



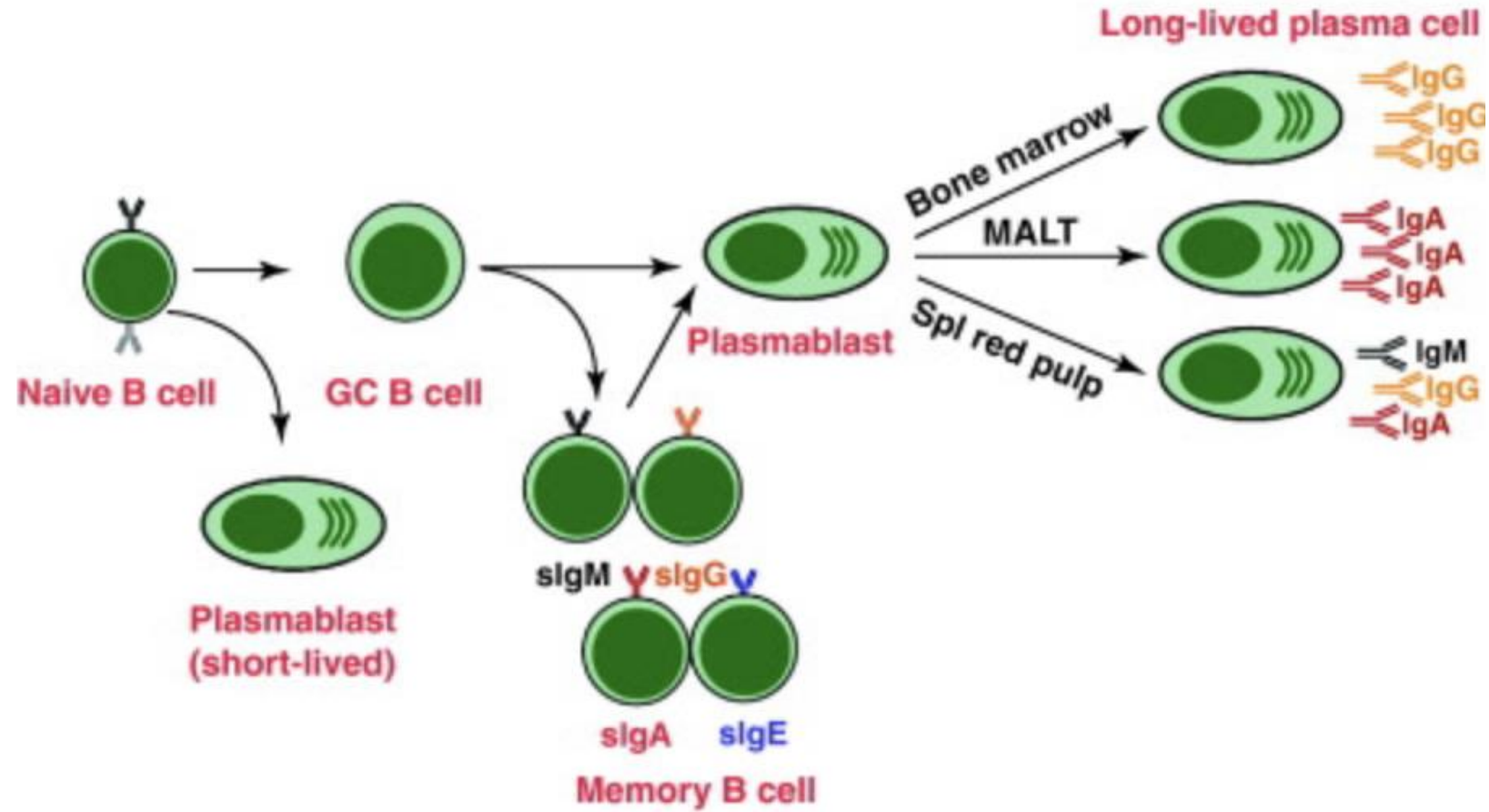
CytHem - Saint Malo 2026

Détection des plasmocytes circulants (CPC) par cytométrie en flux




**Dr Nicolas FREYNET
Pr Thomas MATTHES
Dr Soraya WUILLEME
Pr Jérôme MOREAUX
Dr Thomas BOYER**

Introduction

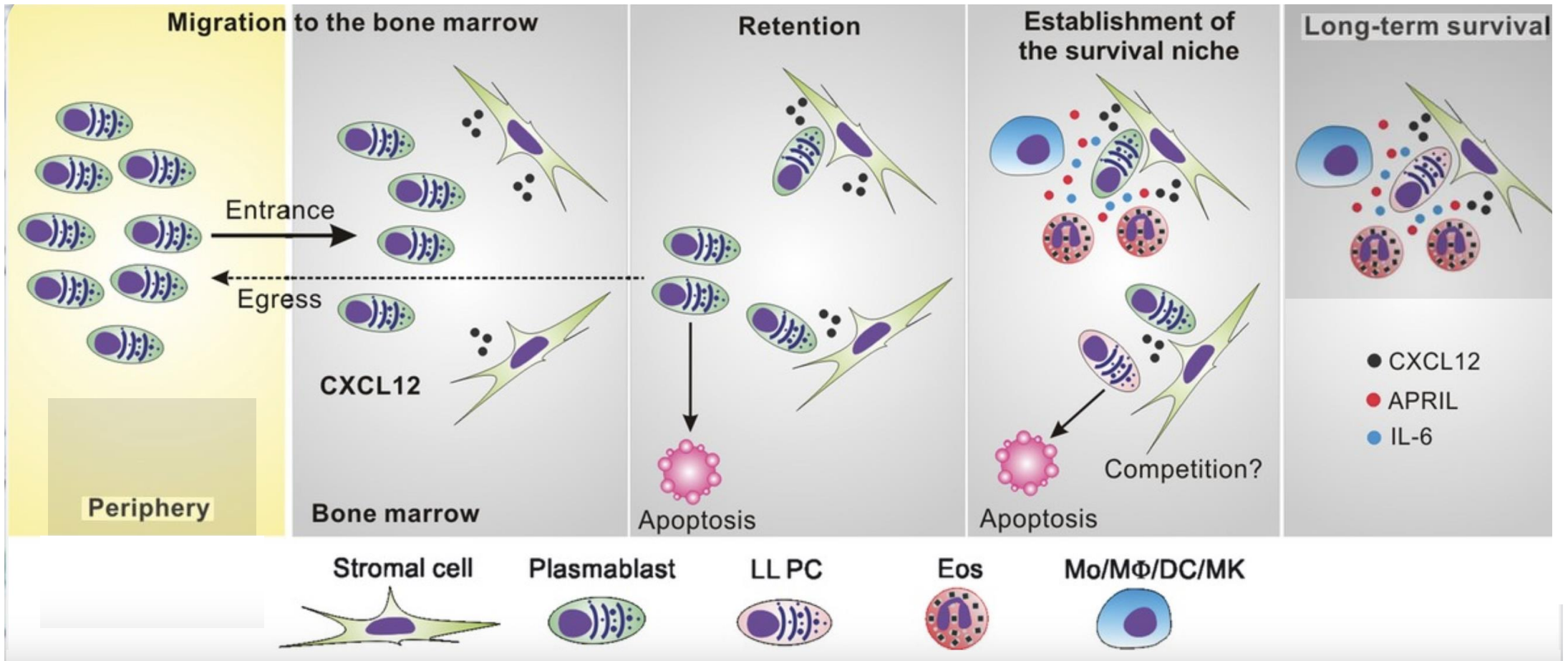


Plasmoblaste/Plasmocyte

Feature 	Plasmablast	Plasmocyte (Plasma Cell)
Cell Division	Highly proliferative	Post-mitotic (non-dividing)
Lifespan	Short-lived (few days)	Can be short-lived or long-lived (months to years)
Location	Often found circulating in the blood and peripheral tissues	Reside primarily in specialized niches (e.g., bone marrow)
Surface Immunoglobulins	Expresses moderate levels of surface immunoglobulins (e.g., slg)	Lack or have negligible surface immunoglobulins
CD20 & CD19	Often retains low/moderate expression	Completely downregulates or loses these markers
CD27	Expresses high levels	Expresses high levels
CD38	Moderately to highly expressed	Extremely bright, high-density expression
CD138 (Syndecan-1)	Low to moderate expression	High, defining expression

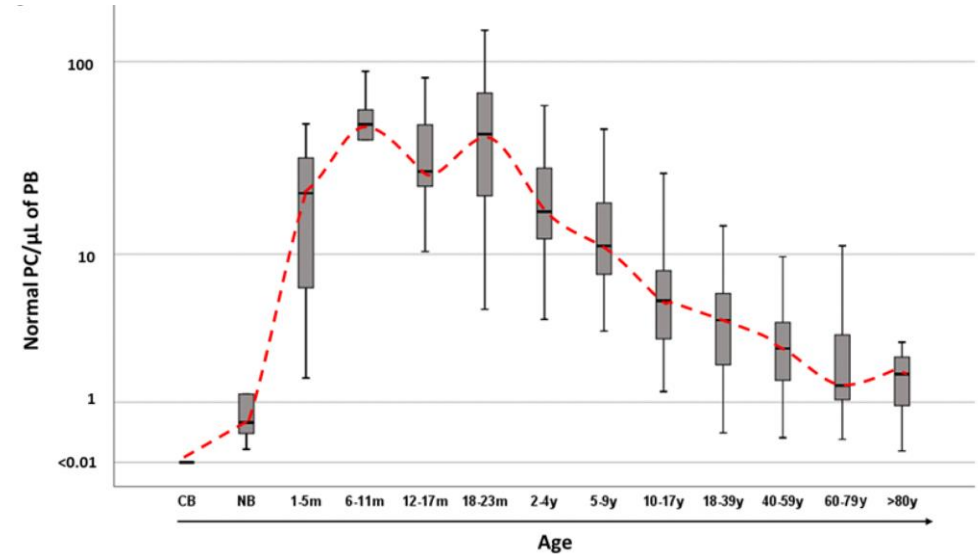


Introduction



CPC polyclonaux

Valeurs normales:
 ≤ 2 CPC/ μ l
0.01- 0.03%



Le taux de CPC fluctue de manière significative:

- augmenté après une infection virale et une vaccination (plasmocytose réactionnelle)
 - Médicaments : céphalosporines, lénalidomide, méthimazole, paracétamol...
 - LTAI (lymphome T angio-immunoblastique)
- Évaluation de la réponse au traitement et anticipation des rechutes de la maladie dans le lupus érythémateux systémique (LES).

Phénotype des CPC

Par comparaison avec les plasmocytes de la moelle osseuse, les CPC présentent des niveaux d'expression de surface plus faibles des molécules d'adhésion (CD11a, CD31, CD49d, CD49e, CD49f et CD56) ainsi que des marqueurs d'activation (CD38 et CD27), tout en exprimant des niveaux plus élevés de CD362.

De plus, les CPC se distinguent des plasmocytes médullaires par l'expression de CD62L et des niveaux intermédiaires de CD138, avec une expression plus faible de CXCR4 (normalement fortement exprimé par les plasmocytes !) et de CCR2, ainsi qu'une absence d'expression de CD9.

Sanoja-Flores et al ; Cancer 2020

Diminution de CD69 dans les CPC, augmentation de CD127 !

Pietzsch M et al., 2024

CPC tumoraux

Des altérations du microenvironnement de la moelle osseuse favorisent la sortie des plasmocytes malins vers la circulation périphérique

- hypoxie sévère et conditions pro-inflammatoires
- augmentation de l'angiogenèse
- altérations de la signalisation des chimokines

Les CPC partagent des profils génétiques similaires à ceux des plasmocytes de la moelle osseuse.

