

Février 2014

Registre Français des neutropénies chroniques sévères

Rapport d'activité année 2013

**Registre français des neutropénies
chroniques
Service d'Hémo Oncologie
Pédiatrique
Hôpital Trousseau
26 avenue du Dr Netter 75012 Paris**

**Centre de référence des déficits
immunitaires héréditaires
www.ceredih.fr**

**Filière Maladies Rares Immuno
Hématologique MARIH**

Sommaire

1	RAPPELS SUR LE REGISTRE DES NEUTROPENIES CHRONIQUES	3
1.1	CRITERES D'INCLUSION ET D'EXCLUSION	3
1.2	LES OBJECTIFS GENERAUX DU REGISTRE:.....	3
1.3	LOCALISATION DU REGISTRE / AUTORISATION CNIL CCTIRS	6
1.4	EQUIPE ANIMANT LE REGISTRE	6
1.5	GROUPE DE PILOTAGE	6
1.6	VALIDATION DES CAS	7
1.7	ORGANISATION DU RECUEIL DES DONNEES – NOMBRES DE SOURCES -ETAT DES LIEUX EN 2013.....	7
2	RESULTATS.....	9
2.1	INCLUSION ET EXCLUSION	9
2.2	ETAT D'AVANCEMENT DU SUIVI DES CAS : PROPORTION DE PATIENTS SUIVIS AYANT AU MOINS 1 FICHE DE SUIVI RENSEIGNEE AVEC LE DELAI MEDIAN DE SUIVI ENTRE 2 ENREGISTREMENTS.....	10
2.3	REPARTITION DES CAS	10
2.4	PRINCIPAUX INDICATEURS SUIVIS PAR LE REGISTRE	14
2.4.1	<i>Transformations leucémiques.....</i>	<i>16</i>
2.5	TRAVAUX DE RECHERCHES EN COURS, PRINCIPAUX RESULTATS DE TRAVAUX ET PUBLICATIONS REALISEES A PARTIR DES DONNEES DU REGISTRE	17
2.5.1	<i>Travaux de recherche en cours</i>	<i>17</i>
2.5.2	<i>Publications en articles dans une revue à comité de lecture.....</i>	<i>18</i>
2.5.3	<i>Présentation à des congrès</i>	<i>26</i>
2.6	TRAVAUX DE SURVEILLANCE ET TRAVAUX DE SANTE PUBLIQUE	29
3	CONCLUSION.....	30

1 Rappels sur le registre des neutropénies chroniques

1.1 Critères d'inclusion et d'exclusion

Le registre des neutropénies, labéllisé en décembre 2008, a été renouvelé pour 4 ans en décembre 2011. Il enregistre les cas de neutropénies chroniques suivies en France.

Les critères d'inclusion dans le registre sont les suivants :

A Patient souffrant d'une neutropénie chronique sévère :

1 Neutropénie permanente :

* taux absolu de polynucléaires $< 500/\text{mm}^3$, mesuré à au moins trois reprises au cours des trois mois précédant l'étude

OU

* taux absolu de polynucléaires $< 1000/\text{mm}^3$, mesuré à au moins trois reprises au cours des trois mois précédant l'étude ET présence soit d'une infection sévère (septicémies- cellulites- pneumonie bactériennes ou mycotiques) soit d'un gingivo-stomatite chronique.

2 Neutropénie intermittente : après une période de surveillance d'au moins 6 semaines, le taux de neutrophiles doit être - sur au moins 3 hémogrammes - inférieur à $500/\text{mm}^3$.

B Myélogramme effectué et aspect cytologique compatible avec le diagnostic (selon l'avis du cytologiste référent du registre)

C Sujet âgé de plus de 3 mois

D Les patients porteurs de Glycogénose Ib, de maladie de Shwachman Diamond, de Syndrome de WHIM, sont tous inclus ET en général tous les patients porteurs d'une neutropénie assimilée à une neutropénie congénitale. + idiopathiques de l'adulte

E Consentement par le patient et/ou ses parents

Les critères d'exclusion sont les suivants : (applicable sauf Glycogénose Ib, maladie de Shwachman Diamond, Syndrome de WHIM, hyperlymphocytoses à grands grains LGL et toute entité génétiquement déterminée) :

toute neutropénie d'origine médicamenteuse

tout antécédent de chimiothérapie

Aplasie médullaire quelle que soit son étiologie (idiopathique, maladie de Fanconi...)

Anémie $< 8\text{gr}/\text{dl}$ ou thrombopénie $< 150\ 000/\text{mm}^3$ sauf anémie par carence martiale ou inflammatoire, sauf glycogénose Ib, maladie de Shwachman Diamond et toute pathologie considérée comme une neutropénie congénitale).

Pathologie maligne évolutive ou antécédent de pathologie maligne

Neutropénie liée à l'infection VIH

Syndrome d'activation macrophagique

Myélodysplasie inaugurale

1.2 Les objectifs généraux du registre:

Les objectifs généraux du registre sont :

* Détermination des facteurs de risque des transformations leucémiques chez les patients porteurs de neutropénies congénitales

* Surveillance de l'accès au diagnostic génétique et au diagnostic anténatal pour les maladies qui disposent d'un diagnostic génétique

* Surveillance de l'évolution du risque infectieux, de la prise en charge thérapeutique, des patients porteurs d'une neutropénie congénitale

Les objectifs du registre dans les domaines de la **thérapeutique** et de la **recherche**

- Pharmacovigilance du G-CSF : Rapport bénéfice – risque et recherche des approches thérapeutiques optimales.
- Evaluation de l'efficacité et de la tolérance des transplantations de moelle osseuse dans les neutropénies congénitales
- Classification des neutropénies congénitales
- Détermination de corrélation entre le phénotype et le génotype des patients.
- Recherche de nouveaux gènes impliqués dans les bases moléculaires de ces pathologies
- Modélisation mathématique de la granulopoïèse

Classification des neutropénies chroniques

On distingue schématiquement 2 groupes de neutropénies chroniques :

- A) les neutropénies congénitales qui sont des neutropénies secondaires à un événement constitutionnel. Dans un tel cas, plusieurs gènes sont impliqués et le tableau 1 fournit la liste des gènes décrit à ce jour.

Tableau 1: Maladie génétique monogénique comportant une neutropénie chronique - état en 2014

Sous type de neutropénies	Nom de la pathologie et référence	code OMIM	Anomalies hématologiques associées	Anomalies extra hématopoïétiques	Transmission	Localisation du gène	Gene (alias)	Fonction normale du gène
Neutropénie congénitale sans manifestations extra hématopoïétiques	Neutropénie congénitale sévère / Neutropénie cyclique	202700 162800	Neutropénie profonde et permanente OU intermittente voire cyclique (différence à préciser ?) Blocage de maturation si la neutropénie est permanente, autrement aspect variable dans le temps	Non	Dominant	19q13.3	<i>ELANE</i>	Activité Protease Antagonisme de l'alpha 1 antitrypsine
	Neutropénie congénitale sévère par mutation du récepteur au GCSF	202700	Neutropénie sévère et permanente Blocage de maturation Pas de réponse au GCSF	Non	Inconnu	1p35-p34.3	<i>CSF3R</i>	Récepteur transmembranaire Signalisation intra cellulaire
Neutropénie congénitale avec autres atteintes de l'immunité innée	Neutropénie congénitale sévère	202700	Neutropénie profonde et permanente Parfois blocage de maturation	Surdité (dans le modèle de souris) Lymphopénie	Dominant	1p22	<i>GFI1</i>	Transcription factor Regulation of oncoprotein
	Neutropénie congénitale sévère	301000	Neutropénie profonde et permanente Blocage de maturation	Monocytopénie	X Linked	Xp11.4-p11.21	<i>WAS</i>	Cytoskeleton homeostasis
	WHIM	193670	Neutropénie profonde Pas de blocage de maturation Myelokathexis	Lymphopénie Monocytopénie Tétralogie de Fallot	Dominant	2q21	<i>CXCR4</i>	Récepteur d'une chémokine (CXCL12)
	STK4 / MTS1		Neutropénie modérée	Lymphopénie Verrues	Dominant	20q11.2-q13.2	<i>STK4</i>	Serine/threonine-protein kinase 4
	GATA2		Neutropénie modérée Dysgranulopoïese	Monocytopénie Macrocytose Verrues Lymphoedème Surdités	Recessive T'ES SUR???	3q21.3	<i>GATA2</i>	Régulation de la transcription
Neutropénie congénitale avec manifestations extra hématopoïétiques	Maladie de Kostmann	202700	Blocage de maturation	Atteinte du système nerveux Epilepsies et retard mental dans 2 ^{ème} décade si isoforme B	Récessive	1q21.3	<i>HAX1</i>	Anti-apoptotic protein located in mitochondria and in the cytosol
	Maladie de Shwachman-Bodian-Diamond	260400	Neutropénie modérée Dysgranulopoïese et dysmegacacypopoïese	Pancréas: Déficit pancréas exocrine Os: dysplasie metaphysaire System nerveux central: retard mental Coeur: cardiomyopathie Co arctation de l'aorte	Récessive	7q11.22	<i>SDBS</i>	Protéine ribosomale Régulation de la traduction
	Severe congenital neutropenia	202700	Blocage de maturation mais parfois aspect normal voire myelokatexis	Peau: réseau veineux superficiel visible Coeur: défaut atrial : CIA Uropathie malformative	Recessive	17q21	<i>G6PC3</i>	Glucose 6 –phosphatase complex: Catalytic unit
	Maladie de Barth	302060	Pas de blocage de maturation	Cardiomyopathie dilatée	X Linked	Xq28	<i>TAZ (G4.5)</i>	Tafazzin: Phospholipid membrane homeostasis
	Syndrome d'Hermansky- Pudlak type 2	608233	Pas de blocage de maturation	Peau Albinisme Thrombopénie	Récessive	5q14.1	<i>AP3B1</i>	Cargo protein / ER trafficking with <i>ELANE</i> interaction
	Neutropenia with AP14 mutation		Pas de blocage de maturation	Peau: Albinisme	Récessive	1q21	<i>AP14</i>	Lysosome packaging
	Poikilodermie type clericuzio	604173	Pas de blocage de maturation Dysgranulopoïese	Peau: poikilodermie	Récessive	16q13	<i>16ORF57</i>	
	Glycogénose type Ib	232220	Pas de blocage de maturation	Hypoglycémie, intolérance au jeûne surcharge en glycogène du foie	Récessive	11q23.3	<i>SLC37A4</i>	Glucose 6 –phosphatase complex: Trans ER Transporter
	Maladie de Cohen	216550	Pas de blocage de maturation	Retard psychomoteur, microcéphalie Dysmorphie faciale, hyper laxité rétinite pigmentaire	Récessive	8q22-q23	<i>VPS13B</i>	Sorting and transporting proteins in the ER
	Neutropénie congénitale sévère		blocage de maturation / myélofibrose	Neutropenie néphromegalie Hepato splenomegalie atteinte neurologique	Récessive	1q21.2	<i>VPS45</i>	Vesicle mediated protein sorting plays an important role in segregation of intracellular molecules into distinct organelles
	Neutropénie congénitale sévère		Variable. Pas de blocage de maturation	Anomalies osseuses	Récessive		<i>Jagunal 1</i>	RE protein
Maladies non usuellement assimilées à une neutropénie congénitale	Déficit en IRAK4	606883	Neutropénie modérée, mais infections bactériennes sévères Pas d'anomalie de maturation	Non	Récessive	12q12	<i>IRAK4</i>	Mediators of Toll-like receptor signal transduction
	Maladie de Charcot Marie Tooth type 2	602378	Pas d'anomalie de maturation	Neuropathie axonale type Charcot Marie Tooth Cataracte congénitale	Dominant	19p13.2-p12	<i>DNM2</i>	GTPases Regulation of the actin cytoskeleton
	Cartilage-hair hypoplasia	250250	Pas d'anomalie de maturation	Nanisme Dysplasie métaphysaire Cheveux anormaux Lymphopénie Mégacolon	Récessive	9p21-p12	<i>RMRP</i>	Endoribonuclease

