse et l'expansion des CSL à partir d'un modèle de néoplasie myéloproliférative. Les CSL, issues de la transformation d'un progéniteur hématopoïétique sain, synthétisent des cytokines pro-inflammatoires avec un effet rétroactif positif sur la différenciation myéloïde. Les CSL sont à l'origine de progéniteurs leucémiques plus différenciés. Ces cellules pathologiques stimulent directement la différenciation des CSM Nestine⁺ en ostéoblastes. Les ostéoblastes altérés s'accumulent dans l'endoste sous forme de cellules fibrotiques inflammatoires et induisent à terme une perte osseuse. De cette manière, l'hémopathie maligne remodèle la niche endostéale.

D'après Schepers, K., et al. 2013 (90).

Les leucémies aiguës induisent un profond changement du système immunitaire. A la différence des métastases osseuses, il s'agit cette fois d'une répression des réponses immunitaires. Comme décrit précédemment, les LAM et LAL se caractérisent par la production de molécules co-régulatrices PD1, CD244, CD160 et « *T-cell Immunoglobulin Mucin domain-3* » (TIM3) qui répriment les fonctions des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques. Les CSL et leurs enzymes immuno suppressives CD73 et CD39 dégradent les métabolites requis pour les fonctions des lymphocytes T et les macrophages médullaires (87). Les lymphocytes T CD4+ régulateurs voient leur population augmenter grâce à la sécrétion de molécules co-stimulatrices. En retour, ils produisent IL-10 pro-inflammatoire (87). Les lymphocytes T helpers sont en nombre accru. Le nombre de macrophages de phénotype M2 est aussi accru dans la niche leucémique, tout comme pour les métastases. Ils sous-tendent la progression de la maladie. Leur rôle est en revanche moins bien décrit par rapport aux macrophages M2 associés aux tumeurs solides (87). D'autres cellules dérivées de lignées myéloïdes sont présentes en plus grand nombre dans la niche leucémique, sans que leur activité ne soit explicitement décrite (87).

L'environnement pro-inflammatoire riche en IL-4, TGF-beta, et IL-10 est essentiel à l'inhibition des réponses des cellules immunitaires et à la prolifération des clones leucémiques. Cette répression immunitaire suit des patterns différents suivant le type de leucémie considéré et tous ne sont pas bien connus. Dans tous les cas, l'inhibition des réponses antitumorales facilite l'infiltration de l'os par les cellules leucémiques et donc les douleurs osseuses (87). Le sécrétome des cellules contenues dans la niche leucémique tient un rôle plus ou moins directe quant à l'invasion osseuse et aux douleurs qui en résultent dans les leucémies aiguës.

IV.2.3. Conclusion

Qu'il s'agisse de la niche tumorale des métastases osseuses ou de la niche leucémique, bien que les acteurs cellulaires et leur sécrétome ne soient pas exactement comparables en tout point, leurs mécanismes et leur implication finale dans les douleurs osseuses restent relativement proches. Dans les deux cas, les constituants médullaires contribuent activement à la progression tumorale ou leucémique au sein de la moelle et donc indirectement aux douleurs osseuses. La différence majeure s'observe entre le détournement du système immunitaire des métastases et la répression immunitaire leucémique.

IV.3. Innervation

IV.3.1. Tumeurs solides

L'implication du système nerveux autonome en cancérologie est d'étude récente. A l'heure actuelle, il est établi que l'innervation autonome intervient avant l'apparition de la maladie tumorale et au cours de sa progression, notamment lors de l'apparition de métastases. Ce phénomène existe dans de nombreux types de tumeurs solides. Le système nerveux autonome agit aussi bien sur le site tumoral primaire qu'au sein des foyers métastatiques osseux (94).

IV.3.1.1. Site tumoral primaire

Sur le site tumoral primaire, les récepteurs bêta adrénergiques se retrouvent dans le microenvironnement, à la surface des cellules stromales (94). De plus, nombreuses sont les cellules malignes qui possèdent des récepteurs bêta adrénergiques également (94, 95). La norépinéphrine agit directement sur les récepteurs situés à la surface des cellules tumorales dont elle modifie la signature génique. Les cellules malignes expriment en retour divers facteurs VEGF, IL-6, IL-8, et MMP de sorte à promouvoir leur potentiel invasif. Dans certaines tumeurs, on observe même une innervation intrinsèque, soit issue du recrutement de fibres sympathiques préexistantes de l'environnement, soit par axogenèse tumorale. Les neuromédiateurs issus de ce réseau nerveux intrinsèques au corps tumoral sont en lien avec la progression et la dissémination de la maladie (94, 97) (Figure 26).

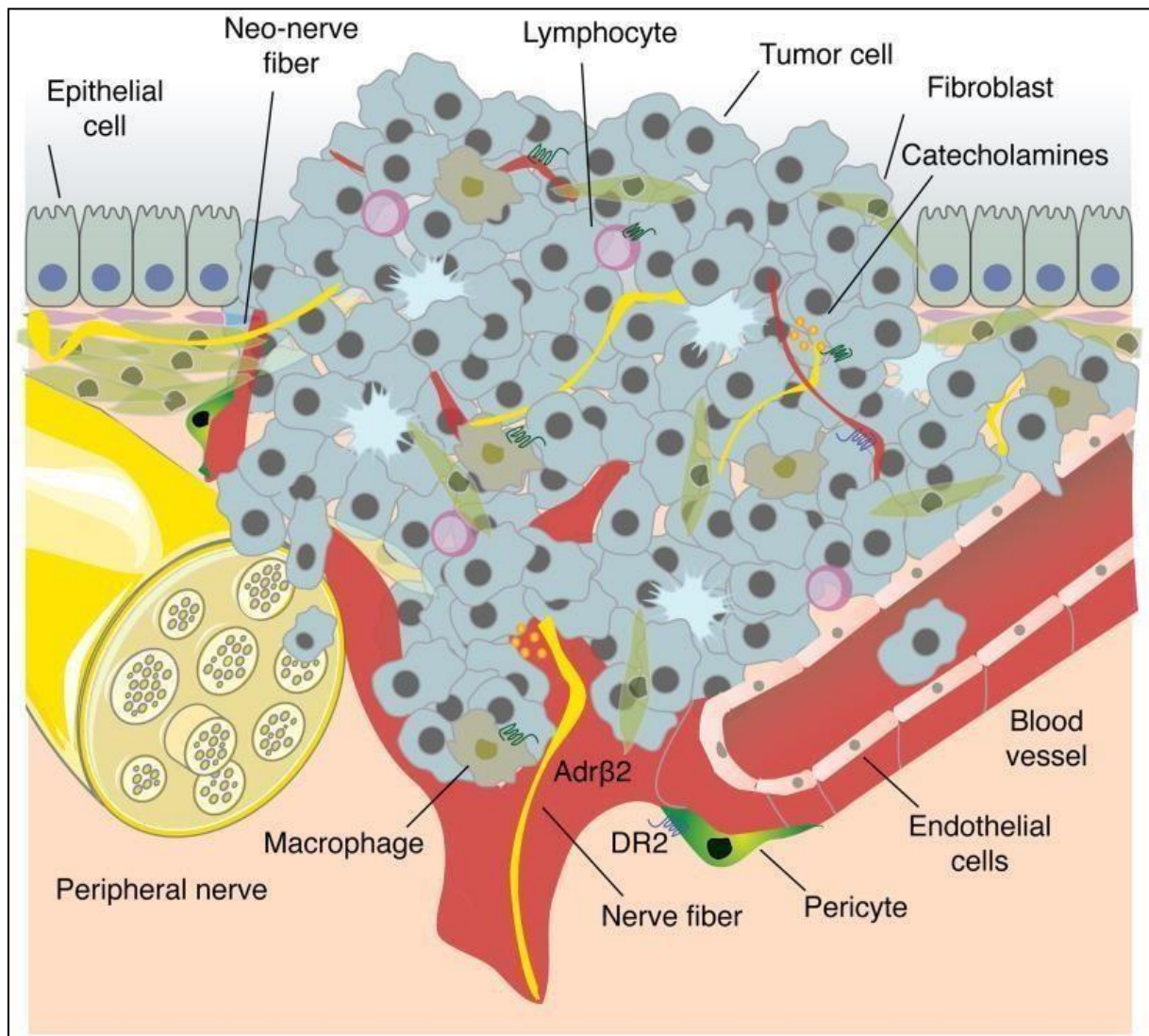


Figure 26 : Le système nerveux autonome est un élément actif dans le microenvironnement tumoral. Lors d'une stimulation du système nerveux autonome ou d'un stress chronique, les fibres extrinsèques et intrinsèques au parenchyme tumoral sont sollicitées et libèrent des neuromédiateurs adrénergiques. Les neuromédiateurs activent les récepteurs beta 2 adrénergiques situés sur les cellules stromales et les cellules malignes et jouent un rôle dans la croissance tumorale.

D'après Hanoun, M., et al. 2015 (101).

Bien que tous les effecteurs du système nerveux sympathique ne soient pas encore identifiés dans les processus cancéreux, les données sont grandissantes et plusieurs travaux récents démontrent un lien évident entre une stimulation chronique du système nerveux autonome et une augmentation de la survenue de métastases à distance, notamment vers la moelle osseuse (94-96) (Figure 27). C'est le cas notamment du cancer du sein, où une activation prolongée du système nerveux sympathique est corrélée à une plus grande survenue de métastases osseuses (99, 101). On observe d'ailleurs chez ces mêmes patients davantage de lésions lytiques s'ils sont sujets au stress ou à une stimulation chronique du système nerveux sympathique grâce à une expression plus importante de RANKL à la surface des ostéoblastes. L'expression de RANKL est alors indépendante du turnover osseux classiquement décrit (82).

D'autre part, toutes les étapes de dissémination des cellules malignes depuis leur site primaire vers la moelle osseuse, ainsi que l'émergence des foyers de métastases osseuses sont entre autre sous le contrôle du système nerveux sympathique (94, 101).

La moelle osseuse est un des sites de colonisation préférentiel des cellules métastatiques et est très richement innervée par les fibres sympathiques. Cela suggère une intrication potentiellement majeure et d'autant plus méconnue entre le système nerveux sympathique, le développement des métastases et donc la présence de douleurs osseuses (96).

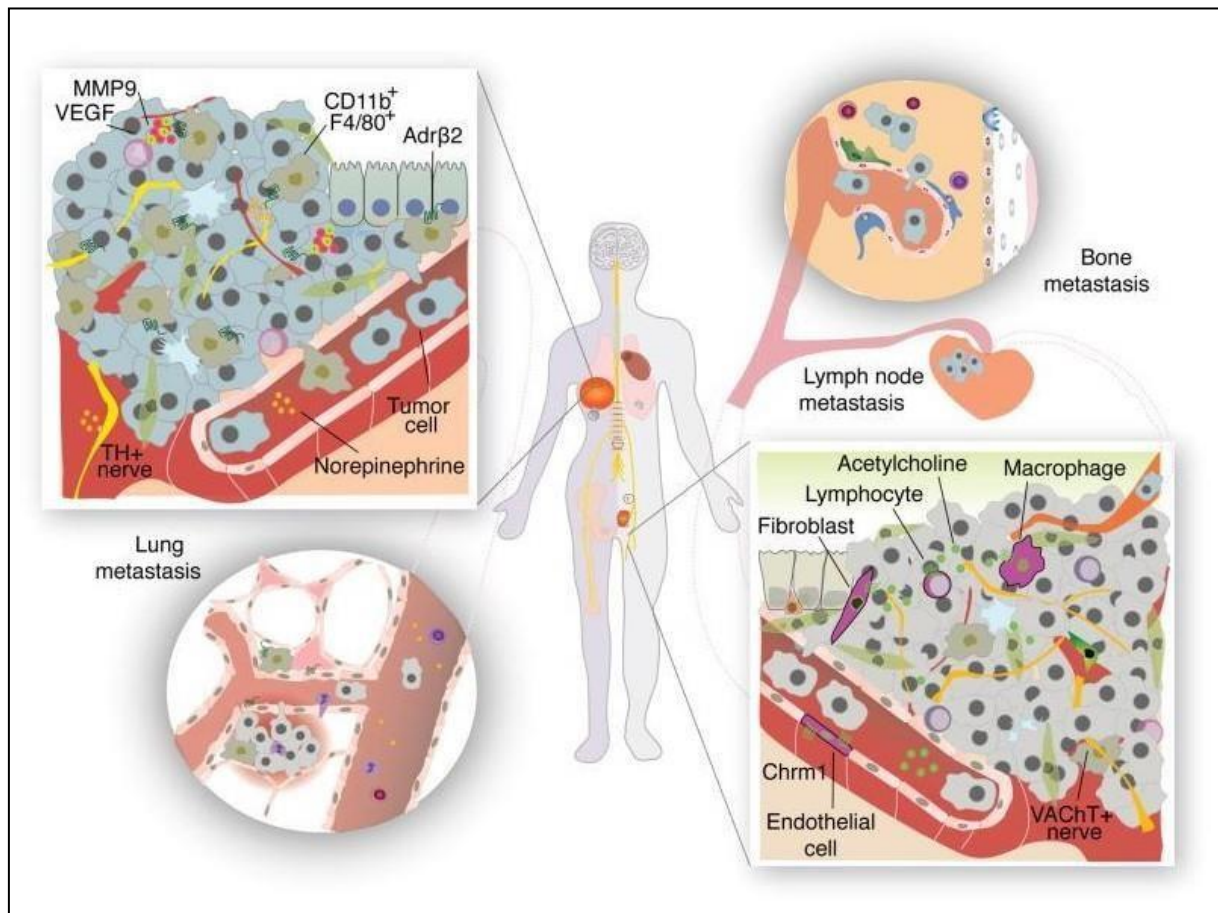


Figure 27 : *L'activation du système nerveux autonome est impliquée dans la dissémination à distance des cellules tumorales, notamment dans la survenue de métastases osseuses.*
D'après Hanoun, M., et al. 2015 (101).

