médecine/sciences 1998 ; 14 : 198-202

Physiopathologie, thérapeutique

Mobilisation sélective de cellules souches hématopoïétiques dans les hémopathies malignes : modèle de la leucémie myéloïde chronique

L'utilisation d'une combinaison de marqueurs moléculaires et d'antigènes de surface permet actuellement d'obtenir, après tri en cytométrie de flux, des sous-populations cellulaires qui apparaissent indemnes de cellules malignes dans certaines leucémies aiguës [1] ou dans certains lymphomes [2]. Il n'est pas du tout établi que ces méthodes de sélection de cellules non néoplasiques puissent un jour être appliquées à la clinique hématologique en l'absence de techniques d'expansion cellulaire cliniquement utilisables [3]. Les effets éventuels à long terme des techniques de sélection, de purge ou d'expansion sur le fonctionnement des cellules hématopoïétiques, la stimulation possible des cellules néoplasiques, restent à évaluer. Enfin, la contribution des cellules néoplasiques, contaminant un éventuel greffon ainsi engendré *ex vivo*, aux rechutes obtenues après autogreffe ne peut être déterminée que par des techniques de transfert de gènes. Toutes ces questions sont actuellement posées dans plusieurs types d'hémopathies malignes, essentiellement des lymphomes, myélomes et certains types de leucémies.

La leucémie myéloïde chronique (LMC) représente à cet égard le prototype de l'affection hématologique pour laquelle les efforts scientifiques accomplis pour caractériser les cellules souches hématopoïétiques possédant le chromosome Philadelphie (Ph1) ont abouti à des procédures de détection et de manipulation *ex vivo*. Ces efforts sont justifiés par le fait que la LMC est une affection grave dont le seul traitement curatif reste la greffe de moelle allogénique intrafamiliale ; le pourcentage de survie à 5 ans est de l'ordre de 65-70 % à condition qu'elle soit pratiquée chez des patients jeunes et à une phase précoce de la maladie (moins d'un an après le diagnostic). La mortalité est importante au cours de la première année post-greffe, liée essentiellement à la maladie du greffon contre l'hôte et aux infections opportunistes, et elle n'est plus appliquée au-delà de 50-55 ans selon les centres. En l'absence de donneur dans la fratrie, la greffe de moelle allogénique à partir d'un donneur HLA-compatible non apparenté permet également des guérisons mais avec une toxicité et une mortalité beaucoup plus importantes. Si la greffe allogénique n'est pas possible (absence de donneur HLA-compatible, âge avancé…), la plupart des patients bénéficient actuellement d'un traitement par l'interféron-α. Les études randomisées ont, sur la survie, montré la supériorité de ce traitement par rapport à la chimiothérapie classique (hydroxyurée ou busulfan), mais seulement en cas de réponse cytogénétique majeure qui n'est obtenue que chez un faible pourcentage de patients (15-20 %). Les résultats d'une étude multicentrique récente montrent, par ailleurs, que le pourcentage de réponse cytogénétique majeure peut être augmenté jusqu'à 41 %, avec un effet favorable sur la survie à 3 ans, par l'association de faibles doses de cytosine arabinoside et d'interféron-α [4]. Enfin, dans une proportion non négligeable de patients inéligibles pour la greffe allogénique, se pose le problème de la place de l'autogreffe avec des cellules médullaires obtenues lors de la phase chronique ou, plus récemment, en utilisant des cellules souches périphériques recueillies par des techniques de cytaphérèse. Ainsi, des essais cliniques testent actuellement la contamination de prélèvements de cellules souches par des cellules leucémiques et la capacité de ces cellules de régénérer une hématopoïèse sans chromosome Ph1 après autogreffe. La LMC représente donc, par son évolution clinique particulière, par la présence d'un marqueur chromosomique spécifique et par la possibilité de techniques de manipulation, un modèle pour développer des approches de mobilisation sélective de cellules souches *(figure 1)*.