- B) les neutropénies chroniques de l'adulte qui sont des événements acquis - 2 diagnostics correspondent à cette entité : la neutropénie idiopathique et la neutropénie secondaire à un clone LGL

1.3 Localisation du registre / autorisation CNIL CCTIRS

Le stockage de l'ensemble des dossiers des patients et le traitement informatique du registre sont effectués au sein du Service d'Hémo Oncologie Pédiatrique de l'Hôpital Trousseau, 26 avenue du Dr Netter 75012 Paris. Le numéro d'accord du CCTIRS est 97-075 et le numéro CNIL est 001-1084. La base de données est une base de données ACCESS 2003.

1.4 Equipe animant le registre

Coordination : J Donadieu

Attachée de Recherche Clinique : B Beaupain

1.5 Groupe de pilotage

	Adresse	E mail
Bachelerie Françoise	INSERM UMR-S 996 32 rue des Carnets, 92140 Clamart, France Tel: 331 4128 8005; Fax: 33146327993	francoise.bachelerie@u-psud.fr
Beaupain Blandine	Service d'hémo Oncologie pédiatrique Hôpital Trousseau 26 avenue du Dr Netter 75012 Paris tel 01 44 73 65 64 fax 01 44 73 65 73	bbeaupain@free.fr blandine.beaupain@trs.aphp.fr
Bellanné Chantelot Christine	Centre de génétique moléculaire et chromosomique Hôpital Pitié-Salpêtrière bât 6 rue Lapeyronie 47-83 bd de l'hôpital 75651 Paris cedex 13 tel : 01 42 17 76 52 fax : 01 42 17 76 18	christine.bellanne-chantelot@psl.aphp.fr
Donadieu Jean	Service d'hémo Oncologie pédiatrique Hôpital Trousseau 26 avenue du Dr Netter 75012 Paris tel 01 44 73 60 62 Fax 01 44 73 65 73	donadieu.genc@wanadoo.fr jean.donadieu@trs.aphp.fr
Fenneteau Odile	Hôpital R Debré Boulevard Sérurier 75019 Paris	odile.fenneteau@rdb.aphp.fr
Lamy Thierry	Service d'Hématologie Clinique Hôpital Pontchaillou 35033 CHU de Rennes tel: 02 99 28 42 92/1 Fax: 02 99 28 41 61	thierry.lamy@univ-rennes1.fr
Malhaoui Nizar	Unité d'Immuno Hématologie Pédiatrique / CEREDIH Hôpital Necker 75015 Paris Tel 01 44 49 48 69	nizar.malhaoui@nck.ap.hp.fr

1.6 Validation des cas

La validation des cas repose d'abord sur une lecture du dossier médical (dossier source) et de la cohérence des données sources vis-à-vis des critères d'inclusion et d'exclusion. En cas de discordance avec les critères d'inclusion, et après recueil d'éventuel éléments manquants, il est tenu compte du résultat de l'étude génétique, et des résultats d'une relecture du myélogramme auprès du docteur Odile Fenneteau, cytologiste à l'hôpital R Debré, Paris. Si les données ne sont pas concordantes ou conclusives, le diagnostic formel n'est pas porté et reste en attente, mais le patient reste suivi lors des monitorings ultérieurs, jusqu'à ce qu'une conclusion soit possible.

1.7 Organisation du recueil des données – Nombres de sources -état des lieux en 2013

En 2013, il n'y a pas eu de changement dans l'organisation du registre, dans les pathologies couvertes par le registre, ni dans la nosologie des neutropénies congénitales qui s'est néanmoins enrichie par la détermination de plusieurs nouveaux gènes responsables des neutropénies comme *VPS45* et *Jagunal1*.

Les sources du registre sont :

- 1) le réseau de soins hémato immunologiques pédiatriques (41, centres) – qui reste consulté annuellement
- 2) l'ensemble des services de pédiatrie spécialisés ou de pédiatrie générale. Cette année, dans cette catégorie, les services prenant en charges les patients avec maladies de Barth, avec maladie de Cohen et le centre de référence des glycogénoses ont été consultés.
- 3) Le laboratoire de génétique de la Pitié Salpêtrière qui effectue l'étude moléculaire de 7 gènes – *ELANE*, *HAX1*, *G6PC3*, *SBDS*, *CXCR4*, *GATA2* et *JAGN1* tandis que le laboratoire de génétique du CHU de Dijon (Pr Faivre) est consulté pour le syndrome de Cohen et le syndrome de Clericuzio et que le laboratoire de génétique de l'hôpital Necker (Dr Lebre) est consulté pour l'étude du gène de la *tafazin* et de *COX412*. Enfin l'étude du gène *GATA2* a été réalisé également dans le laboratoire d'hématologie du CHU de Toulouse (Dr E Delabesse) .
- 4) Les centres d'hématologie adulte pour le suivi des neutropénies congénitales et les neutropénies acquises de l'adulte)

Ces sources d'information sont difficilement considérées comme indépendantes, car la réalisation systématique d'un examen génétique et un suivi multidisciplinaire sont recommandés. Ainsi, à l'exception de moins de 100 patients sur 756 tous les patients sont identifiés par au moins 2 sources. Nous notons que nous ne pouvons nous appuyer sur une source d'information extérieure – par exemple le PMSI – car les neutropénies chroniques ne sont pas reconnues d'une façon spécifique par la classification CIM 10. A ce jour la classification CIM 10 identifie la neutropénie par 3 codes : D70) Agranulocytose ; D71) Anomalies fonctionnelles des granulocytes neutrophiles D72) Autres anomalies des leucocytes dont D72.0) Anomalies génétiques des leucocytes D72.8) Autres anomalies précisées des leucocytes D72.9) Anomalie des leucocytes, sans précision. Ces codes sont à la fois utilisés pour les neutropénies induites par une chimiothérapie, tandis qu'à l'inverse, les patients ayant une neutropénie chronique sont rarement hospitalisés pour une neutropénie. On remarquera que les codes proposés par ORPHANET n'apparaissent pas toujours très pertinents et ne couvrent pas les diagnostics génétiques des neutropénies congénitales et des neutropénies chroniques.

Code orphanet	Désignation orphanet	CIM10	
2690	Neutropénie - monocytopenie - surdité	D70	oui, si <i>GATA2</i> (mais la surdité n'est présente que dans 5% des <i>GATA2</i>)
42738	Neutropénie congénitale sévère	ou D72.8	oui, terme générique
486	Neutropénie congénitale sévère autosomique dominante	Ou D72.9	Oui si <i>ELANE</i> sinon cela est flou WHIM <i>GATA2</i> sont dominants..
2686	Neutropénie cyclique		terme générique
2688	Neutropénie idiopathique de l'adulte		oui
86788	Neutropénie sévère congénitale liée à l'X		Le code orphanet n'est pas précis. On suppose que c'est la neutropénie <i>WASP</i>
2739	Onycho-tricho-dysplasie - neutropénie		Il n'est pas sur que cette entité existe
811	Syndrome de Shwachman-Diamond		oui
99749	Syndrome de Kostmann		oui si mutation <i>HAX 1</i> sinon le terme approprié est neutropénie congénitale sévère
221046	poiklodermie avec neutropenie		oui si syndrome de clercuzio
183678	Syndrome d'hermanksy pudlak avec neutropenie		oui
111	syndrome de barth		oui
51636	syndrome de WHIM		oui
193	syndrome de Cohen		oui
	Neutropénie auto immune		Non codé dans orphanet
	Neutropénie chronique bénigne		Non codé dans orphanet

2 Résultats

2.1 Inclusion et Exclusion

Mille neuf cent vingt deux (+ 322 par rapport à 2012) ont été signalés au registre et 1165 ne sont pas inclus dans l'analyse et **seul 756 patients sont analysés**.