IV.3.1.2. Foyer métastatique médullaire

Cette sous-partie sera consacrée en particulier à la contribution des contingents sympathiques et un peu moins parasympathiques au sein du foyer métastatique médullaire, principalement à partir de données d'études menées sur des modèles de cancer du sein et de prostate. Les métastases osseuses sont le plus fréquemment retrouvées dans ces deux types de tumeurs malignes (96).

Les catécholamines stimulent les récepteurs adrénergiques des ostéoblastes, des ostéocytes et des CAR situées autour des sinusoides. Cela accroît l'expression des chimiokines CXCL12, « *Chemokine (C-X-C motif) Ligand 16* » (CXCL16) à leur surface, ainsi que l'expression de RANKL (Figure 28). Ces mécanismes stimulent les capacités migratoires des cellules malignes disséminées, les attirent sur le site médullaire et les incitent à coloniser l'environnement, en particulier si ces cellules malignes expriment les récepteurs CXCR4 et RANK correspondants (95, 96, 100) (Figure 29). Ces mêmes données sont appuyées par des études pharmacologiques qui montrent que l'emploi du propranolol, un agent bêtabloquant, en se liant aux récepteurs bêta 2 adrénergiques des ostéoblastes inhibe cet effet pro-invasif *in vitro*. Ces preuves pharmacologiques suggèrent fortement l'implication des fibres sympathiques dans l'invasion tumorale, la croissance des métastases et la survenue de douleurs osseuses (94, 95, 99, 100).

Les catécholamines, par le biais des mêmes récepteurs adrénergiques, induisent également la synthèse de plusieurs molécules de rétention médullaire et protéines d'ancrage matricielles, telles que des cadhérines, des intégrines et des annexines (95). Les neuromédiateurs adrénergiques sont aussi corrélés à la synthèse de MMP et autres enzymes protéolytiques par les cellules tumorales. Des travaux menés *in vitro* sur des cellules malignes de pancréas humain rapportent une quantité plus importante de métalloprotéases matricielles 2 (MMP2) et MMP9 sous l'effet du neuromédiateur NGF. Ces données, encore une fois, sous-tendent le rôle très probable du système nerveux autonome dans l'invasion osseuse (94).

Les catécholamines régulent en partie l'angiogenèse tumorale, donc indirectement l'entrée et l'infiltration des cellules malignes dans l'environnement médullaire et le tissu osseux ; elles poussent les cellules malignes à synthétiser VEGF, IL-6. Elles mobilisent les progéniteurs endothéliaux (95). Les fibres sympathiques sont disposées en spirale autour des vaisseaux de la moelle afin de contrôler les flux et indirectement l'afflux de cellules disséminées circulantes sur le territoire médullaire (82).

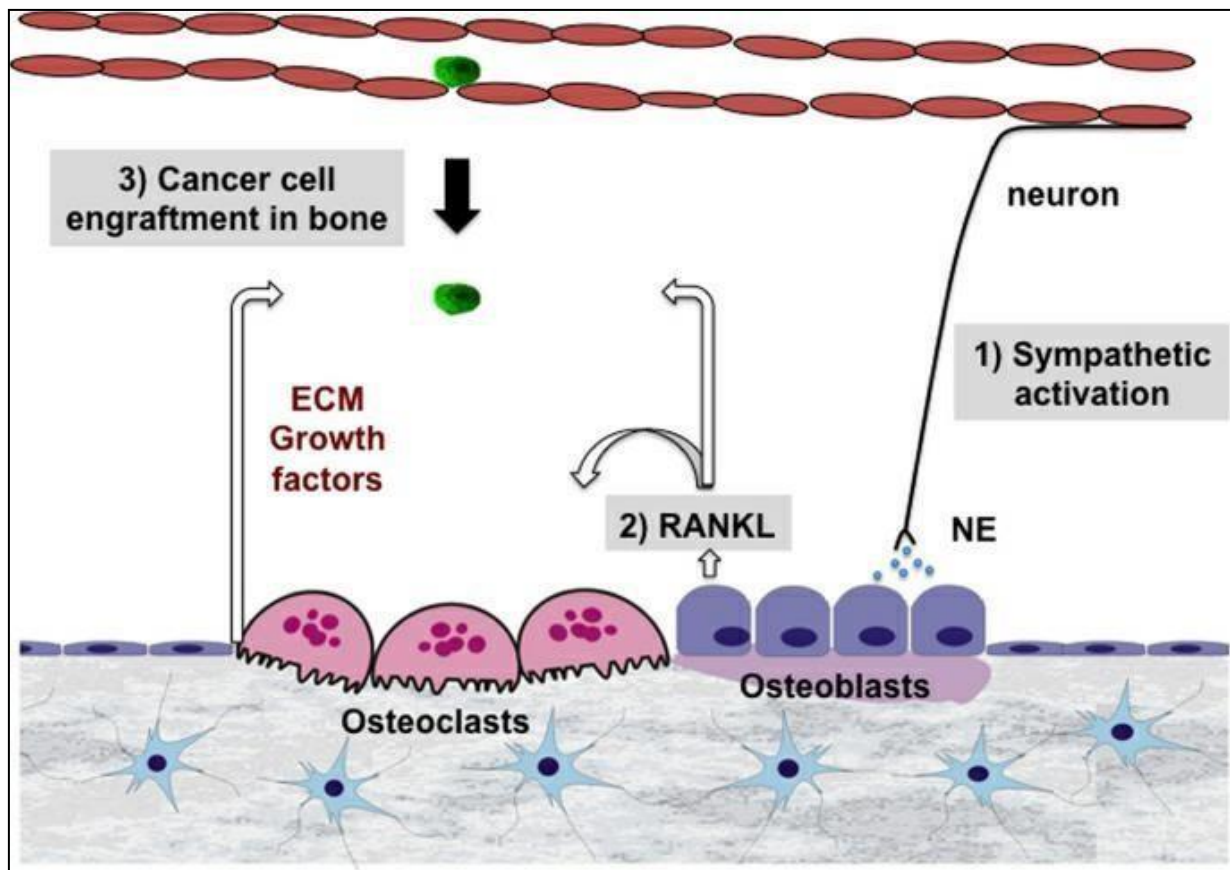


Figure 28 : La signalisation adrénergique active l'expression de RANKL à la surface des ostéoblastes, ce qui favorise la résorption via le système RANKL/RANK, la libération de médiateur de matrice et donc un rôle chimiotactique majeur vis-à-vis des cellules tumorales. Ce chimiotactisme est d'autant plus fort suivant certains types de tumeurs qui expriment RANK à leur surface.
D'après Elefteriou, F. 2016 (96).

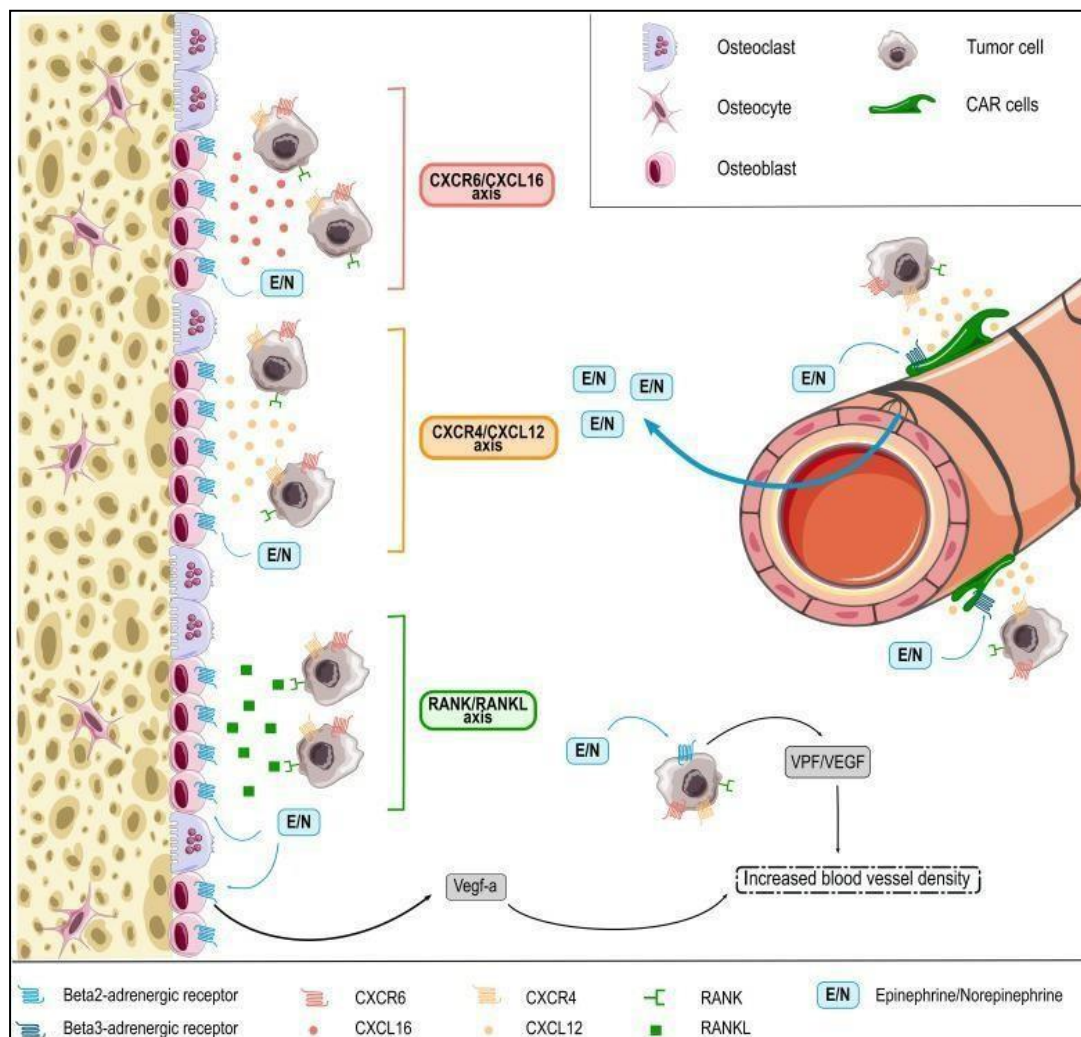


Figure 29 : L'adrénaline et la noradrénaline sont libérées depuis les fibres sympathiques dans le microenvironnement médullaire. Elles agissent sur les récepteurs beta adrénergiques des cellules stromales médullaires et influencent alors les interactions entre ces cellules et les cellules malignes. Sous le contrôle par le système sympathique, CXCL12 est exprimé en forte quantité par les CAR, les ostéoblastes et les ostéoclastes et se lie au récepteur CXCR4 tumoral. En réponse à cette signalisation adrénergique, CXCL16 interagit avec son récepteur tumoral « Chemokine (C-X-C motif) Receptor 6 » (CXCR6). De la même manière, RANKL exprimé par le stroma se lie au récepteur RANK à la surface des cellules tumorales. De plus, la stimulation adrénergique directe des ostéoblastes et des cellules malignes augmente la synthèse de facteurs pro-angiogéniques, la densité microvasculaire et la colonisation médullaire par les métastases.

