

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2011

N° 76

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Spécialité Hématologie Clinique

par

Florent Malard

né(e) le 21/12/1982 à Nantes

Présentée et soutenue publiquement le 10/10/2011

Impact du plerixafor sur la mobilisation des cellules souches
hématopoïétiques autologues chez les patients
préalablement traités par fludarabine ou lénalidomide

Président :

Monsieur le Professeur Philippe Moreau

Directeur de thèse :

Monsieur le Professeur Mohamad Mohty

Membres du Jury :

Monsieur le Professeur Steven Le Guill

Madame le Docteur Béatrice Mahé

Madame le Docteur Véronique Stocco

SOMMAIRE

1-Préambule.....	1
2-Introduction.....	4
2-1-2-Développement de l'autogreffe de moelle	4
2-1-3-Développement de l'autogreffe de cellules souches périphériques.....	8
2-1-3-2-Développement des technologies d'aphérèse en clinique	8
2-1-3-3-Les premières tentatives de greffe de CSP	9
2-1-3-4-Les premières autogreffes de CSP réussies	10
2-1-3-5-Le développement des facteurs de croissance hématopoïétiques	11
2-2-Facteurs de risque de mauvaise collecte de CSP	13
2-2-1-Définition mauvais collecteur de CSP	13
2-2-2-Les facteurs de risque de mauvaise collecte	14
3-Le lenalidomide et la fludarabine, 2 drogues majeures dans l'arsenal thérapeutique de l'hématologue.....	15
3-1-Le lenalidomide.....	15
3-1-1-Mécanisme d'action, posologie, mode d'administration.....	15
3-1-2- Etudes ayant permis la mise sur le marché.....	15
3-1-3- Effets indésirables.....	16
3-1-4-Lénalidomide et collecte de CSP.....	17
3-2-La fludarabine.....	17
3-2-1-Mécanisme d'action, posologie, mode d'administration.....	17
3-2-2- Etudes ayant permis la mise sur le marché.....	18
3-2-3- Effets indésirables.....	19
3-2-4-Fludarabine et collecte de CSP	19
4-Le Plerixafor un nouvel agent permettant la collecte des CSP	21
4-1-Les acteurs moléculaires du phénomène de mobilisation	21
4-2-Historique du Plerixafor	25
4-3-Données cliniques actuellement disponibles sur la mobilisation par plerixafor dans le cadre de l'auto-CSH	29
4-4- Schéma d'administration du plerixafor	32
5-Remobilisation par plerixafor des patients préalablement traités par fludarabine et lénalidomide : étude rétrospective multicentrique de 83 cas	33
5-1-Objectifs de l'étude.....	33
5-2-Matériels et méthodes	33
5-2-1-Population concernée, critères d'inclusion	33

5-2-2-Collecte des cellules souches périphériques sous plerixafor.....	35
5-2-3-Analyse statistique.....	35
5-3-Résultats.....	37
5-4-Discussion	41
6-Perspectives.....	43
7-Conclusion.....	48
8-Références bibliographiques.....	50
9-Annexes	63

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Première publication rapportant une greffe de moelle chez l'homme

Figure 2 : Première publication rapportant une autogreffe chez l'homme

Figure 3 : Représentation schématique des principales interactions entre les CSH et les cellules de l'environnement médullaire. D'après Chabannon et al.⁹⁸

Figure 4 : Molécule de plerixafor

Figure 5 : Mécanisme d'action du plerixafor

Figure 6 : Schéma de mobilisation et d'aphérèse utilisé dans le programme compassionnel Européen, les patients pouvaient recevoir jusqu'à 7 injections de plerixafor et 7 séances aphérèses

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Caractéristiques de la population étudiée

Tableau II : Résultats de la mobilisation

Tableau III : Bénéfices et limites à l'utilisation des méthodes classiques de mobilisation des CSH.

Tableau IV : Bénéfices et limites de la mobilisation de CSH par plerixafor.

LISTE DES ABREVIATIONS

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ALAT : Alanine Amino Transférase

ASAT : Aspartate Amino Transférase

Auto-CSH : Autogreffe de Cellules Souches Hématopoïétiques

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

CSP : Cellules Souches Périphériques

CXCL-12 : *C-X-C chemokine ligand12*

CXCR-4 : *C-X-C chemokine receptor type 4*

EBMT : European Groupe for Blood and Marrow Transplantation

G-CSF : *Granulocyte colony-stimulating factor*

GM-CSF : *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*

ICT : Irradiation Corporelle Totale

i.e. : id est

IMiDs : *Immunomodulatory drugs*

LLC : Leucémie Lymphoïde Chronique

LMC : Leucémie Myéloïde Chronique

LNH : Lymphome Non Hodgkinien

MH : Maladie de Hodgkin

MM : Myélome Multiple

PC : Poids Corporel

PNN : Polynucléaire Neutrophile

SCF : *Stem Cell Factor*

SDF1- α : *Stromal cell Derived Factor 1 α*

SFGM-TC : Société Française de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

vs : versus

1-Préambule

Les cellules souches hématopoïétiques (CSH), sont comme toutes les cellules souches, capables d'auto-renouvellement et de différenciation ; il s'agit de cellules souches multipotentes, capables de générer toutes les cellules sanguines. Les applications thérapeutiques potentielles des CSH sont importantes ; en effet au delà de leur utilisation pour l'autogreffe et l'allogreffe de CSH, de nouvelles applications cliniques voient le jour, la première transfusion de globules rouges générés in vitro à partir de CSH en est l'un des exemples les plus frappants¹.

La découverte de l'existence des CSH remonte à la première moitié du vingtième siècle, aboutissant à la réalisation de la première greffe de moelle osseuse en 1958 chez l'homme, et à l'utilisation en routine aujourd'hui de l'autogreffe et de l'allogreffe de cellules souches périphériques (CSP). Nantes s'inscrit pleinement dans l'histoire de l'autogreffe et de l'allogreffe. En effet, dès 1983, le Pr. Jean-Luc Harrousseau, fondateur du service d'hématologie du Centre Hospitalier Universitaire de Nantes a lancé le programme de greffe de cellules souches hématopoïétiques et rapporte dans le British Journal of Haematology, l'utilisation de melphalan haute dose suivie de la réinjection de cellules souches médullaires autologues chez 2 patients présentant un myélome multiple de mauvais pronostic². Le service est ainsi devenu très rapidement un centre de référence dans cette approche thérapeutique, extrêmement novatrice à l'époque.

Si on se focalise sur l'autogreffe, le milieu des années 80 marque le réel essor de cette procédure avec des indications affinées, des conditionnements d'autogreffe optimisés et surtout grâce au développement des autogreffes à partir de cellules souches périphériques. Cela a abouti à l'utilisation aujourd'hui de cette thérapeutique en routine. Ainsi, l'autogreffe fait partie intégrante, grâce au travail du Pr. Harrousseau, du traitement de première ligne du myélome multiple (MM) du sujet jeune³, elle garde des indications dans le lymphome⁴ et la leucémie lymphoïde chronique⁵, et certains lui disputent encore une place dans certaines indications très précises

dans les leucémies aiguës⁶ ; par contre son utilisation dans les tumeurs solides (notamment cancer du sein et du testicule) a très nettement diminué.

En terme de source de greffon, l'autogreffe de CSP a, de part ses avantages, supplanté l'autogreffe de moelle, le défi reste donc la collecte de cellules souches périphériques afin de pouvoir proposer cette thérapie à tous les patients éligibles. Les stratégies de mobilisation des CSP ont longtemps fait appel à l'utilisation de chimiothérapie et de facteurs de croissance granulocytaire (G-CSF), cependant chez les patients mauvais mobiliseurs, ces stratégies se sont révélées insuffisantes, et jusqu'à récemment il n'existait aucune alternative thérapeutique particulièrement efficace. Le besoin de nouveaux agents de mobilisation se faisait d'autant plus sentir avec l'apparition de nouveaux agents de chimiothérapie, dont l'utilisation augmente pour certains le risque d'échec de la collecte des CSP, tel que le lénalidomide, une drogue immunomodulatrice extrêmement efficace dans le MM, ou la fludarabine, une drogue majeure dans le traitement de première ligne de la leucémie lymphoïde chronique entre autres. Il se faisait ainsi sentir un besoin urgent de nouveaux agents pour mobiliser efficacement les cellules souches hématopoïétiques dans le sang circulant.

Récemment un antagoniste de CXCR-4, une molécule d'adhésion jouant un rôle dans l'adhésion des cellules CD34⁺ au niveau de la niche médullaire hématopoïétique, a été développé. Cet antagoniste, le plerixafor (AMD3100) permet d'améliorer le taux de mobilisation chez les patients bon mobiliseurs, mais également chez les mauvais mobiliseurs. Avant l'obtention de son autorisation de mise sur le marché en Europe, cette drogue était accessible dans le cadre d'un programme compassionnel de Juillet 2008 à Aout 2010 pour les patients avec un MM ou un lymphome non hodgkinien (LNH) qui avaient échoué à une première mobilisation et qui n'étaient pas éligibles à un essai clinique évaluant le plerixafor. Plus de 1400 patients ont été traités dans le cadre de ce programme compassionnel et le recueil des données cliniques a été réalisé pour près de la moitié de ces patients. L'objectif de ce travail de thèse est d'évaluer

l'efficacité du plerixafor dans un sous groupe de patients particulièrement mauvais mobiliseurs, ceux préalablement traités par fludarabine ou lénalidomide, inclus dans ce programme compassionnel.

2-Introduction

2-1-Définition et historique de l'autogreffe de CSH

2-1-1-Définition de l'autogreffe

L'objectif d'une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques est l'administration d'une forte dose de cytotoxique (chimiothérapie seule ou associée à de la radiothérapie) afin de détruire le maximum de cellules tumorales, suivie de la réinjection de cellules souches hématopoïétiques afin de permettre la sortie de l'aplasie létale résultant d'un tel traitement.

2-1-2-Développement de l'autogreffe de moelle

L'histoire de l'autogreffe de moelle remonte à 1939 avec la publication par Osgood et al. de la première tentative de transfusion de moelle osseuse pour traiter un cas d'aplasie médullaire⁷ (**Fig. 1**). La découverte dans les années 1950 de la capacité d'auto-renouvellement des cellules hématopoïétiques⁸⁻¹⁰ a ensuite poussé les médecins et scientifiques de l'époque à développer les stratégies d'autogreffe de moelle osseuse. Les premières expériences ont été menées dans un premier temps chez le chien où la faisabilité du prélèvement de moelle osseuse, de son stockage et de sa réinjection a été démontrée^{11, 12}.

Kurnik et al. rapporte en 1958 les premiers cas d'autogreffe chez l'homme¹³ (**Fig. 2**). Le premier cas était celui d'un homme de 36 ans atteint d'un teratocarcinome métastasé au poumon. Après réalisation d'une première série d'irradiation, on avait procédé à la réinjection de moelle autologue. Environ 4 semaines après, le patient a présenté une reconstitution hématopoïétique complète et la moelle avait retrouvé un aspect normal. Cependant 2 semaines plus tard le patient a présenté une nouvelle évolution métastatique conduisant à son décès malgré la réalisation d'une seconde autogreffe. Le deuxième cas était celui d'un homme de 62 ans porteur d'un

carcinome rénal multimétastatique, autogreffé après radiothérapie. Bien que l'évolution ait été rapidement défavorable, le patient décédant 10 jour après l'autogreffe, on constatait sur les derniers hémogrammes une remontée des éléments figurés du sang attestant peut être de la réussite de l'autogreffe.

Les bases de la technique d'autogreffe étaient donc posées dès la fin des années 1960. Cependant la faiblesse des soins de support, la crainte de réinjecter des cellules tumorales au patient et le manque de connaissance sur le conditionnement intensif ont freiné le développement de cette technique. Ainsi ce n'est que dans les années 1970 que l'autogreffe a pu se développer avec l'amélioration des soins de support : meilleure efficacité des antibiotiques, apparition des chambres à flux laminaire, généralisation des transfusions de globules rouges et de plaquettes. Les progrès en terme de conditionnement vont également permettre d'accélérer son développement.

Ce n'est cependant qu'en 1980 que le principe de la dose intensité à la base même du principe de l'autogreffe a été démontré clairement par Frei et Canellos¹⁴ : la rémission et la guérison de certaines pathologies chimiosensibles (leucémie, lymphome, cancer testiculaire, cancer bronchique à petites cellules) sont directement liées à la dose de chimiothérapie ou de radiothérapie administrée. Dans les années 80, les indications de l'autogreffe se précisent et son potentiel curateur dans le lymphome et la leucémie apparaît, on voit alors le nombre d'autogreffe augmenter.

Mais surtout les années 1980 voient l'aboutissement des travaux sur l'utilisation de cellules souches périphériques du sang circulant comme source de cellules souches hématopoïétiques alternative.

Figure 1 : Première publication rapportant une greffe de moelle chez l'homme

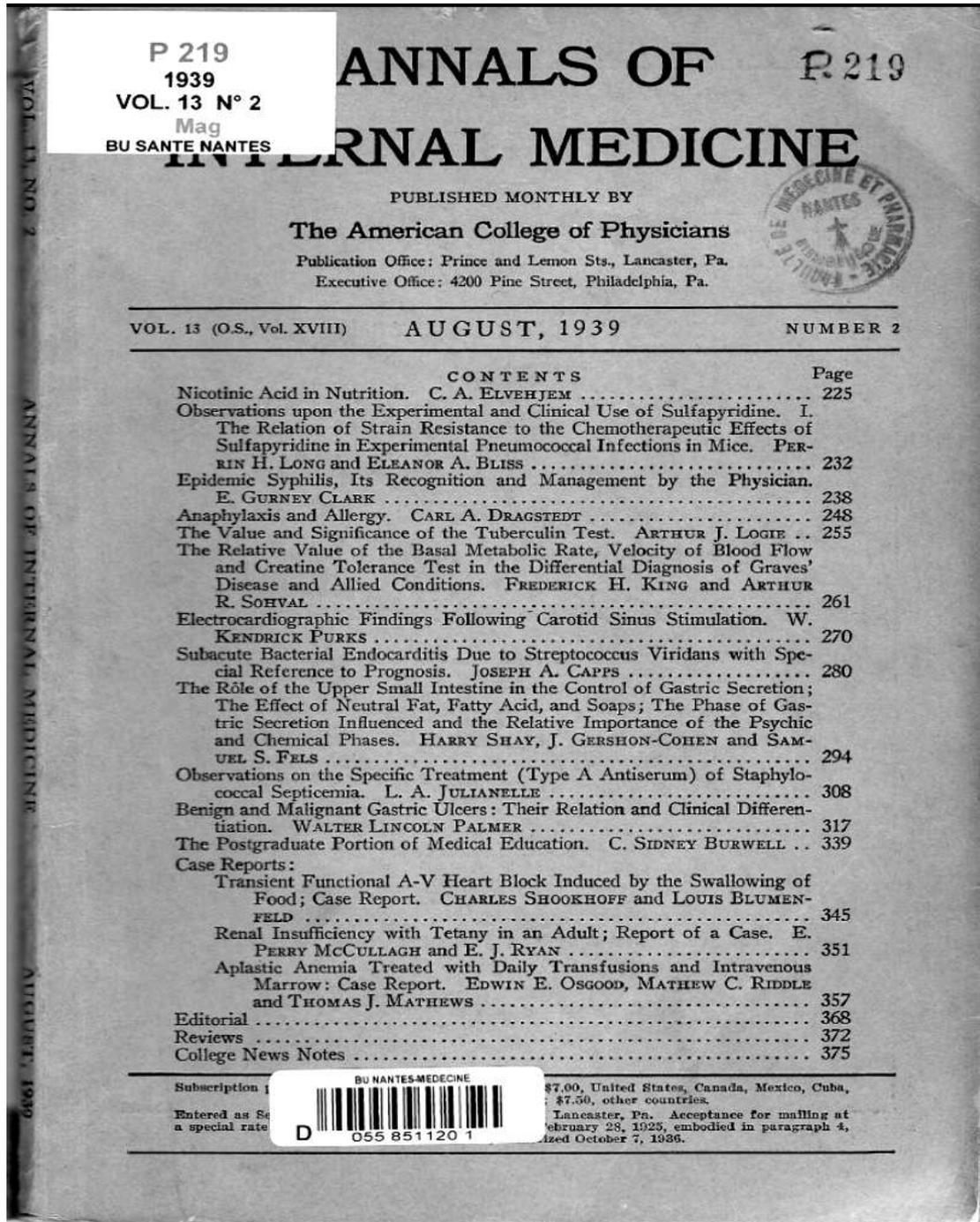
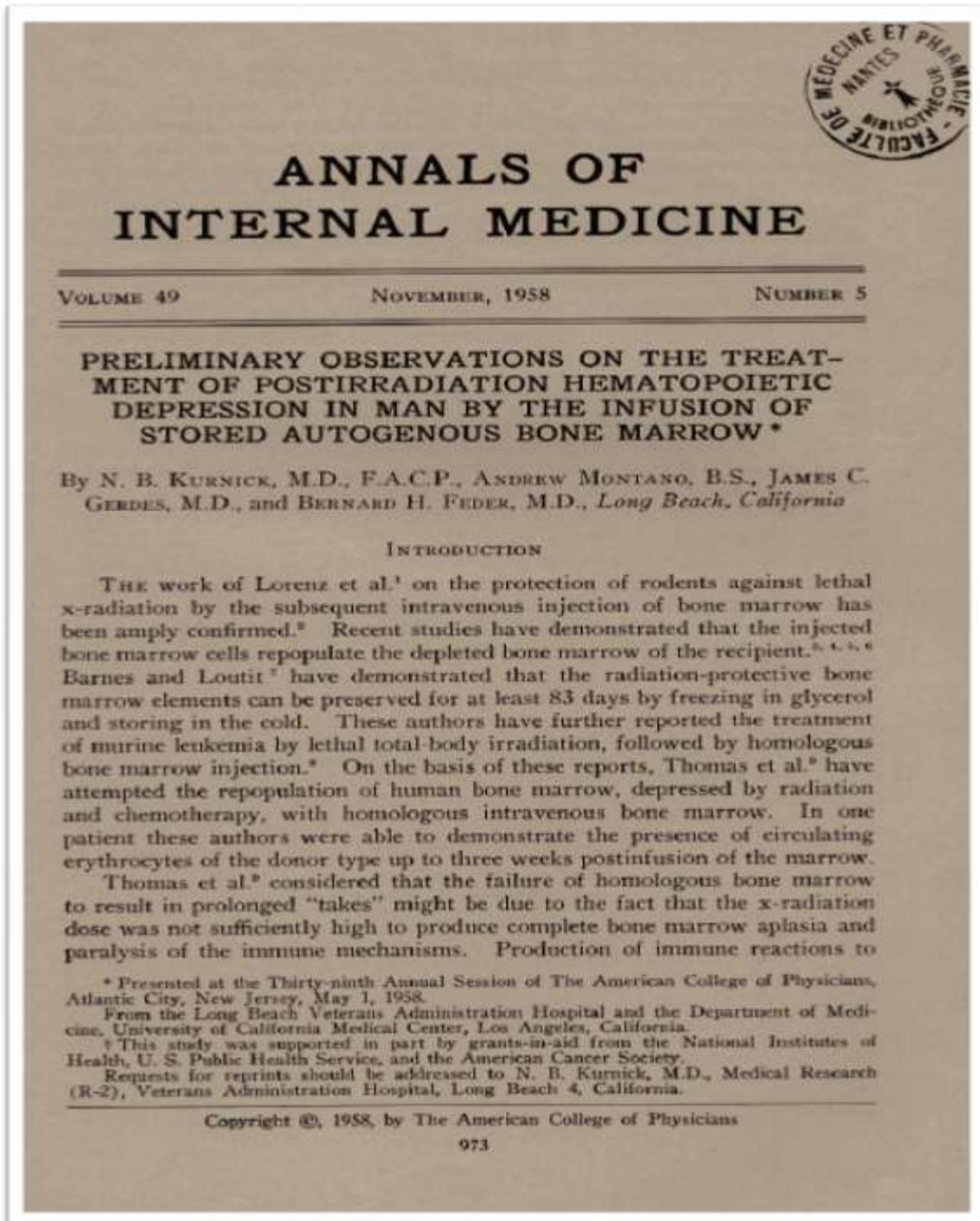


Figure 2 : Première publication rapportant une autogreffe chez l'homme



2-1-3-Développement de l'autogreffe de cellules souches périphériques

2-1-3-1-Les origines des CSP dans l'auto-CSH

La moelle osseuse est restée la seule source de cellules souches hématopoïétiques pour la greffe de moelle autologue ou allogénique jusque dans les années 1980. Cependant dès les années 1950, la découverte dans le sang périphérique de cellules non leucémiques capables de division et de synthèse d'ADN, a suggéré l'existence d'un petit nombre de cellules circulantes « multipotentes »¹⁵. La preuve indirecte de la migration des cellules souches par le sang périphérique a été démontré pour la première fois dans des expériences de blindage, où après irradiation corporelle totale (ICT) létale, des cellules souches provenant de tissu hématopoïétique protégé de l'ICT, passent dans la circulation sanguine et recolonisent la moelle osseuse irradiée¹⁶. Des expériences de parabiose post-radique¹⁷, puis de circulation croisée chez de gros animaux¹⁸ ont apporté la preuve que les cellules souches circulantes étaient capables de reconstituer une hématopoïèse et une lymphopoïèse complète après conditionnement myéloablatif. Les bases du concept de la transplantation de cellules souches hématopoïétiques du sang périphérique étaient posées.