Mobilisation de cellules souches hématopoïétiques

Les cellules souches hématopoïétiques peuvent être mobilisées en phase de récupération de l'aplasie induite par la chimiothérapie ou par l'association de cette dernière à l'utilisation de facteurs de croissance, notamment G-CSF [5]. Les bases physiopathologiques de ce phénomène sont très peu connues et semblent faire appel à des modifications fugaces de l'expression de molécules d'adhérence, notamment les intégrines, à la surface de cellules hématopoïétiques [6]. Bien que l'expression de certaines molécules d'adhérence se trouve réduite dans les cellules $CD34^+$ recueillies après mobilisation (avec notamment une réduction de l'expression de VLA-4, VLA-5, LFA-3 et de LFA-1), il n'est pas du tout certain que cet effet soit directement lié à l'action de G-CSF car les cellules $CD34^+$ présentent au contraire une augmentation de leur capacité adhésive dépendante des

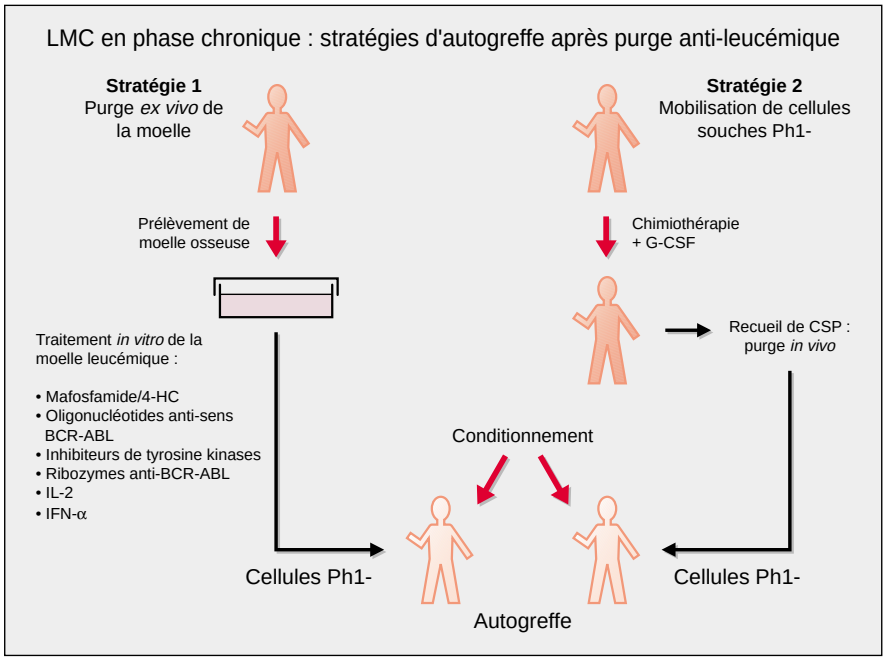

Figure 1. ***Illustration schématique des approches d'élimination de cellules leucémiques (purge antileucémique) suivies d'autogreffe de cellules non leucémiques (ou sans chromosome Ph_1).*** *Les tentatives de purge antileucémique par traitement* ex vivo *de la moelle restent actuellement expérimentales tandis que les approches de purge* in vivo *par administration d'une chimiothérapie suivie d'un recueil de cellules souches sous G-CSF est de pratique courante. Dans les deux types d'approche, le patient reçoit un traitement de conditionnement suivi de la transplantation d'un greffon autologue enrichi en cellules normales. Conditionnement : irradiation corporelle totale + cyclophosphamide ou busulfan + cyclophosphamide.*

intégrines VLA-4 and VLA-5 après traitement *in vitro* par certaines cytokines, notamment IL-3, GM-CSF et G-CSF [7, 8]. Le mécanisme de l'effet de mobilisation induit par G-CSF est donc inconnu et il est difficile de l'expliquer par des modifications exclusives de l'adhésivité. Certains médicaments cytotoxiques et, en particulier, le cyclophosphamide, pourraient favoriser la mobilisation des cellules souches hématopoïétiques en induisant des modifications de la barrière moelle-sang avec, comme conséquence, une migration anormale des cellules à travers l'endothélium sinusoïdal [9]. Il est cependant probable que plusieurs mécanismes entrent simultanément en jeu, notamment une prolifération des cellules souches hématopoïétiques dans la moelle avant leur mobilisation vers le sang périphérique [10]. Un rôle direct des molécules d'adhérence dans le processus de mobilisation a été prouvé expérimentalement chez des primates, l'administration d'anticorps anti-VLA-4 conduisant à une mobilisation des cellules souches hématopoïétiques [11]. Enfin, les effets différentiels des procédures de mobilisation sur les cellules hématopoïétiques malignes par rapport aux cellules hématopoïétiques normales, encore inconnus, sont à l'évidence d'une importance capitale pour la qualité du greffon.