Le tableau 2 fournit les motifs d'exclusion de l'étude de ces patients. La très grande proportion d'exclusion s'explique par l'absence de confirmation diagnostique. Le diagnostic étiologique d'une neutropénie chronique rend nécessaire la réalisation d'un nombre minimal d'examen et l'obtention d'un délai minimal de surveillance. Si des examens ne sont pas réalisés, ou si le suivi après la découverte de la neutropénie est trop court, en particulier pour des formes de sévérité clinique modérée, le diagnostic étiologique peut rester « non fait » pendant plusieurs mois, voire années. Au delà d'un délai de 3 ans, le diagnostic est parfois corrigé, car la neutropénie soit n'est pas confirmée, soit est attribuée à une cause qui n'est pas prise en compte dans le registre. Cette difficulté explique le grand nombre (n=404) de patients sans conclusion diagnostique lors de cette analyse, *mais qui sont suivis par le registre*. Les autres causes d'exclusion sont plus 'attendues' et correspondent aux critères d'exclusion du registre. Nous avons exclus cette année le diagnostic de charcot marie tooth, car cette entité, comporte certes une neutropénie chronique, mais non symptomatique, tandis que la pathologie est principalement musculaire.

Tableau 1 : Exclusion des cas

Motif d'exclusion	N
Pas de diagnostic définitif – ceci correspond à d'authentiques patients neutropéniques, mais sans que le diagnostic nosologique soit porté et de ce fait peut correspondre soit à des neutropénies auto immunes, ethniques, transitoires, soit à d'authentiques neutropénies congénitales. Ces patients sont en instance de classement.	404
Neutropénie chronique sévère mais résidant à l'étranger	167
Information insuffisante - pas de suivi	34
Diagnostic non pris en compte par le registre (22 Q11, Syndrome néphrotique finnois avec neutropénie par carence en cuivre mais aussi aplasie médullaire...)	276
Auto Immune ou allo Immune	256
Déficit immunitaire humoral ou cellulaire	29
TOTAL	1165

2.2 Etat d'avancement du suivi des cas : proportion de patients suivis ayant au moins 1 fiche de suivi renseignée avec le délai médian de suivi entre 2 enregistrements

Le délai médian entre 2 visites est de 0.9 ans et le nombre médian de visites par patients est de 5.

Le poids de la cohorte tient à la fois au nombre de cas et à la durée médiane de suivi qui est de 12.8 ans pour les neutropénies congénitales et de 7 ans pour les neutropénies acquises de l'adulte.

2.3 Répartition des cas

2.3.1.1 par sous type étiologique

Le tableau 1 montre le nombre de cas cumulé enregistrés depuis l'année 2004, par sous type diagnostic.

Il existe une progression régulière du nombre de cas, qui tient d'abord à l'inclusion de nouveaux diagnostics, liés à de nouvelles naissances. La distribution des cas par diagnostic étiologique évolue en fonction de la découverte de nouveaux gènes, car c'est la classification génétique qui prime.

Tableau 1 : Recrutement – évolution par année avant la qualification et depuis.

Diagnosics	2004	12/2008	12/2009	1/2011	1/2012	1/2013	15/2/2014
Neutropénie congénitale	101	171	185	195	241	307	598
Non classé ou divers				146	158	168	186
SCN ELANE				49	53	69	73
cyclique ELANE				41	44	51	50***
G6PC3				1	8	12	13
Cohen COH 1				8	11	26	20*
Clericuzio / C16orf57				3	3	4	7
Syndr Stohl Lutz				5	(= G6PC3)		
WASP					1	1	1
GATA2					8	17	15**
Jagunal 1							8
Neutropénie cyclique	60	82	83	83	88	92	80***
WHIM	0	10	11	7*	8	10	10
Glycogénose de type Ib	15	17	39	30*	30	30	31
Shwachman-Diamond	55	99	105	105	116	124	124
Maladies ciliaires et Neutropénies				1	1	1	Voir divers
Ins pancréatique Dysérythroïèse				2	(exclus)		
Maladie Charcot Marie Tooth Dynamine2						1	exclus
Déficit en prolidase						1	Voir divers
Ins pancréatique dystonie				3	3	3	Voir divers
STK4							Voir divers
Barth			1	14	14	23	25
Neutropénie acquise	65	74	79	82	87	92	198
Neutropénie Idiopathique	37	38	43	45	50	59	120
Neutropénie avec LGL	28	36	36	37	37	33	38
Total	296	453	503	540	590	688	756
Personne-années	7195	9121	9748	10904	12176	13665	16261

* après exclusion des patients sans données de suivi ** après exclusion des 3 patients étrangers comptés en 2012 *** 12 cycliques non elane ont été reclassées comme intermittente et 1 cyclique elane, de nationalité étrangère a été exclue

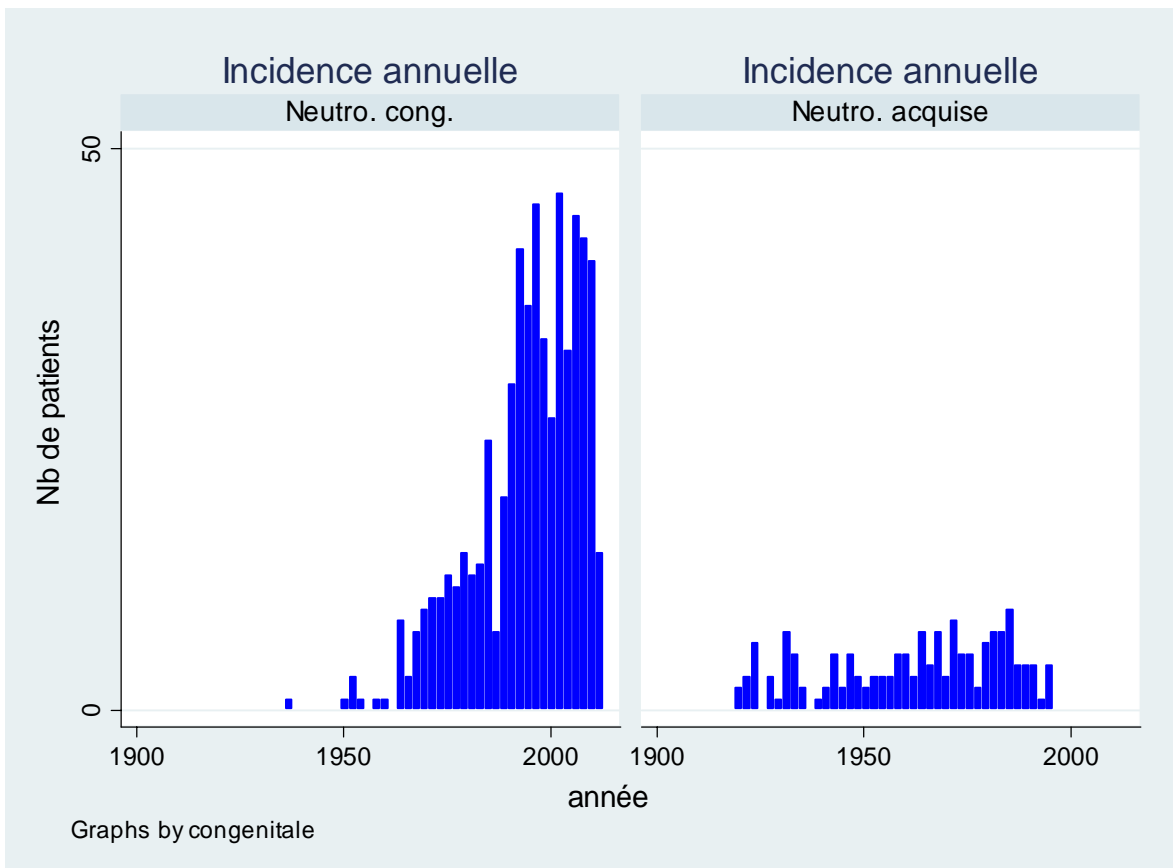
Des efforts sont portés, année après année, sur certaines pathologies afin de mieux les décrire (en 2013, syndrome de Barth et neutropénie HAX1, et permettent d'approfondir les phénotypes et de faire une recherche particulière auprès de réseaux de soins non directement impliqués auparavant.

2.3.1.2 par année de naissance

Le registre enregistrant des événements de santé par nature congénitale, la date du diagnostic est ici considérée comme étant l'année de naissance Nous fournissons ainsi la figure 1 A (neutropénie congénitale) et 1 B (neutropénie idiopathique de l'adulte et LGL) qui rapportent le nombre de cas par année de naissance.