D'après Hanns, P., et al. 2019 (95).

Les catécholamines ne sont pas les seuls neuromédiateurs en jeu. Le neuropeptide Y agit selon un mode d'action paracrine sur des cellules malignes de cancer du sein et accroît les taux de VEGF tumoraux *in vitro* (94, 101). Les neuropeptides sont aussi associés à une plus grande perméabilité vasculaire et rendent la moelle plus accessible à la colonisation tumorale (94).

Au sein des métastases médullaires, les récepteurs bêta adrénergiques sont étendus aux cellules immunitaires. Le champ d'action des fibres nerveuses sympathiques concerne également le contrôle du système immunitaire. Présents à la surface des macrophages, les récepteurs adrénergiques sont en partie responsables de leur phénotype M2 pro-tumoral, de leur synthèse d'IL-6, de MMP et de VEGF et par conséquent leur confère des propriétés favorables à l'invasion médullaire. L'emploi de bêtabloquants ciblant ces récepteurs permet d'inverser ces effets (99). Sous l'effet d'une stimulation adrénergique, les cellules malignes ont un effet négatif sur le nombre de cellules NK (99). Enfin, d'autres sous-populations lymphocytaires sont soumises à l'influence des médiateurs adrénergiques, mais leurs effets sont peu connus et controversés. De cette façon, le système nerveux sympathique module le système immunitaire dans le voisinage proche des métastases osseuses, ce qui promeut l'invasion. De plus, l'activation des récepteurs bêta adrénergiques des cellules tumorales exerce des effets immunosuppresseurs *via* une augmentation de PGE2 (95).

Un autre point important est la probable réactivation des cellules malignes dormantes de la moelle osseuse grâce à l'action du sympathique sur les ostéoblastes. Ce phénomène est décrit à partir d'un modèle de cancer de prostate *in vitro*. On ne connaît cependant pas bien les mécanismes responsables de la réactivation des foyers métastatiques au sein de la moelle osseuse (98).

D'autres types de récepteurs, les récepteurs alpha adrénergiques, se trouvent à la surface de cellules stromales, endothéliales, fibroblastiques et immunitaires. *In vitro*, ils sont associés à une meilleure progression des métastases osseuses de cancer du sein, sans que leur rôle ne soit pour autant très détaillé dans la littérature (94).

Hormis le contingent nerveux sympathique, il est décrit une activation de récepteurs muscariniques par les fibres parasympathique, capable d'influencer la migration des cellules malignes prostatique. Néanmoins, cela concerne essentiellement la dissémination des cellules

malignes à travers le système lymphatique. C'est pourquoi on peut émettre l'hypothèse qu'un lien existe entre le contingent parasympathique et le développement de métastases osseuses, mais il reste très incertain (94, 101).

L'ensemble de ces données, bien qu'elles requièrent d'être approfondies, confirment l'intrication entre le système nerveux autonome et le caractère invasif des cellules malignes dans la moelle osseuse. De cette façon, le système nerveux demeure un élément important mais encore sous-estimé dans les douleurs osseuses métastatiques.

IV.3.2. Leucémies aiguës

Le système nerveux autonome innerve richement la niche hématopoïétique physiologique. De toute évidence, l'innervation sympathique tient un rôle capital dans la trophicité des CSM Nestine+, la formation des ostéoblastes, la mobilisation des CSH dans la circulation générale, le trafic leucocytaire et la libération de médiateurs de l'inflammation (101).

En ce qui concerne la niche leucémique, à l'instar des métastases osseuses, la contribution des fibres nerveuses sympathiques dans la progression de la maladie et des lésions osseuses est relativement méconnue. Toutefois, il existe là encore un lien évident entre le stress, ou une stimulation chronique du système nerveux sympathique, et la leucémogénèse. Ce phénomène est mis en avant par plusieurs études menées sur des modèles animaux. Malgré tout, les résultats retrouvés sont parfois contradictoires et cette corrélation reste moins bien décrite que pour les métastases osseuses. Les résultats divergents pourraient être attribués aux types de leucémies aiguës, aux différences entre les modèles d'étude ou encore aux critères d'analyse pris en compte (95).

Les données de la littérature sont globalement en faveur d'une action indirecte des fibres sympathiques dans les leucémies aiguës, c'est-à-dire grâce à l'activation de récepteurs adrénergiques présents sur les cellules stromales. Deux études témoignent plus spécifiquement d'une immunosuppression liée à l'action des neuromédiateurs adrénergiques sur les cellules immunitaires, avec une baisse de l'activité des cellules NK. Hormis cela, les informations restent lacunaires. Des études ultérieures sont requises pour connaître les mécanismes du système nerveux autonome dans la moelle leucémique (95, 102, 105).

Une entité particulière distingue les leucémies aiguës des métastases osseuses. Il s'agit d'une neuropathie sympathique caractérisée par une perte de fibres nerveuses, d'apparition tardive dans l'évolution des leucémies aiguës (Figure 30). Comme évoquée précédemment, la délétion des fibres adrénergiques médullaires entraîne une perte de la quiescence des CSM Nestine⁺ et la perte des cellules de Schwann non myélinisées, qui constituent un support trophique pour les CSH quiescentes. En conséquence, les CSM Nestine⁺ se différencient, leur population augmente en vue de devenir des ostéoblastes, au dépend de la fraction de CSM Nestine⁺ NG2⁺. Ces ostéoblastes altérés dégènèrent avant d'achever leur différenciation complète, ce qui contraint les CSH à se mobiliser et laisser la place aux CSL. De cette façon, les CSL prennent le contrôle des niches endostéales, sanctuaires protégés de toute agression extérieure, tandis que la fonction hématopoïétique est évincée (Figure 31). Cette neuropathie sympathique est un élément capital dans la persistance de la maladie, dans la perte de la masse osseuse et donc probablement dans la formation des lésions osseuses responsables de douleurs (95, 103, 104). Des essais pharmacologiques montrent que l'utilisation d'agonistes beta 3 adrénergiques permet de maintenir une signalisation adrénergique entre les fibres sympathiques et les CSM Nestine⁺. Cela leur permet de conserver leur phénotype souche, leur quiescence et de préserver voire restaurer en partie le pool de CSH (95). Des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques de la perte des fibres et le degré de la neuropathie en fonction du type de leucémie aiguë.

IV.3.3. Conclusion

Il existe un lien indéniable entre le système nerveux autonome, l'invasion de la moelle et les douleurs osseuses, aussi bien dans les tumeurs solides métastatiques que dans les leucémies aiguës. Ces découvertes récentes justifient des recherches ultérieures.

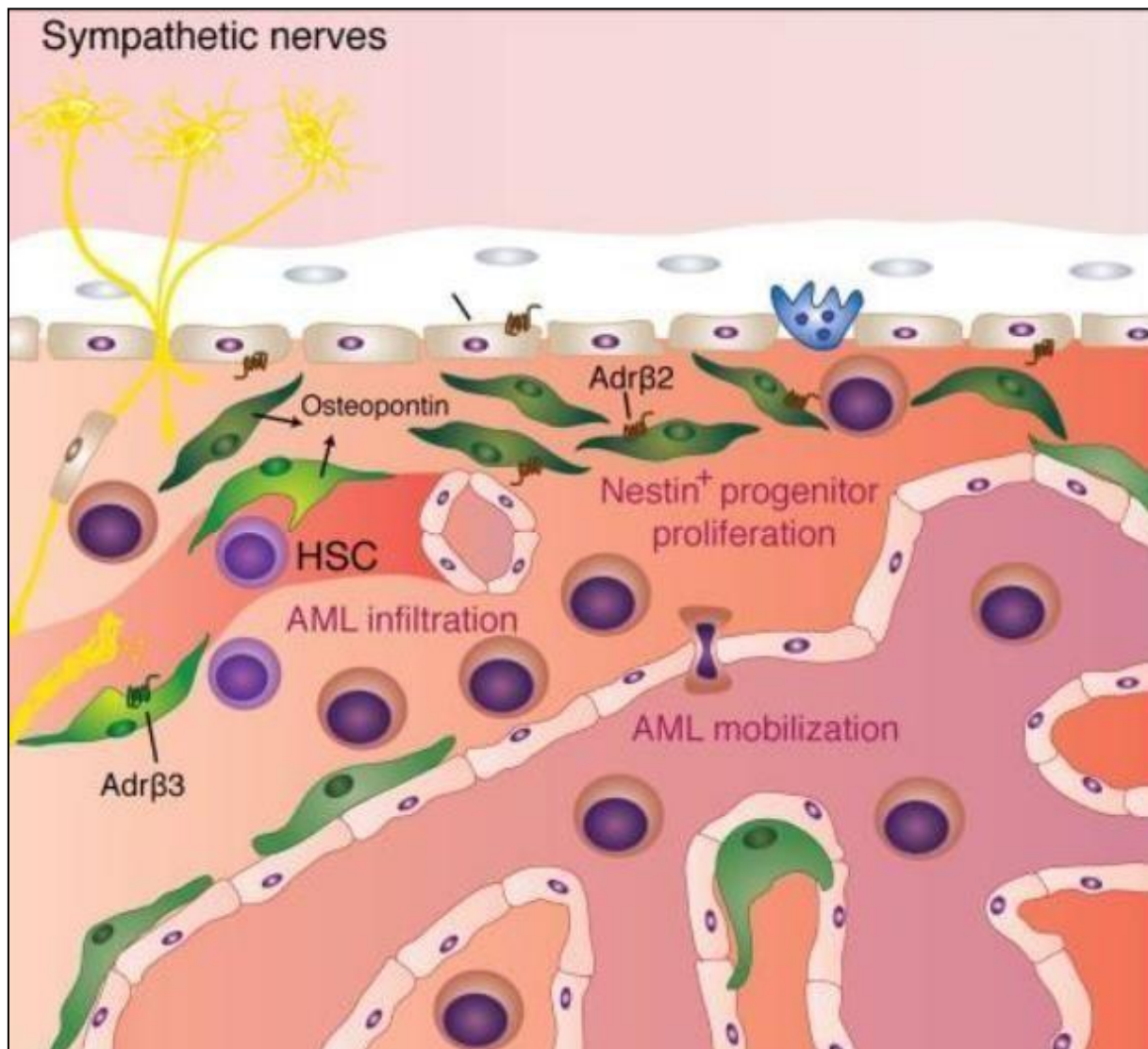


Figure 30 : La neuropathie sympathique favorise la progression des leucémies aiguës ; cette neuropathie se caractérise par une perte des fibres sympathiques, ce qui s'accompagne d'une expansion des CSM Nestine⁺ sous forme d'ostéoblastes altérés, au dépend du nombre de péricytes ou CSM Nestine⁺ NG2⁺. Les CSM Nestine⁺ NG2⁺ sont un support de la fonction des CSH au sein des structures réticulo-nerveuses ou vasculo-nerveuses. La signalisation adrénergique est médiée par les récepteurs beta 3 des cellules stromales de la niche leucémique.
D'après Hanoun, M., et al. 2015 (101).