La LMC représente également un modèle intéressant de mobilisation par l'hypo-adhésivité documentée des cellules hématopoïétiques Ph1 [12], corrigée dans certains systèmes *in vitro* par l'interféron-α [13]. Les patients ayant une réponse cytogénétique majeure après traitement par interféron-α ont probablement un *pool* de progéniteurs sans chromosome Ph1 plus important, ce qui expliquerait les succès récents obtenus dans le recueil de cellules souches normales après traitement par G-CSF seul chez ces malades (*voir* plus bas). Cependant, un effet direct de l'interféron dans la correction des anomalies adhésives est plus difficile à démontrer, d'autant que le rôle de BCR-ABL dans l'induction d'une hypo-adhésivité dans la LMC a été récemment contesté [14].

Mobilisation de cellules souches périphériques : modèle de la LMC

Plusieurs raisons poussent à essayer de recueillir des cellules souches périphériques (CSP) sans Ph1 pour une autogreffe. La première est le fait que l'autogreffe en première phase chronique semble montrer un effet bénéfique sur la survie [15]. Il est donc raisonnable d'essayer d'obtenir une certaine forme de purge de manière à réaliser des greffes contenant moins de cellules souches avec le chromosome Ph1. La deuxième raison est la persistance, surtout en première phase chronique, de cellules souches normales dont l'existence a été mise en évidence initialement chez les patients traités par des chimiothérapies intensives entraînant des rémissions cytogénétiques brèves. La preuve formelle de l'existence de ces cellules et surtout leur maniabilité *ex vivo* a été obtenue par des techniques de culture à long terme montrant chez certains malades une disparition progressive des cellules leucémiques avec un maintien préférentiel des cellules sans Ph1 [16]. Cette observation a constitué la base d'un essai thérapeutique démontrant que les cellules produites après autogreffe de moelle cultivée *ex vivo* étaient non clonales et sans réarrangement BCR-ABL [17]. Le suivi à long terme de ces malades a cependant montré une rechute moléculaire puis hématologique, nécessitant la reprise d'un traitement [18]. La contribution des cellules autogreffées à la survenue de rechutes a été démontrée dans une expérience de marquage génique [19]. Enfin, une étude récente indique que le pourcentage de cellules Ph1 autogreffées est en relation directe avec le pourcentage de rechutes [20]. Ces résultats ont donc justifié et stimulé le développement des approches d'auto-

greffe après recueil de cellules enrichies au maximum par des cellules sans chromosome Ph1. Cette purge a pu être envisagée à deux niveaux : *ex vivo* et *in vivo*.

Purge *ex vivo* dans la LMC

Plusieurs méthodes de « purge » *ex vivo* ont été développées au cours des dernières années, comprenant, en dehors des techniques de culture à court terme de 10 jours [17, 18], l'utilisation de mafosfamide, d'oligonucléotides antisens, d'interféron-α, d'IL-2 ou de tyrphostines à activité antityrosine kinase préférentielle pour BCR-ABL *(figure 1)* [21]. Bien que prometteuses et intéressantes, ces méthodes sont lourdes et toxiques. L'essai clinique utilisant les cultures à court terme du groupe de Vancouver [18] est actuellement celui qui a inclus le plus de malades mais, en l'absence d'essais thérapeutiques contrôlés, il sera impossible de démontrer un effet bénéfique sur la survie.