Figure 1A

1B



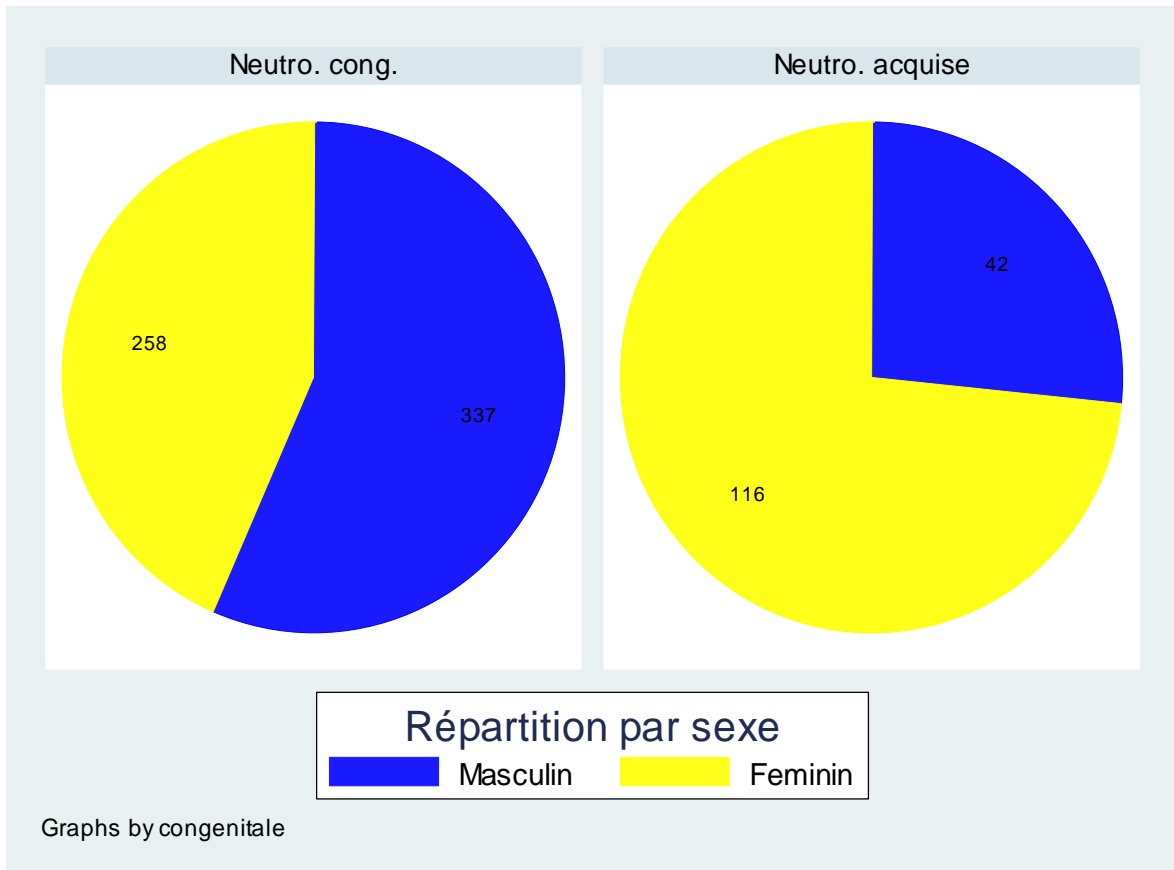
2.3.1.3 par sexe

Le sex ratio, toutes causes confondues est rapporté dans la figure 2A (neutropénies congénitales) et 2 B (neutropénies acquises). Il existe une prédominance masculine pour les neutropénies congénitales, en

partie explicable par le caractère lié à l'X de 2 pathologies (maladie de Barth et neutropénie WASP) tandis qu'il existe une très nette prédominance féminine pour les neutropénies acquises de l'adulte.

Figure 2A

2B



2.3.1.4 Répartition par région

La répartition par région du lieu d'habitation est fournie dans le tableau 3 suivant et porte uniquement sur les neutropénies congénitales, avec 39 données manquantes. Il s'agit ici d'une représentation très schématique, qui ne tient pas compte des âges des patients et des sous types diagnostiques.

Régions	Nb de cas		Prévalence sur l'ensemble de la population
	Population Totale		
Alsace	1 857 477	21	11,3
Aquitaine	3 286 605	19	5,8
Auvergne	1 352 619	9	6,7
Basse-Normandie	1 480 171	10	6,8
Bourgogne	1 646 600	20	12,1
Bretagne	3 249 815	28	8,6
Centre	2 562 227	26	10,1
Champagne-Ardenne	1 333 163	8	6,0
Corse	316 578	1	3,2
Franche-Comté	1 179 374	11	9,3
Haute-Normandie	1 850 685	10	5,4
Île-de-France	11 914 812	167	14,0
Languedoc-Roussillon	2 686 054	15	5,6
Limousin	746 230	3	4,0
Lorraine	2 356 585	30	12,7
Midi-Pyrénées	2 929 285	13	4,4
Nord - Pas-de-Calais	4 049 685	27	6,7
Pays de la Loire	3 630 139	34	9,4
Picardie	1 924 607	18	9,4
Poitou-Charentes	1 789 711	16	8,9
Provence-Alpes-Côte d'Azur	4 924 439	41	8,3
Rhône-Alpes	6 342 330	39	6,1
France métropolitaine	63 409 191	566	8,9

2.4 Principaux indicateurs suivis par le registre

L'objectif premier du registre est la pharmacovigilance et l'étude de plusieurs indicateurs majeurs de l'état de santé des patients porteurs de neutropénie chroniques et congénitales.

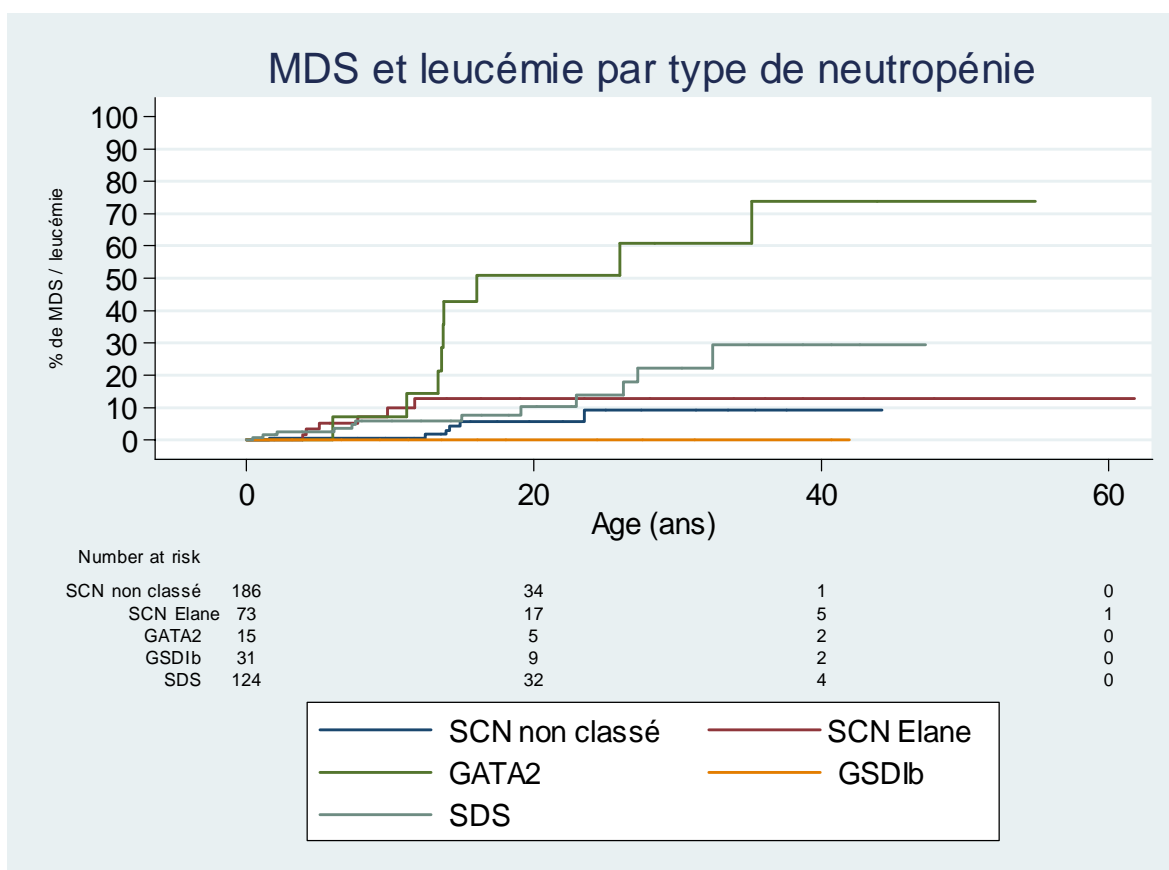
Parmi les indicateurs étudiés, outre le recours au GCSF, nous présentons plusieurs indicateurs qui témoignent d'un impact très important sur la santé des personnes concernées : présence d'une comorbidité (cardiopathie malformative ou cardiomyopathie / insuffisance pancréatique/ retard de développement intellectuel ou psychose/ atteinte cutanée type poïkilodermie), transplantation médullaires ou d'organe, leucémies secondaires, aplasie médullaires, cancer avant 60 ans.

Tableau 4 :

Diagnosics	Nb de cas	Comorbidité	Nb de greffes de moelle	Nb de transplantations d'organes	Nombre de transformations leucémiques	Nombre d'aplasie médullaire	Cancer avant 60 ans	Nb de Décès (dont infection)	Nb de patients sous GCSF	Dose moyenne / Dose cumulé de GCSF en µg/kg
Neutropénie congénitale	598	284	38	3	34	13	9	66	262	
Non classé	172	43	8	0	6	0	1	14	76	7.8 / 2178
ELANE SCN	73	4	10	0	6	0	0	4	55	10.7 /11144
ELANE Cyclique	49	5	0		0	0	2	2	37	5.7 / 2524
HAX1	4	2	1	0	0	0	0	0	2	10.8 /3925
G6PC3	13	13	1	0	1	0	0	3	8	6.27/4540
Cohen COH 1	20	20	0	0	0	0	0	0	2	6.25 /231
Clericuzio / C16orf57	7	7	0	0	0	0	0	0	0	0/0
WASP	1	0	0	0	0	0	0	0	1	5 /144
Jagunal 1	8	2	0	0	0	0	0	1	6	11/3445
GATA2	15	3	6	0	9	0	1	4	3	4.5 /96
Cyclique non Elane	31	3	0	0	0	0	0	0	10	5.1 /544
WHIM	10	2	0	0	0	0	3	2	5	5/1037
Glycogénose de type Ib	31	31	0	1 (foie)	0	0	1	5	24	5.1 /6292
Shwachman-Diamond	124	124	12	0	12	13	1	18	27	5.3 /396
Barth	25	25	0	2 (coeur)	0	0	0	13	5	4.7 / 511
Neutropénie Acquise	158	9	0	0	1	0	1	5	61	
Neutropénie Idiopathique	120	6	0	0	0	0	0	0	53	5 /150
Neutropénie avec LGL	33	3	0	0	1	0	1	5	8	4.8/232
Total	753	293	38	3	35	13	9	71	323	

2.4.1 Transformations leucémiques

La transformation leucémique chez les patients porteurs de neutropénie congénitale peut être considérée comme une conséquence de plusieurs facteurs. Le rôle favorisant du G-CSF (utilisé couramment en traitement de la neutropénie) est basé sur plusieurs observations: le G-CSF induit diverses mutations cryptiques, qui sont transitoires et immédiatement secondaire à son administration (le G-CSF a donc un effet mutagène), et le G-CSF favorise spécifiquement les clones malins porteurs de monosomie 7 dans des modèles de culture de moelle osseuse (le G-CSF a donc un effet promoteur). Ainsi, parce que G-CSF peut favoriser la transformation leucémique, les patients nécessitant une forte dose de G-CSF - pour prévenir les infections - sont candidats à la transplantation de cellules souches hématopoïétiques. Mais le G-CSF n'est pas suffisant pour expliquer le risque élevé de leucémie observée chez les patients avec neutropénie congénitale. Ainsi, les patients porteurs de mutations SBDS ou GATA2 ne sont généralement pas traités par G-CSF (ou dans une faible proportion), tout en présentant une très forte incidence de leucémie / myélodysplasie. Les gènes impliqués dans la neutropénie congénitale n'étant pas considérés comme des oncogènes, il est vraisemblable que la neutropénie elle-même et ses conséquences sur la myélopoïèse, favorisent l'apparition d'événements



moléculaires, certains de ces événements conduisant à l'apparition de clones myéloïdes, clones pouvant être particulièrement sensibles au G-CSF et aboutir à une transformation leucémique.