Ils sont associés à plusieurs anomalies chromosomiques, notamment: t(4;14), del(13q), del(17p), t(11;14) et t(14;16).

Détection des CPC

Même panel que pour la détection des plasmocytes médullaires:
CD45 CD38 CD138 CD19 CD56 kappa/lambda

Perméabilisation après lyse ou macrolyse

Sensibilité à obtenir:

0.01% 50 cellules/ul 500000 cellules à acquérir (50 – 100 ul de sang)

0.001% 50 cellules/ul 5M --- 0.5 – 1 ml

Etudes espagnoles: (0.0001% 20 cellules 20M)

Comparaison de trois techniques de perméabilisation

Dako
Agilent

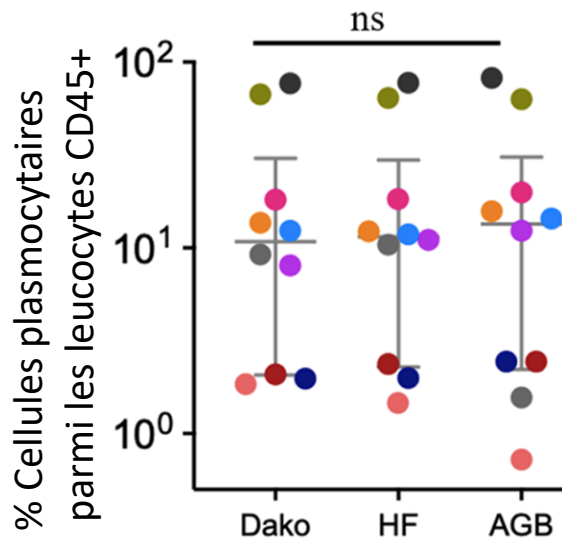


PerFix
Beckman-Coulter

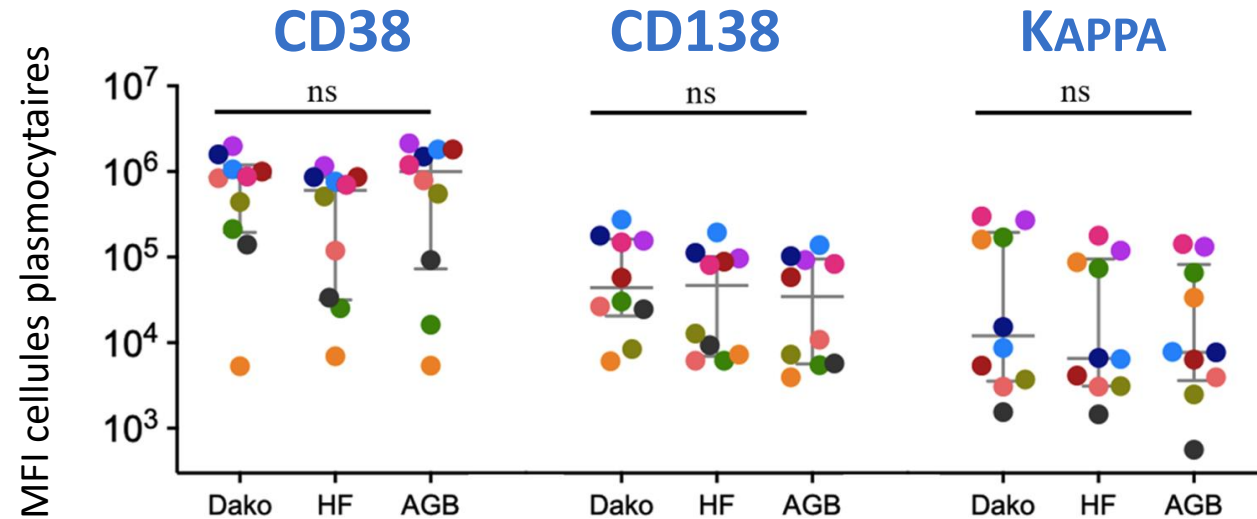


- Perfix-HF
- PerFix-AGB

QUANTIFICATION COMPARABLE
DES CELLULES PLASMOCYTAIRES



MARQUEURS AVEC MFI COMPARABLES
SUR LES CELLULES PLASMOCYTAIRES



Comparaison de trois techniques de perméabilisation

Dako
Agilent



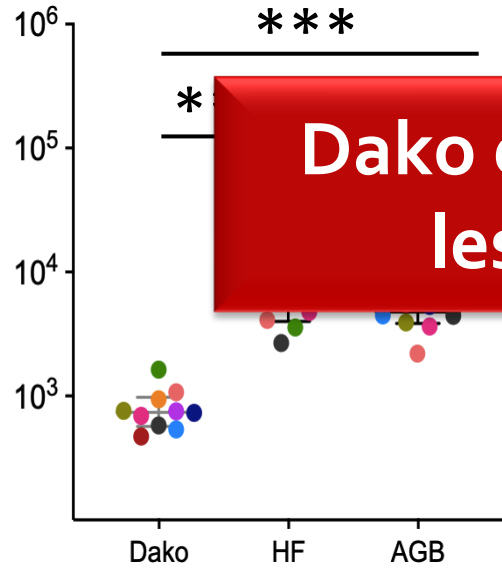
PerFix
Beckman-Coulter



- Perfix-HF
- PerFix-AGB

MFI CD81

MFI Polynucléaires neutrophiles

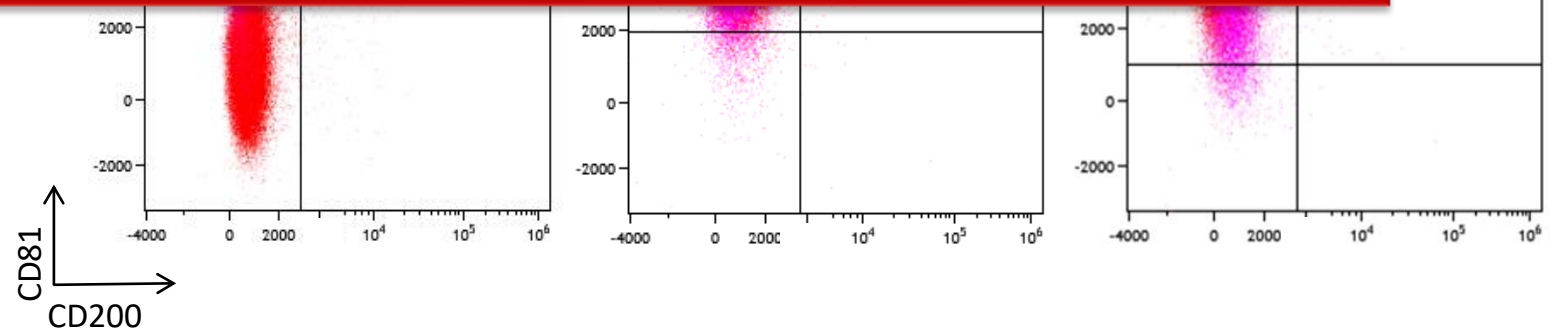


Dako et Perfix sont des réactifs fiables pour détecter les CTCs avec une légère supériorité du Dako