L'étape suivante était de collecter les leucocytes, avec parmi eux les potentielles cellules souches afin de reconstituer une hématopoïèse et une lymphopoïèse efficace après traitement myéloablatif. Le terme « cellule souche du sang » comme population de cellule transplantable a été introduit au début des années 60¹⁹.

2-1-3-2-Développement des technologies d'aphérèse enclinique

Le développement de la technique d'aphérèse à flux continu au NIH (National Institute of Health) au début des années 60 et sa première utilisation

clinique au MD. Anderson (Houston, Texas), a marqué une étape critique. La machine d'aphérèse NCI-IBM permettait le passage de 2 à 3 masses sanguines, ainsi un nombre important de leucocytes était récolté en seulement 2 à 3 heures²⁰. Il était par conséquent concevable que de nombreuses cellules souches périphériques, représentant une petite sous population des leucocytes puissent être récoltées par les techniques d'aphérèse. Au début des années 70, une première tentative au M.D. Anderson de collecte de cellules souches par aphaérèse à flux continu a fonctionné²¹, posant les bases pour que l'utilisation en clinique de la greffe de cellules souches périphériques devienne une alternative à la greffe de moelle osseuse, bien que le seuil de cellules souches obtenu par aphaérèse reste inférieur à celui obtenu lors d'un prélèvement de moelle osseuse.

2-1-3-3-Les premières tentatives de greffe de CSP

Au milieu des années 1970, s'est posée la question de la qualité des cellules souches circulantes. On pensait qu'elles avaient une capacité d'auto-renouvellement limitée et un faible potentiel de prolifération²². Deux tentatives de transplantation de cellules souches périphériques entre des jumeaux homozygotes ont été réalisées, la première en 1979 à l'université de Californie (Los Angeles, Californie)²³, la seconde en 1980 au NIH²⁴, aboutissant à une reconstitution de la lymphopoïèse et de l'hématopoïèse incomplète. Dans le cas de l'Université de Californie, le produit de leucaphérèse était administré au patient en 6 transfusions de leucocytes sur une durée de 14 jours. Le nombre total de cellules mononuclées transfusées était de $5,8 \times 10^{10}$ /Kg de poids corporel. Plus de 2 mois après, aucun signe de récupération des plaquettes ou des granuleux n'était constaté. On peut spéculer que chaque transfusion de leucocytes ne contenait pas suffisamment de progéniteurs hématopoïétiques pour permettre la prise de greffe. Dans le cas du NIH, le produit de leucaphérèse était administré en perfusion quotidienne pendant 8 jours. Aucune récupération des granuleux, des monocytes et des plaquettes n'a été documentée 8 semaines après la

transfusion. Les auteurs ont attribué l'échec de la prise de greffe au faible nombre de progéniteurs hématopoïétiques clonogéniques transplantés, ils représentaient un 8^{ème} de la quantité transplantée habituellement lors d'une greffe de moelle osseuse. Les 2 patients ont reçu une greffe de secours avec la moelle de leur jumeau syngénique. Il faut noter que la collecte de cellules souches par cytophérèse était réalisée au steady state sans facteur de croissance.

2-1-3-4-Les premières autogreffes de CSP réussies

L'autogreffe de cellules souches périphériques nécessitait également la mise au point de la technique de cryo-préservation dans l'azote liquide pour de grands volumes de produit de leucaphérèse. Cette technique permet de conserver les cellules souches périphériques récoltées lors d'aphérèses successives jusqu'à l'obtention de la dose nécessaire à la prise de greffe²⁵.

Ainsi avec les techniques d'aphérèse et de cryopréservation au point, les premières tentatives de réinjection de cellules souches autologues ont été publiées en 1981 au Hammersmith Hospital (London, United Kingdom), chez 29 patients atteints de leucémie myéloïde chronique (LMC) en phase accélérée²⁶. Les cellules souches périphériques étaient conservées en phase chronique au diagnostic, l'objectif était l'obtention d'une 2^{ème} phase chronique. La survie médiane était de 27 semaines contre 10 semaines chez les patients qui n'avaient pas été autogreffés. La même année, au John Hopkins Hospital (Baltimore, Maryland), un greffon de CSP « normal » avait été prélevé puis greffé chez un patient avec une LMC en rémission cytogénétique. Après traitement myéloablatif et réinjection des cellules souches périphériques, le patient a présenté rapidement une reconstitution hématologique complète, cependant la prise de greffe à long terme n'a pas pu être documentée²⁷.

Il a fallu attendre 5 ans, en 1986 pour voir la réalisation, à l'hôpital universitaire d'Heidelberg (Heidelberg, Allemagne), d'une nouvelle autogreffe de CSP après radiothérapie et chimiothérapie myéloablative chez un patient

atteint d'un lymphome de Burkitt²⁸. La reconstitution hématopoïétique a été rapide et complète, le patient est toujours vivant 35 ans plus tard, en rémission complète avec une hématopoïèse et une lymphopoïèse normale.

En 1986 et en 1987 des publications similaires d'autogreffe de CSP ont été rapportées à l'université du Nebraska (Nebraska, USA)²⁹, à l'hôpital de Haut Leveque (Bordeaux, France)³⁰ et à l'hôpital Royal Adelaide (Adelaide, Australie)³¹. Dans toutes ces autogreffes de CSP, les cellules souches étaient recueillies par des aphérèses successives réalisées au steady state sans mobilisation préalable par des facteurs de croissance hématopoïétiques. Le problème était que les patients devaient souvent faire de nombreuses aphérèses (jusqu'à 6) afin de recueillir un nombre de CSP suffisant pour réaliser l'autogreffe.

2-1-3-5-Le développement des facteurs de croissance hématopoïétiques

Le développement des facteurs de croissance hématopoïétiques, initialement utilisés pour la prise en charge de la neutropénie chimio-induite a permis de régler ce problème. En effet, il est rapidement apparu que le G-CSF permet l'expansion du pool de cellules souches hématopoïétiques, en mobilisant les progéniteurs hématopoïétiques CD34+ de la moelle osseuse vers le sang périphérique³². En 1988, 2 études de mobilisation des CSP au Dana-Farber Cancer Institute (Boston, Massachusetts, USA)³³ et au Melbourne Hospital (Melbourne, Australie)³⁴ ont été publiées. Les américains avaient utilisé du GM-CSF, alors que les Australiens avaient utilisé du G-CSF. Ces études ont montré que l'utilisation de facteurs de croissance hématopoïétiques permettait une augmentation de 60 à 100 fois du taux de base des cellules formant colonie. Les études suivantes³⁵ ont montré un avantage à utiliser le G-CSF plutôt que le GM-CSF pour la mobilisation ; aujourd'hui le G-CSF est le traitement de mobilisation des CSP de référence.

A partir du milieu des années 1980 avec le développement de stratégies de mobilisations efficaces, l'autogreffe de CSP est devenue de plus en plus utilisée. Une étude randomisée a comparé l'autogreffe de CSP à celle de moelle osseuse chez des patients traités pour un lymphome³⁶ ; l'utilisation de CSP permettait de diminuer le nombre de transfusion de plaquettes, de raccourcir la durée de l'aplasie (plaquettes et polynucléaires neutrophiles) et logiquement de diminuer la durée d'hospitalisation. Ces données ont été confirmées par d'autres études, qui de plus mettaient en évidence un avantage pharmaco-économique³⁷⁻³⁹ et en terme de qualité de vie³⁹ à l'utilisation de CSP. Ainsi au vu de ces études, l'autogreffe de CSP a presque complètement remplacé l'autogreffe de moelle.

Le nombre d'autogreffe a poursuivi une croissance continue jusque dans les années 2000 où il s'est stabilisé autour de 2700 par an en France (2814 en 2004 selon de le registre de la SFGM-TC). En Europe le nombre d'autogreffe était de 16028 en 2008 selon le registre de l'EBMT. Au niveau des indications, environ 13500 étaient réalisées pour une hémopathie lymphoïde, 1500 pour une tumeur solide et seulement 1000 pour une leucémie. 88% des autogreffes sont réalisées avec des CSP, 11% sont réalisées avec de la moelle osseuse et 1% avec de la moelle osseuse et des CSP à la fois.

Ce rappel historique met en perspective l'attitude pionnière de l'école Nantaise d'hématologie, la première autogreffe au CHU de Nantes a été réalisée le 28 Avril 1983 pour un lymphome de haut grade ; depuis 2369 autogreffes ont été réalisées, 87% avec des CSP et seulement 12% avec de la moelle osseuse et 1% des patients ont reçu les 2.

2-2-Facteurs de risque de mauvaise collecte de CSP

2-2-1-Définition mauvais collecteur de CSP

Il n'existe pas à ce jour de consensus sur la définition des mauvais mobilisateurs de CSP. Certains utilisent le seuil de $1,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg de poids corporel (PC), alors que d'autres utilisent un seuil de $2,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC pour définir les mauvais mobilisateurs. Les études les plus récentes ont adopté la définition de mauvais mobilisateurs comme l'incapacité à collecter $2,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC. Cela peut être estimé uniquement rétrospectivement une fois que l'aphérèse a été réalisée. Il n'existe pas de seuil sur le nombre d'aphérèses à réaliser afin d'atteindre ce but et de différencier les bons des mauvais mobilisateurs.

On sait qu'il existe une corrélation hautement significative entre la concentration en CD34⁺ dans le sang périphérique et la capacité à collecter le nombre adéquat de cellules CD34⁺ en une à trois aphérèses^{40, 41}. On considère en général qu'un pic supérieur à 20 cellules CD34⁺ par μ L est le seuil pour définir un bon mobilisateur⁴².

Le GITMO (Groupement Italien de transplantation de cellules souches) a récemment proposé une tentative de définition des patients mauvais mobilisateurs⁴³. Les patients avec un MM ou un LNH sont considérés comme mauvais mobilisateurs prouvés lorsque :

- après mobilisation adéquate (G-CSF 10 μ g/Kg seul ou $\geq 5\mu$ g/Kg en association avec une chimiothérapie), le pic de cellules CD34⁺ circulantes est inférieur à 20/ μ L jusqu'à 6 jours après la mobilisation par G-CSF ou jusqu'à 20 jours après chimiothérapie et G-CSF, ou
- ils atteignent moins de $2,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC en ≤ 3 aphérèses.

Les patients sont définis comme des mauvais mobilisateurs possibles, lorsque :

- ils ont échoué à une tentative préalable de mobilisation, ou
- ils ont préalablement reçu une radiothérapie extensive ou un cycle complet de chimiothérapie affectant la mobilisation des CSH, et

- ils remplissent 2 des critères suivants : maladie avancée (≥ 2 lignes de chimiothérapie), maladie réfractaire, envahissement ostéomédullaire massif ou cellularité inférieure à 30% lors de la mobilisation, âge supérieur à 65 ans.

Cette définition des mauvais mobiliseurs possibles et prouvés reste cependant à valider dans le cadre d'essais cliniques et dans la pratique clinique quotidienne.

L'autre question prêtant à controverse est de savoir si on améliore le devenir à long terme du patient en réinjectant une concentration plus élevée de cellules CD34⁺. Ainsi bien qu'une plus haute dose de cellules CD34⁺ (i.e. supérieur à $6,5 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC), raccourcit significativement le temps de récupération des leucocytes et des plaquettes, la prise de greffe est obtenue avec seulement $2,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC. Il n'y a donc pas de preuve solide que des concentrations supérieures à $5,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC permettent d'améliorer le devenir à long terme.

L'intérêt d'obtenir une concentration plus élevée de CSP lors de la collecte concerne essentiellement le MM, dans l'idée de réaliser une deuxième autogreffe⁴⁴.

2-2-2-Les facteurs de risque de mauvaise collecte

Les facteurs de risque de mauvaise mobilisation identifiés sont les suivants: un âge supérieur à 60 ans, une maladie progressive lors de la collecte, un envahissement ostéo médullaire massif, un nombre important de ligne de radiothérapie ou chimiothérapie, le type de chimiothérapie, un taux de plaquettes inférieur à 100×10^9 /L avant l'aphérèse, une neutropénie fébrile durant la mobilisation et bien entendu un échec préalable de mobilisation^{42, 43}.

Parmi les chimiothérapies, la fludarabine et le lénalidomide ont été clairement identifiés comme facteurs de risque de mauvaise mobilisation.

3-Le lenalidomide et la fludarabine, 2 drogues majeures dans l'arsenal thérapeutique de l'hématologue

3-1-Le lenalidomide

3-1-1-Mécanisme d'action, posologie, mode d'administration

L'efficacité du thalidomide dans la prise en charge du MM, a conduit à développer de nouvelles drogues dans cette classe thérapeutique (les IMiDs) avec moins d'effets secondaires et une efficacité anti-tumorale accrue, c'est ce qui a donné naissance au lenalidomide(revlimid®). Son mécanisme d'action n'est pas complètement élucidé, alliant probablement propriétés anti-angiogéniques, immunomodulatrices et apoptotiques^{45, 46}.

Ce traitement est administré par voie orale, à la posologie de 25 mg par jour en une prise 21 jours sur 28.Des adaptations de dose peuvent être réalisées en fonction de la tolérance, hématologique notamment ou en cas d'insuffisance rénale, son élimination étant rénale pour les deux tiers. Ce médicament n'interfère pas avec le cytochrome P450.

3-1-2- Etudes ayant permis la mise sur le marché

Dès 2002 la première étude est publiée⁴⁷, il s'agit d'un essai de phase 1 d'escalade de dose de 5 à 50 mg par jour qui a inclus 24 patients présentant un MM réfractaire ou en rechute. Le taux de réponse globale était de 29%, essentiellement à des doses de 25 à 50 mg par jour, 25 mg s'est avéré être la dose maximale tolérée. Le délai médian avant d'observer une réponse était de 2 mois et la durée médiane de réponse était de 6 mois. Des réponses ont été observées chez des patients traités auparavant par thalidomide.

En Novembre 2007 paraissent simultanément 2 études de phase III randomisées en double aveugle⁴⁸, l'une nord américaine (MM-009) incluant

353 patients, l'autre internationale (MM010) incluant 351 patients, comparant l'association légalidomide et dexaméthasone contre dexaméthasone seul dans le MM réfractaire ou en rechute. Le taux de réponse globale était statistiquement supérieur dans le groupe légalidomide (61% contre 20% dans le MM-009 et 60% contre 24% dans le MM-010), l'analyse conjointe des 2 essais retrouve un taux de réponse complète de 15% contre 2%, la durée médiane avant progression était de 13,4 mois contre 4,6 mois, la durée médiane de réponse était de 15,8 contre 7 mois, avec un suivi médian de 48 mois il a même été mis en évidence un avantage en survie : 38 mois contre 31,6 mois (P=0,045).

3-1-3- Effets indésirables

L'un des effets secondaires principaux du légalidomide est la toxicité hématologique prédominant sur les granuleux et les plaquettes. Une neutropénie de grade 3-4 est retrouvée chez 12% des patients jamais traités et entre 16 et 69% des patients antérieurement traités⁴⁸⁻⁵⁰; une thrombopénie de grade 3-4 concerne 30 à 40% des patients antérieurement traités et très peu de patients jamais traités.

Une neuropathie est présente chez 10 % des patients en moyenne, significativement inférieure au taux retrouvé chez les patients traités par thalidomide. Une dose unique quotidienne permet de limiter ce profil de toxicité⁴⁸.

En l'absence de prophylaxie, les événements thromboemboliques sont fréquents, surtout quand le légalidomide est associé à de la dexaméthasone, de l'ordre de 15 à 20%⁴⁸. Ce risque diminue cependant à 3% lorsqu'un traitement préventif par antiagrégants plaquettaire est prescrit.

Il existe également une toxicité cutanée chez 29% des patients, principalement à type de rash morbilliforme, rarement sévère⁵¹.

Contrairement au thalidomide, il n'est pas rapporté d'incidence plus élevée de tremblement ou de constipation sous légalidomide.

3-1-4-Lénalidomide et collecte de CSP

Bien que le lenalidomide soit un traitement extrêmement prometteur pour la prise en charge du myélome multiple en première ligne, il semble altérer de façon conséquente la mobilisation et la collecte des cellules souches périphériques. Ainsi le taux d'échec de mobilisation par G-CSF chez les patients préalablement traités par lenalidomide varie de 7 à 45%⁵²⁻⁵⁴.

L'utilisation du lenalidomide dans les protocoles thérapeutiques de première ligne des sujets jeunes a poussé les investigateurs à développer de nouvelles stratégies de mobilisation des CSP en première ligne. Ainsi Cavallo F et al.⁵⁵ rapporte la mobilisation des CSP par cyclophosphamide et G-CSF chez 346 patients traités par lenalidomide et dexaméthasone. 81% des patients ont atteint le seuil cible de collecte après une tentative de mobilisation, une seconde mobilisation était réalisée chez les patients qui n'arrivaient pas à mobiliser suffisamment de CSP, permettant de collecter au total 91% des patients.