Nous n'analyserons pas en détail l'impact du GCSF dans ce rapport mais nous rappelons que dans la publication du registre de 2005, cet effet a été démontré et confirmé en 2006 par les travaux du registre international.

Depuis cette date, nous avons fait des efforts particuliers pour étudier l'apparition des transformations leucémiques dans les catégories diagnostiques peu exposées au GCSF et ceci aboutit au travaux concernant la maladie de Shwachman et au travail sur les mutations GATA2, 2 groupes génétiques ayant les plus forts taux de transformations leucémiques.

Dans le même temps, pour les patients dépendant de hautes doses de GCSF, il a été proposé de faire, dans un délai assez rapide et avant la transformation leucémique, une transplantation médullaire.

L'effet de ces recommandations peut se mesurer sur la catégorie des patients avec mutations ELANE. Depuis 2005, toutes les indications de transplantations de moelle (n=6) ont été faites en situation 'pré-emptives' et dans ce groupe de patients, il n'a pas été observé de transformation leucémique.

La situation dans les autres groupes de neutropénies (SDS et GATA2) n'est pas aussi bien définie, car il n'existe pas de marqueurs précoces de transformation, même indirect, et le nombre de leucémie reste très important. Cependant, une perspective est ouverte par une étude à laquelle le registre a participé, en lien avec l'équipe allemande, montrant la possibilité de disposer de marqueurs moléculaires comme RUNX1 et ASLX1. Pour cette étude, un travail est en cours et impliquera l'équipe du registre.

2.5 Travaux de recherches en cours, principaux résultats de travaux et publications réalisées à partir des données du registre

2.5.1 Travaux de recherche en cours

2.5.1.1 Le projet NEUTRO NET

Le registre français est associé à l'équipe de Hanovre (Pr Klein) dans le cadre du projet e rare NEUTRONET dont le début date d'avril 2010.

Ce projet vise à rechercher des nouveaux gènes impliqués dans les neutropénies congénitales et à produire des connaissances nouvelles sur la physiopathologie des neutropénies dans la perspective d'avancer vers de nouvelles thérapeutiques.

A ce jour, un nouveau gène des neutropénies congénitales a été trouvé et est en cours de publication. Ce travail concerne le gène dénommé JAGUNAL 1 et a été présenté en session orale à l'american society of Hematology.

2.5.1.2 Le projet WHIM thernet

Ce projet associe l'équipe de F Bachelierie (INSERM UMR-S 996), l'équipe de R Badolato, Brescia, Italie, l'équipe de JL Galzi (UMR 7242, Biotechnologie et Signalisation Cellulaire, Ecole Supérieure de Biotechnologie, Illkirch), l'équipe de Jan Munch (Institute of Molecular Virology, Ulm) et le registre français.

Le résumé de cette étude, subventionnée dans le cadre des projets E rare est le suivant:

"The chemokine/chemokine receptor CXCL12/CXCR4 axis is essential during embryonic life and regulates leukocyte homeostasis through the control of homing/retention/egress between lymphoid organs such as the bone marrow (BM), thymus, spleen and lymph nodes and periphery. Dysfunctions of

the CXCL12/X4 axis were found to be responsible for an unusual form of neutropenia associated with hyperplasia of mature neutrophils in the BM (myelokathexis) and reported as the WHIM syndrome (WS). Beside, WS derives its acronym from the manifestations of warts due to Human PapillomaVirus infections, hypogammaglobulinemia, and bacterial infections, but the clinical presentation of patients is heterogeneous as well as the severity and onset of the disease. WS is also genetically heterogeneous. For many patients, dysfunctions of the CXCL12/X4 axis are linked to inherited heterozygous autosomal dominant mutations in the X4 locus and for the others, who are carrying a wild type X4, the underlying genetic defects remain unknown. Management of WS is prophylactic, and none of the treatments are fitted to the diagnostic, efficient and safe on the long run, and specifically target CXCL12/X4 axis although there is strong support for the responsibility of dysfunctions of this axis in WS pathogenesis. The goal of this project is to shed light on the pathophysiological role of CXCL12/X4 dysfunctions, to identify key markers of the disease, to improve patients' access to diagnosis and treatment, and to provide the bases for therapies. This will be achieved by means of transeuropean network between clinicians and scientists including established patient-registries to gather a critical mass of patients for studies and treatment. Comprehensive investigations of candidate drug and the beneficial therapeutic effect of their chronic use will be developed following three axes. A mouse model of the WS will permit to evaluate the efficiency/safety of the chronic administration of new and known antagonists of the CXCL12 axis. This includes the CXCL12/X4 antagonist Mozobil® patented for its acute use in clinic for mobilization of BM stem cells. We plan to enroll the European WS cohort for a phase I clinical trial based on acute administration of Mozobil® (coll. Genzyme). An innovative feature of WHIM-Thernet is the characterization and optimization of antagonists of the CXCL12 axis based on the development of recently discovered-anti-chemokine drug and -endogenous X4 antagonists. Functional studies will be performed in relevant in vitro and in vivo model systems.”

Dans le cadre de cette étude, un projet d'essai thérapeutique concernant l'utilisation d'un inhibiteur de CXCR4 est en cours de mise en place, en lien avec le NIH (D Mc Dermott/ P Murphy).

2.5.1.3 PHRC Syndrome de cohen et cohen-like

Ce PHRC a été accepté fin 2012 (équipe Pr L Faivre, CHU Dijon) et vise à étudier les patients porteurs d'un syndrome de Cohen et Cohen Like, associant une atteinte neurologique et une neutropénie.

Le registre contribue au recrutement des cas et a été associé à une publication cette année de l'équipe coordinatrice du PHRC.

2.5.2 Publications en articles dans une revue à comité de lecture

Entre le début mars 2013 et le 28 février 2014, le registre a contribué à 5 publications [Tidwell et al., 2014; Skokowa et al., 2014; Roques et al., 2014; Rigaud et al., 2013; Duplomb et al., 2014] dans des revues anglo saxone à comité de lecture.

La première page de ces publications est jointe ci dessous.

Duplomb L, Duvet S, Picot D, Jego G, El Chehadeh-Djebbar S, Marle N, Gigot N, Aral B, Carmignac V, Thevenon J, Lopez E, Riviere JB, Klein A, Philippe C, Droin N, Blair E, Girodon F, Donadiou J, Bellanne-Chantelot C, Delva L, Michalski JC, Solary E, Faivre L, Foulquier F, Thauvin-Robinet C (2014) Cohen syndrome is associated with major glycosylation defects. *Hum Mol Genet*

Rigaud C, Lebre AS, Touraine R, Beaupain B, Ottolenghi C, Chabli A, Ansquer H, Ozsahin H, Di FS, De LP, Borm B, Rivier F, Vaillant MC, Mathieu-Dramard M, Goldenberg A, Viot G, Charron P, Rio M, Bonnet D, Donadiou J (2013) Natural history of Barth syndrome: a national cohort study of 22 patients. *Orphanet J Rare Dis* **8**: 70

Roques G, Munzer M, Barthez MA, Beaufils S, Beaupain B, Flood T, Keren B, Bellanne-Chantelot C, Donadieu J (2014) Neurological findings and genetic alterations in patients with Kostmann syndrome and HAX1 mutations. *Pediatr Blood Cancer online*

Skokowa J, Steinemann D, Katsman-Kuipers JE, Zeidler C, Klimenkova O, Klimiankou M, Unalan M, Kandabarau S, Makaryan V, Beekman R, Behrens K, Stocking C, Obenauer J, Schnittger S, Kohlmann A, Valkhof MG, Hoogenboezem R, Gohring G, Reinhardt D, Schlegelberger B, Stanulla M, Vandenberghe P, Donadieu J, Zwaan CM, Touw IP, van den Heuvel-Eibrink MM, Dale DC, Welte K (2014) Cooperativity of RUNX1 and CSF3R mutations in the development of leukemia in severe congenital neutropenia: a unique pathway in myeloid leukemogenesis. *Blood*

Tidwell T, Wechsler J, Nayak RC, Trump L, Salipante SJ, Cheng JC, Donadieu J, Glaubach T, Corey SJ, Grimes HL, Lutzko C, Cancelas JA, Horwitz MS (2014) Neutropenia-associated ELANE mutations disrupting translation initiation produce novel neutrophil elastase isoforms. *Blood* **123**: 562-569

Dans la même période, 2 articles de revue générale ont été publiés dans des revues françaises:

J Donadieu Infections et immunité, nouveaux concepts: diagnostic et prise en charge devant une neutropénie **La Revue de médecine interne** (Paris) A. 2013, vol. 34, HS, [A24-A29]

J Donadieu Les neutropénies chroniques de l'adulte: diagnostic et prise en charge **Médecine thérapeutique**, 2013 ; 19 (4) : 265-73

RESEARCH

Open Access

Natural history of Barth syndrome: a national cohort study of 22 patients

Charlotte Rigaud^{1*}, Anne-Sophie Lebre², Renaud Touraine³, Blandine Beaupain¹, Chris Ottolenghi⁴, Allel Chabli⁴, Helene Ansquer⁵, Hulya Ozsahin⁶, Sylvie Di Filippo⁷, Pascale De Lonlay⁸, Betina Borm⁹, Francois Rivier¹⁰, Marie-Catherine Vaillant¹¹, Michèle Mathieu-Dramard¹², Alice Goldenberg¹³, Géraldine Viot¹⁴, Philippe Charron¹⁵, Marlene Rio², Damien Bonnet^{16†} and Jean Donadieu^{1*†}

Abstract

Background: This study describes the natural history of Barth syndrome (BTHS).