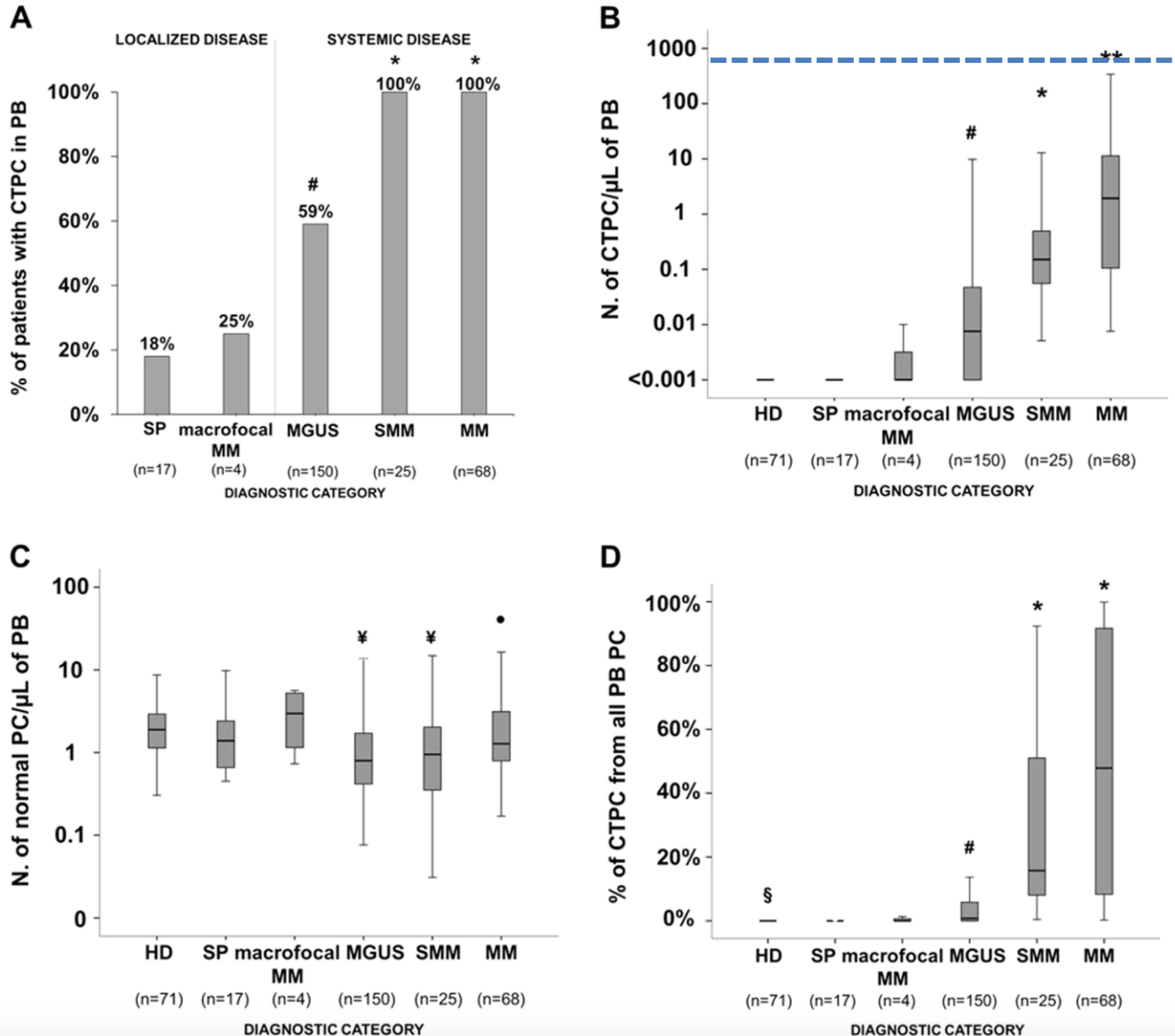
Dako

PerFix-HF

PerFix-AGB



Détection des CPC



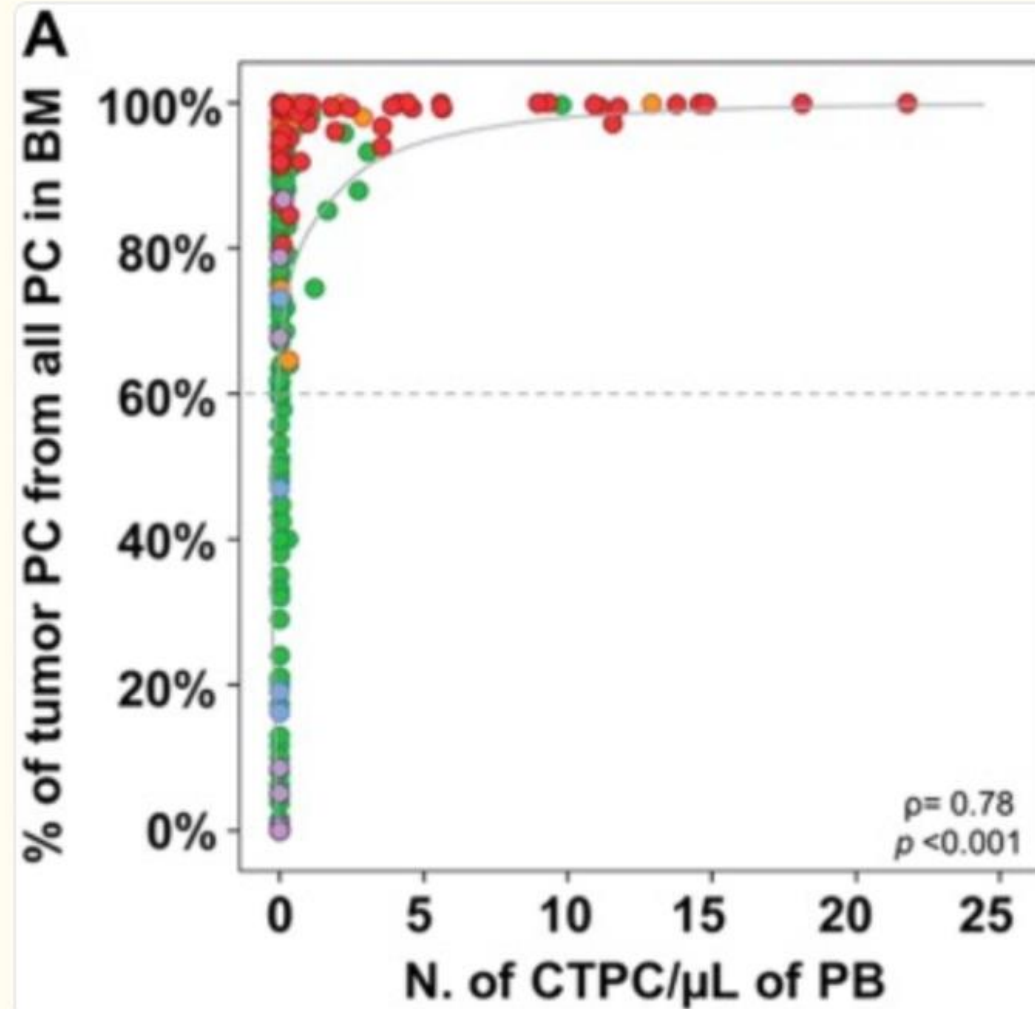
PCL

IMWG (2013):

CPC \geq 20% et/ou \geq 2000/uI

IMWG (2021): \geq 5% CPC

Corrélation CPC/PC médullaires

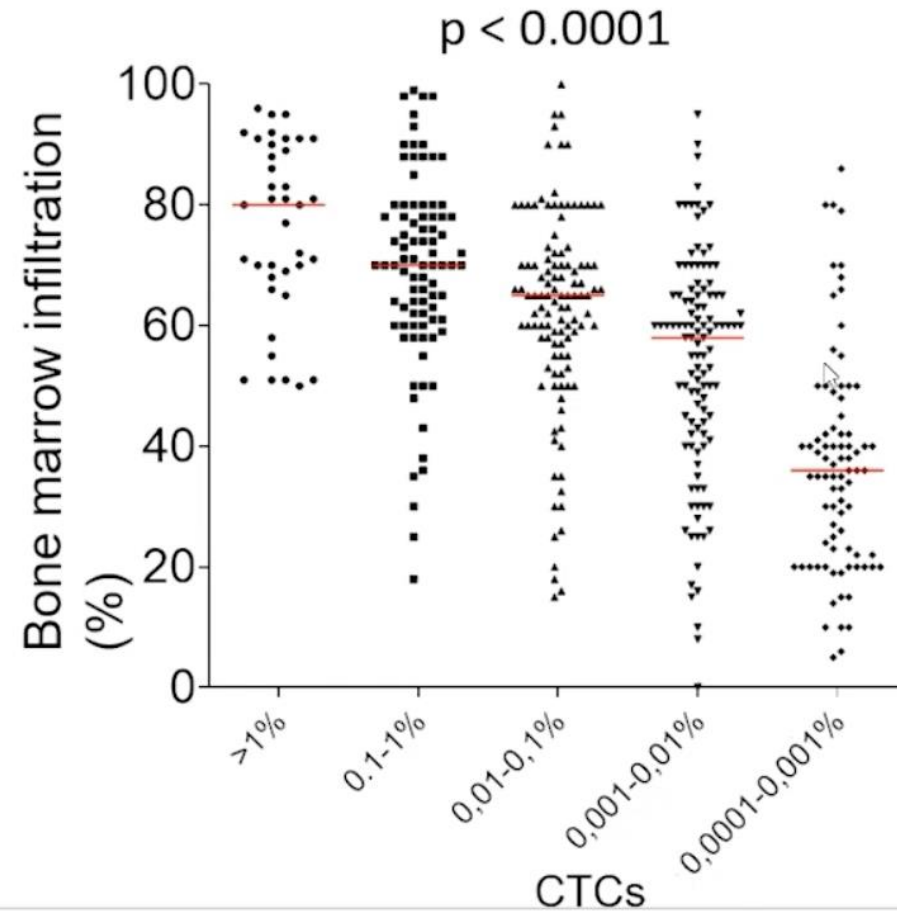
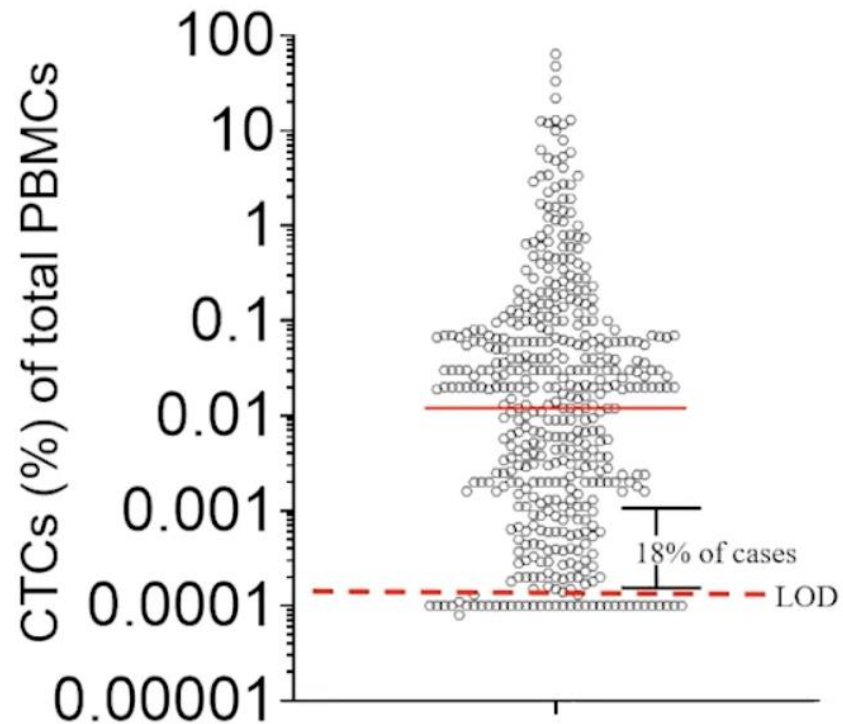


>500 échantillons

Sanoja-Flores et al; 2018

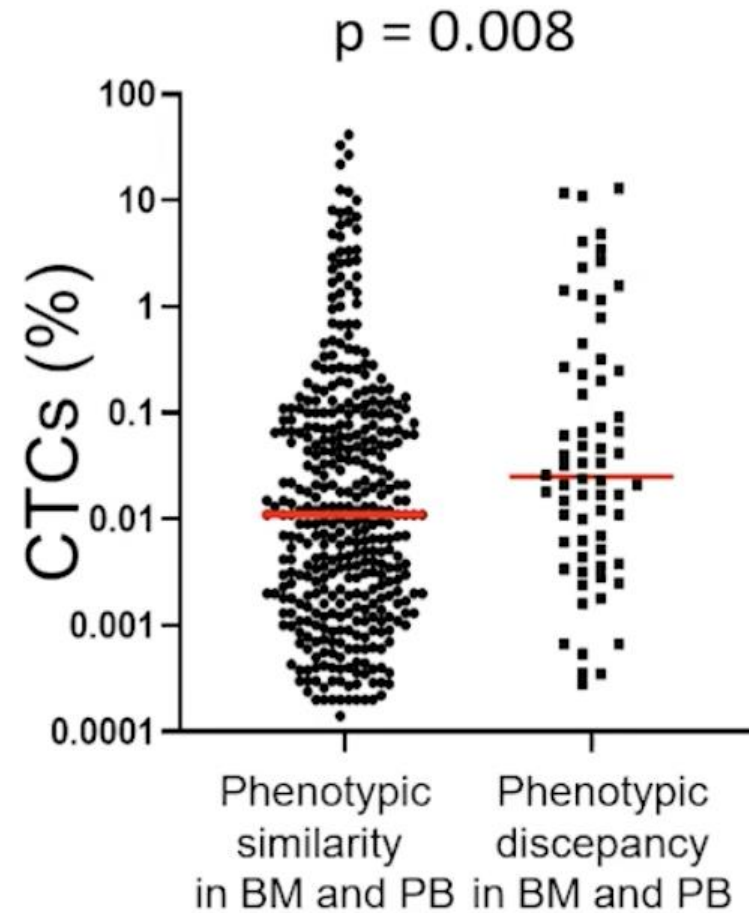
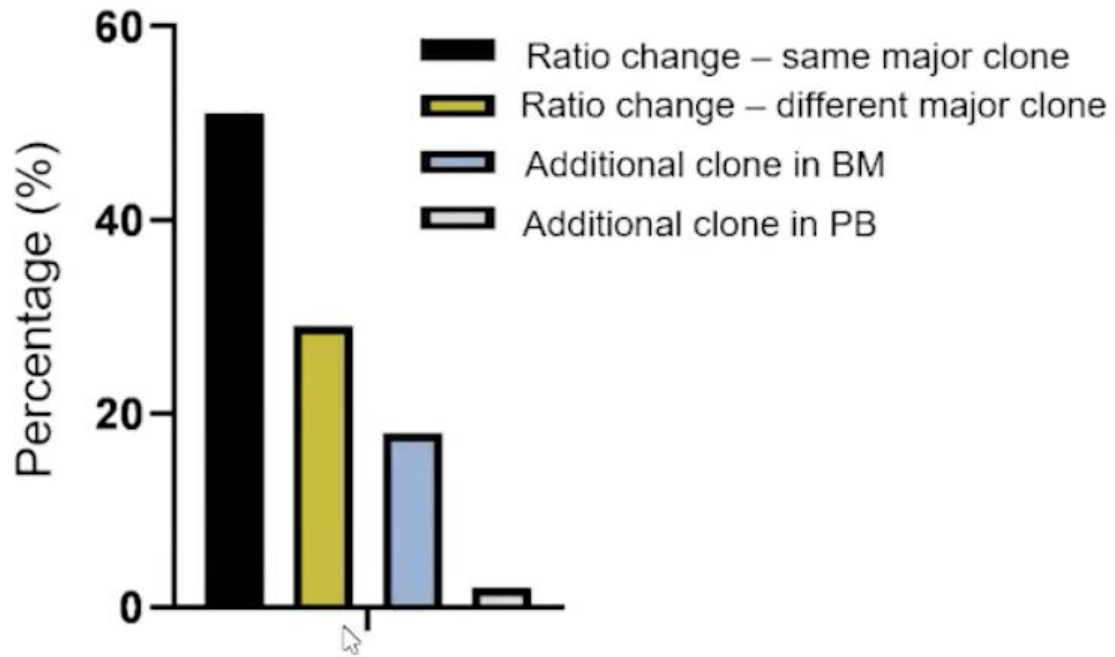
Corrélation CPC/ PC médullaires