Ainsi il existe des stratégies de mobilisation de première ligne efficace chez les patients préalablement traités par lénalidomide, cependant la collecte de CSP échoue chez presque 10% des patients avec une indication d'autogreffe, le besoin de nouvelles stratégies de remobilisation est donc bien réel pour ces patients.

3-2-La fludarabine

3-2-1-Mécanisme d'action, posologie, mode d'administration

Le fludarabine (fludara[®]) est un analogue des purines dont le mécanisme d'action se fait via l'inhibition de la synthèse de l'ADN.

La fludarabine peut être administrée par voie intraveineuse ou par voie orale. Elle est le plus souvent administrée par voie orale à la posologie de 40

mg/m²/J, pendant 3 à 5 jours selon qu'elle est utilisée en association ou en monothérapie.

3-2-2- Etudes ayant permis la mise sur le marché

Les premières études^{56, 57} évaluant l'efficacité de la fludarabine dans la LLC en monothérapie avec des taux de réponse allant de 50 à 55 % en rechute et de 70% en première ligne, ont ouvert la voie à d'autres études plus larges.

La première étude randomisée de phase III est parue en 1996⁵⁸, chez 196 patients (100 en première ligne, 96 en rechute). Elle évaluait la fludarabine à l'association cyclophosphamide, doxorubicine et prednisone. La fludarabine en monothérapie permettait d'obtenir un taux de réponse plus important chez les patients en première ligne (71% vs 60%, p=0,26) ou en rechute (48% vs 27%, p=0,036). L'étude publiée en 2000 par Kanti R. Rai et al⁵⁹ concluait à la supériorité de la fludarabine sur le chloraminophéne en terme de réponse globale, de durée de rémission et de survie sans progression. Enfin une étude française est parue en 2001⁶⁰, comparant 3 traitements en première ligne : la fludarabine en monothérapie et les associations CAP (cyclophosphamide, doxorubicine et prednisone) et CHOP (cyclophosphamide, vincristine, prednisone et doxorubicine). Les bras fludarabine et CHOP étaient comparables en terme de survie globale et de réponse, et supérieurs au bras CAP.

Les premières études ayant conduit à l'AMM de la fludarabine dans la LLC ont été réalisées avec de la fludarabine administrée par voie intraveineuse. Aucune étude n'a été réalisée afin de comparer les formes intraveineuse et per os ; cependant l'extension d'AMM à la forme per os a été accordée en 2005 en se basant sur une étude parue en 2004 dans le JCO⁶¹ comparant l'efficacité, la tolérance et la qualité de vie des patients recevant la fludarabine per os par rapport à une série historique de patients traités par fludarabine IV et les études de pharmacocinétique suggérant une

bioéquivalence entre la forme par voie orale à la posologie de 40 mg/m² et la forme injectable à la posologie de 25 mg/m².

La fludarabine a ensuite été utilisée en première ligne et en rechute en association avec un alkylant puis avec le rituximab, l'administration d'une immuno-chimiothérapie de type FCR (fludarabine, cyclophosphamide et rituximab) est ainsi l'un des traitements de référence de la LLC en première ligne ou en rechute^{62, 63}.

La fludarabine est également utilisée dans la maladie de Waldenström⁶⁴ et dans les LNH indolents⁶⁵, notamment le lymphome folliculaire, le lymphome de la zone marginale, mais aussi par certaines équipes dans le lymphome du manteau.

3-2-3- Effets indésirables

La toxicité de la fludarabine est principalement hématologique, touchant les plaquettes, les polynucléaires neutrophiles et les globules rouges⁵⁹. Le recours aux transfusions et à l'utilisation de G-CSF est souvent nécessaire, d'autant plus que la fludarabine est utilisée en association ou qu'il existe un envahissement médullaire important. La fludarabine est également responsable d'une lymphopénie prolongée nécessitant de réaliser une prophylaxie des pneumopathies à pneumocystisjiroveci par cotrimoxazole.

La fludarabine est également responsable d'anémies hémolytiques sévères chez certains patients.

3-2-4-Fludarabine et collecte de CSP

La fludarabine est un facteur de risque bien identifié de mauvaise collecte des CSP ; ainsi, le taux de succès de la première ligne de collecte des cellules souches chez les patients préalablement traités par fludarabine varie de 46 à 63% quelque soit le mode de mobilisation : G-CSF seul, G-CSF + chimiothérapie ou G-CSF + SCF⁶⁶⁻⁶⁸. Dans le cadre d'une étude portant sur 200 patients avec une hémopathie lymphoïde, Ketterer et al.⁶⁹a identifié la

fludarabine comme le principal facteur de risque de mauvaise collecte de cellule souche en analyse multivariée ($p=0,0008$). De plus les méthodes de mobilisation de seconde ligne semblent peu, voire, pas efficace. Ainsi l'utilisation de forte dose de G-CSF (20 à 25 $\mu\text{g/Kg/J}$), ne permet pas de mobiliser les CSH chez les patients qui ont échoué à une tentative préalable de collecte⁷⁰. L'utilisation de G-CSF associée à de l'aracytine à dose intermédiaire⁷¹ a bien montré son efficacité chez les patients ayant échoué à une première collecte par G-CSF + cyclophosphamide ; cependant, cela se fait au prix d'une toxicité hématologique accrue non négligeable.

Ainsi, il paraît nécessaire d'avoir accès à de nouveaux agents pour mobiliser les CSH chez les patients préalablement traités par fludarabine. Si aucune donnée n'a été publiée à ce jour sur l'utilisation du plerixafor dans le contexte particulier des patients préalablement traités par fludarabine, cet agent paraît extrêmement prometteur. Il paraît donc indispensable d'évaluer son utilisation dans ce contexte.

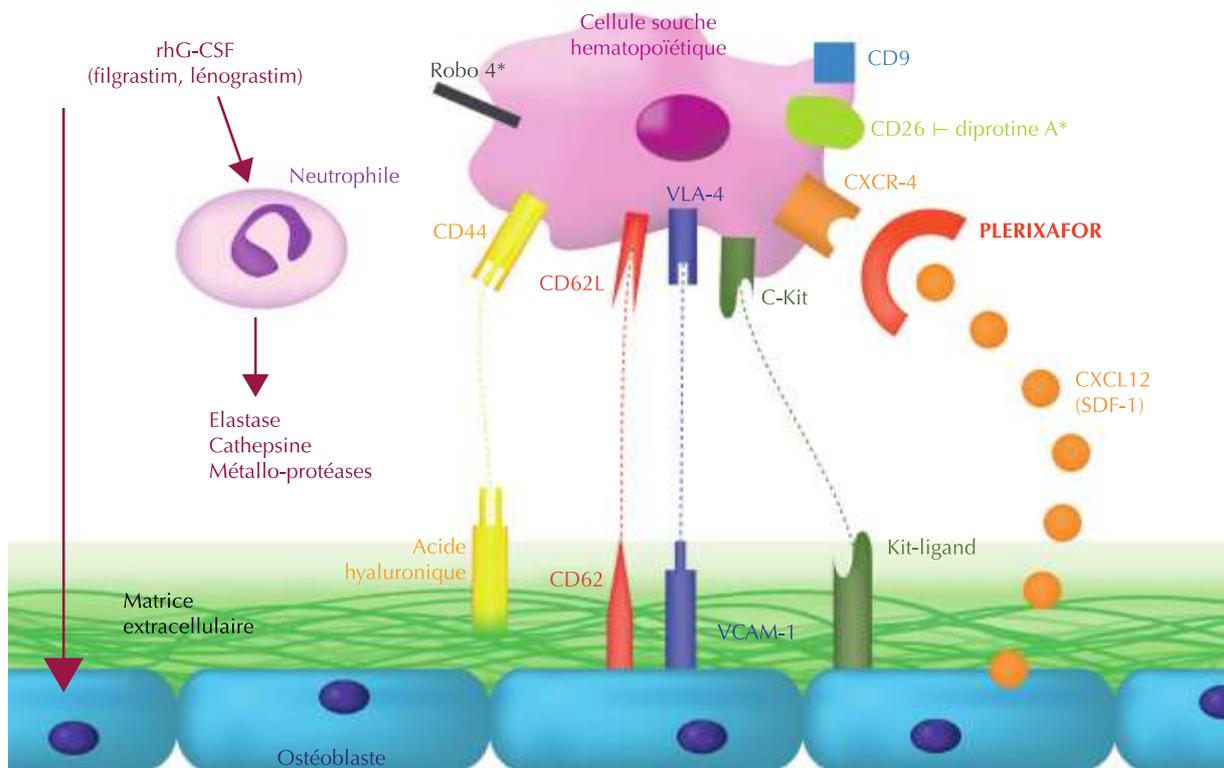
4-Le Plerixafor un nouvel agent permettant la collecte des CSP

4-1-Les acteurs moléculaires du phénomène de mobilisation

L'objectif de la mobilisation est de faire passer les CSH de la niche hématopoïétique vers le flux sanguin. Le phénomène de mobilisation peut ainsi être décomposé en deux aspects : la rupture de l'interaction avec la niche hématopoïétique puis le franchissement des cellules endothéliales des sinusoides médullaires pour rejoindre le flux sanguin. La niche hématopoïétique est un microenvironnement anatomique et fonctionnel complexe, composé de populations de cellules qui jouent un rôle dans la régulation de l'auto-renouvellement et la différenciation des cellules souches. Grace au développement des nouvelles techniques d'imagerie in vivo et de manipulation génétique des progéniteurs hématopoïétiques, l'étude de la niche hématopoïétique a connu un regain d'intérêt ces dernières années, conduisant à la description des différents types de niches : endostéales, endothéliales... et de documenter la contribution des différentes molécules telles que les voies Notch, Wnt- β -caténine ou l'hormone parathyroïdienne PTH et son récepteur dans les interactions entre les CSH et les cellules composant la niche⁷² (**Fig. 3**).

Ainsi, les cellules souches hématopoïétiques CD34⁺ sont maintenues par de nombreuses molécules d'adhésion à la matrice extracellulaire et aux cellules de la niche médullaire. Parmi ces molécules d'adhésion, l'interaction entre CXCR4 et son ligand SDF-1 α (StromalcellDerived Factor 1 α) semble jouer un rôle crucial dans la mobilisation des CSH. CXCR-4 est un membre de la famille des récepteurs à 7 domaines transmembranaires, couplé à une protéine G, exprimé par les cellules CD34⁺⁷³. La liaison avec SDF-1 α (ou CXCL12, chemokine C-X-C motif ligand 12), active de nombreuses voies de transduction du signal dont la finalité commune est le chimiotactisme.

Figure 3 : Représentation schématique des principales interactions entre les CSH et les cellules de l'environnement médullaire. D'après Chabannon et al.⁹⁸



Le rôle de l'axe CXCR4/SDF-1 α a été largement documenté au cours des dix dernières années. Ainsi l'axe CXCR4/SDF-1 α joue un rôle fondamental dans l'embryogénèse puisque, l'inhibition ciblée de l'une ou l'autre de ces molécules (CXCR4 ou SDF-1 α) est mortelle chez la souris, aboutissant à l'absence de migration des CSH du foie vers la MO, une anomalie de la lymphopoïèse B et une dysgénésie cérébrale^{74, 75}. Les activités du ligand SDF-1 α sont multiples. Les progéniteurs hématopoïétiques expriment à leur surface le récepteur CXCR4, les cellules du microenvironnement médullaire, incluant les ostéoblastes, et les cellules endothéliales sécrètent SDF-1. L'interaction entre ligand et récepteur joue un rôle dans la rétention des CSH au sein du microenvironnement médullaire et dans le phénomène de homing, comme le montre le syndrome de WHIM (Wharts, Hypogammaglobulinemia, Infections and Myelokathexis), syndrome caractérisé par l'association de verrues, d'une hypogammaglobulinémie, d'infection et d'une leuco-neutropénie non cyclique : les mutations identifiées dans le récepteur CXCR4 ont pour conséquence une activité augmentée de SDF-1 α lorsqu'il se lie sur son récepteur ce qui entraîne une rétention des cellules souches et progénitrices dans le compartiment médullaire et au final un déficit immunitaire affectant à la fois les effecteurs innés et adaptatifs⁷⁶. Les cellules qui se relocalisent dans la moelle osseuse après avoir été réinjectées dans la circulation sanguine de receveurs ayant subi un conditionnement myéloablatif expriment à leur surface le récepteur CXCR4⁷⁷. Les cellules CD34+ qui n'expriment pas CXCR4 à la surface sont susceptibles de ré-exprimer ce récepteur à partir d'un pool intra-cytoplasmique, en particulier en réponse à une stimulation par des cytokines, indiquant que l'expression de CXCR4 à la surface des progéniteurs est un phénomène dynamique contribuant à la modulation des propriétés migratoires⁷⁸. L'inhibition de l'interaction entre CXCR4 et SDF-1 α par un anticorps anti-CXCR4 ou par un inhibiteur pharmacologique bloque le homing des CSH dans la moelle ; à l'inverse, l'expression forcée de CXCR4 dans les progéniteurs hématopoïétiques augmente leur capacité de homing^{79, 80}.

CXCR4 a longtemps été présenté comme un récepteur unique de SDF-1 α . Un second récepteur appelé RDC1 ou CXCR7 a été identifié et interagit

avec CXCR4 pour moduler certains aspects de la réponse biologique à SDF-1 α ⁸¹⁻⁸³.

L'interaction entre CXCR4 et son ligand apparait aujourd'hui comme un mécanisme biologique central dans la rétention des cellules souches au sein du microenvironnement médullaire, mécanisme susceptible d'influencer ou d'être influencé par d'autres voies de signalisation. Il est ainsi paradoxal que l'explication du phénomène par lequel le G-CSF induit une mobilisation des CSH ait été découverte plusieurs années après la généralisation de l'utilisation du G-CSF pour la mobilisation de cellules souches^{84, 85}: les protéases libérées par les précurseurs neutrophiles qui s'accumulent dans la moelle osseuse en réponse au traitement par G-CSF exercent une activité protéolytique sur SDF-1 α et sur son récepteur CXCR4 avec, pour résultat, une diminution de l'attraction chémoattractante des cellules CD34+ par le microenvironnement médullaire. L'inhibition pharmacologique (avec la diprotine A) ou par manipulation génétique de l'activité de la dipeptidylpeptidase IV membranaire CD26 se traduit par une augmentation des capacités de homing et de l'effet facilitateur de la survie des cellules souches murines en réponse au SDF-1 α ^{86, 87}. SDF-1 α semble réguler l'expression d'autres molécules impliquées dans le homing des progéniteurs hématopoïétiques, telles que la tétraspanine CD9⁸⁸. Très récemment, la mise en évidence de la coopération entre le récepteur transmembranaire Robo4 et CXCR4 pour l'ancrage des CSH murines dans la niche hématopoïétique a jeté un éclairage inédit sur ce phénomène biologique⁸⁹. Enfin, la possibilité que l'activité de l'axe SDF-1 α /CXCR4 soit régulée par des mécanismes épigénétiques, comme le suggère le lien entre PLZF et CXCR4 dans la lignée mégacaryocytaire ouvre d'autres nouvelles perspectives⁹⁰.

D'autres molécules jouent un rôle important dans le phénomène de mobilisation. Les cellules CD34+ expriment CD44 à leur surface, qui se lie à l'acide hyaluronique dont l'expression est diminuée suite à son clivage par des métallo-protéases matricielles après traitement par G-CSF. L'interaction entre CD44 et l'acide hyaluronique est modulée par SDF-1 α ⁹¹. VLA-4 est une

intégrine exprimée à la surface des cellules progénitrices qui lie VCAM-1 présent sur les cellules endothéliales. Les intégrines sont considérées comme des acteurs importants de l'étape d'adhésion ferme pour les leucocytes matures et les progéniteurs hématopoïétiques. L'administration d'anticorps ciblant VLA-4 à des souris et à des primates non humains induit une mobilisation des progéniteurs hématopoïétiques⁹². L'administration de natalizumab, un anticorps monoclonal humanisé ciblant CD49d (la chaîne variable α 4 de VLA-4) induit une mobilisation chronique des progéniteurs hématopoïétiques chez les patients traités pour des formes sévères de sclérose en plaques^{83, 93}. Plus récemment, la qualité de la mobilisation a été liée au polymorphisme génétique de VCAM-1. Le blocage simultané de VLA-4 et de CXCR4 produit des effets additifs en termes de mobilisation des progéniteurs hématopoïétiques⁹⁴. Cependant, il existe des voies de signalisation impliquées dans la mobilisation qui ne semblent pas être liées à l'axe SDF-1 α /CXCR4. C'est le cas de PECAM-1 ou CD31, molécule exprimée aux jonctions inter-endothéliales dont le rôle dans la migration trans-endothéliale a été documenté pour la migration des cellules CD34+⁹⁵. De même les cellules CD34+ exprimant fortement CD99 sont celles qui montrent les possibilités les plus grandes de migration trans-endothéliale, et le blocage de CD99 réduit cette transmigration⁹⁶. Enfin les deux molécules appartenant à la superfamille des immunoglobulines que sont JAM-C/JAM-B semblent jouer un rôle dans la rétention des CSH murines au sein de la niche⁹⁷.

Ainsi l'axe SDF-1 α /CXCR4 permet le homing et la rétention des CSH, cela en fait une cible thérapeutique de choix. En effet, une inhibition de la liaison SDF-1 α /CXCR4 devrait permettre la libération des CSH de la moelle osseuse vers la circulation sanguine, c'est ce qui a conduit au développement du plerixafor.

4-2-Historique du Plerixafor.

Le plerixafor (AMD3100) a été initialement développé pour son inhibition puissante et sélective de la réplication du VIH de type 1 et 2 en se liant au récepteur de chemokine CXCR4 utilisé par le VIH pour rentrer dans les lymphocytes T CD4⁺⁹⁹⁻¹⁰⁵. Le plerixafor bloque de manière réversible la liaison de CXCR4 avec SDF-1 α , mais n'a pas d'effet sur les autres récepteurs de surface aux chemokines^{103, 106-108}. Les premiers essais cliniques ont ainsi évalué sa sécurité d'emploi et son efficacité pour le traitement de patients avec une infection par le VIH-1¹⁰⁹. Dans ces études, une augmentation transitoire des leucocytes était observée immédiatement après l'injection de plerixafor, le même phénomène était observé chez des volontaires sains¹¹⁰. Au vu de ces observations et des données supportant un rôle pour l'axe CXCR4/SDF-1 α dans la mobilisation des cellules souches, des études pour évaluer l'efficacité du plerixafor sur la mobilisation de cellules souches hématopoïétiques ont été menées.

Le plerixafor est une molécule chimique originale comportant 2 cycles à 14 liaisons appelée bicyclam (**Fig. 4**), dont la formule chimique est C₂₈H₅₄N₈, son poids moléculaire est de 502,4 Da, son nom dans la nomenclature internationale IUPAC est 1,1'-(benzene-1,4-diyl)dimethanediyl)bis(1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane).