Mobilisation sélective : purge *in vivo*

Bien qu'on ait récemment montré la présence de cellules hématopoïétiques primitives (*long-term culture initiating cells* ou LTC-IC) « non leucémiques » dans le sang périphérique de certains patients au moment du diagnostic [22], la très grande majorité des cellules hématopoïétiques (les cellules clonogéniques et les cellules mûres) circulantes sont porteuses du chromosome Ph1 et sont amplifiées de manière préférentielle dans le compartiment périphérique. Une cytaphérèse faite au moment du diagnostic, avant toute chimiothérapie, aurait donc *a priori*, toutes les chances d'être « contaminée » par des progéniteurs possédant le chromosome Ph1. La démonstration d'une mobilisation massive de cellules souches hématopoïétiques normales vers le sang périphérique après chimiothérapie aplasiante (idarubicine, étoposide, cyclophosphamide ou ICE) suivie de l'administration de G-CSF a constitué un progrès majeur dans ce domaine [23, 24]. Il a été ainsi montré que la possibilité de recueillir un greffon hématopoïétique sans chromosome Ph1 était plus grande chez les patients en première phase chronique et avant tout traitement par l'interféron [24]. Une étude comparative de la présence de Ph1 dans les cellules souches périphériques et dans un prélèvement de moelle effectué en même temps que la mobilisation a montré un pourcentage de cellules Ph1 inférieur dans les cellules souches périphériques par rapport à la moelle chez 7 patients sur 19 [25]. Certaines études suggèrent que les populations $CD34^+/Dr^-$ ou $CD38^-$ des cellules souches périphériques mobilisées seraient moins contaminées par les cellules leucémiques que celles obtenues dans la moelle [26] mais ces résultats doivent être interprétés avec précaution quant à leur applicabilité future en clinique. En effet, les populations de cellules hématopoïétiques primitives $CD34^+$ Lin-$Thy1^+$ ou $Thy1^-$, analysées à partir des cellules souches périphériques obtenues par le protocole ICE suivi de G-CSF, contiennent toutes deux un pourcentage non négligeable de cellules avec le gène hybride *BCR-ABL* détecté par des techniques d'hybridation *in situ* (FISH) [27].

Quel est le potentiel de reconstitution des greffons ainsi obtenus ? Les critères de sélection pour utilisation d'un greffon comprennent la nécessité d'une réponse cytogénétique majeure ou complète et la présence d'une quantité suffisante de progéniteurs ou de cellules $CD34^+$ dans ce même prélèvement. Après un traitement de conditionnement myéloablatif classique (busulfan et cyclophosphamide ou cyclophosphamide et irradiation corporelle totale) l'autogreffe par des cellules souches périphériques suivie de l'administration de G-CSF permet d'obtenir une reconstitution hématologique rapide chez la grande majorité des patients [24]. Une mortalité non négligeable survenant lors de la procédure de mobilisation et en postgreffe a cependant été documentée par plusieurs groupes utilisant un conditionnement similaire [25, 28]. Dans l'ensemble, les patients qui sont transplantés avec des cellules recueillies en phase chronique tardive et/ou après interféron ont tendance à présenter une rechute hématologique suivie d'une crise blastique [24]. Sur une période de suivi de 2 à 45 mois, 19 patients rapportés par le groupe de Carella étaient en vie après autogreffe dont 7 avec un caryotype médullaire normal [24]. Le choix thérapeutique entre l'administration d'interféron et le recueil de cellules souches périphériques au moment du diagnostic chez un patient non éligible pour une greffe allogénique est actuellement difficile. Dans certains centres, l'attitude actuelle est un recueil de cellules souches périphériques le plus proche possible du diagnostic et avant toute administration d'interféron.

D'autres méthodes de « purge *in vivo* » sont actuellement en cours d'essai, notamment après administration d'hydroxyurée à forte dose. Cette approche est remarquable par son absence de toxicité et d'épisodes infectieux nécessitant l'hospitalisation, permettant par ailleurs le recueil d'une quantité suffisante de cellules souches sans Ph1 [29, 30]. L'utilisation de G-CSF seule pour une mobilisation de cellules souches périphériques normales chez les patients ayant une bonne réponse à l'interféron est intéressante sur le plan physiopathologique [13]. Ainsi, il a été démontré qu'une mobilisation de cellules souches hématopoïétiques sans chromosome Ph1 (et, dans certains cas, sans transcrit BCR-ABL en RT-PCR) est possible chez des patients en phase chronique précoce et ayant une réponse cytogénétique majeure sous interféron [31, 32]. Une étude plus récente a montré que ces cellules pouvaient être utilisées pour une autogreffe après traitement myéloablatif [33].