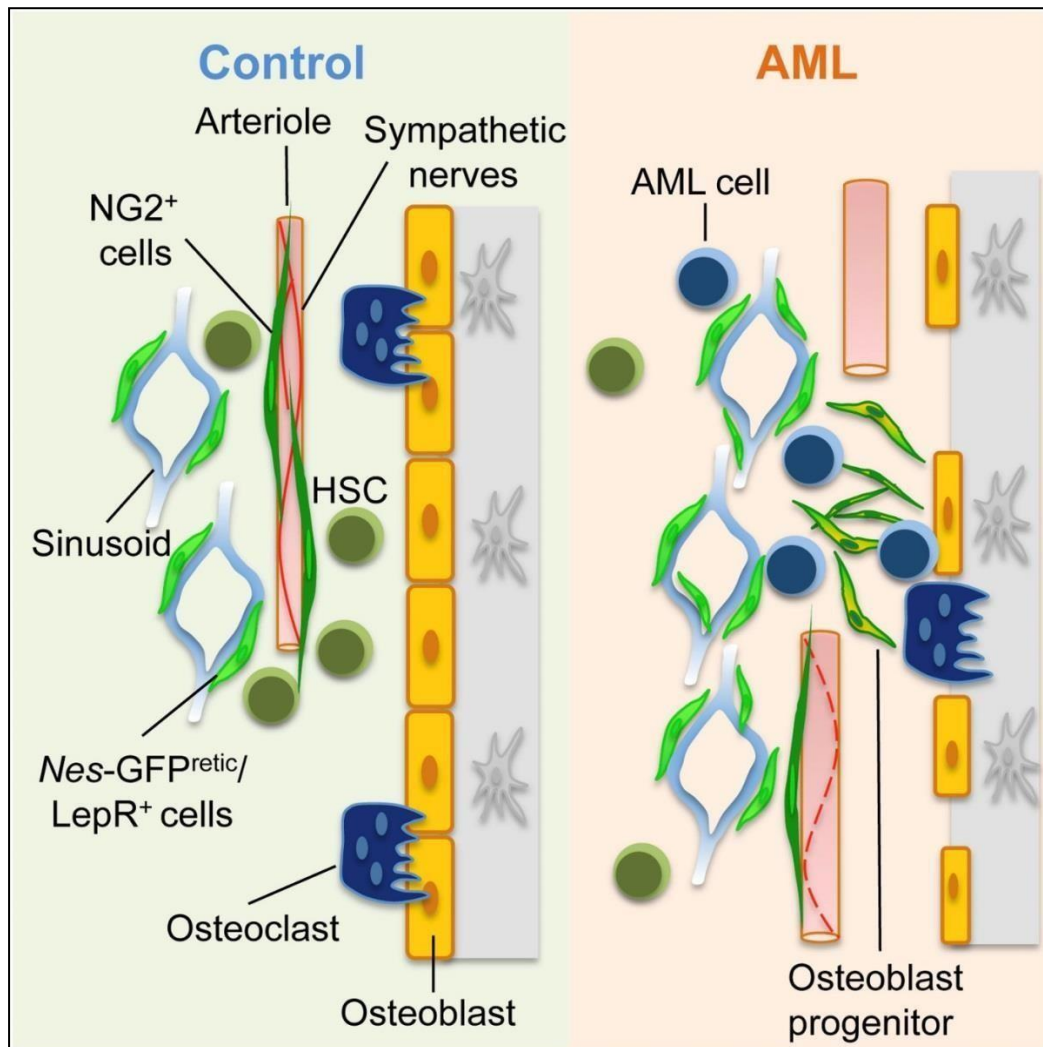


Figure 31 : La neuropathie au cours des LAM entraîne une perte du phénotype souche et une expansion des CSM Nestine+, une perte des CSM Nestine+ NG2+, par conséquent une désorganisation et une destruction de la niche endostéale, ainsi qu'un évincement des CSH.

D'après Hanoun, M., et al. 2014 (103).

IV.4. Pression

IV.4.1. Tumeurs solides

IV.4.1.1. Site tumoral primaire

Au site tumoral primaire, les cellules malignes ont un rythme de division élevé. Les nombreux fibroblastes associés aux tumeurs sécrètent une matrice dense, particulièrement riche en fibres de collagène et acide hyaluronique. Les jonctions entre les cellules sont plus nombreuses. Cellules et matrice, de par une forte cohésion, exercent alors une pression physique au sein du parenchyme tumoral qui se répercute sur les structures adjacentes. On parle de la contrainte solide tumorale.

La croissance de la tumeur est telle que la vascularisation ne peut assurer les besoins en oxygène et nutriments pourtant accrus des cellules proliférantes. Il s'accumule des déchets nécrotiques et métaboliques dans le parenchyme tumoral, qui ont pour effet de stimuler la production des facteurs pro-angiogéniques VEGF, « *Platelet-Derived Growth Factor* » (PDGF), TGF-beta (Figure 32). Ces facteurs sont à l'origine de la formation d'un réseau de néovaisseaux tortueux, perméables, poreux et dysfonctionnels. L'eau et les protéines sont extravasées depuis le compartiment luminal pour s'accumuler au sein du l'interstitium tumoral (Figure 33). L'abolition des gradients de pression hydrostatique et oncotique limite les transferts par convection au profit d'une diffusion, beaucoup moins efficace. Par ces mécanismes, l'apport en oxygène demeure limité. L'hypoxie devient persistante, stimule la synthèse tumorale de facteurs pro-angiogéniques, ce qui entretient cette vascularisation anarchique selon un cercle vicieux. Ainsi, pression hydrostatique et hypoxie tumorale sont intimement liées (106, 107, 109). En parallèle, la formation de néo vaisseaux lymphatiques sous l'effet de facteurs spécifiques tumoraux aboutit à un réseau non fonctionnel et un drainage inefficace de l'excès de fluide (107). D'autre part, les hautes conductivités hydrauliques vasculaires et interstitielles tumorales permettent à la masse de la tumeur de maintenir un profil de pression hydrostatique élevé de manière constante, ainsi qu'une distribution de cette pression en plateau. De cette façon, la pression constitue une barrière de protection contre les traitements agressifs et un puissant moteur pour la croissance tumorale. La pression importante des flux dans l'interstitium de la tumeur engendre des contraintes mécaniques sur les cellules malignes et crée des gradients de signaux biochimiques qui influencent l'invasion tumorale (108, 110-112).

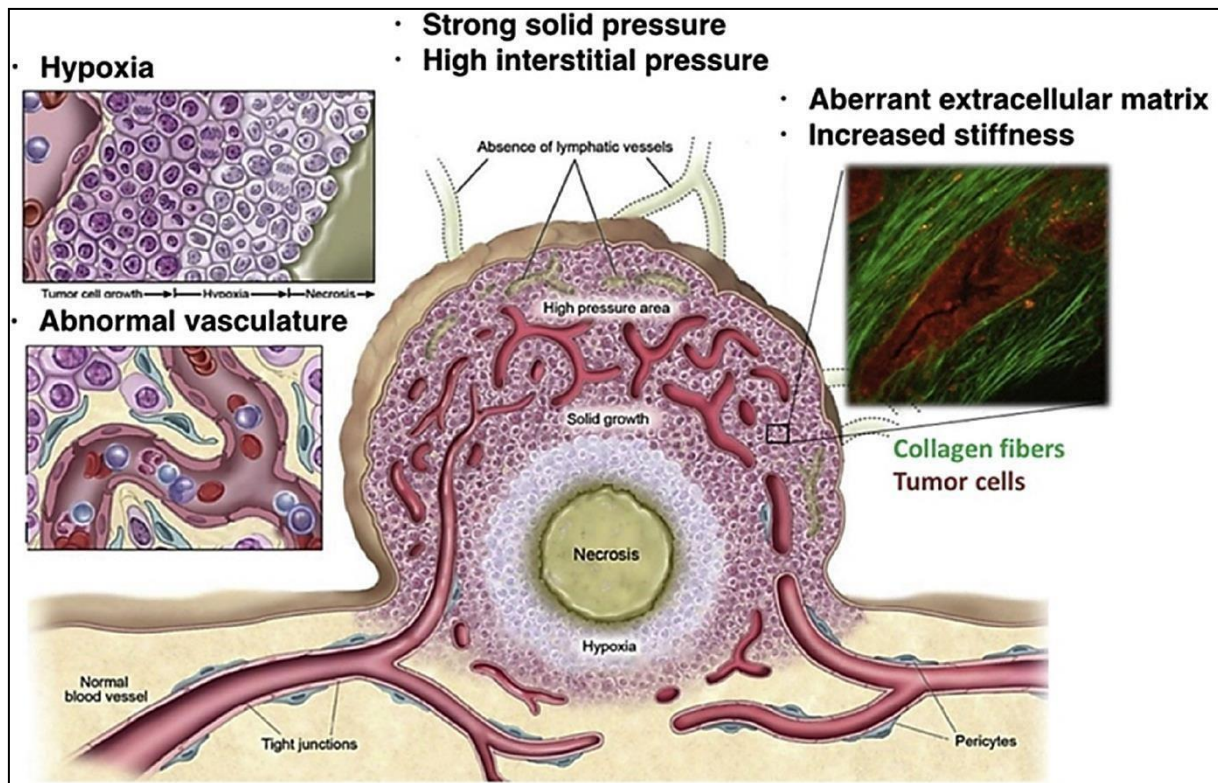


Figure 32 : Figure résumant les composants de la pression tumorale globale. La contrainte solide est modélisée par la croissance des cellules tumorales et la densité de la matrice. La croissance tumorale rapide est en inadéquation avec la vascularisation. Le centre tumoral devient nécrotique. Les cellules libèrent des facteurs pro-angiogéniques qui entraînent une néovascularisation et le maintien d'une pression hydrostatique élevée. Ce mécanisme favorise l'hypoxie nécessaire à la progression de la tumeur.

D'après Nicolas Boluda, A., et al. 2018 (106).

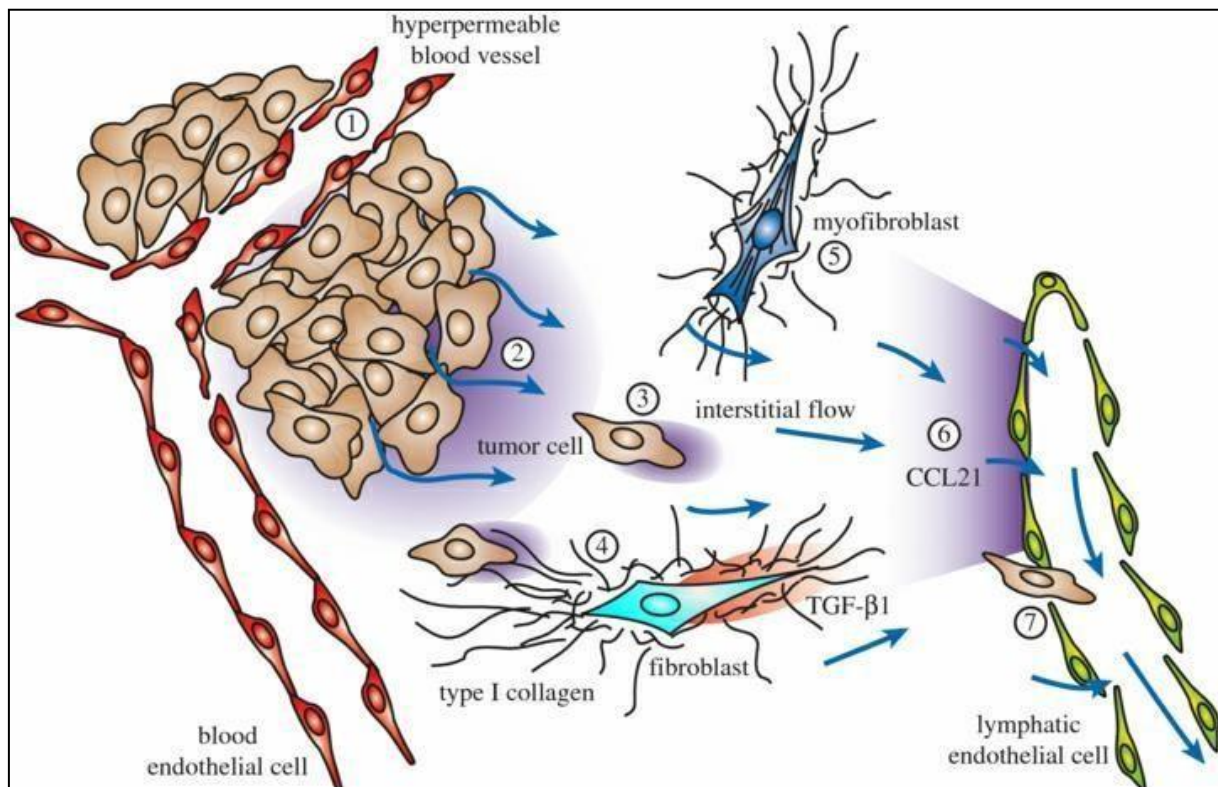


Figure 33 : Illustration montrant une néo vascularisation tumorale non fonctionnelle et perméable, qui entraîne une accumulation de liquide et de protéines dans le parenchyme tumoral. Cet excès de fluide n'est pas correctement drainé par les vaisseaux lymphatiques défectueux. La pression hydrostatique tumorale est maintenue à une valeur élevée et entretient la croissance tumorale.