Le mécanisme d'action du plerixafor dans la mobilisation des cellules souches hématopoïétiques est bien connu (**Fig. 5**). Ainsi, la liaison CXCR-4/SDF-1 α permet le homing et la rétention des CSH dans la moelle osseuse et le plerixafor vient inhiber la liaison CXCR-4/SDF-1 α , permettant la libération des cellules souches de la moelle osseuse vers la circulation sanguine.

Figure 4 : Molécule de plerixafor

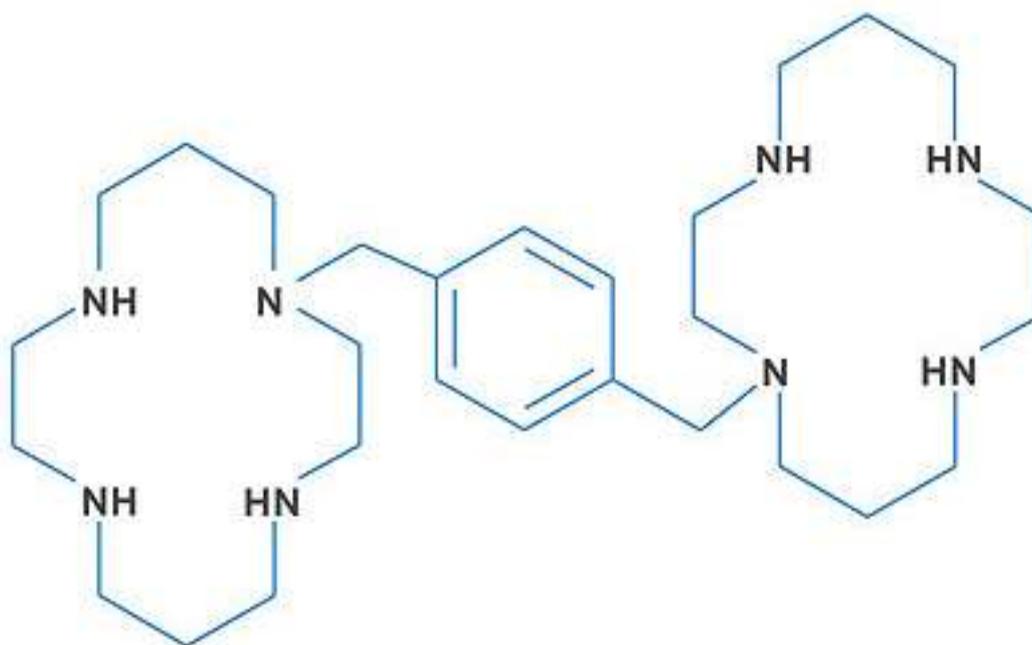
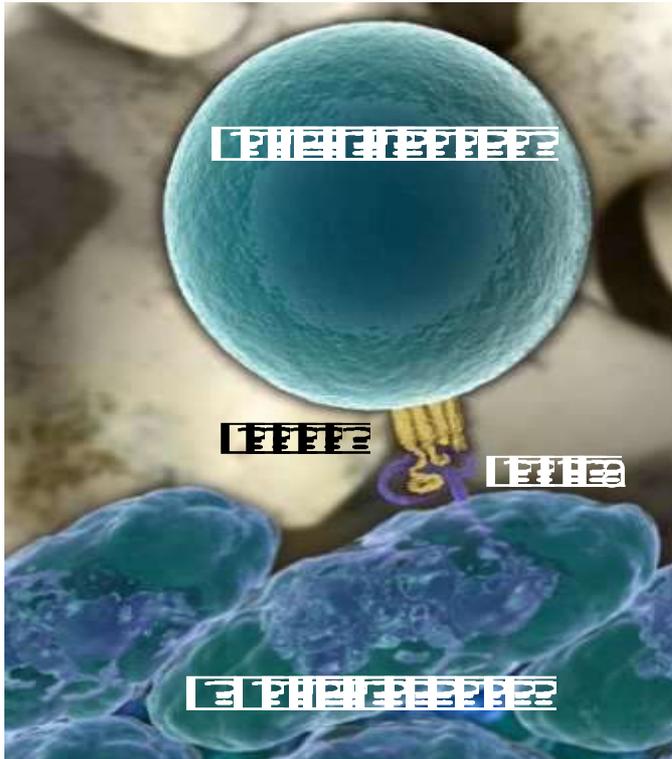
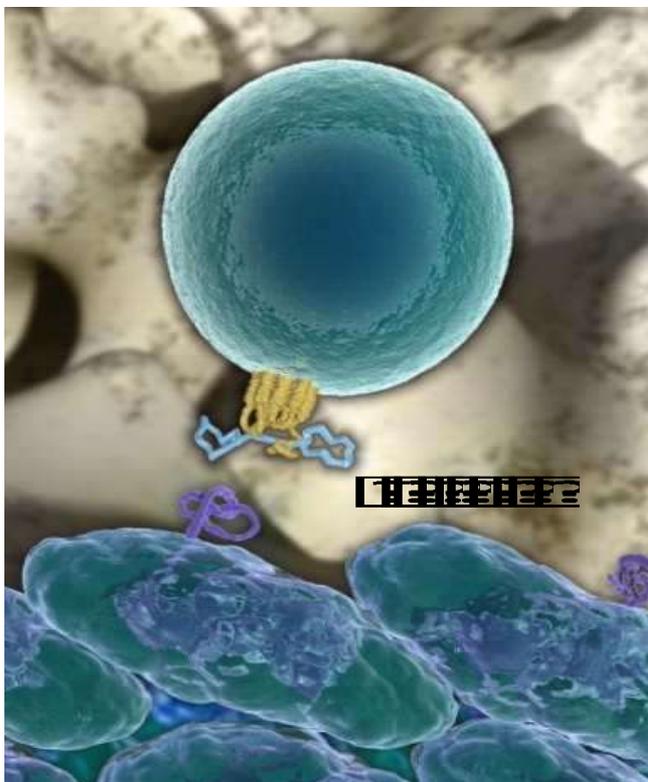


Figure 5 : Mécanisme d'action du plerixafor.



La liaison CXCR-4/SDF-1 α permet le homing et la rétention des CSH dans la moelle osseuse.



Le plerixafor inhibe la liaison CXCR-4/SDF-1 α , permettant la libération des cellules souches de la moelle osseuse vers la circulation sanguine.

4-3-Données cliniques actuellement disponibles sur la mobilisation par plerixafor dans le cadre de l'auto-CSH

Le plerixafor est un agent très prometteur pour la collecte des CSH que ce soit pour l'allogreffe ou l'autogreffe^{111, 112}. Des études précliniques menées chez la souris, le chien et le primate¹¹³⁻¹¹⁵ suggèrent l'existence de différences fondamentales entre les CSH mobilisées par plerixafor par rapport au G-CSF et ont permis la mise en place d'essais cliniques afin d'évaluer les effets de la transplantation de cellules mobilisées par plerixafor chez l'homme.

Les premiers essais cliniques de plerixafor chez les volontaires sains ont démontré une augmentation de plus de 10 fois des cellules souches périphériques, débutant 1 heure après l'injection sous-cutanée de plerixafor et atteignant son pic 9 heures après l'injection¹¹⁶. L'ajout du plerixafor au G-CSF permet d'avoir une augmentation encore plus importante des cellules CD34⁺ circulantes¹¹⁷.

Le plerixafor permet également de mobiliser les CSP chez les patients qui ont été préalablement traités par chimiothérapie. Dans une étude de phase 1 publiée en 2004¹¹⁸, 13 patients avec un MM ou un LNH présentaient une multiplication par 7 de leurs cellules CD34⁺ circulantes 6 heures après une injection unique de plerixafor (170-240 µg/kg). En 2005, Flomenberg et al.¹¹⁹ rapporte une série de patients avec un MM ou un LNH qui ont tous eu 2 mobilisations, une avec du G-CSF seul, l'autre avec l'association G-CSF et plerixafor. Qu'elle soit donnée en première ou en deuxième ligne, l'association plerixafor et G-CSF, mobilise plus de cellules CD34⁺ par leucaphérèse, de plus les patients ont subi moins de leucaphérèse et plus de patients ont atteint le taux cible de $5,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC avec l'association G-CSF et plerixafor. 18 des 19 patients ayant été autogreffés avec les CSP mobilisées par l'association G-CSF + plerixafor ont une prise de greffe précoce satisfaisante. Stiff et al.¹²⁰ rapporte une autre série de 49 patients (23 LNH et 26 MM) mobilisés par G-CSF + plerixafor, la mobilisation a été possible chez tous les patients et 47 (96%) ont été autogreffés. Les cellules CD34⁺ ont été multipliées par 2,5 (limites, 1,3-6,0 fois) après la première injection de

plerixafor. Le nombre médian de cellules CD34⁺ collectées était $5,9 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC (limites, 1,5-22,5) en 2 (limites, 1-5) jours d'aphérèse. La prise de greffe des polynucléaires neutrophiles et des plaquettes avait lieu respectivement à J11 (limites, 8-16) et J14,5 (limites, 7-39) en médiane. Les principaux effets secondaires étaient la nausée et la diarrhée. 28 (57%) patients avaient été identifiés comme lourdement prétraités. Les cellules CD34⁺ augmentaient en médiane de 2,5 fois (limites, 1,4-5,0) après plerixafor, comme chez les patients peu prétraités., suggérant que cette association est efficace chez les patients lourdement prétraités où la collecte est habituellement difficile.

La mobilisation avec l'association G-CSF + plerixafor est également efficace chez les patients traités pour une maladie de Hodgkin. Cashenet al.¹²¹ ont rapporté une série de 22 patients avec une MH candidats à une autogreffe de CSH. 15 patients (68%) ont collecté $\geq 5,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC, et 21 patients (95%) ont collecté le minimum de $2,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC, avec une médiane de 2 aphérèses. A la fois la part des patients collectant $\geq 5,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC et le nombre médian de cellules CD34⁺ collectées à J1 et J2 de l'aphérèse étaient significativement améliorés par rapport aux séries historiques.

Afin d'évaluer l'efficacité du plerixafor en dehors des essais cliniques, Calandra et al.¹²² ont repris les données du programme compassionnel aux Etats Unis. Une cohorte de 115 patients considérés comme mauvais mobilisateurs a été évaluée, avec l'objectif de collecter plus de $2,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC après mobilisation avec G-CSF + plerixafor. Le taux de succès de collecte de cellules CD34⁺, était similaire pour les patients qui avaient échoué à une chimiothérapie de mobilisation ou à une mobilisation par G-CSF seul : LNH = 60,3%, MM = 71,4% et MH = 76,5%. La prise de greffe des neutrophiles et des plaquettes survenait en médiane à J11 et J18 respectivement après la transplantation, la prise de greffe était durable. Par rapport aux effets secondaires liés au plerixafor, 2 (1,6%) étaient sévères (maux de tête pour un patient, cauchemar pour l'autre), les autres effets secondaires liés au plerixafor étaient minimes ou modérés. Les effets

secondaires les plus courant liés au plerixafor étaient des troubles gastro-intestinaux, des réactions au site d'injection et des paresthésies. L'analyse de ce programme compassionnel, souligne que l'association G-CSF + plerixafor représente un nouveau traitement pour collecter les patients mauvais mobiliseurs avec un taux de succès élevé.

En décembre 2008, le plerixafor (mozobil ; Genzyme), a été approuvé par le FDA (Food and Drug Administration, EU), et autorisé en association avec le G-CSF pour la mobilisation des CSH en vue de la collecte pour une auto-CSH chez les patients avec un MM ou un LNH. Cette autorisation s'est basée sur les résultats de 2 études de phase III, multicentriques, randomisées contre placebo, comparant les associations G-CSF + plerixafor et G-CSF + placebo pour la mobilisation et la prise de greffe chez des patients autogreffés pour un MM ou un LNH (essais 3101 et 3102)^{123, 124}. 298 patients avec un LNH et 302 avec un MM ont été inclus dans ces essais cliniques, les caractéristiques des patients étaient comparables entre les 2 groupes : placebo et plerixafor. Dans l'essai 3101, un nombre significativement plus important de patients avec un LNH dans le groupe G-CSF + plerixafor ont atteint $\geq 5,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC en 4 jours ou moins d'aphérèse par rapport au groupe G-CSF + placebo. (57,3% vs 18,9% des patients respectivement ; $p < 0,001$). De même dans l'essai 3102, un nombre significativement plus important de patients dans le groupe G-CSF + plerixafor ont atteint $\geq 6,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC en 2 jours ou moins d'aphérèse, par rapport au groupe G-CSF + placebo (70,3% vs 34,4% respectivement ; $p < 0,001$). Avec un suivi de 12 mois, il n'y avait pas de différence en terme de durabilité du greffon et de profil hématologique entre les groupes dans l'une ou l'autre des études. Ainsi l'association G-CSF + plerixafor, par rapport à G-CSF + placebo permet une augmentation significative du nombre de patient capable de collecter le taux cible de cellules CD34⁺ nécessaire à l'autogreffe de CSH avec une prise de greffe aussi rapide et durable.

En France, le plerixafor a obtenu son AMM le 31 Juillet 2009. Il est indiqué en association avec le G-CSF pour la mobilisation de CSH dans le sang périphérique avant leur collecte en vu d'une autogreffe chez les patients atteints d'un lymphome ou d'un MM dont les cellules se mobilisent mal.

4-4- Schéma d'administration du plerixafor

La dose recommandée de plerixafor est de 240 µg/kg/J en injection sous-cutanée. L'injection est réalisée 6 à 11H avant le début de chaque cytophérèse, après 4 jours de traitement préalable par G-CSF (10 µg/Kg/J), l'administration de G-CSF est poursuivie le matin de chaque cytophérèse. La posologie du plerixafor par rapport au poids ne doit pas dépasser 40 mg/J.

Chez les patients présentant une clairance de la créatinine entre 20 et 50 ml/min, la dose de plerixafor est réduite d'un tiers, soit 160 µg/kg/J. Il n'y a pas suffisamment de données cliniques à ce jour pour édicter des recommandations sur l'utilisation du plerixafor chez les patients avec une clairance de la créatinine inférieure à 20 ml/min. La posologie du plerixafor par rapport au poids ne doit pas dépasser 27 mg/J chez les patients avec une clairance de la créatinine entre 20 et 50 ml/min.

Chez les patients pédiatriques, les données sont limitées. La tolérance et l'efficacité n'ont pas été établies lors d'essais cliniques contrôlés.

Chez les patients âgés de plus de 65 ans, aucun ajustement de posologie n'est nécessaire hormis en cas de clairance de la créatinine inférieure à 50 ml/min.

5-Remobilisation par plerixafor des patients préalablement traités par fludarabine et lénalidomide : étude rétrospective multicentrique de 83 cas

5-1-Objectifs de l'étude

L'objectif primaire de cette étude était d'évaluer le taux de mobilisation réussie, définie par la collecte de $\geq 2.0 \times 10^6$ cellules CD34+/Kg de poids corporel.

5-2-Matériels et méthodes

5-2-1-Population concernée, critères d'inclusion

Il s'agit d'une étude rétrospective multicentrique portant sur les patients ayant reçu du plerixafor dans le cadre du programme compassionnel européen, de Juin 2008 à Aout 2010. Plus de 1400 patients ont été inclus dans ce programme, les données ont été recueillies chez la moitié des patients traités.

Pour pouvoir utiliser le plerixafor dans le cadre du programme compassionnel Européen, les patients devaient présenter les critères d'inclusion suivant :

- un âge de 18 à 78 ans,
- une indication d'autogreffe de CSP pour un lymphome non hodgkinien (LNH), une maladie de Hodgkin (MH) ou un myélome multiple (MM),
- un échec de collecte (échec à collecter un minimum de 2×10^6 CD34+ cells/Kg) ou de mobilisation (aphérèse non réalisée devant un taux de cellules CD34+ circulante très bas, en général inférieur à $1 \times 10^6/L$) avec les techniques de mobilisation classiques,

- une absence de contre-indication à l'aphérèse et à la transplantation,
- un performance status ≤ 2 ,
- un bilan biologique « normal », défini par des leucocytes $>2,5 \times 10^9/L$, des PNN $>1,5 \times 10^9/L$, des plaquettes $> 85 \times 10^9/L$, créatinine $\leq 15\text{mg/L}$, des ASAT, ALAT et la bilirubine totale $<2 \times$ la limite supérieure de la normale,
- l'absence d'hépatite chronique active B ou C,
- un accord de contraception signé pour les femmes en âge de procréer ou les partenaires des patients masculins.
- un consentement informé signé
-

Les critères d'exclusion étaient les suivants :

- tout diagnostic de leucémie aigue ou chronique (incluant les leucémies à plasmocyte) ou de myélodysplasie.
- Les comorbidités rendant le patient à haut risque de complications,
- Vascularite ou maladie auto-immune.
- Les métastases cérébrales, une méningite carcinomateuse ou tout autre tumeur maligne à moins que le patient ne soit en rémission depuis plus de 5 ans.
- Une pathologie cardiaque cliniquement significative.
- Une infection ou une fièvre (température $>38^\circ\text{C}$) concomitante.
- Une hypercalcémie (au delà de 10mg/L au dessus de la limite supérieur de la normale).
- La grossesse ou l'allaitement.
- Une sérologie VIH positive.
- Les patients obèses avec un poids au delà de 175% du poids corporel idéal.
- L'administration d'un autre traitement expérimental.

5-2-2-Collecte des cellules souches périphériques sous plerixafor.

Le protocole de mobilisation est repris dans la **figure 6**. Le protocole de mobilisation faisait appel à du G-CSF (filgrastim ou lenograstim) administré le matin à la dose de 10 µg/kg/J en injection s.c. pendant 4 jours. Dans la soirée du 4^{ème} jour (autour de 22 heures), les patients recevaient une injection s.c. de plerixafor à la dose de 240 µg/kg. Le matin du 5^{ème} jour, une dose de G-CSF était administrée et l'aphérèse débutait 10-12 heures après l'injection de plerixafor et 1 heure après celle de G-CSF. L'aphérèse et l'administration de G-CSF et de Plerixafor étaient poursuivies chaque jour jusqu'à ce que l'on collecte suffisamment de CSP afin de pouvoir réaliser l'autogreffe de CSP (minimum $\geq 2.0 \times 10^6$ /Kg PC), ou que l'investigateur décide que l'on a échoué à mobiliser les CSP. Un maximum de 7 injections de plerixafor était autorisé. L'aphérèse était réalisée selon les protocoles standard de chaque site. Le nombre de cellules CD34+ collectées lors chaque aphaérèse était enregistré.

5-2-3-Analyse statistique

Des statistiques descriptives ont été réalisées afin de décrire les caractéristiques des patients.