Perspectives

La greffe de cellules souches périphériques est en voie de remplacer la greffe de moelle dans plusieurs affections hématologiques ou non hématologiques. Au cours de la LMC, les protocoles de mobilisation par « purge *in vivo* » permettent de recueillir des quantités théoriquement « suffisantes » de cellules souches sans chromosome Philadelphie pour réaliser une autogreffe. Des résultats préliminaires ont égale-

ment été publiés concernant leur potentiel de donner naissance à une hématopoïèse post-greffe après un conditionnement de type busulfan-cyclophosphamide [24, 28]. Les procédures de manipulation *ex vivo* de ces cellules a rendu ces approches thérapeutiques extrêmement attirantes pour un nombre important d'applications. La caractérisation des populations cellulaires avec une anomalie chromosomique donnée permet d'évaluer les procédés de sélection positive ou négative dans plusieurs types d'hémopathies avec possibilité d'expansion d'une population normale. Ainsi, dans la LMC, la mobilisation sélective de cellules souches hématopoïétiques pourrait être associée, dans le futur, à des méthodes plus raffinées de purge *ex vivo* suivie ou non d'une expansion de cellules sans chromosome Ph1 [35, 36].

Les questions non résolues à l'heure actuelle et qui sont en cours d'investigation sont les risques inhérents à la procédure d'autogreffe, les moments optimaux pour la mobilisation et, surtout, pour l'autogreffe. Le choix thérapeutique reste en effet souvent difficile en l'absence de possibilité de greffe de moelle allogénique, qui reste le seul traitement curatif de la LMC et qui agit probablement par un effet bénéfique immunologique additionnel (réaction du greffon contre la leucémie) absent des greffons autologues [37]. Cela explique l'intérêt récent suscité par les approches d'immunomodulation des greffons autologues [36, 37] ■

RÉFÉRENCES

1. Turhan AG, Lemoine FM, Debert C, Bonnet ML, Baillou C, Macintyre EA, Varet B. Highly purified primitive hematopoietic stem cells are PML-RAR-negative and generate non-clonal progenitors in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1995 ; 85 : 2154-61.

2. Macintyre EA, Belanger C, Debert C, Canioni D, Turhan AG, Azagury M, Hermine O, Varet B, Flandrin G, Schmitt C. Detection of clonal CD34+ 19+ progenitors in bone marrow of Bcl2-IgH-positive follicular lymphoma patients. *Blood* 1995 ; 86 : 4691-8.

3. Coulombel L, Vainchenker W. Les cellules souches hématopoïétiques. *Med Sci* 1995 ; 11 : 13-6.

4. Guilhot F, Chastang C, Michallet M, Guerci A, Harousseau JL, Maloisel F, Bouabdallah R, Guyotat D, Cheron N, Nicolini F, Abgrall JF, Tanzer J. Interferon alfa-2b combined with cytarabine versus interferon alone in chronic myelogenous leukemia. French Chronic Myeloid Leukemia Study Group. *N Engl J Med* 1997 ; 337 : 223-9.

5. Schwartzberg LS, Birch R, Hazelton B, Tauer KW, Lee P, Altemose MD, George C, Blanco R, Wittlin F, Cohen J, Muscato J, West WH. Peripheral blood stem cell mobilization by chemotherapy with and without recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *J Hematother* 1992 ; 1 : 317-27.

6. Turner ML, Sweetenham JW. Haemopoietic progenitor homing and mobilization. *Br J Haematol* 1996 ; 94 : 592-6.

7. Kovach NL, Lin N, Yednock T, Harlan JM, Broudy VC. Stem cell factor modulates avidity of alpha 4 beta 1 and alpha 5 beta 1 integrins expressed on hematopoietic cell lines. *Blood* 1995 ; 85 : 159-67.

8. Levesque JP, Haylock DN, Simmons PJ. Cytokine regulation of proliferation and cell adhesion are correlated events in human CD34+ hemopoietic progenitors. *Blood* 1996 ; 88 : 1168-76.

9. Shirota T, Tavassoli M. Cyclophosphamide-induced alterations of bone marrow endothelium : implications in homing of marrow cells after transplantation. *Experimental Hematology* 1991 ; 19 : 369-73.

10. Morrison SJ, Wright DE, Weissman IL. Cyclophosphamide/granulocyte colony-stimulating factor induces hematopoietic stem cells to proliferate prior to mobilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 1908-13.