D'après Shieh, A. C., et al. 2011 (112).

La contrainte solide exercée par le parenchyme en croissance et la pression hydrostatique accrue se confondent en une pression tumorale globale (Figure 34). Cette pression écrase les vaisseaux sanguins et lymphatiques, diminue les flux, accroît la stase sanguine et amplifie le manque d'oxygène dans la moelle osseuse. La tumeur entretient ainsi des zones hypoxiques favorables à sa croissance (107).

De nombreuses thérapies pharmacologiques et thérapies physiques sont actuellement à l'essai dans le but de décompresser la tumeur afin de réduire sa croissance. Les traitements anti-angiogéniques, antihypertensifs, ou encore la thérapie hyperbare et la photothérapie dynamique ont montré une réduction de la pression tumorale et une amélioration de l'efficacité des traitements anti-cancéreux, mais non sans effet indésirables (107-109). Ces arguments pharmacologiques témoignent de l'importance capitale de la pression dans le développement d'une tumeur solide.

IV.4.1.2. Foyer métastatique médullaire

Au sein des foyers métastatiques, les cellules malignes se confrontent à la rigidité du tissu osseux voisin, ce qui accroît la pression dans la moelle tumorale. Des travaux de monitoring en continu montrent un accroissement de la pression dans la cavité médullaire chez des animaux transplantés avec des cellules malignes humaines. Hors, il est désormais bien connu qu'une cellule modifie son phénotype et son comportement invasif et migratoire en fonction des contraintes qu'elle subit dans son environnement (111). Ainsi, les cellules malignes disséminées à la moelle acquièrent un phénotype davantage invasif et une plus grande motilité en réponse à la rigidité du tissu osseux (114).

Ces mêmes travaux démontrent que la pression des cellules métastatiques en croissance a des répercussions sur le comportement des ostéocytes. Les ostéocytes deviennent pro-tumoraux, coopèrent avec les cellules malignes dans l'invasion du tissu osseux. Sous l'effet de la pression tumorale, ils sécrètent les métalloprotéases MMP2 et MMP9 et le facteur « *Chemokine (C-C motif) Ligand 5* » (CCL5) (Figure 34). Ces facteurs sont connus pour leurs propriétés invasives dans de nombreux cancers (111). Des travaux menés *in vivo* sur des modèles de cancer du sein métastatiques suggèrent que la réaction des ostéocytes dépend de l'intensité de la pression appliquée par les métastases; plus cette pression est importante, moins ils sécrètent l'OPN, protéine qui solidifie la matrice osseuse, et plus cela facilite l'invasion tumorale au sein du tissu osseux (114). Ces mêmes travaux *in vivo* mettent en

évidence que les cellules de cancer du sein métastatiques adaptent leur transcriptome au contact des ostéocytes. Elles expriment davantage les gènes codant pour la PTHrP pro-résorptive et la protéine Gli2, facteur de transcription à doigt de zinc à activité oncogénique (113).

Au sein des foyers de métastases, la pression semble jouer un rôle dans l'invasion du tissu par les cellules malignes et donc dans les douleurs osseuses. Les données concernant le rôle des ostéocytes pro-tumoraux méritent d'être approfondies (115).

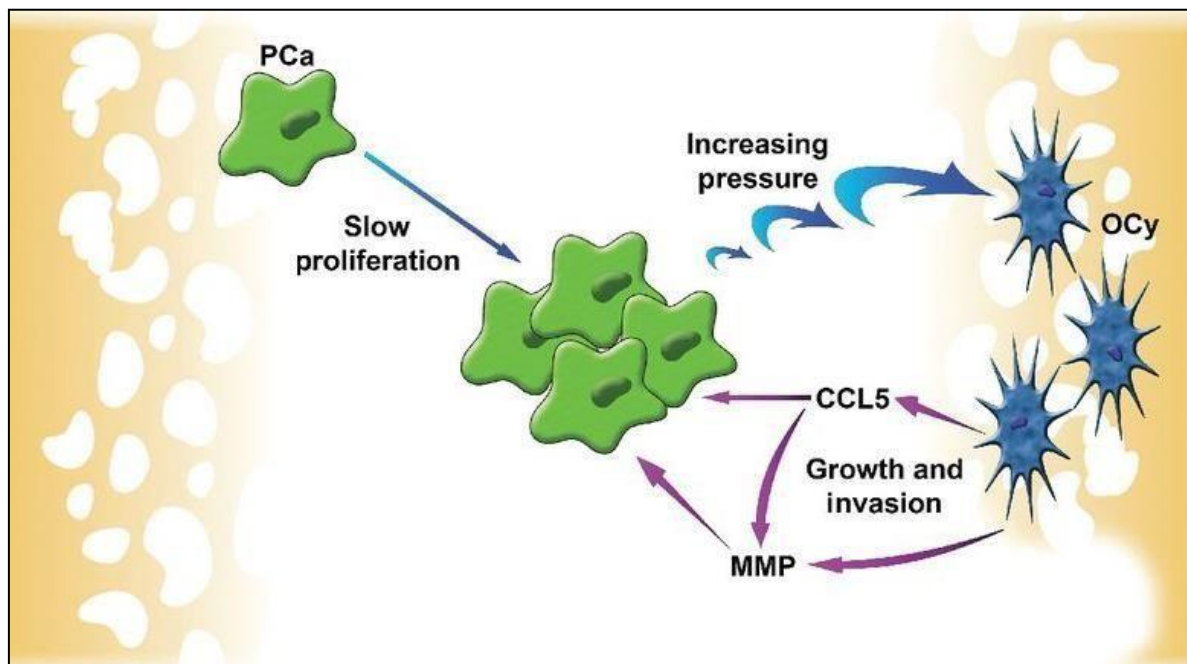


Figure 34 : Schéma représentant le comportement adaptatif des ostéocytes ; ils deviennent pro-tumoraux en réponse à la croissance des métastases osseuses et la pression qu'elles exercent sur le tissu osseux.

D'après Sottnik, J. L., et al. 2015 (111).

IV.4.2. Leucémies aiguës

Comme déjà décrit, la niche leucémique est sujette à une plus grande cellularité due à une infiltration massive par les clones leucémiques. Une étude expérimentale menée en 1954 relevait des variations de pression médullaire chez des patients atteints d'hémopathies malignes diverses. Les mesures ont été réalisées *via* un dispositif incluant un manomètre relié à un trocart, dans des conditions basales et sous stimulation pharmacologique. Dans cette étude, la pression enregistrée était plus élevée chez les patients présentant une leucémie aiguë par rapport à d'autres hémopathies, et ce quelques soient les conditions de mesure. Cette pression était attribuée à la cellularité des leucémies aiguës (116). Une seconde étude *in vitro* et plus récente décrit une pression dans la moelle des LAM pouvant atteindre des valeurs de dix à vingt fois supérieure à la normale. Cette fois encore, la cellularité accrue est mise en cause (117). Tout comme pour les métastases osseuses, il existe une contrainte physique exercée par la masse leucémique au sein de la moelle.

D'autre part, comme cela est détaillé précédemment, la niche leucémique est sujette à une augmentation de la densité micro vasculaire. Celle-ci touche principalement les sinusoides médullaires. Cette angiogenèse s'effectue selon un processus quasiment similaire à ce que l'on observe dans les tumeurs solides. Les facteurs pro-angiogéniques VEGF, PDGF, « *Placental Growth Factor* » (PlGF), « *basic Fibroblast Growth Factor* » (bFGF), G-CSF libérés par les clones leucémiques se lient aux cellules des vaisseaux sanguins et lymphatiques. Les néovaisseaux sont là encore anarchiques et défectueux. Des expériences en microscopie à deux photons chez la souris mettent en évidence cette altération de la morphologie des vaisseaux en lien avec une dysfonction vasculaire. Il est décrit une perméabilité accrue et une perfusion sanguine altérée, responsables de la présence de zones endostéales très hypoxiques. Ang-2 et VEGF sécrétés par les clones agissent en synergie et désagrègent les cellules endothéliales. Les cellules endothéliales libèrent du NO en quantité anormale. D'autres cytokines anti-angiogéniques leucémiques entraînent une perte du stroma de soutien périvasculaire. L'ensemble de ces mécanismes contribuent largement à l'aspect tortueux et perméable des vaisseaux. Cette mauvaise suppléance vasculaire impactent les flux locaux, les échanges métaboliques, l'oxygénation médullaire (95, 118, 119). Le fonctionnement vasculaire aberrant et les échanges perturbés dans la moelle leucémique sont très semblables aux événements décrits pour les tumeurs solides. Il est donc supposé qu'une accumulation de

liquides et protéines se produit de façon similaire dans la moelle leucémique. Cette hypothèse est appuyée par les résultats d'études pré cliniques qui démontrent que cibler la production de NO endothélial par des thérapies pharmacologiques permet de restaurer une partie de la fonction vasculaire dans les leucémies aiguës. En restaurant une partie de la fonction vasculaire et en favorisant les échanges, ces thérapies anti-NO luttent contre l'hypoxie et la mauvaise diffusion des chimiothérapies (118). Ainsi, bien que le terme de « pression hydrostatique » ne soit pas employé dans la description de la niche leucémique, celle-ci serait la conséquence logique d'une plus grande perméabilité vasculaire, au même titre que pour les tumeurs solides.

Enfin, la pression au sein de la niche leucémique est corrélée à une plus grande chimio résistance (118). Cette notion sous-tend l'idée que l'importance de la pression n'est peut-être pas encore suffisamment prise en compte dans le développement des leucémies aiguës et constitue un tremplin vers des recherches ultérieures.

IV.4.3. Conclusion

Dans les tumeurs solides, la pression tumorale globale se décline donc en deux contingents, la contrainte solide et la pression hydrostatique. Ces deux composantes sont actives dans l'invasion osseuse par les métastases. La pression tumorale est alors un des mécanismes impliqués dans les douleurs osseuses des tumeurs solides. La pression globale se répercute sur les ostéocytes et stimule leur comportement pro-tumoral.

En revanche, les données stipulant l'existence d'une pression accrue de la cavité médullaire de patients atteints de leucémies aiguës sont plus limitées. Il est certain que la moelle leucémique est sujette à une plus grande pression globale. La cellularité de la maladie et sa vascularisation sont probablement en cause. Cette pression s'applique sur les structures osseuses avoisinantes, mais les mécanismes sont non élucidés.

V. Discussion

Les douleurs osseuses peuvent se voir au diagnostic de leucémies aiguës de phénotype myéloblastique et lymphoblastique, comme dans toute hémopathie maligne. Ces douleurs sont corrélées dans la grande majorité à des lésions ostéolytiques du squelette périphérique, voire moins fréquemment du squelette axial. Les lésions ostéocondensantes ou sclérosantes sont beaucoup plus rares dans les leucémies aiguës, avec peu voire aucune donnée quant aux mécanismes en cause. Par conséquent, afin de simplifier la description physiopathologique, tant dans les leucémies aiguës que dans les tumeurs solides métastatiques, cette revue de la littérature rassemble les données ne concernant uniquement que les lésions ostéolytiques comme source de douleurs osseuses.