Methods: The medical records of all patients with BTHS living in France were identified in multiple sources and reviewed.

Results: We identified 16 BTHS pedigrees that included 22 patients. *TAZ* mutations were observed in 15 pedigrees. The estimated incidence of BTHS was 1.5 cases per million births (95%CI: 0.2–2.3). The median age at presentation was 3.1 weeks (range, 0–1.4 years), and the median age at last follow-up was 4.75 years (range, 3–15 years). Eleven patients died at a median age of 5.1 months; 9 deaths were related to cardiomyopathy and 2 to sepsis. The 5-year survival rate was 51%, and no deaths were observed in patients ≥ 3 years. Fourteen patients presented with cardiomyopathy, and cardiomyopathy was documented in 20 during follow-up. Left ventricular systolic function was very poor during the first year of life and tended to normalize over time. Nineteen patients had neutropenia. Metabolic investigations revealed inconstant moderate 3-methylglutaconic aciduria and plasma arginine levels that were reduced or in the low-normal range. Survival correlated with two prognostic factors: severe neutropenia at diagnosis ($<0.5 \times 10^9/L$) and birth year. Specifically, the survival rate was 70% for patients born after 2000 and 20% for those born before 2000.

Conclusions: This survey found that BTHS outcome was affected by cardiac events and by a risk of infection that was related to neutropenia. Modern management of heart failure and prevention of infection in infancy may improve the survival of patients with BTHS without the need for heart transplantation.

Keywords: Barth syndrome, Cardiomyopathy, Neutropenia, *TAZ* gene, Cohort

Neurological Findings and Genetic Alterations in Patients with Kostmann Syndrome and *HAX1* Mutations

Gaëlle Roques, MD,^{1,2} Martine Munzer, MD,² Marie-Anne Carpentier Barthez, MD,³ Sandrine Beaufils, MD,⁴
Blandine Beaupain, MS,¹ Terry Flood, MD,⁵ Boris Keren, MD, PhD,⁴
Christine Bellanné-Chantelot, MD, PhD,⁴ and Jean Donadieu, MD, PhD^{1*}

Objectives. To describe the clinical profile and the prevalence of severe congenital neutropenia (SCN) and *HAX1* mutations, so-called Kostmann syndrome, in France. **Study Design.** Two pedigrees were identified from the French registry. **Results.** The study included five subjects (three males), which represent 0.7% of the 759 SCN cases registered in France. The age at diagnosis was 0.3 years (range: 0.1–1.2 years) and the median age at the last follow-up was 7.3 years (range: 1.2–17.8 years). A novel large homozygous deletion of the *HAX1* gene (exons 2–5) was found in one pedigree; while, a homozygous frameshift mutation was identified in exon 3 (c.430dupG, p.Val144fs) in the second pedigree. Severe bacterial infections were observed in four patients, including two cases of sepsis, one case of pancolitis, a lung abscess, and recurrent cellulitis

and stomatitis. During routine follow-up, the median neutrophil value was $0.16 \times 10^9/L$, associated with monocytosis ($2 \times 10^9/L$). Bone marrow (BM) smears revealed a decrease of the granulocytic lineage with no mature myeloid cells above the myelocytes. One patient died at age 2 from neurological complications, while two other patients, including one who underwent a hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) at age 5, are living with very severe neurological retardation. **Conclusions.** SCN with *HAX1* mutations, is a rare sub type of congenital neutropenia, mostly observed in population from Sweden and Asia minor, associating frequently neurological retardation, when the mutations involved the B isoform of the protein. Pediatr Blood Cancer © 2014 Wiley Periodicals, Inc.

Key words: encephalopathy; *HAX1*; severe congenital neutropenia

Cohen syndrome is associated with major glycosylation defects

Laurence Duplomb^{1,2,†,*}, Sandrine Duvet^{3,†}, Damien Picot¹, Gaëtan Jego⁴,
Salima El Chehadeh-Djebbar^{1,2}, Nathalie Marle^{1,2}, Nadège Gigot^{1,2}, Bernard Aral^{1,2},
Virginie Carmignac¹, Julien Thevenon^{1,2}, Estelle Lopez¹, Jean-Baptiste Rivière^{1,2}, André Klein⁵,
Christophe Philippe⁶, Nathalie Droin⁷, Edward Blair⁸, François Girodon⁹, Jean Donadiou¹⁰,
Christine Bellanné-Chantelot¹¹, Laurent Delva⁴, Jean-Claude Michalski³, Eric Solary⁷,
Laurence Faivre^{1,2}, François Foulquier^{3,‡} and Christel Thauvin-Robinet^{1,2,‡}

¹Génétique et Anomalies du Développement, EA4271, Université de Bourgogne, Dijon, France, ²FHU TRANSLAD, Département de Génétique, CHU Dijon, Dijon, France, ³Université des Sciences et Technologies de Lille, UMR/CNRS 8576, IFR147, Villeneuve d'Ascq, France, ⁴Université de Bourgogne, Inserm UMR 866, Dijon, France, ⁵Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, UAM de glycopathologies, Centre de Biologie et Pathologie, CHRU Lille, Université de Lille 2, Lille, France, ⁶Département de Génétique, CHU Nancy, Nancy, France, ⁷Institut Gustave Roussy, Inserm UMR1009, Villejuif, France, ⁸Department of Clinical Genetics, Churchill Hospital, Headington, Oxford, UK, ⁹Laboratoire d'Hématologie, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France, ¹⁰French Severe Chronic Neutropenia Registry, Hôpital Trousseau, Paris, France and ¹¹Département de Génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Université Paris VI Pierre et Marie Curie, Paris, France

Received July 26, 2013; Revised and Accepted December 9, 2013

Cohen syndrome (CS) is a rare autosomal recessive disorder with multisystemic clinical features due to mutations in the *VPS13B* gene, which has recently been described encoding a mandatory membrane protein involved in Golgi integrity. As the Golgi complex is the place where glycosylation of newly synthesized proteins occurs, we hypothesized that *VPS13B* deficiency, responsible of Golgi apparatus disturbance, could lead to glycosylation defects and/or dysfunction of this organelle, and thus be a cause of the main clinical manifestations of CS. The glycosylation status of CS serum proteins showed a very unusual pattern of glycosylation characterized by a significant accumulation of agalactosylated fucosylated structures as well as asialylated fucosylated structures demonstrating a major defect of glycan maturation in CS. However, CS transferrin and α 1-AT profiles, two liver-derived proteins, were normal. We also showed that intercellular cell adhesion molecule 1 and LAMP-2, two highly glycosylated cellular proteins, presented an altered migration profile on SDS-PAGE in peripheral blood mononuclear cells from CS patients. RNA interference against *VPS13B* confirmed these glycosylation defects. Experiments with Brefeldin A demonstrated that intracellular retrograde cell trafficking was normal in CS fibroblasts. Furthermore, early endosomes were almost absent in these cells and lysosomes were abnormally enlarged, suggesting a crucial role of *VPS13B* in endosomal-lysosomal trafficking. Our work provides evidence that CS is associated to a tissue-specific major defect of glycosylation and endosomal-lysosomal trafficking defect, suggesting that this could be a new key element to decipher the mechanisms of CS pathophysiology.

*To whom correspondence should be addressed at: EA 4271, Génétique des Anomalies du Développement, 7, bd Jeanne d'Arc, BP87900, 21079 Dijon Cedex, France. Tel: +33-380393238; Fax: +33-380393447; Email: laurence.duplomb@chu-dijon.fr

[†]These authors contributed equally to this work.

[‡]These authors contributed equally to this work.

Cooperativity of *RUNX1* and *CSF3R* Mutations in the Development of Leukemia in Severe Congenital Neutropenia: A Unique Pathway in Myeloid Leukemogenesis

Julia Skokowa¹, Doris Steinemann², Jenny E. Katsman-Kuipers³, Cornelia Zeidler¹, Olga Klimenkova¹, Maksim Klimiankou¹, Murat Ünal¹, Siarhei Kandabarau¹, Vahagn Makaryan⁴, Renee Beekman⁵, Kira Behrens⁶, Carol Stocking⁶, Julia Obenauer^{3,5}, Susanne Schnittger⁷, Alexander Kohlmann⁷, Marijke G. Valkhof⁵, Remco Hoogenboezem⁵, Gudrun Göhring², Dirk Reinhardt⁸, Brigitte Schlegelberger², Martin Stanulla⁸, Peter Vandenberghe⁹, Jean Donadieu¹⁰, C. Michel Zwaan^{3,10}, Ivo P. Touw⁵, Marry M. van den Heuvel-Eibrink^{3,10}, David C. Dale⁴, Karl Welte¹

¹Department of Molecular Hematopoiesis, Hannover Medical School, Hannover, Germany;

²Institute of Cell and Molecular Pathology, Hannover Medical School, Hannover, Germany;

³Pediatric Oncology/Hematology, Erasmus MC/Sophia Children's Hospital, Rotterdam, The Netherlands;

⁴University of Washington, Seattle, WA; ⁵Department of Hematology, Erasmus

University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands; ⁶Heinrich-Pette-Institute; Hamburg,

Germany; ⁷MLL Munich Leukemia Laboratory, Munich, Germany; ⁸Department of Pediatric