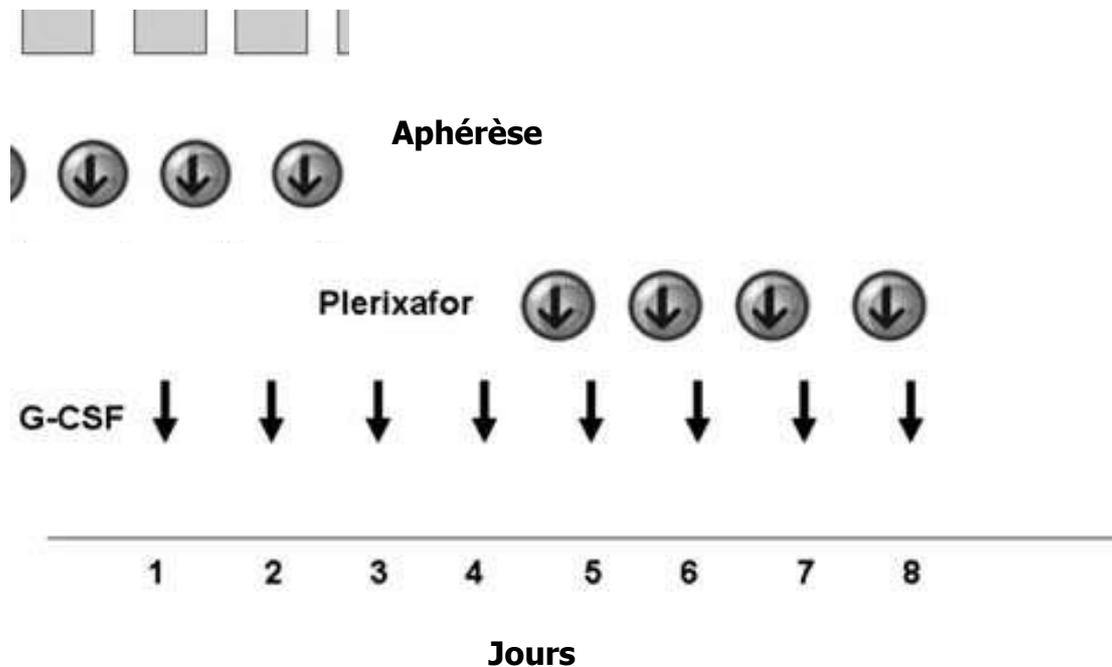


Figure6 : Schéma de mobilisation et d'aphérèse utilisé dans le programme compassionnel Européen, les patients pouvaient recevoir jusqu'à 7 injections de plerixafor et 7 séances aphérèses.

5-3-Résultats.

Cette étude rétrospective a inclus un total de 83 patients. Les caractéristiques des patients et des mobilisations sont résumées dans le **tableau I**. 48 patients ont été traités par fludarabine (« groupe flu »), 35 patients ont reçu du lenalidomide (« groupe len »).

Dans le groupe flu, l'âge médian était de 57 ans (limites 36-69 ans), il y avait 26 hommes pour 22 femmes. Tous les patients avaient un LNH de bas grade, ils avaient reçu un nombre médian de cycle de chimiothérapie de 3 (limites 1-6), aucun n'avait eu d'autogreffe au préalable. Sur les 41 patients pour lesquels les données sont disponibles, 5 patients avaient également eu une radiothérapie, 36 n'en avaient pas eu. Les patients pour être inclus dans l'étude avaient tous échoué à au moins une tentative de collecte de CSP. Les résultats de la mobilisation sont indiqués dans le **tableau II**. La collecte a été tentée chez 44 patients, elle n'a pas été réalisée chez 4 patients en raison d'un nombre insuffisant de cellule CD34+ sur le prélèvement pré-aphérèse. Le nombre médian de cellules CD34+ collectée après mobilisation par plerixafor est de 2.3×10^6 /Kg (limites 0.3-13.4). Sur les 48 patients, 28 (58%) ont atteint le nombre minimum de 2.0×10^6 cellules CD34+/Kg, alors que seulement 3 patients (6%) ont collecté $\geq 5.0 \times 10^6$ cellules CD34+. Le recueil de l'objectif cible de 2.0×10^6 cellules CD34+/Kg était atteint en une médiane de 2 jours (limites 1-3).

Dans le groupe len, l'âge médian était de 57 ans (limites 34-66 ans), il y avait 18 hommes pour 17 femmes. Tous les patients avaient un MM, ils avaient reçu un nombre médian de 4 lignes de chimiothérapie (limites 1-9), 7 avaient eu une autogreffe au préalable. Les patients avaient reçu en médiane 5 cycles de lenalidomide (limites 1-10). Sur les 27 patients pour lesquels les données sont disponibles, 3 avaient reçu une radiothérapie, 24 n'avaient jamais reçu de radiothérapie. Les patients pour être inclus dans l'étude avaient tous échoué à au moins une tentative de collecte de CSP. Les

résultats de la mobilisation sont indiqués dans le **tableau II**. La collecte a été tentée chez 34 patients, elle n'a pas été réalisée chez un patient en raison d'un nombre insuffisant de cellule CD34+ sur le prélèvement pré-aphérèse. Le nombre médian de cellules CD34+ collectées après mobilisation par plerixafor est de $3.4 \times 10^6/\text{Kg}$ (limites 1.1-14.8). Sur les 35 patients, 24 (69%) ont atteint le nombre minimum de 2.0×10^6 cellules CD34+/Kg, dont 12 (34%) ont collecté $\geq 5.0 \times 10^6$ cellules CD34+. Le recueil de l'objectif cible de 2.0×10^6 cellules CD34+/Kg était atteint en une médiane de 2 jours (limites 1-4).

Tableau I : Caractéristiques de la population étudiée

Caractéristiques (%)	Fludarabine (N=48)	Lenalidomide(N=35)
Age médian du patient (limites)	57 (36-69)	57 (34-66)
Sexe du patient		
Homme	26 (54)	18 (51)
Femme	22 (46)	17 (49)
Nb. médian de cycles de fludarabine ou de lenalidomide (limites)	5 (1-7)	5 (1-10)
Diagnostic		
LNH indolent	48 (100)	0 (0)
Myélome multiple	0 (0)	35 (100)
Nb. médian de lignes de chimiothérapies préalable (limites)	3 (1-6)	4 (1-9)
Autogreffe préalable		
Oui	0	3 (9)
Non	43 (100)	20 (57)
Données manquantes	5 (10)	8 (23)
Radiothérapie		
Oui	5 (10)	3 (9)
Non	36 (75)	24 (68)
Données manquantes	7 (15)	8 (23)
Stratégie de mobilisation avec le plerixafor		
G-CSF	38 (79)	27 (77)
Chimiothérapie+G-CSF	10 (21)	8 (23)

LNH, Lymphome non Hodgkinien

Tableau II : Résultats de la mobilisation

Caractéristiques (%)	Fludarabine (N=48)	Lenalidomide(N= 35)
Nb. de patients collectés	44 (92)	34 (97)
Nb. médian de cellules CD34+/Kg, (limites)	2.3 (0.3-13.4)	3.4 (1.1-14.8)
Nb. de patients atteignant $\geq 2.10^6$ CD34+	28 (58)	24 (69)
Nb. de jour d'aphérèses pour atteindre $\geq 2.10^6$ CD34+	2 (1-3)	2 (1-4)
Nb. de patients atteignant $\geq 5.10^6$ CD34+	3 (6)	12 (34)
Nb. de jour d'aphérèses pour atteindre $\geq 5.10^6$ CD34+	2 (1-3)	2 (1-3)

5-4-Discussion

Dans ce programme compassionnel européen, 58% des patients préalablement traités par fludarabine mobilisent avec succès plus de $2,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC en utilisant l'association G-CSF + plerixafor, parmi eux seulement 3 patients (6%) ont été capable de collecter un greffon optimal de plus de $5,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC. Dans la littérature, le taux de succès de mobilisation par G-CSF seul, G-CSF + chimiothérapie ou G-CSF + SCF, chez les patients ayant reçu de la fludarabine varie de 46 à 63%⁶⁶⁻⁶⁸. De plus les traitements de mobilisation de seconde ligne sont considérés comme étant peu efficaces chez ces patients^{71, 125}. Ainsi, même si on échoue à remobiliser près de 50% des patients avec l'association G-CSF + plerixafor, aucun traitement ne permet à ce jour d'obtenir ce résultat. De plus, on peut se poser la question d'utiliser cette association pour collecter les patients traités par fludarabine en première ligne afin d'augmenter encore le taux de succès de mobilisation¹¹².

Pour les patients préalablement traités par lenalidomide, la remobilisation de sauvetage par G-CSF + plerixafor a été plus efficace avec 69% des 35 patients qui ont réussi à collecter avec succès plus de $2,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC, 34% des patients ont même réussi à collecter plus de $5,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC. D'après la littérature le taux d'échec de collecte chez les patients traités par lenalidomide se situe entre 7 et 45 %⁵²⁻⁵⁴, le besoin d'agent de mobilisation de seconde ligne semble donc nécessaire chez ces patients. Chez les patients avec un MM, l'utilisation de chimiothérapie de mobilisation s'est révélée efficace pour la remobilisation des patients traités par lenalidomide, mais au prix d'une toxicité accrue⁵⁴. Les résultats de notre étude sont comparables à ceux publiés par Micallef et al.¹²⁶ sur le programme compassionnel aux Etats Unis. En effet parmi 40 patients préalablement traités par lenalidomide, le nombre minimal de $2,0 \times 10^6$ CD34⁺/Kg PC a été collecté chez 80% des patients qui recevaient une remobilisation après échec d'une première mobilisation. L'IMWG a récemment publié des

recommandations pour la mobilisation des patients avec un MM à l'ère des nouveaux agents¹²⁷. Chez les patients recevant un traitement comprenant du lenalidomide, ils recommandent de collecter les CSP avant la fin du 4^{ème} cycle de traitement. En cas d'échec de la collecte de première ligne par G-CSF seul, l'utilisation en seconde ligne de l'association G-CSF + plerixafor est l'une des solutions recommandées. Les autres alternatives proposées sont l'utilisation de l'association de G-CSF et GM-CSF, qui n'est pas utilisée en pratique en France, et l'utilisation de G-CSF et de cyclophosphamide haute dose, comme rapporté par Cavallo F et al⁵⁵.

Du fait du caractère rétrospectif de l'analyse du programme compassionnel européen, nous ne disposons malheureusement pas des données sur la prise de greffe. Cependant, des données déjà publiées¹²³ établissent clairement que la prise de greffe lorsque l'on utilise des cellules CD34⁺ collectées par G-CSF + plerixafor est comparable à celle des patients autogreffés avec des cellules mobilisées sans plerixafor.

En conclusion, la majorité des patients traités par lenalidomide réussissent la collecte de CSP de sauvetage par G-CSF + plerixafor. Chez les patients traités par fludarabine, les résultats sont encourageants, surtout au vu de l'absence d'alternative à ce jour. De nouvelles études afin d'évaluer l'efficacité du plerixafor comme traitement de mobilisation de première ligne chez les patients traités par fludarabine paraissent indispensables.

6-Perspectives

L'objectif de la mobilisation des CSH est de collecter suffisamment de cellules CD34⁺ afin de pouvoir réaliser l'autogreffe, de préférence dès la première tentative de mobilisation, avec le moins possible de séances d'aphérèses. En effet, chaque échec ou délai, pour collecter les CSH repousse d'autant l'administration de la chimiothérapie intensive de l'autogreffe et augmente le risque de rechute ou de progression de la maladie. Il semble donc important de disposer d'algorithmes fiables pour proposer la technique de mobilisation la plus adaptée à chaque patient afin de potentialiser le succès de la mobilisation et éviter des mobilisations répétitives coûteuses en temps et en argent.

Les techniques de mobilisation classiques, par G-CSF seul ou G-CSF+ plerixafor, malgré leurs avantages patents présentent certaines limites (**Tab.III**). L'association G-CSF + plerixafor présente de nombreux avantages pour mobiliser les CSH, permettant entre autre de collecter plus de CSH dans un temps plus court, avec des effets secondaires limités, il existe peu de limites à l'usage du plerixafor, si ce n'est l'indication de l'AMM. Les bénéfices et les limites sont résumés dans le **Tableau IV**. L'utilisation du plerixafor en monothérapie pourrait également se discuter lorsqu'une mobilisation par de la chimiothérapie ou du G-CSF n'est pas adaptée, cependant les données sur l'utilisation du plerixafor sans G-CSF restent extrêmement limitées et des données supplémentaires semblent nécessaires.

La principale limite à l'utilisation du plerixafor aujourd'hui en France est donc le libellé de l'indication de l'AMM Européenne. L'indication actuelle du plerixafor en Europe est en association avec du G-CSF, la mobilisation des CSH dans le sang périphérique en vue de leur collecte et de leur autogreffe chez des patients avec un LNH ou un MM mauvais mobilisateurs. Cette indication qui peut sembler limitée, est en fait très générale, autorisant les médecins à utiliser le plerixafor dans le vaste groupe des patients ayant déjà échoué à une première mobilisation conventionnelle mais aussi en première

ligne chez les patients présentant des facteurs de risque de mauvaise mobilisation. L'efficacité du plerixafor telle, avec une meilleure mobilisation des CSP par rapport aux techniques de mobilisation classique, qu'un rôle potentiel pour la mobilisation en première ligne est envisageable dans certaines situations lorsqu'il existe un risque d'échec de mobilisation. Ceci est particulièrement vrai chez les patients qui sur le monitoring des cellules CD34+ ne mobilisent pas suffisamment de cellules CD34+ pour que l'on puisse procéder à l'aphérèse. L'administration préemptive de plerixafor chez ces patients pourrait « sauver » la procédure de mobilisation et permettre au patient de recevoir rapidement sa chimiothérapie intensive sans subir des tentatives de mobilisations répétitives et coûteuses en argent mais aussi en temps avec le risque de rechute ou de progression toujours présent. De même les patients chez lesquels on prédit une mauvaise mobilisation au vu de l'âge, du type de maladie ou des traitements reçus, entre autre la fludarabine, pourraient aussi bénéficier d'une mobilisation par plerixafor en première ligne^{120, 128}.

Lorsque l'on utilise la chimiothérapie en association avec le G-CSF uniquement à visée de mobilisation, on pourrait utiliser le plerixafor à la place de la chimiomobilisation afin d'éviter au patient une exposition inutile aux effets secondaires potentiels de la chimiothérapie. En effet, l'association plerixafor et G-CSF permet de collecter autant de cellules que l'association G-CSF et cyclophosphamide avec un coût de mobilisation et des résultats cliniques comparables, de plus, le plerixafor permet une plus grande prévisibilité pour l'aphérèse¹²⁹.

L'utilisation du plerixafor en association avec une chimiothérapie de mobilisation n'a pas été beaucoup étudiée jusqu'à présent, une étude préliminaire chez des patients avec un NHL ou un MM indique que le plerixafor peut être ajouté en toute sécurité à une mobilisation par G-CSF et chimiothérapie et permet d'accélérer l'augmentation du nombre de cellules CD34+ circulantes¹³⁰.

Bien que les investigateurs considèrent le seuil de cellules CD34+ comme étant le paramètre le plus important pour prédire le succès de l'autogreffe, d'autres facteurs tels que la qualité de la composition du greffon, le taux de prise de greffe et la reconstitution immunitaire peuvent jouer sur le devenir à long terme. En effet, une prise de greffe plus rapide diminue le risque de complications infectieuses ou hémorragiques potentiellement fatales. La prise de greffe dépend non seulement du nombre total de cellules CD34+ réinjectées, mais aussi de la proportion relative des différentes sous-populations de cellules CD34+, qui influencent la prise de greffe des granulocytes et des plaquettes^{131, 132}. De plus, l'association plerixafor + G-CSF permet de mobiliser plus de CSH primitives, avec une plus grande aptitude à recoloniser la moelle osseuse, aboutissant à une reconstitution plus rapide de la moelle osseuse par rapport aux cellules mobilisées par G-CSF seul¹³³.

En conclusion, l'arrivée du plerixafor constitue une avancée majeure, en permettant à plus de patients de bénéficier dans un délai rapide d'une chimiothérapie haute dose sous couvert d'autogreffe de cellules souches périphériques. Sur la base des techniques de mobilisation actuellement disponibles, on s'attend à ce que le plerixafor devienne la méthode de mobilisation de choix chez les patients pouvant bénéficier d'une chimiothérapie haute dose.

Tableau III :Bénéfices et limites à l'utilisation des méthodes classiques de mobilisation des CSH.

Méthode	Bénéfices	Limites
G-CSF seul	<ul style="list-style-type: none"> -Faible toxicité, effets secondaires classiques (douleurs osseuses, céphalées, anémie, thrombopénie) -Pic CD34+ prévisible (J4-J5) :programmation des aphérèses fiables -Administration à domicile -Efficace -Cout réduit comparé à G-CSF+chimiothérapie 	<ul style="list-style-type: none"> -Rendement de CSH plus faible comparé avec G-CSF+chimiothérapie -Taux d'échec variable
G-CSF + chimiothérapie	<ul style="list-style-type: none"> -Rendement de CSH plus élevé comparé au G-CSF seul -Effet antitumoral -Moins de séances d'aphérèses 	<ul style="list-style-type: none"> -Pic CD34⁺ moins prévisible (J10 à J18) : programmation des aphérèses plus délicate -Toxicité plus importante que le G-CSF seul -Pas d'amélioration du taux d'échec par rapport au G-CSF seul -Risque de lésion du microenvironnement médullaire, gênant la prise de greffe et d'éventuelles futures mobilisations -Hospitalisationnécessaire pour la chimiothérapie -Surveillance quotidienne nécessaire pour monitorer la mobilisation des cellules CD34⁺ -Plus couteux que le G-CSF seul -Pas de bénéfice par rapport au G-CSF seul pour les tentatives de deuxième mobilisation

G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor ; CSH, cellules soucheshématopoïétiques

Tableau IV :Bénéfices et limites de la mobilisation de CSH par plerixafor.

Méthode	Bénéfices	Limites
Plerixafor + G-CSF	<ul style="list-style-type: none"> -Pic CD34⁺ prévisible (≈11h) : programmation des aphérèses fiable, utilisation plus efficace des ressources de santé publique -Moins d'échec de mobilisation comparé au G-CSF seul, moins de remobilisation nécessaire -Plus de patients peuvent bénéficier de l'autogreffe -Délais raccourcis avant l'autogreffe -Diminution du risque de progression de la maladie -Collecte de plus de cellules par aphérèse : plus de cellules pour procéder à l'autogreffe, possibilité de réaliser une double autogreffe/greffon de secours -Moins de séances d'aphérèse -Moins de jours de G-CSF -Effets secondaires modérés et transitoires (diarrhées, nausées, réaction au site d'injection) 	<ul style="list-style-type: none"> -Indiqué en cas d'échec de mobilisation ou chez les mauvais mobiliseurs en Europe, pas en première ligne -Données limitées sur les résultats en association avec la chimiothérapie -Probablement plus onéreux que les autres options de mobilisation

G-CSF, granulocyte colony-stimulating factor ; CSH, cellules souches hématopoïétiques

7-Conclusion

Malgré le développement de nouveaux agents extrêmement efficaces en hématologie, l'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques reste un traitement indispensable à la prise en charge thérapeutique de nombreux patients.

Il est indispensable de pouvoir collecter un greffon de qualité chez tous ces patients afin de pouvoir procéder le plus rapidement possible à la chimiothérapie haute dose sous couvert d'une autogreffe de CSH, tout délai supplémentaire augmentant le risque de rechute ou de progression de la maladie.