detection of CTCs in 468/525 samples (89.1%)
median CTC value: 0.014%

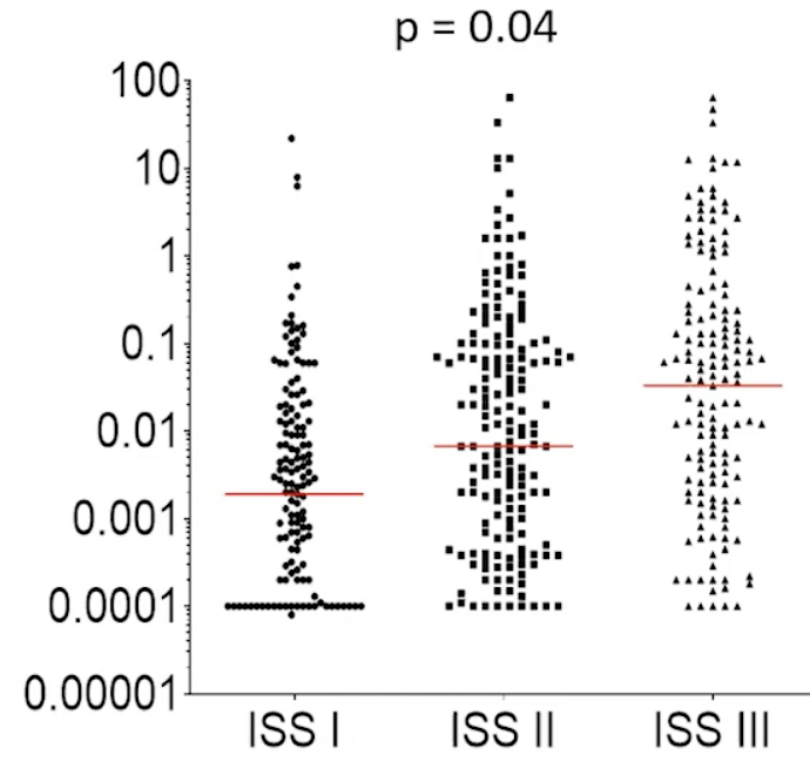
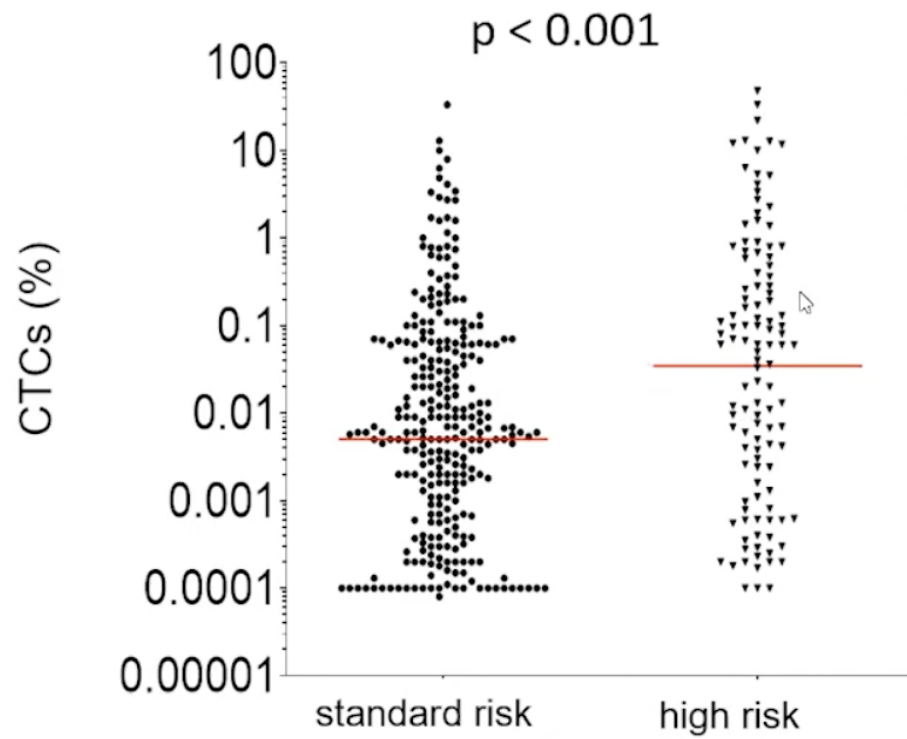


Phénotype CPC/PC médullaires

Phenotypic disagreement in 66/468 samples (14%)



CPC et stade de Myélome

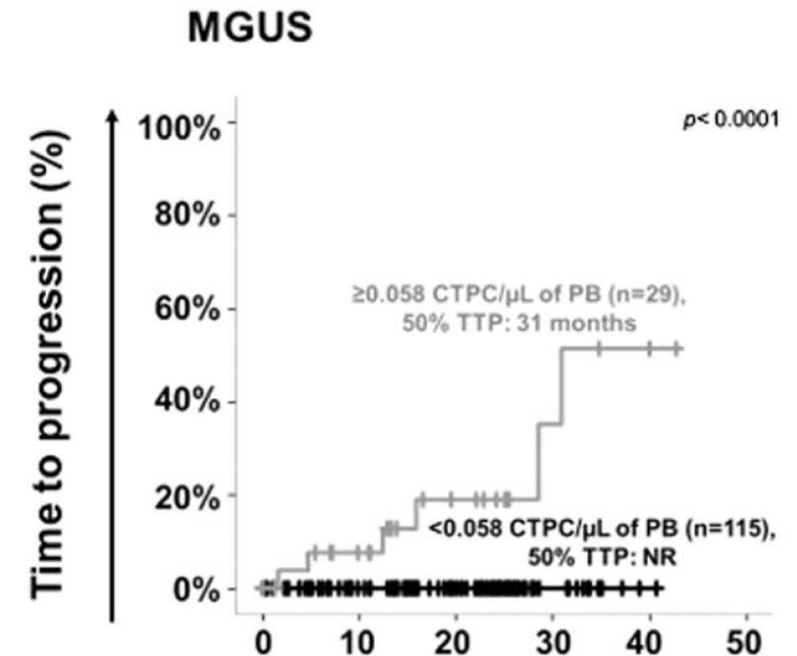


Détection des CPC dans le MGUS

Seulement environ 1 % des patients atteints de MGUS évoluent vers un myélome multiple chaque année.

Le nombre de CPC détectées par NGF permet de distinguer les cas de MGUS à risque élevé ($\geq 0,058$ CPC/ μ L) de progression vers un MM, des cas à faible risque ($< 0,058$ CPC/ μ L) (temps médian jusqu'à progression: 31 mois contre non atteint, respectivement).

La présence de CPC à elle seule ne garantit pas le développement d'un MM, mais elle souligne la nécessité d'une surveillance clinique plus étroite.



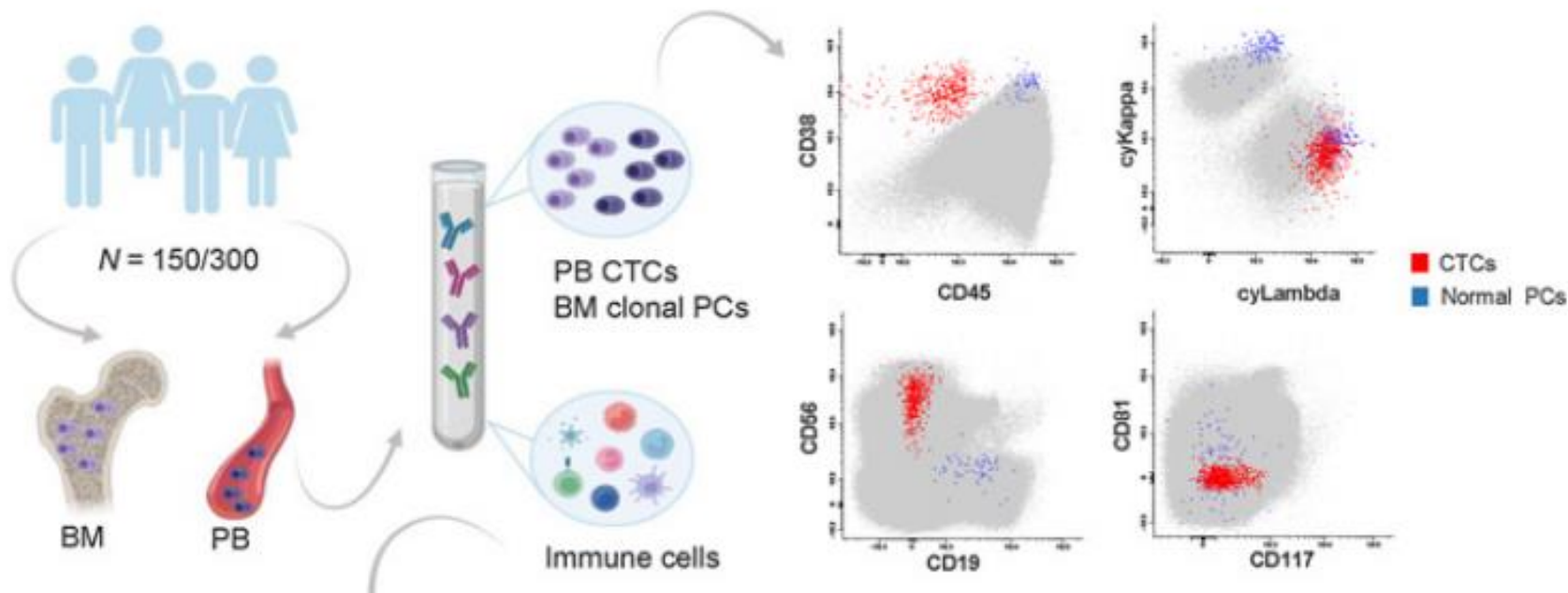
Détection des CPC dans le Myélome indolent

PRÉDIRE LE DÉLAI DE PROGRESSION DANS LE MYÉLOME INDOLENT ?