Hematology and Oncology, Hannover Medical School, Hannover, Germany; ⁹Center for

Human Genetics, KU Leuven/University Hospital Leuven, Leuven, Belgium; ¹⁰Service

d'Hémato-Oncologie Pédiatrique, Hopital Trousseau, Paris, France; ¹⁰Dutch Childhood

Oncology Group, The Hague, The Netherlands

Corresponding authors:

Karl Welte, MD PhD

Dept. of Molecular Hematopoiesis

Hannover Medical School

Carl-Neuberg-Str. 1

30625 Hannover, Germany

Phone: +49-511-532-6710

Fax: +49-511-532 6998

Email: Welte.Karl.H@mh-hannover.de

Julia Skokowa MD PhD

Dept. of Molecular Hematopoiesis

Hannover Medical School

Carl-Neuberg-Str. 1

30625 Hannover, Germany

Phone: +49-511-532-9037

Fax: +49-511-532 6998

Email: skokowa.julia@mh-hannover.de

PHAGOCYTES, GRANULOCYTES, AND MYELOPOIESIS

Neutropenia-associated *ELANE* mutations disrupting translation initiation produce novel neutrophil elastase isoforms

Timothy Tidwell,¹ Jeremy Wechsler,¹ Ramesh C. Nayak,² Lisa Trump,² Stephen J. Salipante,³ Jerry C. Cheng,⁴ Jean Donadieu,⁵ Taly Glaubach,⁶ Seth J. Corey,⁶ H. Leighton Grimes,^{2,7} Carolyn Lutzko,^{2,8,9} Jose A. Cancelas,^{2,10} and Marshall S. Horwitz¹

¹Department of Pathology, University of Washington School of Medicine, Seattle, WA; ²Division of Experimental Hematology and Cancer Biology, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, OH; ³Departments of Laboratory Medicine and Genome Sciences, University of Washington School of Medicine, Seattle, WA; ⁴Kaiser Permanente, Los Angeles Medical Center and David Geffen School of Medicine at UCLA, Los Angeles, CA; ⁵French Severe Chronic Neutropenia Registry, Hospital Trousseau, Paris, France; ⁶Department of Pediatrics, Northwestern University Feinberg School of Medicine, Chicago, IL; ⁷Division of Immunobiology, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, OH; ⁸Division of Regenerative Medicine and Cellular Therapies, Hoxworth Blood Center, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, OH; ⁹Translational Core Laboratories, Division of Experimental Hematology and Cancer Biology, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, OH; and ¹⁰Research Division, Hoxworth Blood Center, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, OH

Key Points

- *ELANE* mutations in the first codon and Kozak sequence yield amino-terminally truncated NE lacking pre and pro sequences.
- The study implies that sometimes NE coding sequence changes are incidental and noncoding *ELANE* variants are pathogenic.

Hereditary neutropenia is usually caused by heterozygous germline mutations in the *ELANE* gene encoding neutrophil elastase (NE). How mutations cause disease remains uncertain, but two hypotheses have been proposed. In one, *ELANE* mutations lead to mislocalization of NE. In the other, *ELANE* mutations disturb protein folding, inducing an unfolded protein response in the endoplasmic reticulum (ER). In this study, we describe new types of mutations that disrupt the translational start site. At first glance, they should block translation and are incompatible with either the mislocalization or misfolding hypotheses, which require mutant protein for pathogenicity. We find that start-site mutations, instead, force translation from downstream in-frame initiation codons, yielding amino-terminally truncated isoforms lacking ER-localizing (pre) and zymogen-maintaining (pro) sequences, yet retain essential catalytic residues. Patient-derived induced pluripotent stem cells recapitulate hematopoietic and molecular phenotypes. Expression of the amino-terminally deleted isoforms in vitro reduces myeloid cell clonogenic capacity. We define an internal ribosome entry site (IRES) within *ELANE* and demonstrate that adjacent mutations modulate IRES activity, independently of protein-coding sequence alterations. Some

ELANE mutations, therefore, appear to cause neutropenia via the production of amino-terminally deleted NE isoforms rather than by altering the coding sequence of the full-length protein. (*Blood*. 2014;123(4):562-569)

Les neutropénies chroniques de l'adulte : diagnostic et prise en charge

Jean Donadieu

Service d'hématologie-oncologie pédiatrique, Registre des neutropénies chroniques, Centre de référence des Déficiets immunitaires héréditaires, AP-HP, Hôpital Trousseau, 26, avenue du Docteur Arnold Netter, 75012 Paris, France
<jean.donadieu@trs.aphp.fr>

La découverte d'une neutropénie définie par un nombre de neutrophiles inférieur à $1\,500/\text{mm}^3$ est un événement très courant en médecine de l'adulte et ne concerne pas que l'hématologie. Ce texte résume les informations utiles pour classer les étiologies potentielles qui sont très nombreuses et propose des recommandations de prise en charge adaptées.

Mots clés : neutropénie, adulte, GCSF

2.5.2.1 Travaux soumis et en cours d'acceptation

La découverte de JAGUNAL 1, présenté en session orale à l'American Society of Hematology est en cours de soumission à **Nature Genetics**. L'acceptation finale n'est pas arrivé à la date du 28 février 2014, mais celle est de fait pratiquement acquise. Le travail du registre a été de mettre en évidence un pedigree multiplex et de récolter les échantillons, dont l'analyse a permis la découverte de ce gène. Cette découverte a été faite dans le cadre NEUTRO NET.

2.5.2.2 Travaux en cours de préparation

Les travaux en cours de préparation / réalisation sont :

- _ Devenir au long cours des patients porteurs des mutations G6PC3
- _ Incidence annuelle des neutropénies congénitales en France
- _ Facteurs de risque des infections sévères chez les patients porteurs de mutations ELANE

_ Comparaison du lenograstim et du filgrastim à travers l'expérience du registre français des neutropénies

_ Grossesses chez les patients porteurs de neutropénies congénitales

2.5.3 Présentation à des congrès

2.5.3.1 Congrès de la société française de médecine Interne Marseille 7-8 juin 2013

2.5.3.2 Congrès de la société d'Hémo Immuno pédiatrique Nancy 10 octobre 2013

CONGRÈS

Société d'Hématologie et d'Immunologie Pédiatrique

10 ET 11 OCTOBRE 2013

MUSÉE DES BEAUX-ARTS & HÔTEL DE VILLE

NANCY

La réunion aura lieu dans 2 endroits distincts
 *Accueil et plénières : Musée des Beaux-Arts
 *Pauses, déjeuners et dîner : Hôtel de Ville

Jeudi 10 Octobre	<p>09h30 - 10h00 Accueil des participants au Musée des Beaux-Arts</p> <p>10h00 - 12h30 Activités des Groupes de Travail * <i>Modérateur : Caroline Thomas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> > Thalassémie - F. Dammange-Romero (Lyon) > Drépanocytose - C. Pandarre (Crétail) > Anémie de Blackfan Diamond > Membrane du globule rouge - C. Gullton (Paris) > Histiocytose - J. Donadieu (Paris) > CEREDIH - N. Mahlaoui (Paris) > Neutropénies - J. Donadieu (Paris) > CEREVANCE - N. Aladjidi (Bordeaux) > Maladies Hémostatiques constitutionnelles - H. Chambost (Marseille) <p>12h30 - 14h00 Déjeuner *</p> <p>14h00 - 16h15 Prise en charge des pathologies de l'hémostase chez l'enfant * <i>Modérateurs : Marie-Elisabeth Briquel et Hervé Chambost</i></p> <ul style="list-style-type: none"> > Aspects pédiatriques de la prise en charge des maladies hémorragiques constitutionnelles et enjeux au niveau de la filière de soins H. Chambost (CRMH, Marseille) > How can children with hemophilia A or B and inhibitor achieve immunotolerance ? Input of international studies C. Escutola-Effingshausen (Frankfurt, Germany) > Thérapeutiques innovantes pour les patients hémophiles T. Lambert (CRMH, Paris Bicêtre), C. Negrier (CRMH, Lyon) <p>16h15 - 16h45 Pause et visite des stands *</p> <p>16h45 - 17h30 Sélection de cas cliniques de la SHIP : quel est votre diagnostic ? * <i>Modérateur : Jean-Louis Stephan</i></p> <p>17h30 - 18h30 Assemblée générale de la SHIP *</p> <p>21h00 Dîner</p>	Vendredi 11 Octobre	<p>08h30 - 09h00 Accueil des participants au Musée des Beaux-Arts</p> <p>09h00 - 11h00 Les thérapies ciblées en immunologie et hématologie pédiatriques * <i>Modérateur : Pascal Chastagner</i></p> <ul style="list-style-type: none"> > Cible CXCR4 : plerixafor MOZOBIL (syndrome WHIM) S. Beussant-Cohen (Besançon) > Cible B-RAF (histiocytose) - J. Donadieu (Paris) > Cytopénies auto-immunes et anti-CD20 - S. Ducassou (Bordeaux) > Analogues de la thrombopoïétine - N. Aladjidi (Bordeaux) > Cible TNF (maladies inflammatoires) - B. Bader-Meunier (Paris) <p>11h00 - 11h30 Pause et visite des stands *</p> <p>11h30 - 12h45 Sélection des meilleurs mémoires du DIU d'immuno-hématologie pédiatrique 2012-2013 * <i>Modérateur : Benoît Brethon</i></p> <ul style="list-style-type: none"> > Allogenic stem cell transplantation in amegacaryocytosis : results of a retrospective study in EBMT centers - M. R. Fahd (Paris) > Traitement des thalassémies intermédiaires par hydroxycarbamide : Données du Registre Français des Bêta-thalassémies et facteurs de réponse au traitement - I. Hermann (Marseille) > The impact of the donor type on long-term health status and quality of life after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for childhood leukemia: A L.E.A. study - S. Visentin (Marseille) <p>12h45 - 14h00 Déjeuner *</p> <p>14h00 - 16h00 Table Ronde : la transition enfants/adultes dans le domaine de l'hématologie bénigne et de l'immunologie * <i>Modérateur : Yves Perel</i></p> <ul style="list-style-type: none"> > Le point de vue des médecins <ul style="list-style-type: none"> - Expérience du CHU de Nantes - C. Thomas (Nantes) - Expérience du CEREDIH - N. Mahlaoui (Paris) > Problématique de l'orientation professionnelle D. Tripodi (médecin du travail à Nantes) > Le point de vue des patients : témoignages - F. Neufert, AFMBD (Toulouse), N. Doumaeva (Paris), M. C. Sharif (Nancy), A. Weber (Nancy) > Le point de vue du psychologue : les enjeux psychiques lors du passage dans un service d'adultes ou comment se séparer en douceur M. Mezlay-Destracque (Nancy) <p>16h00 Fin de la réunion</p>
------------------	---	---------------------	--