De nouvelles stratégies de mobilisation sont donc nécessaires afin de pouvoir collecter tous les patients. Une des solutions a été apportée par le plerixafor, une molécule très efficace pour la mobilisation et la collecte des CSH. En effet comme nous l'avons vu dans ce travail de thèse, le plerixafor en association avec le G-CSF permet de rattraper les échecs de mobilisation chez 58% des patients préalablement traités par fludarabine et 69% des patients préalablement traités par lénalidomide. Des études prospectives sont nécessaires afin de déterminer la place du plerixafor pour la mobilisation en première ligne chez les patients préalablement traités par fludarabine et lénalidomide.

Au delà de ces patients le plerixafor semble également être une molécule prometteuse chez les patients présentant d'autres facteurs de risque de mauvaise mobilisation. Là aussi d'autres études seront probablement nécessaires afin de définir sa place exacte.

Par ailleurs, à l'époque actuelle, où les coûts de santé publique explosent, l'une des réponses pourrait aussi être apportée par des études pharmaco-économiques afin de comparer le plus précisément possible le cout

des différentes méthodes de mobilisation, l'association plerixafor + G-CSF n'étant pas forcément la plus onéreuse.

Les algorithmes décisionnels restent à mettre en place afin de définir pour chaque patient la stratégie de mobilisation la plus adaptée, le plerixafor devant prendre une place de plus en plus importante dans ces algorithmes.

8-Références bibliographiques

1. Giarratana MC, Rouard H, Dumont A, Kiger L, Safeukui I, Le Pennec PY *et al.* Proof of principle for transfusion of in vitro generated red blood cells. *Blood* 2011.
2. Harousseau JL, Milpied N, Garand R, Bourhis JH. High dose melphalan and autologous bone marrow transplantation in high risk myeloma. *Br J Haematol* 1987; **67**(4): 493.
3. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, Sotto JJ, Fuzibet JG, Rossi JF *et al.* A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Francais du Myelome. *N Engl J Med* 1996; **335**(2): 91-7.
4. Shipp MA, Abeloff MD, Antman KH, Carroll G, Hagenbeek A, Loeffler M *et al.* International Consensus Conference on High-Dose Therapy with Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Aggressive Non-Hodgkin's Lymphomas: report of the jury. *J Clin Oncol* 1999; **17**(1): 423-9.
5. Sutton L, Chevret S, Tournilhac O, Divine M, Leblond V, Corront B *et al.* Autologous stem cell transplantation as a first-line treatment strategy for chronic lymphocytic leukemia: a multicenter, randomized, controlled trial from the SFGM-TC and GFLLC. *Blood* 2011; **117**(23): 6109-19.
6. Hamadani M, Awan FT, Copelan EA. Hematopoietic stem cell transplantation in adults with acute myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; **14**(5): 556-67.
7. Osgood EE R.M. MT. Aplastic anemia treated with daily transfusion and intravenous marrow. *Ann Intern Med* 1939; **13**: 357-67.
8. Jacobson LO ME, Robson MJ, et al. Effect of spleen protection on mortality following x-irradiation. *J Lab Clin Med* 1949; **34**: 1538-43.
9. Lorenz E, Uphoff D, Reid TR, Shelton E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst* 1951; **12**(1): 197-201.
10. Barnes DWH LJ. Wath is the recovery factor in spleen? *Nucleonics* 1954; **12**: 68.
11. Mannick JA, Lochte HL, Jr., Ashley CA, Thomas ED, Ferrebee JW. Autografts of bone marrow in dogs after lethal total-body radiation. *Blood* 1960; **15**: 255-66.

12. Cavins JA, Scheer SC, Thomas ED, Ferrebee JW. THE RECOVERY OF LETHALLY IRRADIATED DOGS GIVEN INFUSIONS OF AUTOLOGOUS LEUKOCYTES PRESERVED AT -80 C. *Blood* 1964; **23**: 38-42.
13. Kurnick NB, Montano A, Gerdes JC, Feder BH. Preliminary observations on the treatment of postirradiation hematopoietic depression in man by the infusion of stored autogenous bone marrow. *Ann Intern Med* 1958; **49**(5): 973-86.
14. Frei E, 3rd, Canellos GP. Dose: a critical factor in cancer chemotherapy. *Am J Med* 1980; **69**(4): 585-94.
15. Bond VP, Cronkite EP, Fliedner TM, Schork P. Deoxyribonucleic acid synthesizing cells in peripheral blood of normal human beings. *Science* 1958; **128**(3317): 202-3.
16. Swift MN, Taketa ST, Bond VP. Efficacy of hematopoietic protective procedure in rats x-irradiated with intestine shielded. *Radiat Res* 1956; **4**(3): 186-92.
17. Brecher G, Cronkite EP. Post-radiation parabiosis and survival in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1951; **77**(2): 292-4.
18. Storb R, Graham TC, Epstein RB, Sale GE, Thomas ED. Demonstration of hemopoietic stem cells in the peripheral blood of baboons by cross circulation. *Blood* 1977; **50**(3): 537-42.
19. Goodman JW, Hodgson GS. Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice. *Blood* 1962; **19**: 702-14.
20. Freireich EJ, Judson G, Levin RH. Separation and collection of leukocytes. *Cancer Res* 1965; **25**(9): 1516-20.
21. McCredie KB, Hersh EM, Freireich EJ. Cells capable of colony formation in the peripheral blood of man. *Science* 1971; **171**(968): 293-4.
22. Micklem HS, Anderson N, Ross E. Limited potential of circulating haemopoietic stem cells. *Nature* 1975; **256**(5512): 41-3.
23. Hershko C, Gale RP, Ho WG, Cline MJ. Cure of aplastic anaemia in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria by marrow transfusion from identical twin: Failure of peripheral-leucocyte transfusion to correct marrow aplasia. *Lancet* 1979; **1**(8123): 945-7.
24. Abrams RA, Glaubiger D, Appelbaum FR, Deisseroth AB. Result of attempted hematopoietic reconstitution using isologous, peripheral blood mononuclear cells: a case report. *Blood* 1980; **56**(3): 516-20.

25. Fliedner TM, Korbling M, Calvo W, Bruch C, Herbst E. Cryopreservation of blood mononuclear leukocytes and stem cells suspended in a large fluid volume. A preclinical model for a blood stem cell bank. *Blut* 1977; **35**(3): 195-202.
26. Goldman JM, Johnson SA, Catovsky D, Wareham NJ, Galton DA. Autografting for chronic granulocytic leukemia. *N Engl J Med* 1981; **305**(12): 700.
27. Korbling M, Burke P, Braine H, Elfenbein G, Santos G, Kaizer H. Successful engraftment of blood derived normal hemopoietic stem cells in chronic myelogenous leukemia. *Exp Hematol* 1981; **9**(6): 684-90.
28. Korbling M, Dorken B, Ho AD, Pezzutto A, Hunstein W, Fliedner TM. Autologous transplantation of blood-derived hemopoietic stem cells after myeloablative therapy in a patient with Burkitt's lymphoma. *Blood* 1986; **67**(2): 529-32.
29. Kessinger A, Armitage JO, Landmark JD, Weisenburger DD. Reconstitution of human hematopoietic function with autologous cryopreserved circulating stem cells. *Exp Hematol* 1986; **14**(3): 192-6.
30. Reiffers J, Bernard P, David B, Vezon G, Sarrat A, Marit G *et al.* Successful autologous transplantation with peripheral blood hemopoietic cells in a patient with acute leukemia. *Exp Hematol* 1986; **14**(4): 312-5.
31. To LB, Dyson PG, Branford AL, Russell JA, Haylock DN, Ho JQ *et al.* Peripheral blood stem cells collected in very early remission produce rapid and sustained autologous haemopoietic reconstitution in acute non-lymphoblastic leukaemia. *Bone Marrow Transplant* 1987; **2**(1): 103-8.
32. Welte K, Gabilove J, Bronchud MH, Platzer E, Morstyn G. Filgrastim (r-metHuG-CSF): the first 10 years. *Blood* 1996; **88**(6): 1907-29.
33. Socinski MA, Cannistra SA, Elias A, Antman KH, Schnipper L, Griffin JD. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor expands the circulating haemopoietic progenitor cell compartment in man. *Lancet* 1988; **1**(8596): 1194-8.
34. Duhresen U, Villeval JL, Boyd J, Kannourakis G, Morstyn G, Metcalf D. Effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on hematopoietic progenitor cells in cancer patients. *Blood* 1988; **72**(6): 2074-81.
35. Lane TA, Law P, Maruyama M, Young D, Burgess J, Mullen M *et al.* Harvesting and enrichment of hematopoietic progenitor cells mobilized into the peripheral blood of normal donors by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) or G-CSF: potential role in allogeneic marrow transplantation. *Blood* 1995; **85**(1): 275-82.

36. Schmitz N, Linch DC, Dreger P, Goldstone AH, Boogaerts MA, Ferrant A *et al.* Randomised trial of filgrastim-mobilised peripheral blood progenitor cell transplantation versus autologous bone-marrow transplantation in lymphoma patients. *Lancet* 1996; **347**(8998): 353-7.
37. Le Corroller AG, Faucher C, Auperin A, Blaise D, Fortanier C, Benhamou E *et al.* Autologous peripheral blood progenitor-cell transplantation versus autologous bone marrow transplantation for adults and children with non-leukaemic malignant disease. A randomised economic study. *Pharmacoeconomics* 1997; **11**(5): 454-63.
38. Jerjis S, Croockewit S, Muus P, Schaap N, Preijers F, de Witte T. Cost analysis of autologous peripheral stem cell transplantation versus autologous bone marrow transplantation for patients with non Hodgkin's lymphoma and acute lymphoblastic leukaemia. *Leuk Lymphoma* 1999; **36**(1-2): 33-43.
39. van Agthoven M, Vellenga E, Fibbe WE, Kingma T, Uyl-de Groot CA. Cost analysis and quality of life assessment comparing patients undergoing autologous peripheral blood stem cell transplantation or autologous bone marrow transplantation for refractory or relapsed non-Hodgkin's lymphoma or Hodgkin's disease. a prospective randomised trial. *Eur J Cancer* 2001; **37**(14): 1781-9.
40. Fruehauf S, Haas R, Conradt C, Murea S, Witt B, Mohle R *et al.* Peripheral blood progenitor cell (PBPC) counts during steady-state hematopoiesis allow to estimate the yield of mobilized PBPC after filgrastim (R-metHuG-CSF)-supported cytotoxic chemotherapy. *Blood* 1995; **85**(9): 2619-26.
41. Fruehauf S, Schmitt K, Veldwijk MR, Topaly J, Benner A, Zeller WJ *et al.* Peripheral blood progenitor cell (PBPC) counts during steady-state haemopoiesis enable the estimation of the yield of mobilized PBPC after granulocyte colony-stimulating factor supported cytotoxic chemotherapy: an update on 100 patients. *Br J Haematol* 1999; **105**(3): 786-94.
42. Pusic I, Jiang SY, Landua S, Uy GL, Rettig MP, Cashen AF *et al.* Impact of mobilization and remobilization strategies on achieving sufficient stem cell yields for autologous transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; **14**(9): 1045-56.
43. Olivieri A, Marchetti M, Lemoli R, Tarella C, Iacone A, Lanza F *et al.* Proposed definition of 'poor mobilizer' in lymphoma and multiple myeloma: an analytic hierarchy process by ad hoc working group Gruppo italianoTrapianto di Midollo Osseo. *Bone Marrow Transplant* 2011.
44. Attal M, Harousseau JL, Facon T, Guilhot F, Doyen C, Fuzibet JG *et al.* Single versus double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* 2003; **349**(26): 2495-502.

45. Mitsiades N, Mitsiades CS, Poulaki V, Chauhan D, Richardson PG, Hideshima T *et al.* Apoptotic signaling induced by immunomodulatory thalidomide analogs in human multiple myeloma cells: therapeutic implications. *Blood* 2002; **99**(12): 4525-30.
46. Anderson KC. Lenalidomide and thalidomide: mechanisms of action--similarities and differences. *Semin Hematol* 2005; **42**(4 Suppl 4): S3-8.
47. Richardson PG, Schlossman RL, Weller E, Hideshima T, Mitsiades C, Davies F *et al.* Immunomodulatory drug CC-5013 overcomes drug resistance and is well tolerated in patients with relapsed multiple myeloma. *Blood* 2002; **100**(9): 3063-7.
48. Dimopoulos MA, Chen C, Spencer A, Niesvizky R, Attal M, Stadtmauer EA *et al.* Long-term follow-up on overall survival from the MM-009 and MM-010 phase III trials of lenalidomide plus dexamethasone in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *Leukemia* 2009; **23**(11): 2147-52.
49. Richardson PG, Blood E, Mitsiades CS, Jagannath S, Zeldenrust SR, Alsina M *et al.* A randomized phase 2 study of lenalidomide therapy for patients with relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood* 2006; **108**(10): 3458-64.
50. Rajkumar SV, Hayman SR, Lacy MQ, Dispenzieri A, Geyer SM, Kabat B *et al.* Combination therapy with lenalidomide plus dexamethasone (Rev/Dex) for newly diagnosed myeloma. *Blood* 2005; **106**(13): 4050-3.
51. Sviggum HP, Davis MD, Rajkumar SV, Dispenzieri A. Dermatologic adverse effects of lenalidomide therapy for amyloidosis and multiple myeloma. *Arch Dermatol* 2006; **142**(10): 1298-302.
52. Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, Gastineau DA *et al.* Impact of lenalidomide therapy on stem cell mobilization and engraftment post-peripheral blood stem cell transplantation in patients with newly diagnosed myeloma. *Leukemia* 2007; **21**(9): 2035-42.
53. Paripati H, Stewart AK, Cabou S, Dueck A, Zepeda VJ, Pirooz N *et al.* Compromised stem cell mobilization following induction therapy with lenalidomide in myeloma. *Leukemia* 2008; **22**(6): 1282-4.
54. Popat U, Saliba R, Thandi R, Hosing C, Qazilbash M, Anderlini P *et al.* Impairment of filgrastim-induced stem cell mobilization after prior lenalidomide in patients with multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; **15**(6): 718-23.

55. Cavallo F, Brinthen S, Milone G, Ben-Yehuda D, Nagler A, Calabrese E *et al.* Stem cell mobilization in patients with newly diagnosed multiple myeloma after lenalidomide induction therapy. *Leukemia* 2011.
56. Keating MJ, Kantarjian H, Talpaz M, Redman J, Koller C, Barlogie B *et al.* Fludarabine: a new agent with major activity against chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1989; **74**(1): 19-25.
57. Keating MJ, Kantarjian H, O'Brien S, Koller C, Talpaz M, Schachner J *et al.* Fludarabine: a new agent with marked cytoreductive activity in untreated chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 1991; **9**(1): 44-9.
58. Johnson S, Smith AG, Loffler H, Osby E, Juliusson G, Emmerich B *et al.* Multicentre prospective randomised trial of fludarabine versus cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone (CAP) for treatment of advanced-stage chronic lymphocytic leukaemia. The French Cooperative Group on CLL. *Lancet* 1996; **347**(9013): 1432-8.
59. Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, Kolitz J, Elias L, Shepherd L *et al.* Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000; **343**(24): 1750-7.
60. Lepage M, Chevret S, Cazin B, Boudjerra N, Feugier P, Desablens B *et al.* Randomized comparison of fludarabine, CAP, and ChOP in 938 previously untreated stage B and C chronic lymphocytic leukemia patients. *Blood* 2001; **98**(8): 2319-25.
61. Rossi JF, van Hoof A, de Boeck K, Johnson SA, Bron D, Foussard C *et al.* Efficacy and safety of oral fludarabine phosphate in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2004; **22**(7): 1260-7.
62. Robak T, Dmoszynska A, Solal-Celigny P, Warzocha K, Loscertales J, Catalano J *et al.* Rituximab plus fludarabine and cyclophosphamide prolongs progression-free survival compared with fludarabine and cyclophosphamide alone in previously treated chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; **28**(10): 1756-65.
63. Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G, Fink AM, Busch R, Mayer J *et al.* Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010; **376**(9747): 1164-74.
64. Treon SP, Branagan AR, Ioakimidis L, Soumerai JD, Patterson CJ, Turnbull B *et al.* Long-term outcomes to fludarabine and rituximab in Waldenström macroglobulinemia. *Blood* 2009; **113**(16): 3673-8.

65. Lenz G, Hiddemann W, Dreyling M. The role of fludarabine in the treatment of follicular and mantle cell lymphoma. *Cancer* 2004; **101**(5): 883-93.
66. Morgan SJ, Seymour JF, Grigg A, Matthews JP, Prince HM, Wolf MM *et al.* Predictive factors for successful stem cell mobilization in patients with indolent lymphoproliferative disorders previously treated with fludarabine. *Leukemia* 2004; **18**(5): 1034-8.
67. Michallet M, Thiebaut A, Dreger P, Remes K, Milpied N, Santini G *et al.* Peripheral blood stem cell (PBSC) mobilization and transplantation after fludarabine therapy in chronic lymphocytic leukaemia (CLL): a report of the European Blood and Marrow Transplantation (EBMT) CLL subcommittee on behalf of the EBMT Chronic Leukaemias Working Party (CLWP). *Br J Haematol* 2000; **108**(3): 595-601.
68. Herbert KE, Morgan S, Prince HM, Westerman DA, Wolf MM, Carney DA *et al.* Stem cell factor and high-dose twice daily filgrastim is an effective strategy for peripheral blood stem cell mobilization in patients with indolent lymphoproliferative disorders previously treated with fludarabine: results of a Phase II study with an historical comparator. *Leukemia* 2009; **23**(2): 305-12.
69. Ketterer N, Salles G, Moullet I, Dumontet C, ElJaafari-Corbin A, Tremisi P *et al.* Factors associated with successful mobilization of peripheral blood progenitor cells in 200 patients with lymphoid malignancies. *Br J Haematol* 1998; **103**(1): 235-42.
70. Jindra P, Koza V, Lysak D, Vozobulova V, Steinerova K. Inefficiency of high-dose G-CSF alone as second mobilization regimen in fludarabine-cyclophosphamide-treated CLL patients who failed to mobilize after chemotherapy and G-CSF. *Bone Marrow Transplant* 2005; **35**(7): 729-30.
71. Montillo M, Tedeschi A, Rossi V, Cairoli R, Pungolino E, Intropido L *et al.* Successful CD34+ cell mobilization by intermediate-dose Ara-C in chronic lymphocytic leukemia patients treated with sequential fludarabine and Campath-1H. *Leukemia* 2004; **18**(1): 57-62.
72. Yin T, Li L. The stem cell niches in bone. *J Clin Invest* 2006; **116**(5): 1195-201.
73. Luster AD. Chemokines--chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998; **338**(7): 436-45.
74. Zou YR, Kottmann AH, Kuroda M, Taniuchi I, Littman DR. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature* 1998; **393**(6685): 595-9.