11. Papayannopoulou T, Nakamoto B. Peripheralization of hemopoietic progenitors in primates treated with anti-VLA4 integrin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 9374-8.

12. Gordon MY, Dowding CR, Riley GP, Goldman JM, Greaves MF. Altered adhesive interactions with marrow stroma of haematopoietic progenitor cells in chronic myeloid leukaemia. *Nature* 1987 ; 328 : 342-4.

13. Upadhyaya G, Guba SC, Sih SA, Feinberg AP, Talpaz M, Kantarjian HM, Deisseroth AB, Emerson SG. Interferon-alpha restores the deficient expression of the cytoadhesion molecule lymphocyte function antigen-3 by chronic myelogenous leukemia progenitor cells. *J Clin Invest* 1991 ; 88 : 2131-6.

14. Bazzoni G, Carlesso N, Griffin JD, Hemler ME. Bcr/Abl expression stimulates integrin function in hematopoietic cell lines. *J Clin Invest* 1996 ; 98 : 521-8.

15. McGlave PB, De Fabritiis P, Deisseroth A, Goldman J, Barnett M, Reiffers J, Simonsson B, Carella A, Aeppli D. Autologous transplants for chronic myelogenous leukaemia : results from eight transplant groups. *Lancet* 1994 ; 343 : 1486-8.

16. Coulombel L, Kalousek DK, Eaves CJ, Gupta CM, Eaves AC. Long-term marrow culture reveals chromosomally normal hematopoietic progenitor cells in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1983 ; 308 : 1493-8.

17. Turhan AG, Humphries RK, Eaves CJ, Barnett MJ, Phillips GL, Kalousek DK, Klingemann HG, Lansdorp PM, Reece DE, Shepherd JD, Eaves AC. Detection of breakpoint cluster region-negative and nonclonal hematopoiesis *in vitro* and *in vivo* after transplantation of cells selected in cultures of chronic myeloid leukemia marrow. *Blood* 1990 ; 76 : 2404-10.

18. Barnett MJ, Eaves CJ, Phillips GL, Gascoyne RD, Hogge DE, *et al.* Autografting with cultured marrow in chronic myeloid leukemia : results of a pilot study. *Blood* 1994 ; 84 : 724-32.

19. Deisseroth AB, Zu Z, Claxton D, Hanania EG, Fu S, *et al.* Genetic marking shows that Ph+ cells present in autologous transplants of chronic myelogenous leukemia (CML) contribute to relapse after autologous bone marrow transplantation in CML. *Blood* 1994 ; 83 : 3068-76.

20. Talpaz M, Kantarjian H, Liang J, Calvert L, Hamer J, *et al.* Percentage of Philadelphia chromosome (Ph)-negative and Ph-positive cells found after autologous transplantation for chronic myelogenous leukemia depends on percentage of diploid cells induced by conventional-dose chemotherapy before collection of autologous cells. *Blood* 1995 ; 85 : 3257-63.

21. O'Brien SG, Goldman JM. Current approaches to hematopoietic stem cell purging in chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 1995 ; 13 : 541-6.

22. Petzer AL, Eaves CJ, Lansdorp PM, Ponchio L, Barnett MJ, Eaves AC. Characterization of primitive subpopulations of normal and leukemic cells present in the blood of patients with newly diagnosed as well as established chronic myeloid leukemia. *Blood* 1996 ; 88 : 2162-71.

23. Carella AM, Pollicardo N, Pungolino E, Raffo MR, Podesta M, *et al.* Mobilization of cytogenetically « normal » blood progenitors cells by intensive conventional chemotherapy for chronic myeloid and acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 1993 ; 9 : 477-83.

24. Carella AM, Chimirri F, Podesta M, Pitto A, Piaggio G, *et al.* High-dose chemo-radiotherapy followed by autologous Philadelphia chromosome-negative blood progenitor cell transplantation in patients with chronic myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1996 ; 17 : 201-5.

25. Kantarjian HM, Talpaz M, Hester J, Feldman E, Korbling M, Liang J, Rios MB, Smith TL, Calvert L, Deisseroth AB. Collection of peripheral-blood diploid cells from chronic myelogenous leukemia patients early in the recovery phase from myelosuppression induced by intensive-dose chemotherapy. *J Clin Oncol* 1995 ; 13 : 553-9.