2.5.3.3 Congrès Shwacham Diamond international 4-6 novembre 2013 Toronto



Shwachman-Diamond Syndrome (<http://www.cepd.utoronto.ca/sds/>)

✓ Register Online (https://events.cepdtoronto.ca/startup/new_recovery/PAE1303)

⬇ Download Postcard (<http://www.cepd.utoronto.ca/sds/files/2012/10/Shwachman-Diamond-Postcard-Web.pdf>)

Agenda

📅 Add to Calendar
 (<http://cdn.cepdtoronto.ca/files/7th%20International%20Congress%20on%20Shwachman-Diamond%20Syndrome.ics>)

Sunday, Nov 3rd

NOTE: SDS101 and the opening reception take place at the Peter Gilgan Research Centre, 686 Bay St. Toronto. View Map (<https://maps.google.ca/maps?q=686+Bay+St.+Toronto&hl=en&sl=43.630654,-79.517504&spn=0.372249,0.624161&hnear=686+Bay+St,+Toronto,+Ontario+M5G+1Z4&t=m&z=16&iwloc=A>)

3:30-5:30pm	<p>SDS101: Fundamentals of Shwachman-Diamond Syndrome (co-hosted by SDS Canada)</p> <p>R. Mendoza A Shimamura E. Kerr P. Dune</p> <p>Session Objectives</p> <ul style="list-style-type: none"> List and describe the basic features of SDS Distinguish SDS manifestations at presentation, through childhood to adulthood
6-7:30pm	<p>Evening Opening reception</p>

Monday, Nov 4th

Location: Marriott Bloor Yorkville. The Forest Hill Ballroom

7:30 – 8:30am	Breakfast and Poster Set-up
8:30 – 8:40am	Welcome, opening and announcements J Rommens, SDS Canada, HSC, RI

Scientific Session 1	
Theme - Genetics and clinical phenotypes	
J Rommens, Chair	
Session Objectives	
<ul style="list-style-type: none"> Explain inheritance and molecular genetic features of SDS Describe approaches and goals for development of SDS disease registries 	
8:40 – 9:05am	J Rommens
9:05 – 9:30am	J Donadieu
9:30 – 9:50am	I Meys
9:50 - 10:05am	*EG Milano
10:05 – 10:20am	*M Kalbfleisch
10:20-10:40am	Break

Scientific Session 2	
Theme – Functions of Sbds and SDS as a ribosomopathy	
J Liu, Chair	
Session Objectives	
<ul style="list-style-type: none"> Describe the basic role of SBDS in context of ribosome dysfunction Elaborate how SDS is a ribosomopathy 	
10:40-11:05am	A Warren
11:05-11:30am	A Shimamura
11:30-11:45am	*H Liu
11:45-12:00am	*F Weiss
12:00-1:00pm	Lunch

2.5.3.4 American Society of Hematology Decembre 2013 New Orleans USA

Deficiency Of JAGN1 Causes Severe Congenital Neutropenia Associated With Defective Secretary Pathway and Aberrant Myeloid Cell Homeostasis

[Kaan Boztug*](#)¹, [Päivi M Järvinen*](#)², [Elisabeth Salzer*](#)¹, [Tomas Racek](#), PhD³, [Sebastian Mönch*](#)³, [Wojciech Garncarz*](#)¹, [E. Michael Gertz*](#)⁴, [Alejandro A. Schäffer*](#)⁵, [Aristotelis Antonopoulos*](#)⁶, [Stuart Haslam*](#)⁶, [Lena Ziesenitz*](#)⁷, [Jacek Puchalka*](#)⁸, [Jana Diestelhorst*](#)³, [Giridharan ppasswamy*](#)⁷, [Brigitte Lescoeur*](#)⁹, [Roberto Giambruno*](#)¹, [Johannes Bigenzahn*](#)¹, [Ulrich Elling*](#)¹⁰, [Dietmar Pfeifer*](#)¹¹, [Karl Welte](#), Prof. Dr. med.¹², [Gudrun Brandes*](#)¹³, [Roya Sherkat*](#)¹⁴, [Jutte Van der Werff Ten Bosch*](#)¹⁵, [Nima Rezaei*](#)¹⁶, [Amos Etzioni*](#)¹⁷, [Christine Bellanne-Chantelot*](#)¹⁸, [Giulio Superti-Furga](#), PhD¹, [Keiryn L Bennett](#), PhD¹, [Julia von Blume*](#)¹⁹, [Anne Dell*](#)⁶, [Jean Donadieu*](#)²⁰, and [Christoph Klein](#), MD PhD²¹

1. ¹⁷*Rappaport School of Medicine, Technion, Haifa, Israel,*
2. ¹⁸*Department of Genetics, AP-HP Pitie-Salpetriere, Universite Pierre et Marie Curie, Paris, France,*
3. ¹⁹*Max Planck Institute of Biochemistry, Munich, Germany,*
4. ²⁰*Hopital Trousseau, Paris, France,*
5. ²¹*Dr. von Hauner Children's Hospital, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany*

Analysis of patients with severe congenital neutropenia (SCN) may shed light on the delicate balance of factors controlling differentiation, maintenance, and decay of neutrophil granulocytes. Mutations in *ELANE*, *GFII*, *HAX1*, *G6PC3*, *WAS*, and *VPS45* are known to cause SCN.

We here describe a new monogenetic SCN variant with biallelic mutations in the gene encoding Jagunal homolog 1 (JAGN1). We studied an index family from Northern Africa with a total of 5 children suffering from SCN. An Affymetrix SNP array-based genetic linkage analysis was performed and identified a single interval of perfect segregation with highly significant multi-marker LOD scores of at least 4.5 spanning approximately 1.5Mbp from 9.52Mb to 11.04Mb on chromosome 3 of NCBI's human genome build 36.3. This interval contained a total of 30 genes, including JAGN1 which encodes an ER-resident protein. Sanger sequencing revealed a homozygous mutation c.3G>A in exon 1 of the *JAGN1* gene; this mutation leads to disruption of the defined start of translation.

Systematic analysis of a cohort of 90 SCN patients identified 9 distinct homozygous mutations in the gene encoding Jagunal homolog 1 (JAGN1) in 14 SCN patients, thus accounting for approximately 10% of SCN patients. The clinical phenotype was variable and included failure to thrive, developmental delay and bone skeletal abnormalities. The only consistent finding in all JAGN1-deficient patients was SCN and partial or complete refractoriness to therapy with rh-GCSF.

JAGN1 is the human ortholog of a gene originally identified in *Drosophila melanogaster*. Jagunal-deficient oocytes are characterized by defective ER reorganization and aberrant membrane trafficking during vitellogenesis.

We found that *JAGN1*-mutant human granulocytes showed aberrantly enlarged ER structures and paucity of secretory vesicles. We hypothesized that that ER aberrations may be associated with defective N-glycosylation of multiple proteins in neutrophil granulocytes and found that *JAGN1*-mutant neutrophil granulocytes exhibited anomalous N-glycomic profiles characterized by a marked reduction in fucosylation of all their multi-antennary glycans. *JAGN1*-deficient neutrophil granulocytes showed increased apoptosis in response to TNF α and staurosporine, likely accounting for the lack of mature neutrophils in these patients. Additional studies in *JAGN1*-knockdown cells indicate that *JAGN1* participates in the secretory pathway and is required for granulocyte-colony stimulating factor receptor-mediated signaling. Global proteomic analysis of the *JAGN1*-interactome identified a limited number of interaction partners including members of the Coat Protein I (COPI) complex (COPA, COPB2, and COPG2) which suggest a role for *JAGN1* in vesicular trafficking from Golgi to ER. Taken together, *JAGN1* emerges as a hitherto unrecognized factor necessary in differentiation and survival of neutrophil granulocytes and a novel gene implicated in SCN.

Disclosures: No relevant conflicts of interest to declare.

2.6 Travaux de surveillance et travaux de santé publique

Les travaux sur les facteurs de risque de transformation leucémique, en particulier le risque leucémique induit par le GCSF, et aussi l'analyse des infections graves chez les patients neutropéniques, sont des travaux qui touchent une toute petite population (par définition la population prise en compte par le registre), mais qui abordent des thématiques ayant des impacts en population générale. Ces travaux peuvent tous être définis comme des travaux de surveillance sanitaire sur une petite population et des travaux de santé publique visant à améliorer l'état de santé de cette population. On doit noter que ces pathologies seraient complètement négligées sans l'effort et la concentration d'expérience que représente ce registre.

3 Conclusion

Le registre des neutropénies chroniques poursuit ses missions à la fois de recherche et de santé publique pour un petit groupe de patients porteurs d'un groupe de pathologies très rares et à fortes morbidités. Les moyens alloués à ce jour restent limités et demandent des efforts de gestion assez notables. La pérennité de cette mission, tant du point de vue humain que logistique, critères majeurs pour un registre, n'est possible que par l'engagement des associations de patients et par l'engagement de dons de la part des industriels – dons qui sont tous très précaires et demandent une participation à de nombreuses initiatives chronophages. La valorisation scientifique et les publications des résultats ne font l'objet d'aucune aide particulière, de même que l'encadrement du registre.

Malgré ces limites, plusieurs travaux ont été publiés pour l'année 2013 et plusieurs travaux sont en cours de soumission.