n = 150 patients avec myélome indolent

Follow-up : 36 mois → n = 30 (20%) de progression pendant le suivi

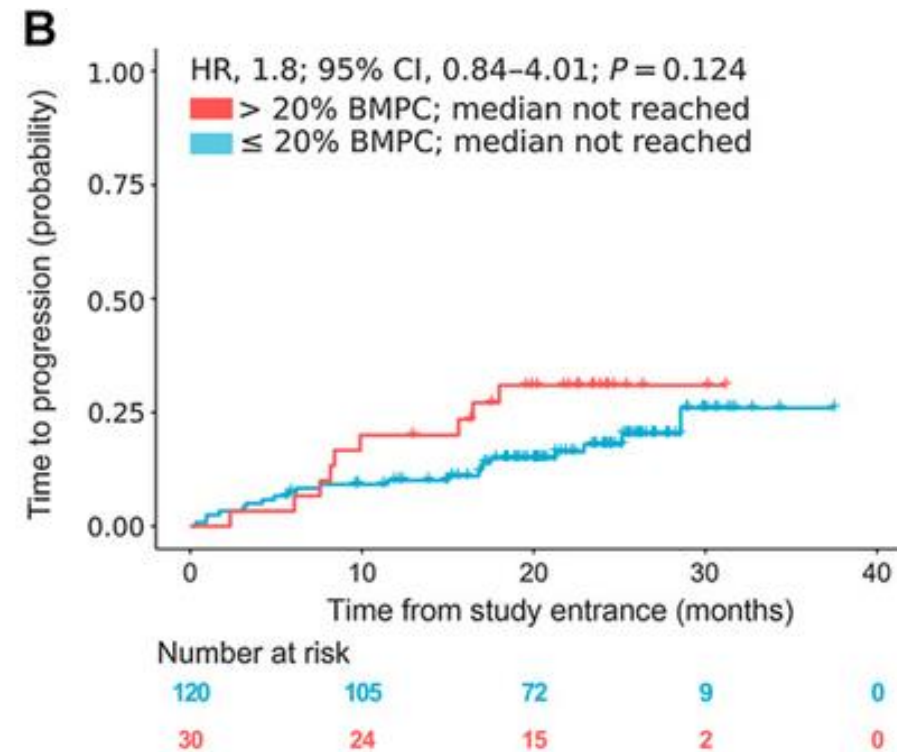
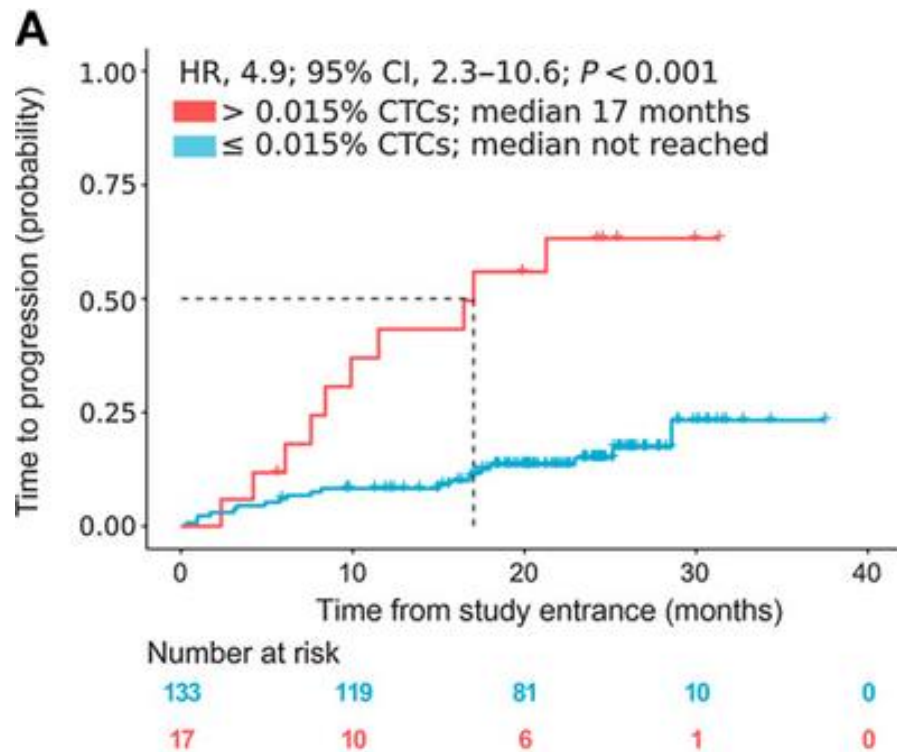
CPC quantifiées au diagnostic de myélome indolent (FACSCanto II ; LoQ : 2×10^{-6})



Détection des CPC dans le Myélome indolent

PRÉDIRE LE DÉLAI DE PROGRESSION DANS LE MYÉLOME INDOLENT ?

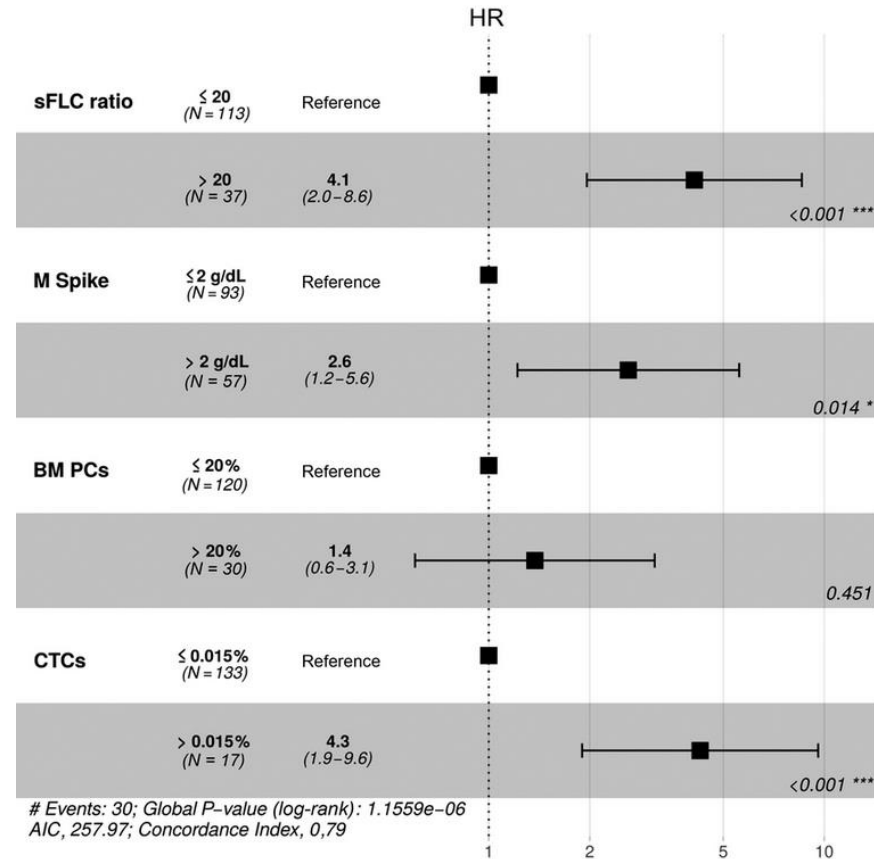
CPC cut-off : > 0,015% (*maximally selected Log-rank statistics*)



Le % de CPC est un meilleur marqueur prédictif de progression que la plasmocytose médullaire

Détection des CPC dans le Myélome indolent

PRÉDIRE LE DÉLAI DE PROGRESSION DANS LE MYÉLOME INDOLENT ?



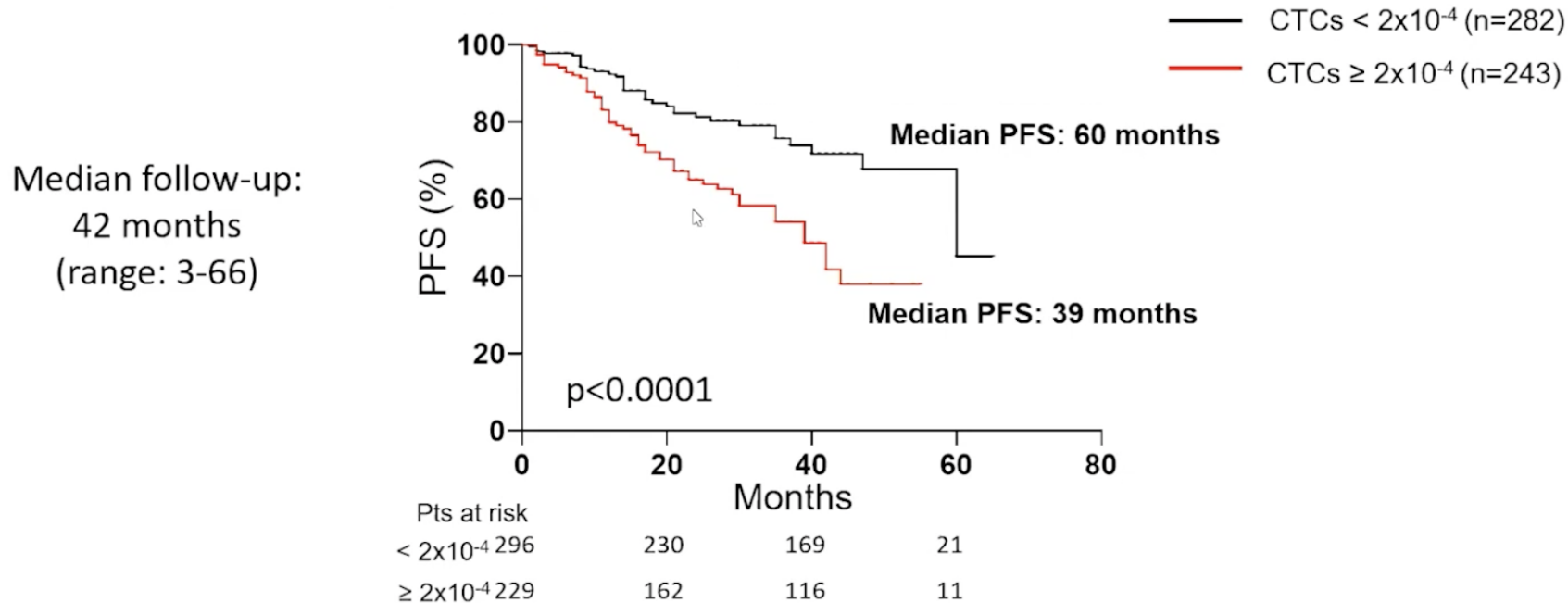
En analyse multivariée, le % de CPC est un marqueur prédictif indépendant de progression

Termini R et al. Clin Cancer Res. 2022



CPC et pronostic dans le MMND

- ❑ CTCs did not correlate with the type of response to induction therapy
- ❑ CTCs > 0.02% CTCs associated with reduced PFS