RÉFÉRENCES

26. Carella AM, Frassoni F, Podesta M, Pungolino E, Pollicardo N, Ferrero R, Soracco M. Idarubicin, intermediate-dose cytarabine, etoposide, and granulocyte-colony-stimulating factor are able to recruit $CD34^+/HLA\text{-}DR^-$ cells during early hematopoietic recovery in accelerated and chronic phases of chronic myeloid leukemia. *J Hematother* 1994 ; 3 : 199-202.

27. Tsukamoto AS, Reading C, Carella A, Frassoni F, Gorin C, *et al.* Biological characterization of stem cell present in mobilized peripheral blood of CML patients. *Bone Marrow Transplant* 1994 ; 14 (suppl 3) : S25-S32.

28. Chalmers LA, Franklin IM, Kelsey SM, Newmand AC, Clark RE, *et al.* Treatment of chronic myeloid leukaemia in first chronic phase with idarubicin and cytarabine : mobilization of Philadelphia-negative peripheral blood stem cells. *Br J Haematol* 1997 ; 96 : 627-34.

29. Kuss BJ, Sage RE, Shepherd KM, Hardingham J, Nicola M. High dose hydroxyurea in collection of Philadelphia chromosome-negative stem cells in chronic myeloid leukaemia. *Leuk Lymphoma* 1993 ; 10 : 73-8.

30. Johnson RJ, Owen RG, Child JA, Morgan GJ, Barnard DL, *et al.* Mobilization of Philadelphia-negative peripheral blood mononuclear cells in chronic myeloid leukaemia using hydroxyurea and G-CSF (filgrastim). *Br J Haematol* 1996 ; 93 : 863-8.

31. Reiffers J, Taylor K, Gluckman E, Gorin N, Carella A, Desrée D. Ph negative blood progenitors can be successfully collected with lenogastrim in patients with chronic myeloid leukamia good responders to alpha-interferon. *Bone marrow Transplantation* 1996 ; 17 (suppl 1) : S4.

32. Taylor K, Rodwell R, Taylor D, Coulston J, Williams B, Moore D, Rentoul A, Kelly C, Morton J, Bunce I, Eliadis P, Marlton P, Mitchell S, Gautier L. Normal (RT-PCR negative) stem cells can be collected following lenogastrim therapy in chronic myeloid leukemia in major cytogenetic response on alfa-interferon. *Blood* 1995 ; 86 (suppl 1) : 992a.

33. Carreras E, Sierra J, Rovira M, Urbano-Ispizua A, Martinez C, Nomdedeu D, Cervantes F, Marin P, Rozman C, Montserrat E. Successful autografting in chronic myelogenous leukaemia using Philadelphia-negative blood progenitor cells mobilized with rHuG-CSF alone in a patient responding to alpha-interferon. *Brit J Haematol* 1997 ; 96 : 421-3.

34. Mahon FX, Pigeonnier-Lagarde V, Chahine H, Barbot C, Jazwiec B, Ripoche J, Reiffers J. *Ex vivo* cytokine expansion of peripheral blood 5-fluorouracil-treated $CD34^-$ positive chronic myeloid leukaemia cells increases the selection of Ph-negative cells. *Brit J Haematol* (sous presse).

35. Petzer AL, Eaves CJ, Barnett MJ, Eaves AC. Selective expansion of primitive normal hematopoietic cells in cytokine-supplemented cultures of purified cells from patients with chronic myeloid leukemia. *Blood* 1997 ; 90 : 64-9.

36. Choudhury A, Gajewski JL, Liang JC, Popat U, Claxton DF, Kliche KO, Andreef M, Champlin RE. Use of leukemic dendritic cells for the generation of antileukemic cellular cytotoxicity against Philadelphia-chromosome-positive chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1997 ; 89 : 1133-42.

37. Tiberghien P, Cahn J, Hervé P. Modulation de la réactivité allogénique après la greffe de cellules souches hématopoïétiques. *Med Sci* 1997 ; 13 : 312-22.

Ali G. Turhan

Maître de conférences des universités, Institut Gustave-Roussy, Laboratoire de transfert en thérapie cellulaire, Inserm U. 362, Pavillon de Recherche 1, 39, rue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex, France.

TIRÉS À PART

A.G. Turhan.