75. Ma Q, Jones D, Borghesani PR, Segal RA, Nagasawa T, Kishimoto T *et al.* Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; **95**(16): 9448-53.
76. Kawai T, Malech HL. WHIM syndrome: congenital immune deficiency disease. *Curr Opin Hematol* 2009; **16**(1): 20-6.
77. Kollet O, Spiegel A, Peled A, Petit I, Byk T, Hershkoviz R *et al.* Rapid and efficient homing of human CD34(+)CD38(-/low)CXCR4(+) stem and progenitor cells to the bone marrow and spleen of NOD/SCID and NOD/SCID/B2m(null) mice. *Blood* 2001; **97**(10): 3283-91.
78. Kollet O, Petit I, Kahn J, Samira S, Dar A, Peled A *et al.* Human CD34(+)CXCR4(-) sorted cells harbor intracellular CXCR4, which can be functionally expressed and provide NOD/SCID repopulation. *Blood* 2002; **100**(8): 2778-86.
79. Kahn J, Byk T, Jansson-Sjostrand L, Petit I, Shivtiel S, Nagler A *et al.* Overexpression of CXCR4 on human CD34+ progenitors increases their proliferation, migration, and NOD/SCID repopulation. *Blood* 2004; **103**(8): 2942-9.
80. Brenner S, Whiting-Theobald N, Kawai T, Linton GF, Rudikoff AG, Choi U *et al.* CXCR4-transgene expression significantly improves marrow engraftment of cultured hematopoietic stem cells. *Stem Cells* 2004; **22**(7): 1128-33.
81. Hartmann TN, Grabovsky V, Pasvolsky R, Shulman Z, Buss EC, Spiegel A *et al.* A crosstalk between intracellular CXCR7 and CXCR4 involved in rapid CXCL12-triggered integrin activation but not in chemokine-triggered motility of human T lymphocytes and CD34+ cells. *J Leukoc Biol* 2008; **84**(4): 1130-40.
82. Levoye A, Balabanian K, Baleux F, Bachelerie F, Lagane B. CXCR7 heterodimerizes with CXCR4 and regulates CXCL12-mediated G protein signaling. *Blood* 2009; **113**(24): 6085-93.
83. Bonig H, Wundes A, Chang KH, Lucas S, Papayannopoulou T. Increased numbers of circulating hematopoietic stem/progenitor cells are chronically maintained in patients treated with the CD49d blocking antibody natalizumab. *Blood* 2008; **111**(7): 3439-41.
84. Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, Lahav M, Peled A, Habler L *et al.* G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat Immunol* 2002; **3**(7): 687-94.
85. Levesque JP, Hendy J, Takamatsu Y, Simmons PJ, Bendall LJ. Disruption of the CXCR4/CXCL12 chemotactic interaction during hematopoietic stem

- cell mobilization induced by GCSF or cyclophosphamide. *J Clin Invest* 2003; **111**(2): 187-96.
86. Broxmeyer HE, Hangoc G, Cooper S, Campbell T, Ito S, Mantel C. AMD3100 and CD26 modulate mobilization, engraftment, and survival of hematopoietic stem and progenitor cells mediated by the SDF-1/CXCL12-CXCR4 axis. *Ann N Y Acad Sci* 2007; **1106**: 1-19.
 87. Christopherson KW, 2nd, Hangoc G, Mantel CR, Broxmeyer HE. Modulation of hematopoietic stem cell homing and engraftment by CD26. *Science* 2004; **305**(5686): 1000-3.
 88. Leung KT, Chan KY, Ng PC, Lau TK, Chiu WM, Tsang KS *et al*. The tetraspanin CD9 regulates migration, adhesion, and homing of human cord blood CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 2011; **117**(6): 1840-50.
 89. Smith-Berdan S, Nguyen A, Hassanein D, Zimmer M, Ugarte F, Ciriza J *et al*. Robo4 cooperates with CXCR4 to specify hematopoietic stem cell localization to bone marrow niches. *Cell Stem Cell* 2011; **8**(1): 72-83.
 90. Labbaye C, Spinello I, Quaranta MT, Pelosi E, Pasquini L, Petrucci E *et al*. A three-step pathway comprising PLZF/miR-146a/CXCR4 controls megakaryopoiesis. *Nat Cell Biol* 2008; **10**(7): 788-801.
 91. Avigdor A, Goichberg P, Shvitiel S, Dar A, Peled A, Samira S *et al*. CD44 and hyaluronic acid cooperate with SDF-1 in the trafficking of human CD34+ stem/progenitor cells to bone marrow. *Blood* 2004; **103**(8): 2981-9.
 92. Craddock CF, Nakamoto B, Andrews RG, Priestley GV, Papayannopoulou T. Antibodies to VLA4 integrin mobilize long-term repopulating cells and augment cytokine-induced mobilization in primates and mice. *Blood* 1997; **90**(12): 4779-88.
 93. Zohren F, Toutzaris D, Klarner V, Hartung HP, Kieseier B, Haas R. The monoclonal anti-VLA-4 antibody natalizumab mobilizes CD34+ hematopoietic progenitor cells in humans. *Blood* 2008; **111**(7): 3893-5.
 94. Bonig H, Watts KL, Chang KH, Kiem HP, Papayannopoulou T. Concurrent blockade of alpha4-integrin and CXCR4 in hematopoietic stem/progenitor cell mobilization. *Stem Cells* 2009; **27**(4): 836-7.
 95. Yong KL, Watts M, Shaun Thomas N, Sullivan A, Ings S, Linch DC. Transmigration of CD34+ cells across specialized and nonspecialized endothelium requires prior activation by growth factors and is mediated by PECAM-1 (CD31). *Blood* 1998; **91**(4): 1196-205.

96. Imbert AM, Belaaloui G, Bardin F, Tonnel C, Lopez M, Chabannon C. CD99 expressed on human mobilized peripheral blood CD34+ cells is involved in transendothelial migration. *Blood* 2006; **108**(8): 2578-86.
97. Praetor A, McBride JM, Chiu H, Rangell L, Cabote L, Lee WP *et al.* Genetic deletion of JAM-C reveals a role in myeloid progenitor generation. *Blood* 2009; **113**(9): 1919-28.
98. Chabannon C, Calmels B, Habibi S, Mohty M, Imbert AM. New molecular targets and new clinical practices for hematopoietic stem cell mobilization. *Bull Cancer* 2011; **98**(8): 951-961.
99. Yi Y, Isaacs SN, Williams DA, Frank I, Schols D, De Clercq E *et al.* Role of CXCR4 in cell-cell fusion and infection of monocyte-derived macrophages by primary human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) strains: two distinct mechanisms of HIV-1 dual tropism. *J Virol* 1999; **73**(9): 7117-25.
100. Donzella GA, Schols D, Lin SW, Este JA, Nagashima KA, Maddon PJ *et al.* AMD3100, a small molecule inhibitor of HIV-1 entry via the CXCR4 co-receptor. *Nat Med* 1998; **4**(1): 72-7.
101. Egberink HF, De Clercq E, Van Vliet AL, Balzarini J, Bridger GJ, Henson G *et al.* Bicyclams, selective antagonists of the human chemokine receptor CXCR4, potently inhibit feline immunodeficiency virus replication. *J Virol* 1999; **73**(8): 6346-52.
102. Labrosse B, BreLOT A, Heveker N, Sol N, Schols D, De Clercq E *et al.* Determinants for sensitivity of human immunodeficiency virus coreceptor CXCR4 to the bicyclam AMD3100. *J Virol* 1998; **72**(8): 6381-8.
103. Schols D, Este JA, Henson G, De Clercq E. Bicyclams, a class of potent anti-HIV agents, are targeted at the HIV coreceptor fusin/CXCR-4. *Antiviral Res* 1997; **35**(3): 147-56.
104. Schols D, Struyf S, Van Damme J, Este JA, Henson G, De Clercq E. Inhibition of T-tropic HIV strains by selective antagonization of the chemokine receptor CXCR4. *J Exp Med* 1997; **186**(8): 1383-8.
105. Schols D, Este JA, Cabrera C, De Clercq E. T-cell-line-tropic human immunodeficiency virus type 1 that is made resistant to stromal cell-derived factor 1alpha contains mutations in the envelope gp120 but does not show a switch in coreceptor use. *J Virol* 1998; **72**(5): 4032-7.
106. Matthys P, Hatse S, Vermeire K, Wuyts A, Bridger G, Henson GW *et al.* AMD3100, a potent and specific antagonist of the stromal cell-derived factor-1 chemokine receptor CXCR4, inhibits autoimmune joint inflammation in IFN-gamma receptor-deficient mice. *J Immunol* 2001; **167**(8): 4686-92.

107. Hatse S, Princen K, Bridger G, De Clercq E, Schols D. Chemokine receptor inhibition by AMD3100 is strictly confined to CXCR4. *FEBS Lett* 2002; **527**(1-3): 255-62.
108. Gerlach LO, Skerlj RT, Bridger GJ, Schwartz TW. Molecular interactions of cyclam and bicyclam non-peptide antagonists with the CXCR4 chemokine receptor. *J Biol Chem* 2001; **276**(17): 14153-60.
109. De Clercq E, Schols D. Inhibition of HIV infection by CXCR4 and CCR5 chemokine receptor antagonists. *Antivir Chem Chemother* 2001; **12 Suppl 1**: 19-31.
110. Hendrix CW, Flexner C, MacFarland RT, Giandomenico C, Fuchs EJ, Redpath E *et al*. Pharmacokinetics and safety of AMD-3100, a novel antagonist of the CXCR-4 chemokine receptor, in human volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; **44**(6): 1667-73.
111. De Clercq E. The bicyclam AMD3100 story. *Nat Rev Drug Discov* 2003; **2**(7): 581-7.
112. Mohty M, Duarte RF, Croockewit S, Hubel K, Kvalheim G, Russell N. The role of plerixafor in optimizing peripheral blood stem cell mobilization for autologous stem cell transplantation. *Leukemia* 2011; **25**(1): 1-6.
113. Broxmeyer HE, Orschell CM, Clapp DW, Hangoc G, Cooper S, Plett PA *et al*. Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. *J Exp Med* 2005; **201**(8): 1307-18.
114. Burroughs L, Mielcarek M, Little MT, Bridger G, Macfarland R, Fricker S *et al*. Durable engraftment of AMD3100-mobilized autologous and allogeneic peripheral-blood mononuclear cells in a canine transplantation model. *Blood* 2005; **106**(12): 4002-8.
115. Larochelle A, Krouse A, Metzger M, Orlic D, Donahue RE, Fricker S *et al*. AMD3100 mobilizes hematopoietic stem cells with long-term repopulating capacity in nonhuman primates. *Blood* 2006; **107**(9): 3772-8.
116. Liles WC, Broxmeyer HE, Rodger E, Wood B, Hubel K, Cooper S *et al*. Mobilization of hematopoietic progenitor cells in healthy volunteers by AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Blood* 2003; **102**(8): 2728-30.
117. Liles WC, Rodger E, Broxmeyer HE, Dehner C, Badel K, Calandra G *et al*. Augmented mobilization and collection of CD34+ hematopoietic cells from normal human volunteers stimulated with granulocyte-colony-stimulating factor by single-dose administration of AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Transfusion* 2005; **45**(3): 295-300.

118. Devine SM, Flomenberg N, Vesole DH, Liesveld J, Weisdorf D, Badel K *et al*. Rapid mobilization of CD34+ cells following administration of the CXCR4 antagonist AMD3100 to patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2004; **22**(6): 1095-102.
119. Flomenberg N, Devine SM, DiPersio JF, Liesveld JL, McCarty JM, Rowley SD *et al*. The use of AMD3100 plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization is superior to G-CSF alone. *Blood* 2005; **106**(5): 1867-74.
120. Stiff P, Micallef I, McCarthy P, Magalhaes-Silverman M, Weisdorf D, Territo M *et al*. Treatment with plerixafor in non-Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma patients to increase the number of peripheral blood stem cells when given a mobilizing regimen of G-CSF: implications for the heavily pretreated patient. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; **15**(2): 249-56.
121. Cashen A, Lopez S, Gao F, Calandra G, MacFarland R, Badel K *et al*. A phase II study of plerixafor (AMD3100) plus G-CSF for autologous hematopoietic progenitor cell mobilization in patients with Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; **14**(11): 1253-61.
122. Calandra G, McCarty J, McGuirk J, Tricot G, Crocker SA, Badel K *et al*. AMD3100 plus G-CSF can successfully mobilize CD34+ cells from non-Hodgkin's lymphoma, Hodgkin's disease and multiple myeloma patients previously failing mobilization with chemotherapy and/or cytokine treatment: compassionate use data. *Bone Marrow Transplant* 2008; **41**(4): 331-8.
123. DiPersio JF, Stadtmauer EA, Nademanee A, Micallef IN, Stiff PJ, Kaufman JL *et al*. Plerixafor and G-CSF versus placebo and G-CSF to mobilize hematopoietic stem cells for autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Blood* 2009; **113**(23): 5720-6.
124. DiPersio JF, Micallef IN, Stiff PJ, Bolwell BJ, Maziarz RT, Jacobsen E *et al*. Phase III prospective randomized double-blind placebo-controlled trial of plerixafor plus granulocyte colony-stimulating factor compared with placebo plus granulocyte colony-stimulating factor for autologous stem-cell mobilization and transplantation for patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2009; **27**(28): 4767-73.
125. Lysak D, Koza V, Steinerova K, Jindra P, Vozobulova V, Schutzova M. Mobilization of peripheral blood stem cells in CLL patients after front-line fludarabine treatment. *Ann Hematol* 2005; **84**(7): 456-61.
126. Micallef IN, Ho AD, Klein LM, Marulkar S, Gandhi PJ, McSweeney PA. Plerixafor (Mozobil) for stem cell mobilization in patients with multiple myeloma previously treated with lenalidomide. *Bone Marrow Transplant* 2010.

127. Kumar S, Giralt S, Stadtmauer EA, Harousseau JL, Palumbo A, Bensinger W *et al.* Mobilization in myeloma revisited: IMWG consensus perspectives on stem cell collection following initial therapy with thalidomide-, lenalidomide-, or bortezomib-containing regimens. *Blood* 2009; **114**(9): 1729-35.
128. Tricot G, Cottler-Fox MH, Calandra G. Safety and efficacy assessment of plerixafor in patients with multiple myeloma proven or predicted to be poor mobilizers, including assessment of tumor cell mobilization. *Bone Marrow Transplant* 2010; **45**(1): 63-8.
129. Shaughnessy P, Islas-Ohlmayer M, Murphy J, Hougham M, MacPherson J, Winkler K *et al.* Cost and clinical analysis of autologous hematopoietic stem cell mobilization with G-CSF and plerixafor compared to G-CSF and cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; **17**(5): 729-36.
130. Dugan MJ, Maziarz RT, Bensinger WI, Nademanee A, Liesveld J, Badel K *et al.* Safety and preliminary efficacy of plerixafor (Mozobil) in combination with chemotherapy and G-CSF: an open-label, multicenter, exploratory trial in patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma undergoing stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplant* 2010; **45**(1): 39-47.
131. Kamel AM, El-Sharkawy N, Mahmoud HK, Khalaf MR, El Haddad A, Fahmy O *et al.* Impact of CD34 subsets on engraftment kinetics in allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005; **35**(2): 129-36.
132. Wallington-Beddoe CT, Gottlieb DJ, Garvin F, Antonenas V, Sartor MM. Failure to achieve a threshold dose of CD34+CD110+ progenitor cells in the graft predicts delayed platelet engraftment after autologous stem cell transplantation for multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; **15**(11): 1386-93.
133. Fruehauf S, Veldwijk MR, Seeger T, Schubert M, Laufs S, Topaly J *et al.* A combination of granulocyte-colony-stimulating factor (G-CSF) and plerixafor mobilizes more primitive peripheral blood progenitor cells than G-CSF alone: results of a European phase II study. *Cytotherapy* 2009; **11**(8): 992-1001.

9-Annexes

Elsevier Editorial System(tm) for Biology of Blood and Marrow Transplantation
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Plerixafor for autologous peripheral blood stem cell mobilization in patients previously treated with fludarabine or lenalidomide

Article Type: Brief Article

Keywords: Autologous stem cell mobilization; plerixafor; salvage mobilization; fludarabine

Corresponding Author: Pr Mohamad Mohty,

Corresponding Author's Institution: CHU and University of Nantes

First Author: F Malard

Order of Authors: F Malard; N Kroger; IH Gabriel; K Hubel; JF Apperley; GW Basak; KW Douglas; C Geraldes; O Jaksic; Z Koristek; F Lanza; R Lemoli; G Mikala; D Selleslag; N Worel; Mohamad Mohty; RF Duarte

Abstract: Fludarabine and lenalidomide are essential drugs in the front line treatment of non-Hodgkin's lymphoma (NHL) and multiple myeloma (MM) respectively. Data suggests that fludarabine and lenalidomide therapy may have a deleterious effect on stem cell mobilization. In the European compassionate use program (CUP), 48 patients (median age 57 years), previously treated with fludarabine (median 5 cycles; range, 1-7 cycles) were given plerixafor plus G-CSF for remobilization following a primary mobilization attempt. The overall median number of CD34+ cells collected was 2.3×10^6 /Kg (range, 0.3-13.4). The minimum required number of CD34+ cells ($\geq 2.0 \times 10^6$ per kg) was collected from 58% of patients in a median of 2 days. Thirty-five patients (median age 57 years), previously treated with lenalidomide (median 5 cycles; range, 1-10 cycles) were given plerixafor plus G-CSF for remobilization. The overall median number of CD34+ cells collected was 3.4×10^6 /Kg (range, 1.1-14.8). The minimum required number of CD34+ cells ($\geq 2.0 \times 10^6$ per kg) was collected from 69% of patients in a median of 2 days.

In conclusion, salvage mobilization with plerixafor plus G-CSF is successful in the majority of patients with MM previously treated with lenalidomide. In fludarabine-exposed patients, only 58% of patients will achieve successful salvage mobilization with plerixafor plus G-CSF, suggesting the need for novel mobilization regimens algorithms in this subgroup of patients.

Plerixafor for autologous peripheral blood stem cell mobilization in patients previously treated with fludarabine or lenalidomide

Florent Malard,¹ Nicolaus Kröger,² Ian H Gabriel,³ Kai Hübel,⁴ Jane F Apperley,³ Grzegorz W Basak,⁵ Kenneth W Douglas,⁶ Catarina Geraldes,⁷ Ozren Jaksic,⁸ Zdenek Koristek,⁹ Francesco Lanza,¹⁰ Roberto Lemoli,¹¹ Gabor Mikala,¹² Dominik Selleslag,¹³ Nina Worel,¹⁴ Mohamad Mohty,^{1*} Rafael F Duarte.^{15*}

¹ Centre Hospitalier et Universitaire (CHU) de Nantes, Service d'Hématologie Clinique, Nantes, Université de Nantes, Centre d'Investigation Clinique en Cancérologie (CI2C), INSERM CRNCA UMR 892, Nantes, France.