Sur le plan physiopathologique, les mécanismes en cause dans les lésions et donc les douleurs osseuses des leucémies aiguës sont très proches des mécanismes physiopathologiques impliqués dans les douleurs osseuses des métastases. En effet, les leucémies aiguës centrent la résorption osseuse sur le système RANKL/RANK et la sécrétion de la PTHrP essentiellement. Il en va de même pour les cellules malignes au sein des foyers métastatiques médullaires. Les acteurs du microenvironnement médullaire leucémique et métastatique tendent à promouvoir la dissémination des clones leucémiques et cellules malignes au sein de la moelle. Quelques rares différences sont notables concernant les cellules immunitaires au sein du microenvironnement; tandis que les leucémies aiguës favorisent la répression immunitaire, les cellules tumorales métastatiques détournent les fonctions des acteurs de l'immunité à leur avantage. D'autre part, l'intervention du système nerveux autonome facilite la progression de la maladie leucémique, tout comme la constitution et la progression des foyers métastatiques médullaires. La neuropathie sympathique est plus spécifique des hémopathies malignes et très probablement en cause dans l'invasion osseuse au cours des leucémies aiguës. Enfin, la masse leucémique exerce très probablement une pression sur le cadre osseux médullaire, tout comme les cellules métastatiques. Cependant, les composantes de la pression leucémique et son influence sur le comportement des ostéocytes restent à éclaircir. Malgré de fortes similarités physiopathologiques, les mécanismes en cause dans les douleurs osseuses leucémiques nécessitent des investigations supplémentaires. Les données sont éparses et peu explicites pour ce type d'hémopathie, en comparaison avec celles des métastases osseuses.

Comme suggéré précédemment, la connaissance de l'ensemble de ces mécanismes permet de mieux corrélér les douleurs osseuses au pronostic du patient. C'est notamment le cas pour les métastases osseuses. Les publications objectivent par exemple le détournement des fonctions immunitaires dans l'environnement des métastases comme ayant un impact péjoratif sur la réponse aux traitements anti-cancéreux et la survie des patients (87). De la même façon, l'étude de la population des macrophages pro-tumoraux et de la quantité de lymphocytes T CD4+ régulateurs dans la moelle ont permis d'affirmer que ce sont des marqueurs d'agressivité tumorale en lien avec une baisse de la survie (84). Une bonne connaissance des acteurs immunitaires dans les métastases a permis de montrer par la suite un lien avec un plus faible pronostic chez les patients. Un autre exemple qui grève le pronostic des malades est celui des neurotrophines libérées par le système nerveux autonome au voisinage des métastases ; le NGF est en effet un neuromédiateur majeur identifié dans la croissance des métastases osseuses. Il est devenu par la suite un marqueur de progression de la maladie (94). La mise en évidence d'une augmentation du nombre de récepteurs adrénergiques tumoraux a pu être corrélée à un mauvais pronostic dans les cancers du sein (94). Pour finir, des études ont mis en exergue le rôle de la pression tumorale dans la progression des foyers osseux métastatiques. Peu de temps après, d'autres travaux ont décrit cette pression comme associée à la récurrence de la maladie. La pression est connue désormais comme un élément pronostic majeur des tumeurs solides (109).

C'est donc une accumulation de données précises relatives aux mécanismes physiopathologiques et leur investigation individuelle en termes de pronostic qui permet d'affirmer que les douleurs osseuses métastatiques sont un marqueur pronostic. Les connaissances concernant les leucémies aiguës ne sont pas toujours suffisantes pour qualifier ces mêmes mécanismes de marqueurs pronostiques, et par extension attribuer les douleurs osseuses leucémiques à un pronostic global défavorable pour les patients. Dans certaines LAM par exemple, la plus grande proportion de macrophages et la baisse des lymphocytes T helpers seraient associées à un faible pronostic, mais des études ultérieures sur de plus grandes cohortes de patientes sont nécessaires avant de pouvoir l'affirmer (87). Quant au système nerveux autonome, bon nombre de données en lien avec le faible pronostic sont issues de modèles animaux et les effets sur la survie sont contradictoires (102). Néanmoins, certains mécanismes semblent être des biomarqueurs pronostiques plus fiables que d'autres. L'augmentation de la densité microvasculaire est décrite dans plusieurs études comme un élément pronostic défavorable, lié à une plus grande récurrence de la maladie et une baisse de survie (118, 119).

Des investigations ultérieures sur les mécanismes physiopathologiques osseux et leur impact pronostique sont requises avant de pouvoir affirmer que les douleurs osseuses sont des marqueurs pronostiques fiables chez les patients atteints de leucémies aiguës. Toutefois, les douleurs osseuses peuvent refléter une pression intramédullaire qui influe sur la physiopathologie des leucémies aiguës et notamment leur chimiorésistance. Des études *in vitro* modélisant la pression dans la niche leucémique devraient permettre des avancées notables sur cette question.

- Références bibliographiques

1. Société Française d'Hématologie. Leucémies aiguës. *Hématologie*. Elsevier Masson, 2018, 63-75.
2. Pécheux, L., Forget, P., Geurten, C., Rausin, L., Nicolescu, R., Hoyoux, C. Bone disorders and complications of pediatric acute lymphoblastic leukemia : monocentric study and review of the literature. *Rev Med Liege*, 2018, **73**, 575-582.
3. Thomas, L. B., Forkner, C. E., Frei, E., Besse, B. E., Stabenau, J. R. The skeletal lesions of acute leukemia. *Cancer*. 1961, **14**, 608-621.
4. Cherkaoui, S., Hmimech, A., Madani, A., Benchekroun, S. Vertebral body collapse at the onset of acute lymphoblastic leukemia. *PRIJ*, 2014, 1-4.
5. Oliveri, M. B., Mautalen, C. A., Rodriguez Fuchs, C. A., Romanelli, M. C. Vertebral compression fractures at the onset of acute lymphoblastic leukemia in a child. *Henry Ford Hosp Med J*, 1991, **39**, 45-48.
6. Haddy, T. B., Mosher, R. B., Reaman, G. H. Osteoporosis in survivors of acute lymphoblastic leukemia. *The Oncologist*, 2001, **6**, 278-285.
7. Leucémies aiguës lymphoblastiques. [Hematocell]. Laboratoire d'hématologie cellulaire du CHU d'Angers. Marc Zandecki. 2016, disponible sur : <http://www.hematocell.fr/>
8. Hoffbrand, A. V., Moss, P. A. H. Leucémie aiguës lymphoblastiques. *L'essentiel en hématologie*. Maloine, 2018, 193-204
9. Siemons, W., Petyt, G., Berton, C., Morschhauser, F., Moraux, A., Cotten, A. Néoplasie myéloïdes et lymphoïdes. [Medecine Key]. 2017, disponible sur : <https://clemedecine.com/>
10. Roux, S., Mariette, X. Manifestations ostéoarticulaires des hémopathies malignes (myélome exclu). *EMC - Rhumatologie-Orthopédie*, 2005, **2**, 109-124
11. Société Française d'Hématologie. Myélome multiple. *Hématologie*. Elsevier Masson, 2018, 123-132.
12. Coluzzi, F., Rolke, R., Mercadante, S. Pain management in patients with multiple myeloma : an update. *Cancers*, 2019, **11**, 2037.
13. Myélome multiple et gammopathies monoclonales idiopathiques. [Hematocell]. Laboratoire d'hématologie cellulaire du CHU d'Angers. Marc Zandecki. 2016, disponible sur : <http://www.hematocell.fr/>

14. Turner, C., Grady, M. Acute myeloid leukemia presenting as back pain in a 12-year- old boy. *Curr Sports Med Rep*, 2014, **13**, 38-41.
15. Geetha, N., Sreelech, K. P., Priya, M., J., Lali, V., S., Rekha, N. Osteolytic bone lesions – A rare presentation of AML M6. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 2015, **7**, e2015017.
16. Johnson, J. L., Moscinski, L., Zuckerman, K. Value of positron emission tomography scan in staging cancers, and an unusual presentation of acute myeloid leukemia : case 3, acute myeloid leukemia presenting with lytic bone lesions. *JCO*, 2004, **22**, 2968- 2970.
17. Vassallo, J., Lima, C. S. P., Cardinalli, I. A., De Souza, C. A., da Cunha, M. L., Pinto Neto, J. V. Osteolytic lesions as a presenting sign of acute myeloid leukemia. *Haematologia*, 2000, **30**, 325-331.
18. Muler, J. H., Valdez, R., Hayes, C., Kaminski, M. S. Acute megakaryocytic leukemia presenting as hypercalcemia with skeletal lytic lesions. *Eur J Haematol*, 2002, **68**, 392-639.
19. Fisher, D., Ruchlemer, R., Hiller, N., Blinder, G., Abrahamov, A. Aggressive bone destruction in acute megakaryocytic leukemia : a rare presentation. *Pediatric Radiology*, 1997, **27**, 20-22.
20. Dharmasena, F., Wickham, N., McHugh, P., J., Catovsky, D., Galton, D. A. Osteolytic tumors in acute megakaryoblastic leukemia. *Cancer*, 1986, **58**, 2273-2277.
21. Seifi, S., Asvada Kermani, A., Asvadi Kermani, I., Dolatkah, R. An uncommon occurrence of acute myeloid leukemia in Tabriz. *J Clin Diagn Res*, 2010, **4**, 3225– 3229
22. Ueda, T., Ito, Y., Maeda, M., Fukunaga, Y. Massive periosteal reaction a presenting feature of acute megakaryocytic leukemia. *Pediatr Int*, 2007, **49**, 1015-1017.
23. Krishnappa, R. L., Kanakasetty, G. B., Chikkadasappa, S. B. M., Rao, S. A. Acute promyelocytic leukaemia (APML) in an adult patient presenting with multiple lytic bony lesions – the first of its kind – a case report with review of literature. *OGH Reports*, 2017, **6**, 80-82.
24. Chambers, I., Truong, P., Kallail, K. J., Palko, W. Extensive bone marrow necrosis and osteolytic lesions in a case of acute myeloid leukemia transformed from polycythemia vera. *Cureus*, 2016, 6-13.

25. Prabhash, K., Loknath, D., Babu, K. G., Hasib, A. G., Biswas, S., Bapsy, P. P. Chronic myeloid leukemia with osteolytic bone involvement. *J Assoc Physicians India*, 2003, **51**, 740-741.
26. Splénomégalie myéloïde chronique. [Hematocell]. Laboratoire d'hématologie cellulaire du CHU d'Angers. Marc Zandecki. 2016, disponible sur : <http://www.hematocell.fr/>
27. Hoffbrand, A. V., Moss, P. A. H. Syndromes myéloprolifératifs. *L'essentiel en hématologie*. Maloine, 2018, 171-182.
28. Duval, G., Meytadier, H., Bouvard, B. Cas exceptionnel de lésions osseuses lytiques révélant la transformation d'un syndrome myéloprolifératif en leucémie aiguë. *Revue du Rhumatisme*, 2019, **86**, 203-205.
29. Franco, A., Lewis, K. N., Blackmon, J. M., Manaloor, E. J. Hyperostosis - an unusual radiographic presentation of myelodysplastic syndrome transformed to acute myeloid leukemia. *J Radiol Case Rep*, 2010, **4**, 18-25.
30. Solav, S. V., Bhandari, R., Solav, P. Skeletal scintigraphy manifestations of hematologic disorders. *Indian J Nucl Med*, 2012, **27**, 59-62.
31. Cofer. Ostéopathies fragilisantes. *Rhumatologie*. Elsevier/Masson, 2018, 62-76.
32. Cofer. Tumeurs des os primitives ou secondaires. *Rhumatologie*. Elsevier/Masson, 2018, 285-297.
33. Quesnel, B. Niches hématopoïétiques et cellules souches. *EMC - Hématologie*, 2012, **7**, 1-9.
34. Foudi, A., Liang, H., Zhang, Y., Wittner M., Louache, F. Environnement de la moelle osseuse et domiciliation des cellules souches hématopoïétiques. *Hématologie*. Elsevier/Masson, 2018, **14**, 1-11.
35. Vignon, C., Lachot, S., Foucault, A., Ravalet, N., Gyan, E., Picou, F., Herault, B., Le Nail, L. R., Bene, M. C., Herault, O. Reactive oxygen species levels differentiate CD34⁺ human progenitors based on CD38 expression. *Cytometry*, 2020, cyto.b.21948.
36. Guermouche, H., Ravalet, N., Gallay, N., Deswarte, C., Foucault, A., Beaud, J., Rault, E., Saindoy, E., Lachot, S., Martignoles, J. A., Gissot, V., Suner, L., Gyan, E., Delhommeau, F., Herault, O., Hirsh, P. High prevalence of clonal hematopoiesis in the blood and bone marrow of healthy volunteers. *Blood Adv*, 2020, **4**, 3550-3557.
37. Maryanovich, M., Zahalka, A. H., Pierce, H., Pinho, S., Nakahara, F., Asada, N., Wei, Q., Ciero, X., Xu, J., Lefton, A., Frenette, P. S. Adrenergic nerve degeneration in bone

