



Anomalies des chromosomes 2 et 8 associées aux LLC agressives : rôle dans la résistance aux drogues

TEACLL study : Two Eight chromosomal Abnormalities in Chronic Lymphocytic Leukemia




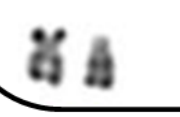
8èmes Journées du FILO 24/11/22

**Elise CHAPIRO
Florence NGUYEN-KHAC**

AP-HP. Sorbonne Université, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris
Centre de Recherche des Cordeliers, équipe Drug resistance in hematological malignancies

Anomalies chromosomiques dans la LLC

Les 4 anomalies chromosomiques « classiques »

	Gènes impliqués	Fréquence
	Délétion 13q <i>MIR15A</i> <i>MIR16-1</i>	55%
	Trisomie 12 ?	10-15%
	Délétion 11q <i>ATM</i>	6-20%
	Délétion 17p <i>TP53</i>	5-40%

Autres anomalies chromosomiques récurrentes

Anomalies moins connues mais fréquentes

Délétion 6q : 6%

Gain 2p : 7-22% (LLC réfractaires)

Anomalies rares mais récurrentes (< 5%)

Trisomie 18, trisomie 19

t(14;18) *IGH/BCL2*

t(14;19) *IGH/BCL3*

Délétion 14q

Délétion 8p

Gain 8q/translocation impliquant *MYC*

3 anomalies chromosomiques associées aux formes agressives de LLC

Gain 2p

Associées à des facteurs de mauvais pronostic

- *IGHV* non mutés
- Del17p
- Del11q
- Caryotype complexe

↘ OS et/ou TTFT

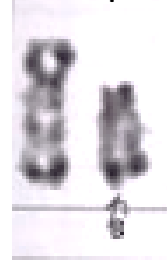
Résistance aux thérapies ciblées

Gain 2p : RFC, ibrutinib (Cosson et al., 2017, Kostopoulou et al., 2019, On behalf FILO)

Del8p : ibrutinib (Burger et al., 2016)

Del 8p

del8p

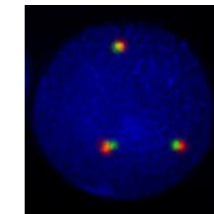
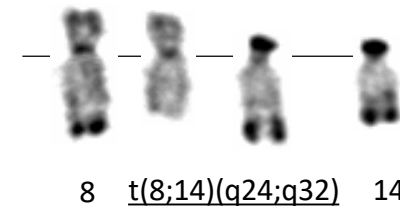


duplication 2p



Anomalies du gène *MYC* (α -*MYC*)

Translocation *MYC*



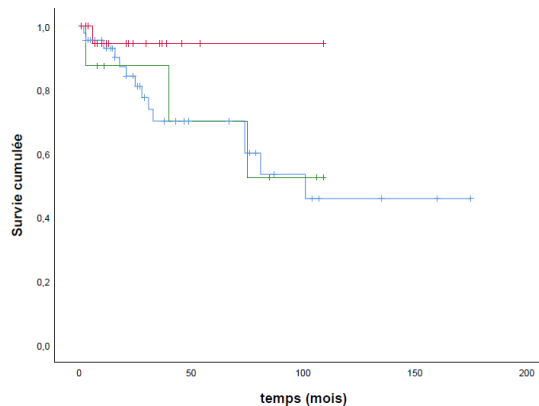
Gain *MYC*

Objectifs

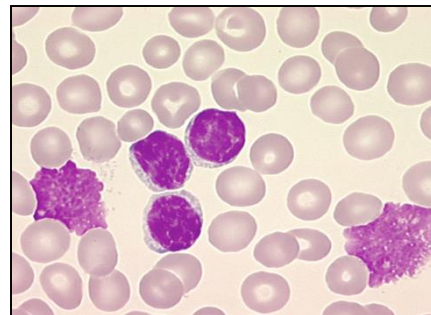
Anomalies rares, non recherchées systématiquement, non étudiées dans les protocoles cliniques

- ① Evaluer leur signification pronostique sur de larges cohortes
- ② Mieux comprendre le rôle de ces anomalies dans la résistance aux traitements