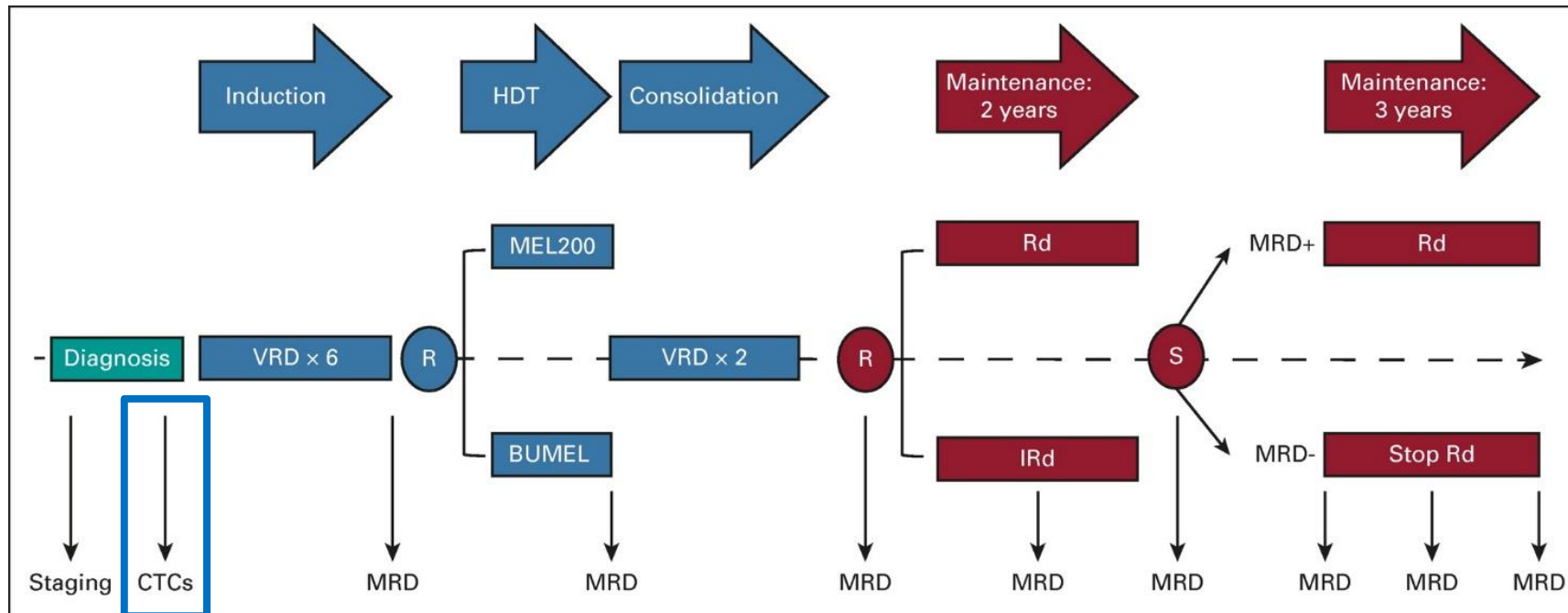


La détection des CPC est possible chez 90 % des patients atteints de NDMM.
Un taux de CPC $\geq 0,02$ % constitue un facteur pronostique défavorable chez les patients traités en dehors des essais cliniques, indépendamment de leur statut de greffe.

Détection des CPC dans le MMND

AFFINER LA CLASSIFICATION PRONOSTIQUE AU DIAGNOSTIC DU MYÉLOME ?

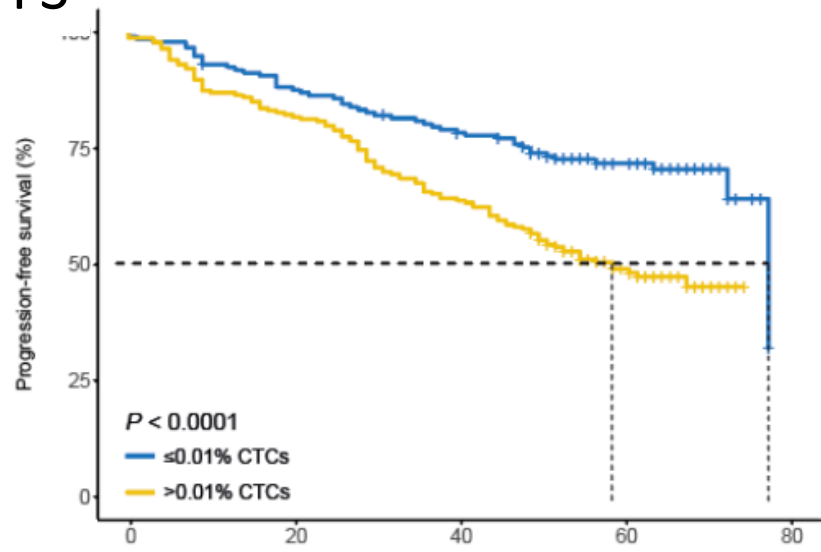
- **n = 374 patients** atteints de **myélome multiple** nouvellement diagnostiqué (PETHEMA/GEM2012MENOS65)
- **Suivi médian : 5 ans**
- **CPC mesurées au diagnostic** de MM - FACSCanto II **LoQ 2×10^{-6}** (≥ 20 tumor cells among $\geq 10 \times 10^6$ nucleated cells)



Détection des CPC dans le MMND

AFFINER LA CLASSIFICATION PRONOSTIQUE AU DIAGNOSTIC DU MYÉLOME ?

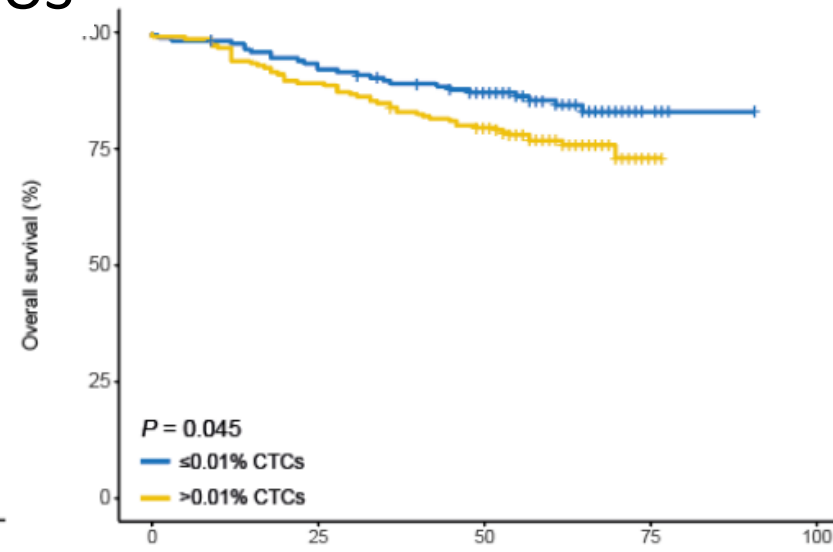
PFS



No. at risk

—	164	144	128	68	0
—	210	173	135	67	0
		Time since study entrance (months)			

OS



No. at risk

—	164	152	135	4	0
—	210	187	164	7	0
		Time since study entrance (months)			

Le % de CPC au seuil de 0,01% est un marqueur prédictif de survie (PFS et OS)



Détection des CPC dans le MMND

AFFINER LA CLASSIFICATION PRONOSTIQUE AU DIAGNOSTIC DU MYÉLOME ?

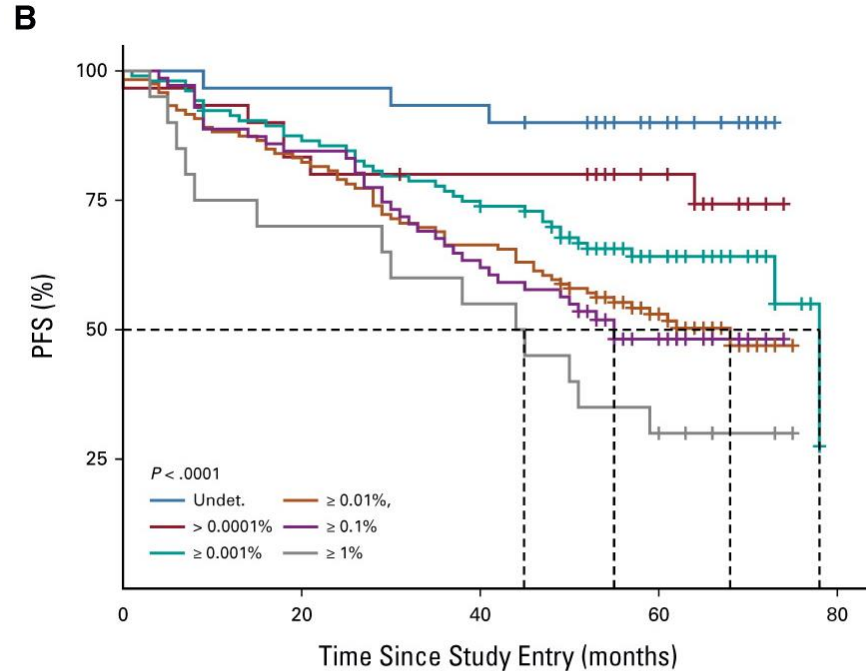
Biomarkers of Tumor Burden	PFS		OS	
	HR (95% CI)	<i>P</i>	HR (95% CI)	<i>P</i>
% BM PCs	1.0 (1 to 1.0)	.13	1.01 (1 to 1.0)	.20
% BM clonal PCs	1.0 (1 to 1.0)	.23	0.99 (0.97 to 1.0)	.47
% CTCs	1.1 (1.0 to 1.2)	.01	1.14 (1.01 to 1.3)	.03

Abbreviations: BM, bone marrow; CTC, circulating tumor cell; HR, hazard ratio; OS, overall survival; PC, plasma cell; PFS, progression-free survival.

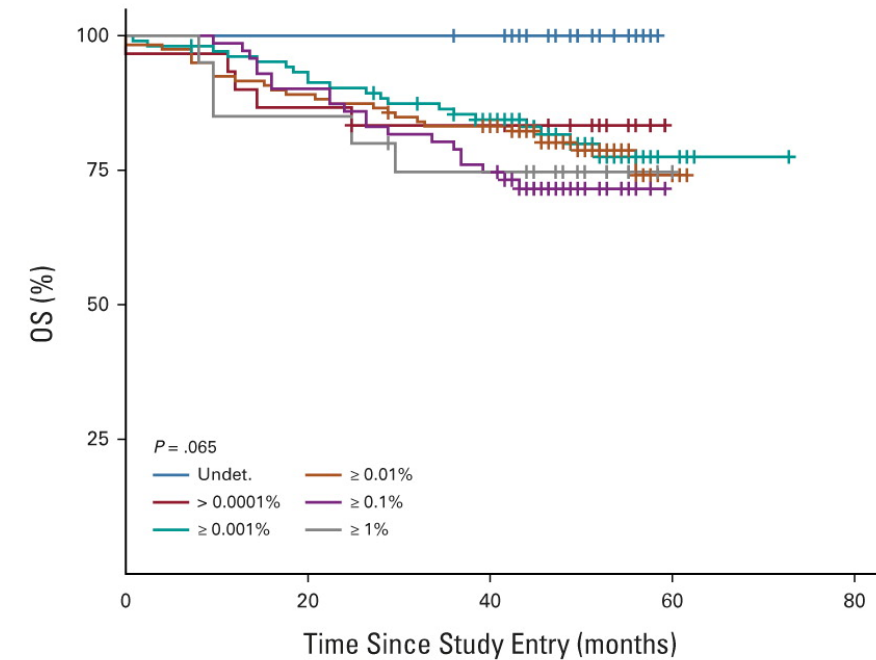
Le % de CTC est un marqueur prédictif de survie indépendant, contrairement à la plasmocytose médullaire

Détection des CPC dans le MMND

AFFINER LA CLASSIFICATION PRONOSTIQUE AU DIAGNOSTIC DU MYÉLOME ?