- marrow drives aging of the hematopoietic stem cell niche. *Nat Med*, 2018, **24**, 782- 791.
38. Hanekamp, D., Cloos, J., Schuurhuis, G. J. Leukemic stem cells : identification and clinical application. *Int J Hematol*, 2017, **105**, 549-557.
 39. Bernasconi, P., Borsani, O. Targeting leukemia stem cell-niche dynamics: a new challenge in AML *J Oncol*, 2019, **2019**, 1-12.
 40. Yang, L., Shi, P., Zhao, G., Xu, J., Peng, W., Zhang, J., Zhang, G., Wang, X., Dong, Z., Chen, F., Cui, H. Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy. *Sig Transduct Target Ther*, 2020, **5**, 8.
 41. Yoshida, G. J., Saya, H. Therapeutic strategies targeting cancer stem cells. *Cancer Sci*, 2016, **107**, 5-11.
 42. Thomas, D., Majeti, R. Biology and relevance of human acute myeloid leukemia stem cells. *Blood*, 2017, **129**, 1577-1585.
 43. Wainwright, E. N., Scaffidi, P. Epigenetics and cancer stem cells : unleashing, hijacking, and restricting cellular plasticity. *Trends Cancer*, 2017, **3**, 372-386.
 44. Martinaud, C., Desterke, C., Le Bousse-Kerdilès, M. C. Physiopathologie des néoplasies myéloprolifératives ; quand le microenvironnement s'enflamme !. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2017, **2017**, 41-50.
 45. Ladikou, E. E., Sivaloganathan, H., Pepper, A., Chevassut, T. Acute myeloid leukaemia in its niche : the bone marrow microenvironment in acute myeloid leukaemia. *Curr Oncol Rep*, 2020, **22**, 27.
 46. Behrmann, L., Wellbrock, J., Fiedler, W. Acute myeloid leukemia and the bone marrow niche - take a closer look. *Front Oncol*, 2018, **8**, 444.
 47. Chiarini, F., Lonetti, A., Evangelisti, C., Buontempo, F., Orsini, E., Evangelisti, C., Cappellini, A., Neri, L. M., McCubrey, J. A., Martelli, A. M. Advances in understanding the acute lymphoblastic leukemia bone marrow microenvironment : from biology to therapeutic targeting. *Biochim Biophys Acta*, 2016, **1863**, 449-463.
 48. Kouzi, F., Zibara, K., Bourgeais, J., Picou, F., Gallay, N., Brossaud, J., Dakik, H., Roux, B., Hamard, S., Le Nail, L. R., Hleihel, R., Foucault, A., Ravalet, N., Rouleux- Bonnin, F., Gouilleux, F., Mazurier, F., Bene, M. C., Akl, H., Gyan, E., Domenech, G., El Sabban, M., Herault, O. Disruption of gap junctions attenuates acute myeloid leukemia chemoresistance induced by bone marrow mesenchymal stromal cells. *Oncogene*, 2020, **39**, 1198-1212.

49. Kumar, R., Godavarthy, P. S., Krause, D. S. The bone marrow microenvironment in health and disease at a glance. *J Cell Sci*, 2018, **131**, jcs201707.
50. Tamplin, O. J. Chewing through roots: how leukemia invades and disrupts the bone marrow microenvironment. *Cell Stem Cell*, 2018, **22**, 5-7.
51. Hawkins, E. D., Duarte, D., Akinduro, O., Khorshed, R. A., Passaro, D., Nowicka, M., Straszowski, L., Johnstone, R. W., Harrison, S., Westerman, D. A., Quach, H., Gribben, J., Robinson, M. D., Purton, L. E., Bonnet, D., Lo Celson, C. T-cell acute leukaemia exhibits dynamic interactions with bone marrow microenvironments. *Nature*, 2016, **538**, 518-522.
52. Schepers, K., Campbell, T. B., Passegué, E. Normal and leukemic stem cell niches : insights and therapeutic opportunities. *Cell Stem Cell*, 2015, **16**, 254-267.
53. Binder, S., Luciano, M., Horejs-Hoeck, J. The cytokine network in acute myeloid leukemia (AML) : a focus on pro- and anti-inflammatory mediators. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2018, **43**, 8-15.
54. Méndez-Ferrer, S., Bonnet, D., Steensma, D. P., Hasserjian, R. P., Ghobrial, I. M., Gribben, J. G., Andreeff, M., Krause, D. S. Bone marrow niches in haematological malignancies. *Nat Rev Cancer*, 2020, **20**, 285-298.
55. Chappard, D., Legrand, E., Massin, P., Basle, M. F., Audran, M. Pathophysiologie des métastases osseuses. *Prog Urol*, 2003, **1301**, 9-17
56. Clézardin, P. Pathophysiology of bone metastases and new molecular targets involved in bone remodelling. *Bull Cancer*, 2013, **100**, 1083-1091.
57. Abu-Amer, Y. Inflammation, cancer, and bone loss. *Curr Opin Pharmacol*, 2009, **9**, 427-433.
58. Ahn, M., B., Suh, B. K. Bone morbidity in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*, 2020, **25**, 1-9.
59. Mostoufi Moab, S., Halton, J. Bone morbidity in childhood leukemia : epidemiology, mechanisms, diagnosis, and treatment. *Curr Osteoporos Rep*, 2014, **12**, 300-312.
60. Stein, A., Boughton, B. J. Common acute lymphoblastic leukaemia in an adult with hypercalcemia and lytic bone lesions. *Br J Haematol*, 2008, **70**, 503-503.
61. Ogiwara, T., Kikuchi, Y., Imai, Y., Ohsaka, A., Isaka, M., Oka, Y. Acute lymphoblastic leukemia accompanied by severe hypercalcemia; successful treatment with bisphosphonate. *Rinsho Ketsueki*, 1995, **36**, 29-34.
62. Shimonodan, H., Nagayama, J., Nagatoshi, Y., Hatanaka, M., Takada, A., Iguchi, H., Oda, Y., Okamura, J. Acute lymphocytic leukemia in adolescence with multiple

- osteolytic lesions and hypercalcemia mediated by lymphoblast-producing parathyroid hormone-related peptide : a case report and review of the literature. *Pediatr Blood Cancer*, 2005, **45**, 333-339.
63. Hibi, S., Funaki, H., Ochiai-Kanai, R., Ikushima, S., Todo, S., Sawada, T., Imashuku, S. Hypercalcemia in children presenting with acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol*, 1997, **66**, 353-357.
 64. Inukai, T., Hirose, K., Inaba, T., Kurosawa, H., Hama, A., Inada, H., Chin, M., Nagatochi, Y., Ohtsuka, Y., Oda, M., Goto, H., Endo, M., Morimoto, A., Imaizumi, M., Kawamura, N., Miyajima, Y., Ohtake, M., Miyaji, R., Saito, M., Tawa, A., Yanai, F., Goi, K., Nakazama, S., Sugita, K. Hypercalcemia in childhood acute lymphoblastic leukemia: frequent implication of parathyroid hormone-related peptide and E2A - HLF from translocation 17;19. *Leukemia*, 2007, **21**, 288-296.
 65. Asonitis, N., Angelousi, A., Zafeiris, C., Lambrou, G. I., Dontas, I., Kassi, E. Diagnosis, pathophysiology and management of hypercalcemia in malignancy : a review of the literature. *Horm Metab Res*, 2019, **51**, 770-778.
 66. Kotecha, R. S., Cheung, L. C. Targeting the bone marrow microenvironment : a novel therapeutic strategy for pre-B acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget*, 2019, **10**, 1756-1757.
 67. Niizuma, H., Fujii, K., Sato, A., Fujiwara, I., Takeyama, J., Imaizumi, M. PTHrP-independent hypercalcemia with increased proinflammatory cytokines and bone resorption in two children with CD19 -negative precursor B acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*, 2007, **49**, 990-993.
 68. Fukasawa, H., Kato, A., Fujigaki, Y., Yonemura, K., Furuya, R., Hishida, A. Hypercalcemia in a patient with B-cell acute lymphoblastic leukemia : a role of proinflammatory cytokine. *Am J Med Sci*, 2001, **322**, 109-111.
 69. Lee, Y. H., Lim, Y. J., Bae, J. J., Kim, J. Y., Shin, J. H. Hypercalcemia and extensive osteolytic lesion with increased plasma prostaglandin E₂ level in a child with acute lymphoblastic leukemia. *Korean J Hematol*, 2007, **42**, 433.
 70. Kounami, S., Yoshiyama, M., Nakayama, K., Hiramatsu, C., Aoyagi, N., Yoshikawa, N. Severe hypercalcemia in a child with acute nonlymphocytic leukemia : the role of parathyroid hormone-related protein and proinflammatory cytokines. *Acta Haematol*, 2004, **112**, 160-163.
 71. Schett, G. Effects of inflammatory and anti-inflammatory cytokines on the bone : cytokine effects on bone. *Eur J Clin Invest*, 2011, **41**, 1361-1366.

72. Kaiafa, G., Perifanis, V., Kakaletsis, N., Chalvatzi, K., Hatzitolios, A. I. Hypercalcemia and multiple osteolytic lesions in an adult patient with relapsed pre-B acute lymphoblastic leukemia : a case report. *Hippokratia*, 2015, **19**, 78-81.
73. Shu, S. T., Dirksen, W., Weibaecher, K. N., Rosol, T. Mechanisms of humoral hypercalcemia of malignancy in leukemia/lymphoma. *T-Cell Leukemia*. Dr Olga Babusikova, 2011.
74. Kohart, N. A., Elshafae, S. M., Demirer, A. A., Dirksen, W. P., Breitbach, J. T., Shu, S. T., Xiang, J., Weibaecher, K. N., Rosol, T. J. Parathyroid hormone-related protein promotes bone loss in T-cell leukemia as well as in solid tumors. *Leuk Lymphoma*, 2020, **61**, 409-419.
75. Nosaka, K., Miyamoto, T., Sakai, T., Mitsuya, H., Suda, T., Matsuoka, M. Mechanism of hypercalcemia in adult T-cell leukemia : overexpression of receptor activator of nuclear factor κ B ligand on adult T-cell leukemia cells. *Blood*, 2002, **99**, 634-640.
76. Verma, S. P., Dubashi, B., Basu, D., Dutta, T. K. Kar, R. A rare case of adult acute lymphoblastic leukemia presenting with paraparesis and multiple osteolytic lesions. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2014, **30**, 24–26.
77. Bota, M., Popa, G., Neaga, A., Gocan, H., Blag, C. L. Acute lymphoblastic leukemia with malignant hypercalcemia : a case report. *Am J Case Rep*, 2019, **20**, 402-405.
78. Bolodeoku, J., Kusec, R. Parathyroid hormone related protein (PTHrP) in acute myeloid leukaemia cells. *Br J Haematol*, 1997, **98**, 245-246.
79. Qayed, M., Ahmed, I., Valentini, R. P., Cushing, B., Rajpurkar, M. Hypercalcemia in pediatric acute megakaryocytic leukemia : case report and review of the literature. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2009, **31**, 373-376.
80. Tahara, K., Koiso, H., Osaki, Y., Sekigami, T., Yokohama, A., Saitoh, T., Tsukamoto, N., Murakami, H., Abe, M., Handa, H. Malignancy-associated hypercalcemia related with receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) expression in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Acta Haematol*, 2019, **141**, 135-137.
81. Abdullah, A. S., Adel, A. M., Hussein, R. M., Abdullah, M. A., Yousaf, A., Mudawi, D., Mohamed, S. F., Nashwan, A. J., Soliman, D., Ibrahim, F., Yassin, M. A. Hypercalcemia and acute pancreatitis in a male patient with acute promyelocytic leukemia and pulmonary tuberculosis. *Acta Biomed*, 2018, **89**, 23-27.
82. Zarrer, J., Haider, M. T., Smit, D. J., Taipaleenmäki, H. Pathological crosstalk between metastatic breast cancer cells and the bone microenvironment. *Biomolecules*, 2020, **10**, 337.