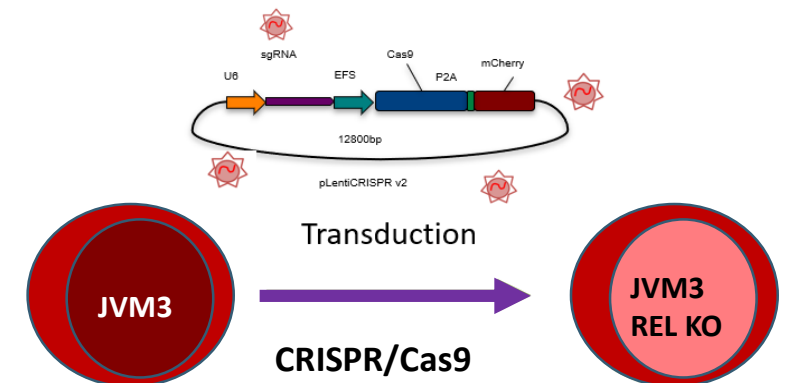
Suivi clinique et réponse au traitement
in vivo



Cellules primaires
ex vivo



Modèles cellulaires
in vitro



Patients

Etude nationale, collaborative, multicentrique, rétro- et prospective

Recrutement

- National :

protocoles cliniques FILO (FMP2007, SA2007, BOMP, GAI, IDA ...)

FILO

GFCH

- Local : cohorte LLC contrôle (n=155)



Collecte des données biologiques, cliniques et du matériel

Confirmation des anomalies d'intérêt par FISH/SNP-array

Gain 2p
n=73

Del 8p
n=57

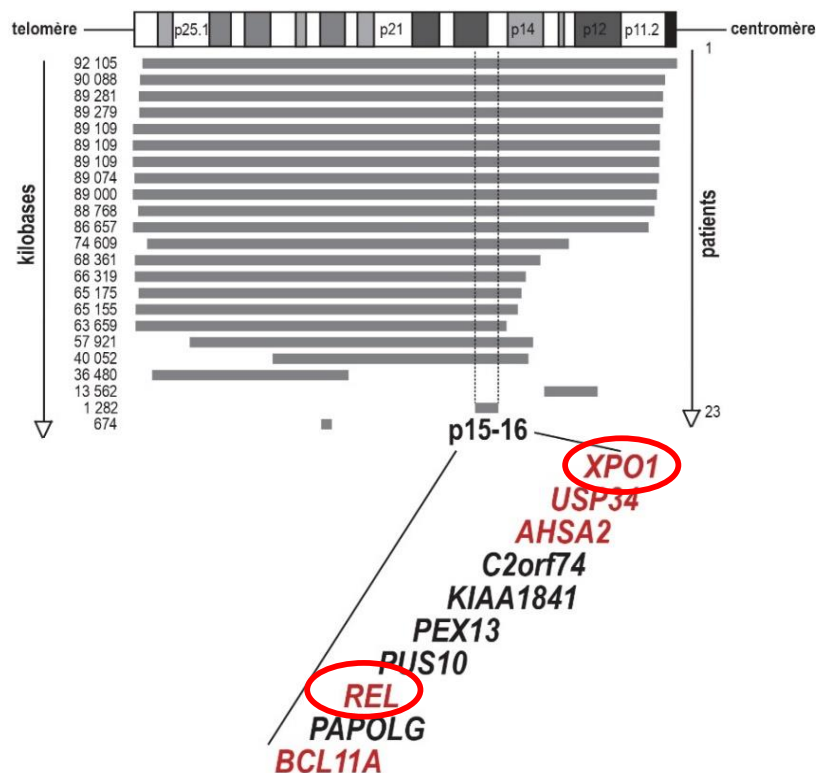
a-MYC
n=106

→ Inclusions en cours

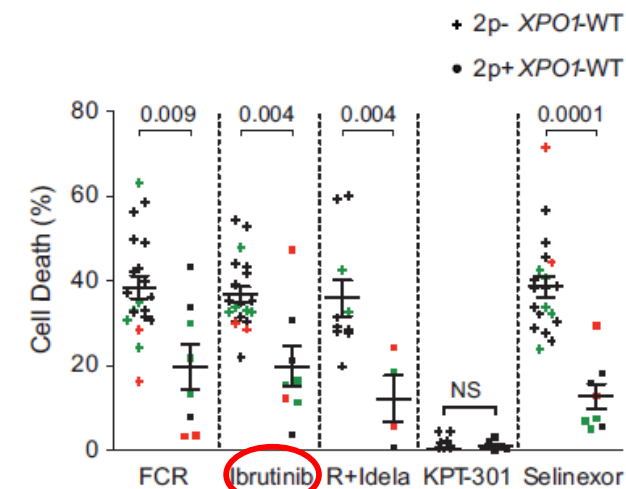
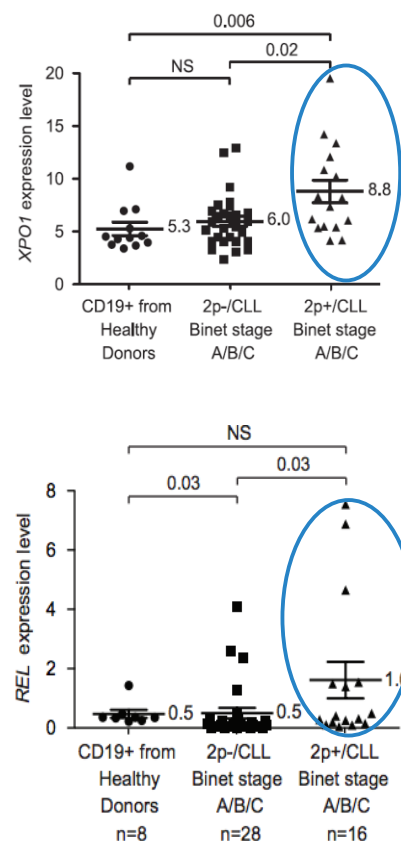
Gain 2p : résultats acquis