² University Hospital of Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

³ Imperial College London, Department of Haematology, London, UK

⁴ Department of Internal Medicine I, University Hospital of Cologne, Germany

⁵ Department of Hematology, Oncology & Internal Diseases, Medical University of Warsaw, Poland

⁶ HPC Transplant Programme, Beatson West of Scotland Cancer Centre, Glasgow, UK

⁷ Hospitais da Universidade, Coimbra, Portugal

⁸ Dubrava University Hospital, Zagreb, Croatia

⁹ Interní hematologická klinika Lékařské Fakulty MU a FN Brno, Czech Republic

¹⁰ Cremona Hospital, Section of Hematology, Cremona, Italy

¹¹ Department of Hematology and Oncological Sciences “L&A Seràgnoli”, Institute of Hematology, University of Bologna, Bologna, Italy

¹² St Laszlo Hospital, Department of Haematology & SCT, Budapest, Hungary

¹³ Algemeen Ziekenhuis Sint-Jan, Brugge, Belgium

¹⁴ Medical University of Vienna, Austria

¹⁵ Catalan Institute of Oncology, IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

* MM and RFD share senior authorship.

Running head: Plerixafor after fludarabine/lenalidomide

Words count: Abstract: 213; Main text: 1307; Tables: 1.

Correspondence and reprint requests: Prof. Mohamad Mohty; Hématologie Clinique, CHU de Nantes, Place A. Ricordeau, F-44093 Nantes Cedex, France.

Phone: +33 240 083271; Fax: +33 240 083250; E-mail: mohamad.mohty@univ-nantes.fr

Abstract

Fludarabine and lenalidomide are essential drugs in the front line treatment of non-Hodgkin's lymphoma (NHL) and multiple myeloma (MM) respectively. Data suggests that fludarabine and lenalidomide therapy may have a deleterious effect on stem cell mobilization. In the European compassionate use program (CUP), 48 patients (median age 57 years), previously treated with fludarabine (median 5 cycles; range, 1-7 cycles) were given plerixafor plus G-CSF for remobilization following a primary mobilization attempt. The overall median number of CD34+ cells collected was 2.3×10^6 /Kg (range, 0.3-13.4). The minimum required number of CD34+ cells ($\geq 2.0 \times 10^6$ per kg) was collected from 58% of patients in a median of 2 days. Thirty-five patients (median age 57 years), previously treated with lenalidomide (median 5 cycles; range, 1-10 cycles) were given plerixafor plus G-CSF for remobilization. The overall median number of CD34+ cells collected was 3.4×10^6 /Kg (range, 1.1-14.8). The minimum required number of CD34+ cells ($\geq 2.0 \times 10^6$ per kg) was collected from 69% of patients in a median of 2 days.

In conclusion, salvage mobilization with plerixafor plus G-CSF is successful in the majority of patients with MM previously treated with lenalidomide. In fludarabine-exposed patients, only 58% of patients will achieve successful salvage mobilization with plerixafor plus G-CSF, suggesting the need for novel mobilization regimens algorithms in this subgroup of patients.

Introduction

High dose chemotherapy with or without radiotherapy followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is an effective treatment for patients with non-Hodgkin lymphoma (NHL) (1, 2) and multiple myeloma (MM) (3). At present, G-CSF-mobilized peripheral blood stem cells (PBSCs) are the preferred stem cell source for autologous HSCT (4). The success of HSC mobilization is usually assessed by the total number of CD34+ stem cells collected, with a cut-off of 2.0×10^6 CD34+ cells/Kg recipient body weight being considered as a minimum requirement for transplant. Higher cell dose in the range of $4-5 \times 10^6$ CD34+ cells/Kg are however associated with faster neutrophils and platelets recovery (5). Traditionally HSC mobilization has been achieved using G-CSF alone or in combination with chemotherapy with a failure rate reported in 5 to 30% of cases (6). The main risk factors for failure or suboptimal mobilization are advanced age (>60 years), progressive disease, bone marrow involvement or previous chemotherapy including drugs such as Fludarabine (7) or lenalidomide (8). Indeed, given the increasing use of fludarabine as part of the treatment armamentarium of different lymphoma subtypes, and the wide use of lenalidomide in MM treatment regimens, collection of adequate numbers of autologous CD34+ stem cells in patients who are candidates for autologous HSCT is becoming a matter of concern (9). Plerixafor (previously AMD3100) reversibly and selectively antagonizes the CXCR4 chemokine receptor resulting in mobilization of CD34+ cells to the peripheral blood (10). Prior to the drug approval in Europe, a plerixafor compassionate use program (CUP) was available from July 2008 to August 2010 to provide access to the drug for patients with MM or lymphoma who had previously failed a mobilization attempt, and who were not eligible for another specific plerixafor trial. In this report we present the efficacy data of plerixafor in a subgroup of patients in the CUP who were previously treated with fludarabine or lenalidomide.

Patients and methods

From June 2008 to August 2010, over 1400 patients were enrolled in the European CUP, and a European Consortium for Stem Cell Collection (ECOSM) collected data in half of patients treated. Eligibility criteria for the CUP were age >18 years, a diagnosis of NHL, Hodgkin's disease (HD) or MM and candidate for autologous HSCT but who had previously failed to collect a minimum of 2.0×10^6 CD34+ cells/Kg or did not even proceed to apheresis based on a low peripheral blood CD34+ count (usually <10 cells per μ L) after a conventional mobilization procedure. The current analysis focussed on 83 patients included in this CUP who were previously treated with fludarabine or lenalidomide (for at least one treatment course including fludarabine or lenalidomide) prior to autologous stem cell collection, and for whom adequate data for analysis were available. All patients signed informed consents for inclusion in the CUP and for collection of their data.

The salvage mobilization protocol included non-pegylated G-CSF, administered at a dose of 10 μ g/kg daily by subcutaneous (s.c.) injection on 4 consecutive days. In the evening of the fourth day, patients received a s.c. plerixafor at a dose of 240 μ g/kg. Apheresis was usually initiated on the fifth day, 10-12 h after plerixafor and 1 h after G-CSF administration. Apheresis and daily administration of G-CSF and plerixafor were continued until the patient collected enough CD34+ cells for auto-HSCT (minimum of 2.0×10^6 /Kg), a maximum of 7 plerixafor injections was allowed. The apheresis procedures were performed according to the standard protocols at each institution.

The primary endpoint for the current analysis was to assess the rate of successful mobilization defined as collection of a total number $\geq 2.0 \times 10^6$ CD34+ cells/Kg of body weight. Descriptive statistics were used to define characteristics of patients.

Results and discussion

This retrospective analysis included a total of 83 patients. Patients' characteristics and mobilization features are summarized in **Table 1**. A total of 48 patients were previously treated with fludarabine ("Flu group"), while 35 patients received lenalidomide ("Len group"). All 48 patients from the "Flu group" had a diagnosis of NHL, while all patients from the "Len group" had MM. In the Flu group, the overall median number of CD34+ cells collected after salvage mobilization with plerixafor was $2.3 \times 10^6/\text{Kg}$ (range, 0.3-13.4). Of the 48 patients, 28 (58%) could reach the minimum number of 2.0×10^6 CD34+ cells/Kg, while only 3 patients (6%) collected $\geq 5.0 \times 10^6$ CD34+ cells. The collection target of $2.0 \times 10^6/\text{Kg}$ was reached in a median of 2 apheresis sessions (range, 1-3).

The overall median number of CD34+ cell collected in the Len group was $3.4 \times 10^6/\text{Kg}$ (range, 1.1-14.8). Among these 35 patients, 24 patients (69%) collected the minimum number of CD34+ cells ($\geq 2.0 \times 10^6$ per Kg), including 12 patients (34%) who were able to collect $\geq 5.0 \times 10^6$ cells/Kg. In the Len group, 7 patients (20%) had received a prior autologous HSCT before salvage mobilization with plerixafor. Both targets were reached with a median of 2 apheresis sessions (range, 1-4).

In this salvage CUP program, 58% of patients previously exposed to fludarabine, successfully mobilized $\geq 2.0 \times 10^6$ CD34+ cells/Kg using plerixafor plus G-CSF, among them only 3 patients (6%) were able to collect an optimal graft of $\geq 5.0 \times 10^6$ CD34+/Kg allowing for at least two HSCT procedures. Interestingly, previously published data suggested that first line mobilization success rates in patients pre-treated with fludarabine can range from 46 to 63% (11-13) with G-CSF alone, G-CSF plus chemotherapy or G-CSF plus stem cell factor. Furthermore, second line mobilization regimens are considered to be of little effect in this subgroup of patients (14,15). Therefore, results observed in the current analysis in a salvage setting can be viewed as encouraging. However, one cannot ignore that nearly half of

fludarabine-treated patients failed to be rescued after salvage remobilization with plerixafor, raising the issue of the use of this drug as frontline therapy in order to optimise the overall results in this subgroup predicted to be very poor mobilizers and thus improve treatment options (9).

In contrast, in patients previously treated with lenalidomide, salvage remobilization with plerixafor plus G-CSF was significantly more effective with 69% of the 38 patients successfully mobilizing $\geq 2.0 \times 10^6$ CD34+ cells/Kg, including 34% of cases achieving $\geq 5.0 \times 10^6$ CD34+ cells/Kg. In the literature, mobilization failure rates in patients pretreated with lenalidomide ranged from 7 to 45% (8, 16, 17), suggesting that second line agents are likely to be needed for these patients. In patients with MM, chemotherapy based-mobilization has been shown to be effective for remobilization, especially in patients treated with lenalidomide but at the cost of increased toxicity (17). Results from this current analysis after lenalidomide therapy, are comparable to the results published by Micallef *et al.* (18) as part of the US CUP, who reported in 40 patients previously treated with lenalidomide undergoing a remobilisation attempt after primary mobilisation failure, achievement of the minimum required number of CD34+ cells in 80%. With this background, the International Myeloma Working Group recently published comprehensive recommendations for stem cell mobilization in patients with MM in the era of novel therapeutic agents. In patients treated with lenalidomide-based regimens, collection of autologous stem cells is recommended within the first 4 cycles. In case of failure of the front line collection procedure using G-CSF, second line collection with G-CSF plus plerixafor is one of the recommended options (19).

In term of post autologous HSCT outcome, the design of this CUP-based analysis did not allow to assess such data, especially engraftment kinetics. However, based on previously published data (20), it has already been well established that engraftment features when using

autologous CD34+ stem cells mobilized with G-CSF and plerixafor is at least as good as those of patients transplanted with stem cells mobilized without plerixafor.

In conclusion, the majority of patients treated with lenalidomide can undergo successful salvage second line mobilization with plerixafor plus G-CSF. However, in patients treated with fludarabine, results are less appealing in the salvage setting warranting larger prospective studies evaluating the efficacy of plerixafor for frontline mobilization in this subgroup of patients.

Author contributions

F Malard: analyzed data and wrote the manuscript;

M Mohty: recruited patients, supervised research, analyzed data and wrote the manuscript;

N Kröger, I Gabriel, K Hübel, J Apperley, G Basak, K Douglas, C Geraldes, O Jaksic, Z Koristek, F Lanza, R Lemoli, G Mikala, D Selleslag, and N Worel: recruited patients and commented on the manuscript

RF Duarte: recruited patients, supervised research, analyzed data and helped writing the manuscript.

All authors approved submission of the manuscript for publication purposes.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge the financial support of Genzyme Corp. for their help in data collection. However, Genzyme Corp. did not participate in either the definition or data analysis.

MM would like to thank C. Chabannon (Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France) for helpful discussions.

References

1. Freedman AS, Neuberg D, Mauch P, et al. Long-term follow-up of autologous bone marrow transplantation in patients with relapsed follicular lymphoma. *Blood* 1999;94:3325-3333.
2. van Besien K, Keralavarma B, Devine S, Stock W. Allogeneic and autologous transplantation for chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2001;15:1317-1325.
3. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, et al. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Francais du Myelome. *N Engl J Med* 1996;335:91-97.
4. Beyer J, Schwella N, Zingsem J, et al. Hematopoietic rescue after high-dose chemotherapy using autologous peripheral-blood progenitor cells or bone marrow: a randomized comparison. *J Clin Oncol* 1995;13:1328-1335.
5. Siena S, Schiavo R, Pedrazzoli P, Carlo-Stella C. Therapeutic relevance of CD34 cell dose in blood cell transplantation for cancer therapy. *J Clin Oncol* 2000;18:1360-1377.
6. Pusic I, Jiang SY, Landua S, et al. Impact of mobilization and remobilization strategies on achieving sufficient stem cell yields for autologous transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:1045-1056.
7. Tournilhac O, Cazin B, Lepretre S, et al. Impact of frontline fludarabine and cyclophosphamide combined treatment on peripheral blood stem cell mobilization in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2004;103:363-365.
8. Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Impact of lenalidomide therapy on stem cell mobilization and engraftment post-peripheral blood stem cell transplantation in patients with newly diagnosed myeloma. *Leukemia* 2007;21:2035-2042.
9. Mohty M, Duarte RF, Croockewit S, Hubel K, Kvalheim G, Russell N. The role of plerixafor in optimizing peripheral blood stem cell mobilization for autologous stem cell transplantation. *Leukemia* 2011;25:1-6.
10. Devine SM, Flomenberg N, Vesole DH, et al. Rapid mobilization of CD34+ cells following administration of the CXCR4 antagonist AMD3100 to patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2004;22:1095-1102.
11. Morgan SJ, Seymour JF, Grigg A, et al. Predictive factors for successful stem cell mobilization in patients with indolent lymphoproliferative disorders previously treated with fludarabine. *Leukemia* 2004;18:1034-1038.
12. Michallet M, Thiebaut A, Dreger P, et al. Peripheral blood stem cell (PBSC) mobilization and transplantation after fludarabine therapy in chronic lymphocytic leukaemia (CLL): a report of the European Blood and Marrow Transplantation (EBMT) CLL subcommittee on behalf of the EBMT Chronic Leukaemias Working Party (CLWP). *Br J Haematol* 2000;108:595-601.
13. Herbert KE, Morgan S, Prince HM, et al. Stem cell factor and high-dose twice daily filgrastim is an effective strategy for peripheral blood stem cell mobilization in patients with indolent lymphoproliferative disorders previously treated with fludarabine: results of a Phase II study with an historical comparator. *Leukemia* 2009;23:305-312.
14. Lysak D, Koza V, Steinerova K, Jindra P, Vozobulova V, Schutzova M. Mobilization of peripheral blood stem cells in CLL patients after front-line fludarabine treatment. *Ann Hematol* 2005;84:456-461.
15. Montillo M, Tedeschi A, Rossi V, et al. Successful CD34+ cell mobilization by intermediate-dose Ara-C in chronic lymphocytic leukemia patients treated with sequential fludarabine and Campath-1H. *Leukemia* 2004;18:57-62.
16. Paripati H, Stewart AK, Cabou S, et al. Compromised stem cell mobilization following induction therapy with lenalidomide in myeloma. *Leukemia* 2008;22:1282-1284.

17. Popat U, Saliba R, Thandi R, et al. Impairment of filgrastim-induced stem cell mobilization after prior lenalidomide in patients with multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:718-723.
18. Micallef IN, Ho AD, Klein LM, Marulkar S, Gandhi PJ, McSweeney PA. Plerixafor (Mozobil) for stem cell mobilization in patients with multiple myeloma previously treated with lenalidomide. *Bone Marrow Transplant* 2010.
19. Kumar S, Giral S, Stadtmauer EA, et al. Mobilization in myeloma revisited: IMWG consensus perspectives on stem cell collection following initial therapy with thalidomide-, lenalidomide-, or bortezomib-containing regimens. *Blood* 2009;114:1729-1735.
20. DiPersio JF, Stadtmauer EA, Nademanee A, et al. Plerixafor and G-CSF versus placebo and G-CSF to mobilize hematopoietic stem cells for autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Blood* 2009;113:5720-5726.

Table 1. Study population characteristics

Characteristic (%)	Fludarabine (N=48)	Lenalidomide (N=35)
Patient age, median (range)	57 (36-69)	57 (34-66)
Patient gender		
Male	26 (54)	18 (51)
Female	22 (46)	17 (42)
Fludarabine or Lenalidomide cycles, median (range)	5 (1-7)	5 (1-10)
Diagnosis and disease status		
NHL	48 (100)	0
Multiple myeloma	0	35 (100)
Previous chemotherapy: number of lines, median (range)	3 (1-6)	4 (1-9)
Previous autograft		
Yes	0	7 (20)
No	43(90)	20 (57)
Data missing	5 (10)	8 (23)
Radiotherapy		
Yes	5 (10)	3 (9)
No	36 (75)	24 (68)
Data missing	7 (15)	8 (23)
Mobilization strategy with plerixafor		
Steady-state GCSF mobilization	38 (79)	27 (77)
Chemotherapy+GCSF mobilization	10 (21)	8 (23)
No. of patients collected	44 (92)	34 (97)
CD34+ cells collected per Kg, median (range)	2.3 (0.3-13.4)	3.4 (1.1-14.8)
No. of patients who reached $\geq 2.10^6$ CD34+	28 (58)	24 (69)
No. of apheresis days to reach $\geq 2.10^6$ CD34+	2 (1-3)	2 (1-4)
No. of patients who reached $\geq 5.10^6$ CD34+	3 (6)	12 (34)
No. of apheresis days to reach $\geq 5.10^6$ CD34+	2 (1-3)	2 (1-3)

NHL, non-Hodgkin lymphoma

Titre de Thèse :

Impact du plerixafor sur la mobilisation des cellules souches hématopoïétiques autologues chez les patients préalablement traités par fludarabine ou lénalidomide

RESUME

La fludarabine et le lénalidomide sont des médicaments essentiels du traitement de première ligne des lymphomes non Hodgkiniens (LNH) et du myélome multiple (MM). Plusieurs études suggèrent que la fludarabine et le lénalidomide altèrent la mobilisation des cellules souches hématopoïétiques (CSH) autologues. Récemment, une nouvelle molécule, le Plerixafor, agissant sur l'axe CXCR4/SDF1 a été approuvée en Europe pour la mobilisation des CSH autologues. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'efficacité du Plerixafor chez des patients traités dans le cadre du programme compassionnel Européen précédant la mise sur le marché. Au total, 48 patients préalablement traités par fludarabine ont reçu du plerixafor associé au G-CSF pour mobiliser les CSH après un premier échec de mobilisation par chimiothérapie et/ou G-CSF. Le nombre minimum requis de cellules CD34+ ($\geq 2.0 \times 10^6$ / Kg) a été collecté chez 58% des patients. 35 patients préalablement traités par lénalidomide ont reçu du plerixafor + G-CSF pour mobiliser les CSH après un premier échec de mobilisation. Le nombre minimum requis de cellules CD34+ ($\geq 2.0 \times 10^6$ / Kg) a été collecté chez 69% des patients. En conclusion, ces résultats suggèrent qu'une mobilisation de sauvetage par plerixafor + G-CSF est efficace chez la majorité des patients avec un MM préalablement traité par lénalidomide. Chez les patients traités par fludarabine, seulement 58% des patients mobilisent avec succès avec l'association plerixafor + G-CSF. Des études prospectives évaluant l'utilisation du plerixafor pour la mobilisation de première ligne dans ce sous groupe de patients semblent nécessaires.

MOTS-CLES

Mobilisation de cellules souches hématopoïétiques, autogreffe, plerixafor, lénalidomide, fludarabine