83. Bussard, K. M., Venzon, D. J., Mastro, A., M. Osteoblasts are a major source of inflammatory cytokines in the tumor microenvironment of bone metastatic breast cancer. *J Cell Biochem*, 2010, **111**, 1138-1148.
84. Xiang, L., Gilkes, D. The contribution of the immune system in bone metastasis pathogenesis. *IJMS*, 2019, **20**, 999.
85. D'Amico, L., Roato, I. The impact of immune system in regulating bone metastasis formation by osteotropic tumors. *J Immunol Res*, 2015, **2015**, 1-7.
86. Duarte, D., Hawkins, E. D., Lo Celso, C. The interplay of leukemia cells and the bone marrow microenvironment. *Blood*, 2018, **131**, 1507-1511.
87. Brück, O., Dufva, O., Hohtari, H., Blom, S., Turkki, R., Ilander, M., Kovanen, P., Pallaud, C., Marques Ramos, P., Lähteenmäki, H., Välimäki, K., El Missiry, M., Ribeiro, A., Kallioniemi, O., Porkka, K., Pellinen, T., Mustjoki, S. Immune profiles in acute myeloid leukemia bone marrow associate with patient age, T-cell receptor clonality, and survival. *Blood Adv*, 2020, **4**, 274-286.
88. de Vasconcellos, J. F., Laranjeira, A. B. A., Zanchin, N. I. T., Otubo, R., Vaz, T. H., Cardoso, A. A., Brandalise, S. R., Yunes, J. A. Increased CCL2 and IL-8 in the bone marrow microenvironment in acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*, 2011, **56**, 568-577.
89. Bonilla, X., Vanegas, N. D. P., Vernot, J. P. Acute leukemia induces senescence and impaired osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells endowing leukemic cells with functional advantages. *Stem Cells Int*, 2019, **2019**, 1-16.
90. Schepers, K., Pietras, E. M., Reynaud, D., Flach, J., Binnewies, M., Garg, T., Wagers, A. J., Hsiao, E. C., Passegué, E. Myeloproliferative neoplasia remodels the endosteal bone marrow niche into a self-reinforcing leukemic niche. *Cell Stem Cell*, 2013, **13**, 285-299.
91. Yang, G. C., Xu, Y. H., Chen, H. X., Wang, X. J. Acute lymphoblastic leukemia cells inhibit the differentiation of bone mesenchymal stem cells into osteoblasts *in vitro* by activating notch signaling. *Stem Cells Int*, 2015, **2015**, 1-11.
92. Frisch, B. J., Ashton, J. M., Xing, L., Becker, M. W., Jordan, C. T., Calvi, L. M. Functional inhibition of osteoblastic cells in an *in vivo* mouse model of myeloid leukemia. *Blood*, 2012, **119**, 540-550.
93. Schroeder, T., Geyh, S., Germing, U., Haas, R. Mesenchymal stromal cells in myeloid malignancies. *Blood Res*, 2016, **51**, 225.

94. Kuol, N., Stojanovska, L., Apostolopoulos, V., Nurgali, K. Role of the nervous system in cancer metastasis. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, **37**, 5.
95. Hanns, P., Paczulla, A. M., Medinger, M., Konantz, M., Lengerke, C. Stress and catecholamines modulate the bone marrow microenvironment to promote tumorigenesis. *Cell Stress*, 2019, **3**, 221-235.
96. Elefteriou, F. Role of sympathetic nerves in the establishment of metastatic breast cancer cells in bone. *J Bone Oncol*, 2016, **5**, 132-134.
97. Magnon, C., Hall, S. J., Lin, J., Xue, X., Gerber, L., Freedland, S. J., Frenette, P. S. Autonomic nerve development contributes to prostate cancer progression. *Science*, 2013, **341**, 1236361-1236361.
98. Decker, A. M., Jung, Y., Cackowski, F. C., Yumoto, K., Wang, J., Taichman, R. S. Sympathetic signaling reactivates quiescent disseminated prostate cancer cells in the bone marrow. *Mol Cancer Res*, 2017, **15**, 1644-1655.
99. Pimentel, M., Chai, M. G., Le, C. P., Cole, S. W., Sloan, E. K. Sympathetic nervous system regulation of metastasis. *Metastatic Cancer: Clinical and Biological Perspectives*, 2013, 169-179.
100. Campbell, J. P., Karolak, M. R., Ma, Y., Perrien, D. S., Masood Campbell, S. K., Penner, N. L., Munoz, S. A., Zijlstra, A., Tang, X., Sterling, J. A., Elefteriou, F. Stimulation of host bone marrow stromal cells by sympathetic nerves promotes breast cancer bone metastasis in mice. *PLoS Biol*, 2012, **10**, e1001363.
101. Hanoun, M., Maryanovich, M., Arnal Estapé, A., Frenette, P. S. Neural regulation of hematopoiesis, inflammation, and cancer. *Neuron*, 2015, **86**, 360-373.
102. Lamkin, D. M., Sloan, E. K., Patel, A. J., Chiang, B. S., Pimentel, M. A., Ma, J. C. Y., Arevalo, J. M., Morizono, K., Cole, S. W. Chronic stress enhances progression of acute lymphoblastic leukemia via β -adrenergic signaling. *Brain Behav Immun*, 2012, **26**, 635-641.
103. Hanoun, M., Zhang, D., Mizoguchi, T., Pinho, S., Pierce, H., Kunisaki, Y., Lacombe, J., Armstrong, S. A., Dührsen, U., Frenette, P. S. Acute myelogenous leukemia- induced sympathetic neuropathy promotes malignancy in an altered hematopoietic stem cell niche. *Cell Stem Cell*, 2014, **15**, 365-375.
104. Rashidi, A., DiPersio, J. F. Targeting the leukemia-stroma interaction in acute myeloid leukemia : rationale and latest evidence. *Ther Adv Hematol*, 2016, **7**, 40-51.
105. Inbar, S., Neeman, E., Avraham, R., Benish, M., Rosenne, E., Ben Eliyahu, S. Do stress responses promote leukemia progression ? an animal study suggesting a role for

- epinephrine and prostaglandin-E2 through reduced NK activity. *PLoS One*, 2011, **6**, e19246.
106. Nicolas-Boluda, A., Silva, A. K. A., Fournel, S., Gazeau, F. Physical oncology: new targets for nanomedicine. *Biomaterials*, 2018, **150**, 87-99.
 107. Ariffin, A. B., Forde, P. F., Jahangeer, S., Soden, D. M., Hinchion, J. Releasing pressure in tumors : what do we know so far and where do we go from here ? A review. *Cancer Res*, 2014, **74**, 2655-2662.
 108. Jain, R. Cancer : desserrer les tumeurs pour mieux les traiter. *Pour la science*, 2014.
 109. Kim, H., Yu, A. R., Lee, J. J., Lee, Y. J., Lim, S. M., Kim, J. S. Measurement of tumor pressure and strategies of imaging tumor pressure for radioimmunotherapy. *Nucl Med Mol Imaging*, 2019, **53**, 235-241.
 110. Wu, M., Frieboes, H. B., McDougall, S. R., Chaplain, M. A. J., Cristini, V., Lowengrub, J. The effect of interstitial pressure on tumor growth: coupling with the blood and lymphatic vascular systems. *J Theor Biol*, 2013, **320**, 131-151.
 111. Sottnik, J. L., Dai, J., Zhang, H., Campbell, B., Keller, E. T. Tumor-induced pressure in the bone microenvironment causes osteocytes to promote the growth of prostate cancer bone metastases. *Cancer Res*, 2015, **75**, 2151-2158.
 112. Shieh, A. C., Swartz, M. A. Regulation of tumor invasion by interstitial fluid flow. *Phys Biol*, 2011, **8**, 015012.
 113. Ruppender, N. S., Merkel, A. R., Martin, T. J., Mundy, G. R., Sterling, J. A., Guelcher, S. A. Matrix rigidity induces osteolytic gene expression of metastatic breast cancer cells. *PLoS One*, 2010, **5**, e15451.
 114. Fan, Y., Jalali, A., Chen, A., Zhao, X., Liu, S., Teli, M., Guo, Y., Li, F., Li, J., Siegel, A., Yang, L., Liu, J., Na, S., Agarwal, M., Robling, A. G., Nakshatri, H., Li, B. Y., Yokota, H. Skeletal loading regulates breast cancer-associated osteolysis in a loading intensity-dependent fashion. *Bone Res*, 2020, **8**, 9.
 115. Atkinson, E. G., Delgado Calle, J. Emerging role of osteocytes in bone cancer. *JBMR Plus*, 2019, **3**, e10186.
 116. Petrakis, N. L. Bone marrow pressure in leukemic and non-leukemic patients. *J Clin Invest*, 1954, **33**, 27-34.
 117. Nirmalanandhan, V. S., Hurren, R., Cameron, W. D., Gronda, M., Shamas Din, A., You, L., Minden, M. D., Rocheleau, J. V., Schimmer, A. D. Increased pressure alters plasma membrane dynamics and renders acute myeloid leukemia cells resistant to daunorubicin. *Haematologica*, 2015, **100**, e406-408.

118. Passaro, D., Di Tullio, A., Abarrategi, A., Rouault Pierre, K., Foster, K., Ariza McNaughton, L., Montaner, B., Chakravarty, P., Bhaw, L., Diana, G., Lassailly, F., Gribben, J., Bonnet, D. Increased vascular permeability in the bone marrow microenvironment contributes to disease progression and drug response in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*, 2017, **32**, 324-341.e6.
119. Shahrabi, S., Rezaeeyan, H., Ahmadzadeh, A., Shahjahani, M., Saki, N. Bone marrow blood vessels : normal and neoplastic niche. *Oncol Rev*, 2016.

Vu, le Directeur de Thèse

**Vu, le Doyen
De la Faculté de Médecine de Tours
Tours, le**

TRICOCHÉ Anne-Laurine

125 pages – 34 figures

Résumé :

Les douleurs osseuses sont courantes lors du diagnostic de leucémies aiguës. Ces douleurs sont le plus souvent liées à des lésions lytiques, avec de rares formes sévères. Leur prise en charge consiste en une chimiothérapie et des thérapeutiques anti-résorptives.

Les connaissances physiopathologiques des douleurs osseuses des leucémies aiguës demeurent incomplètes ; les acteurs, leur mode d'action et la chronologie exacte des événements osseux suivant le stade de la maladie leucémique restent peu connus. D'autre part, la valeur pronostique des douleurs osseuses leucémiques est controversée. Au contraire, la physiopathologie des douleurs osseuses des métastases tumorales est bien connue et témoigne d'un stade avancé de la maladie. Par conséquent, ces douleurs osseuses sont corrélées à un pronostic défavorable dans les tumeurs métastatiques, ce qui n'est pas avéré pour les leucémies aiguës.

Pourtant, la physiopathologie imputable aux douleurs osseuses dans les leucémies aiguës est sensiblement comparable à la physiopathologie décrite des métastases osseuses. En effet, les leucémies aiguës entraînent un dérèglement du turnover osseux médié par RANKL/RANK. Le sécrétome leucémique transforme le microenvironnement en un milieu propice à la résorption. Le système nerveux autonome intervient dans le développement des lésions et douleurs osseuses des leucémies aiguës. Enfin, la masse leucémique exerce une pression sur les structures osseuses médullaires.

Des études modélisant la niche leucémique *in vitro* avec les contraintes de pression devraient permettre des avancées notables dans la physiopathologie des leucémies aiguës.

Mots clés : Leucémies aiguës, douleurs osseuses, lésions lytiques, niche leucémique, physiopathologie, pronostic, pression.

Jury :

Président du Jury : Professeur Emmanuel GYAN

Directeur de thèse : Professeur Olivier HERAULT

Membres du Jury : Professeur Claude LINASSIER
Professeur Patrick EMOND
Docteur Louis-Romée LE NAIL

Date de soutenance : le 18 décembre 2020