No. at risk:					
Undet.	30	29	28	17	0
> 0.0001%	30	25	23	15	0
$\geq 0.001\%$	104	90	77	36	0
$\geq 0.01\%$	119	99	79	44	0
$\geq 0.1\%$	71	60	45	17	0
$\geq 1\%$	20	14	11	6	0

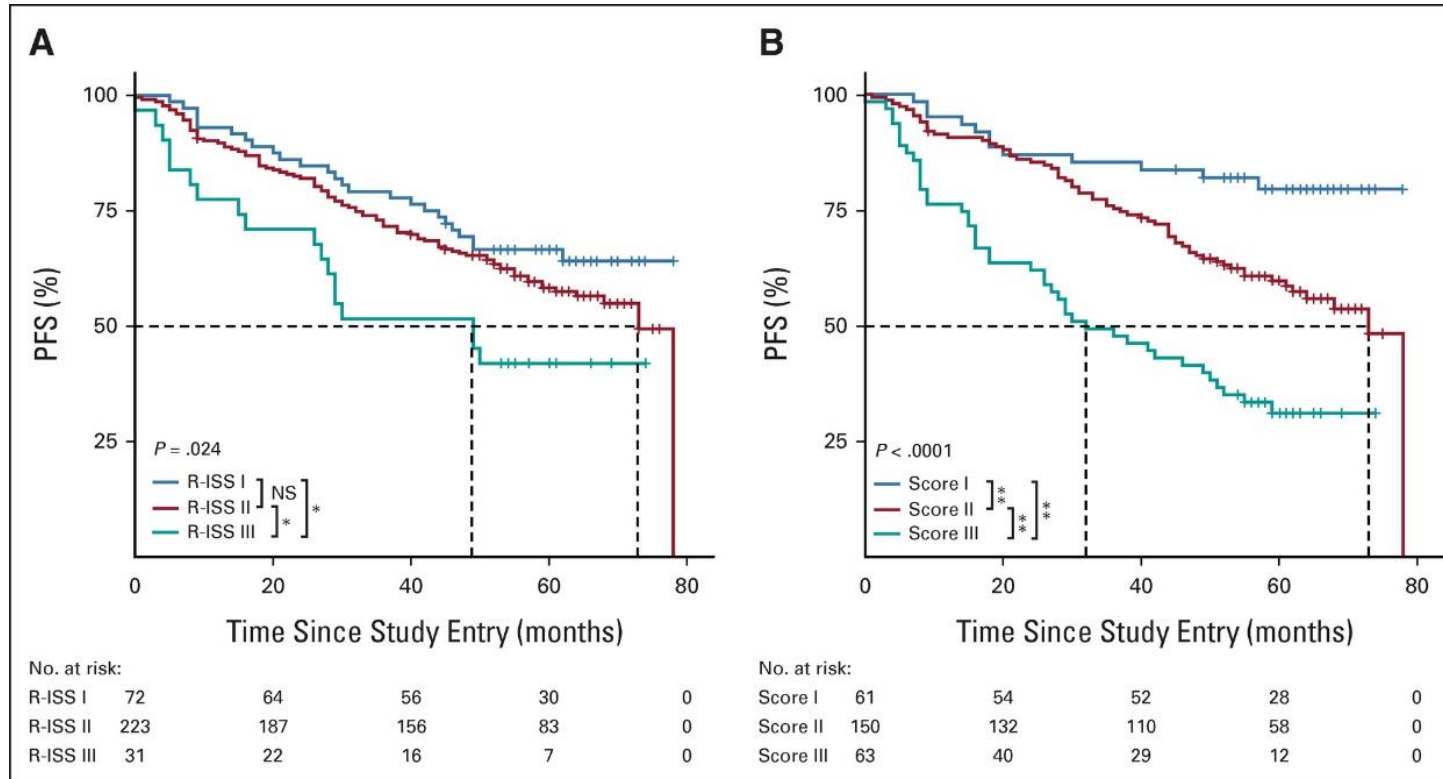


No. at risk:					
Undet.	30	30	29	0	0
> 0.0001%	30	26	24	0	0
$\geq 0.001\%$	104	96	82	4	0
$\geq 0.01\%$	119	106	97	6	0
$\geq 0.1\%$	71	64	53	0	0
$\geq 1\%$	20	17	14	1	0

Le % de CPC permet de stratifier avec précision les patients en fonction de la PFS, mais pas de l'OS

Détection des CPC dans le MMND

AFFINER LA CLASSIFICATION PRONOSTIQUE AU DIAGNOSTIC DU MYÉLOME



none (I), one or two (II), and three or more (III) of the following risk factors

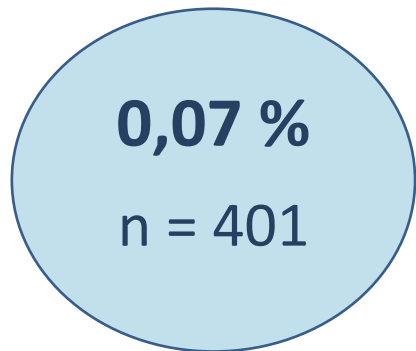
- Albumin < 3.5 g/dL
- β 2-microglobulin \geq 5.5 mg/L
- elevated lactate dehydrogenase levels
- high-risk cytogenetic abnormalities [t(4;14), t(14;16), and/or del(17p)],
- and \geq 0.01% circulating tumor cells**

L'intégration du % de CPC au score R-ISS améliore les performances prédictives de survie

Détection des CPC dans le MMND

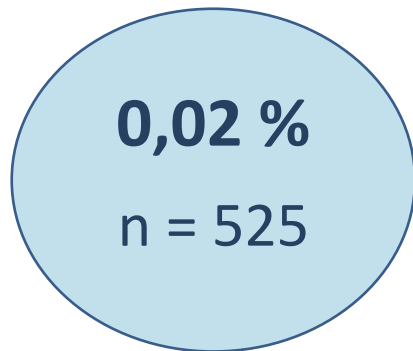
AFFINER LA CLASSIFICATION PRONOSTIQUE AU DIAGNOSTIC DU MYÉLOME

Taux élevés de CPC sont associés à une **survie réduite (PFS et/ou OS)**



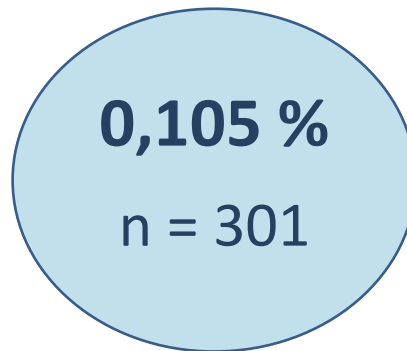
*Bertamini
JCO 2022*

PFS & OS



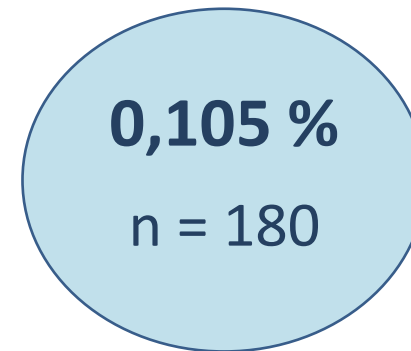
*Kostopoulos
JCO 2023*

PFS



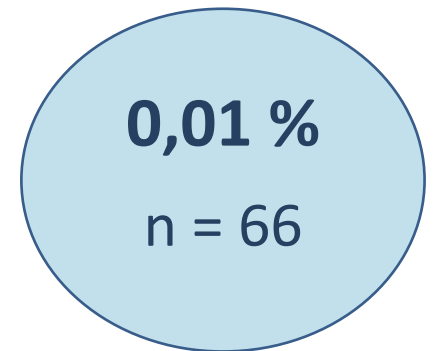
*Xia
Front Oncol 2023*

PFS & OS



*Han
Hematology 2021*

PFS & OS

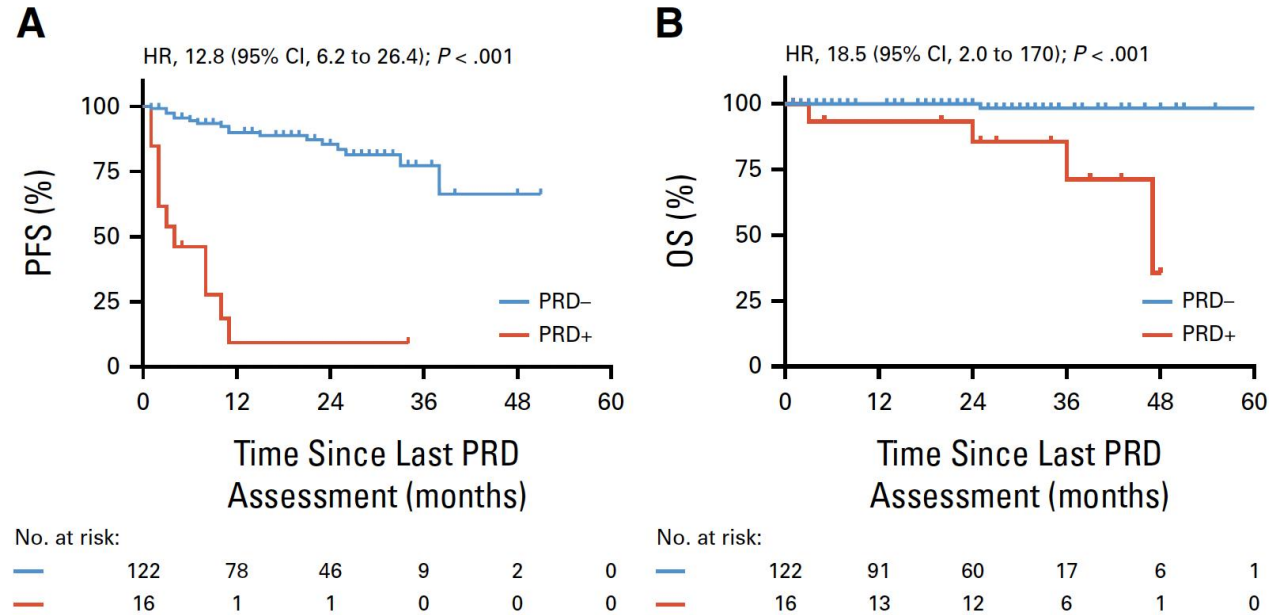


*Sanoja-Flores
BCJ 2019*

PFS & OS



CPC en maintenance



La détection d'une MRD par NGF chez 16 patients sur 138 (11,5 %) était associée à un risque multiplié par 13 de progression de la maladie et/ou de décès. La PFS et la OS étaient respectivement de 2,5 et 47 mois.

Détection des CPC dans la MRD

SE SUBSTITUER À L'ÉVALUATION INVASIVE DE LA MRD MÉDULLAIRE ?

199 paired samples		BM	
		NGF-	NGF+
PB	BF-	137 (69%)	41 (20.5%)
	BF+	2 (1%)	19 (9.5%)

Discordances fréquentes entre la MRD sanguine et médullaire

Résumé des études

MGUS:

pronostic; risque d'évolution vers MM

Myélome indolent:

pronostic; facteur indépendant du risque d'évolution vers MM

NDMM:

Stratification R-ISS amélioré, facteur de pronostic indépendant

Définition de High-risk MM (PCL-like, si CPC > 2%)

Corrélation avec PFS et OS

MM en MRD/maintenance: corrélié au risque de rechute

mais pas aussi sensible que la MRD médullaire

Analyse des CPC chez 50 patients au diagnostic de gammopathie monoclonale

Réactif retenu: **Dako Agilent**



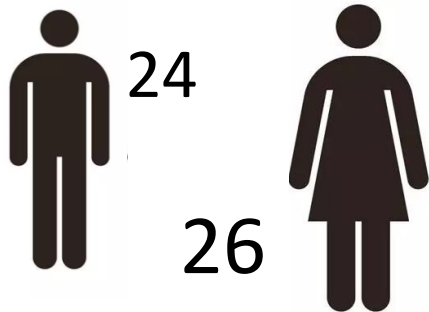
Population totale
N=50

CTC+ $\geq 0,01\%$
N=20

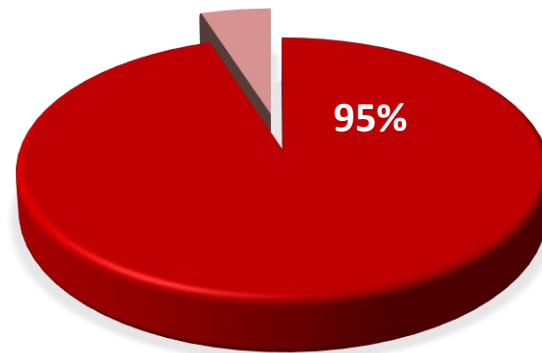
CTC indétectables (CTCi)
N=30

Age médian [IQR]:
69 [60–76]

Ratio H/F : 0,9

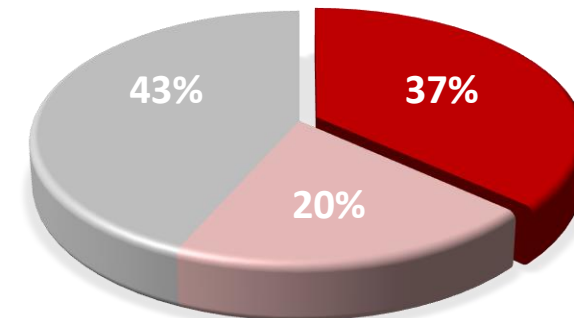


myélome indolent



myélome multiple
(MM)

MGUS



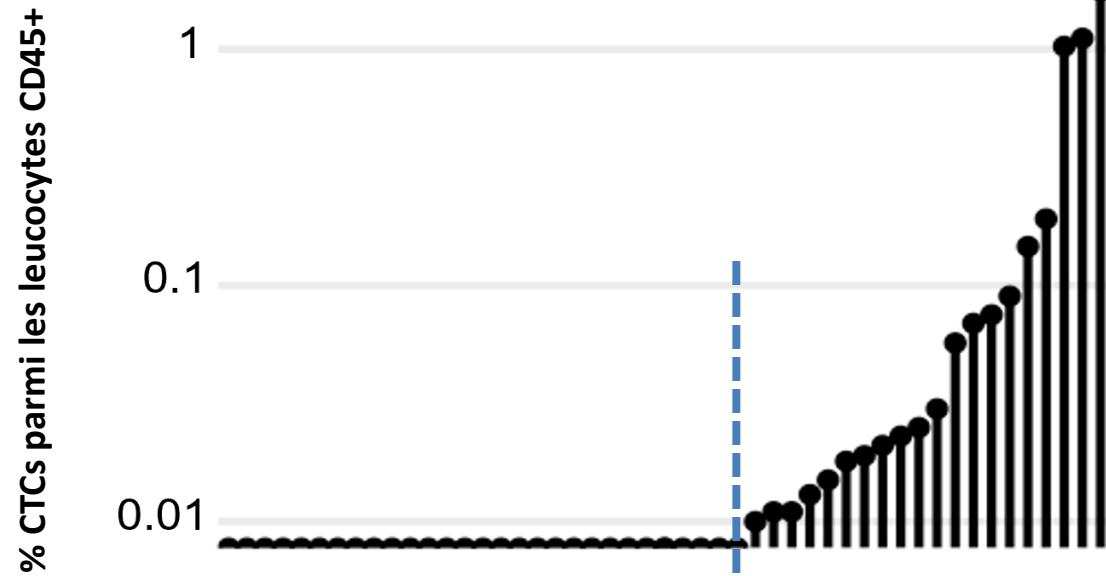
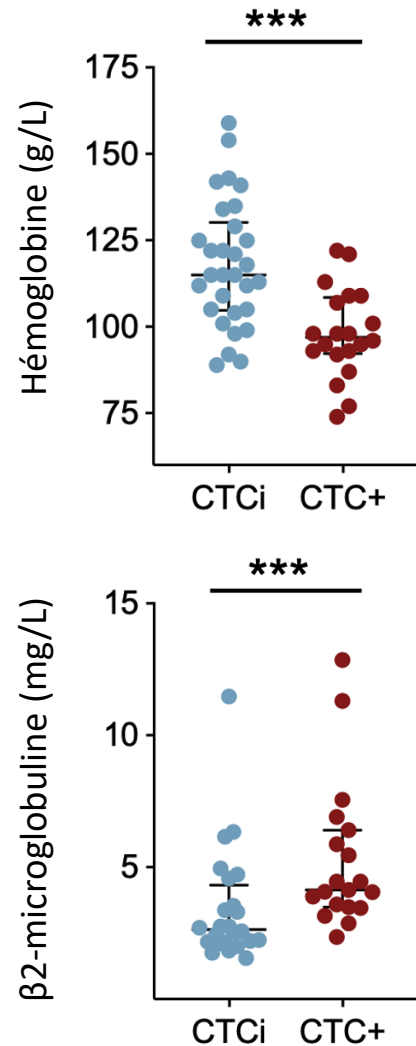
myélome indolent

myélome
multiple
dont 2 (7%)
plasmocytomes

N Freynet, HHM, Paris



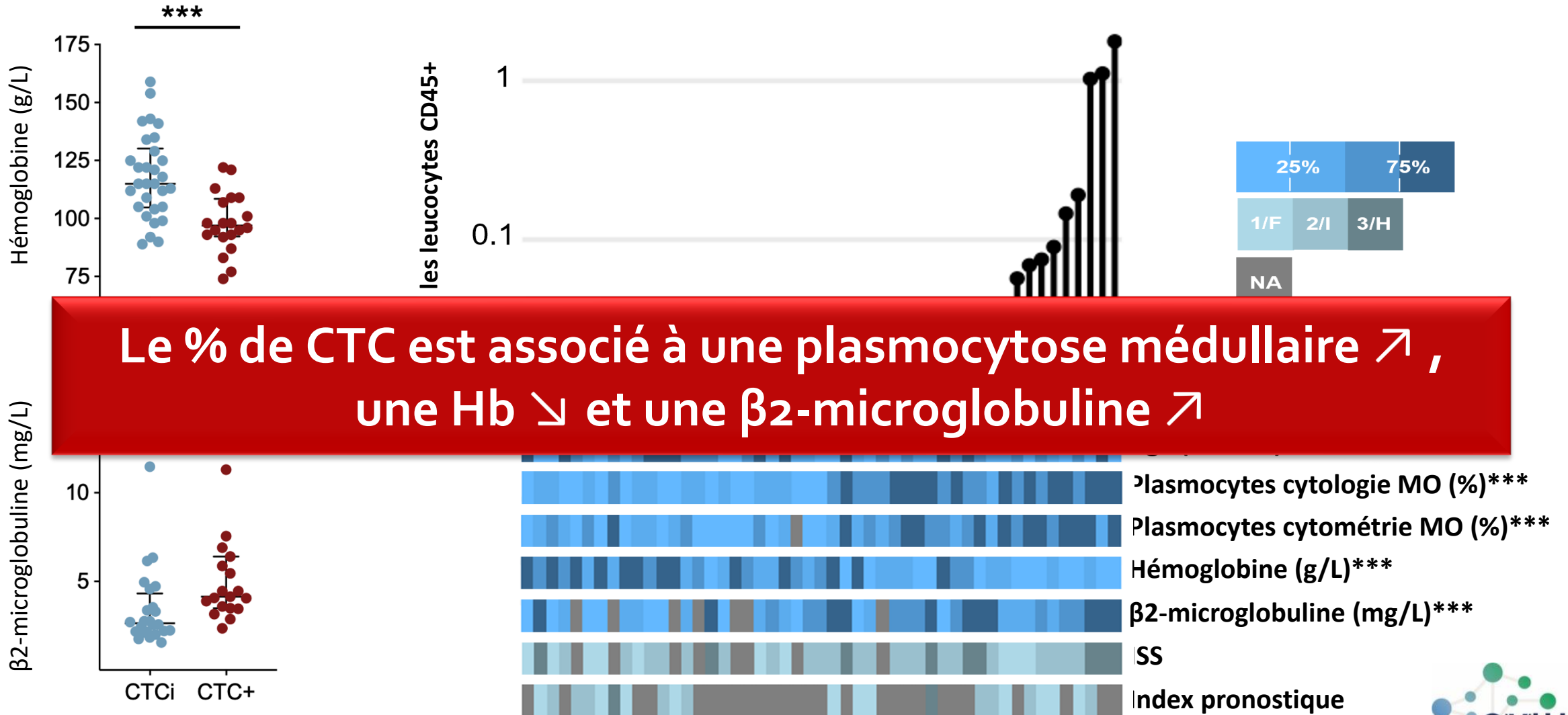
Analyse des CPC chez 50 patients au diagnostic de gammopathie monoclonale



N Freynet, HHM, Paris



Analyse des CPC chez 50 patients au diagnostic de gammopathie monoclonale



Conclusions

En pratique:

- **Dako et PerFix : réactifs de perméabilisation fiables pour la détection des CPC**
- **Technique simple nécessitant un volume sanguin minimal ($\approx 300 \mu\text{L}$; 1 M de cellules) et un temps technique adapté à la routine**
- **Détection des CPC chez 40% des patients au seuil de 0.01% au diagnostic de gammopathie monoclonale (plus fréquente dans le MM)**

Indications: risque d'évolution dans des cas de myélome indolent

Projets CPC

- Mise à disposition de protocoles pré-analytiques et analytiques sur le site Internet CytHem: été 2026
- Publication d'un article sur les résultats des analyses à HHM par Nicolas Freynet
- Etude inter-laboratoire de standardisation
- Etude multicentrique de recherche de CPC dans les gammopathies rares: amyloses AL, plasmocytomes, myélomes non-secrétants

MRD par Cytométrie en flux

5 mai: Webinar de P Moreau et S Wulleme

250 participants (170 réunis dans 18 centres et 80 en connexions individuelles)

Phénotypage des PC:

- CD38/CD138 marqueurs d'Identifications plasmocytaires
- CD45 CD19 CD56 CD27 CD28 CDB1 CD117 marqueurs de diff. des Pc normaux/anormaux
- confirmation par l'étude de la restriction isotypique K/L (marquage en ic) !

Sensibilité obligatoire: **0.001%**

Acquérir \geq 2 M de cellules

Faire attention à la qualité de l'échantillon: hémodilution !!

Etats des lieux en France

ETAT DES LIEUX (réponses aux questionnaires) :

16 CHU, 10 CH, 3 établissements privés

Diagnostic: 26/29 laboratoires

Diag+MRD: 13/29 laboratoires

Panel: au moins 8 couleurs + K/L intra-cyto

Sensibilité MRD: 10^{-4} à 10^{-5}

Niveau: bon à intermédiaire

Fréquence MRD: 1 à 2/mois à plusieurs /semaines

Souhait de mise en place sur la demande des cliniciens :
8 labos

BESOIN DE FORMATION & MISE EN PLACE DE LA MRD :

Nous restons à disposition de tous les laboratoires:

- Via le partage des protocoles techniques du panels d'anticopr « Euroflow » de l'essai CASSIOPEIA



- Via la mise à disposition pour les adhérents des protocoles techniques de marquage/acquisition/analyse/rédaction des compte rendu

CytHem MYELOME

- Participation aux ateliers de formation
- Participation à des Contrôle-Inter-Laboratoire (CIL)

MRD par Cytométrie en flux

Coût : 300~380 €
pris en charge par la sécurité sociale.

? A quel moment effectuer l'analyse ?

Proposition:

en début de la maintenance et 1 an et 2 ans après

FIN