Région minimale de gain : 2p15-16.1

Edelmann, *Blood*, 2012; Cosson, *Leukemia* 2017, Leeksa, *Haematologica*, 2021



Cellules primaires de LLC

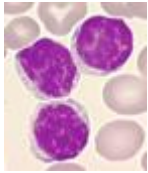


Le gain 2p est associé à une surexpression de XPO1 et REL
 Importance de XPO1 dans la résistance aux traitements

Rôle de REL ?

Hypothèse : la surexpression de *REL* due au gain 2p joue un rôle dans la résistance aux traitements de la LLC (BTKi) en impactant la voie NF- κ B

Cellules primaires 2p+

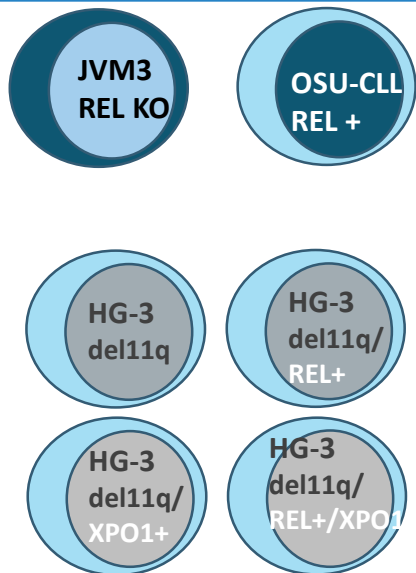


1. Impact du gain de REL sur la réponse aux drogues (BTKi covalents et non covalents)

Réponse aux drogues anti-LLC (BTKi)

Mortalité cellulaire : Cytométrie en flux
Viabilité cellulaire : Cell TiterGlo, MTS

Modèles cellulaires



2. Modulation de REL dans la LLC : analyse voie NF- κ B et gènes cibles de REL

Activité de la voie NF- κ B
Gènes cibles de REL

ELISA, ddPCR, Immunoblot

3. Conséquences fonctionnelles des coopérations oncogéniques LLC 2p+

(a) REL et XPO1
(b) REL et/ou XPO1 et la délétion 11q

Cellules 2p+, 2p+/del11q
2p-, 2p-/del11q

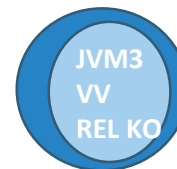
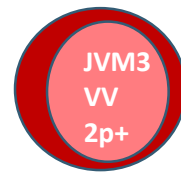
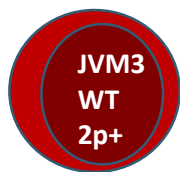
*Réponse aux drogues anti-LLC (BTKi),
association BTKi/selinexor ; BTKi/venetoclax*

4. Impact du gain 2p sur les voies de signalisation :

Single-cell RNA-Seq

Cellules 2p+ vs 2p-

Gain 2p : résultats préliminaires – modèles cellulaires

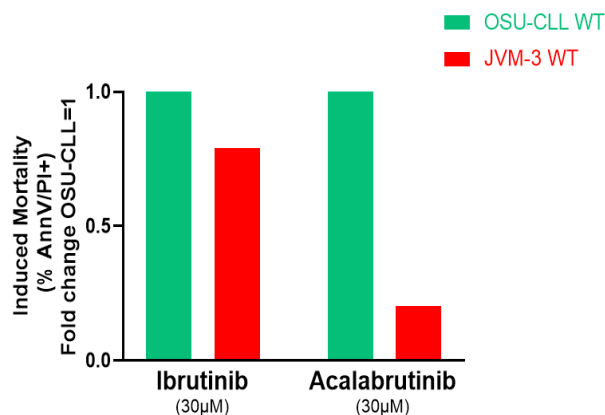


3 clones

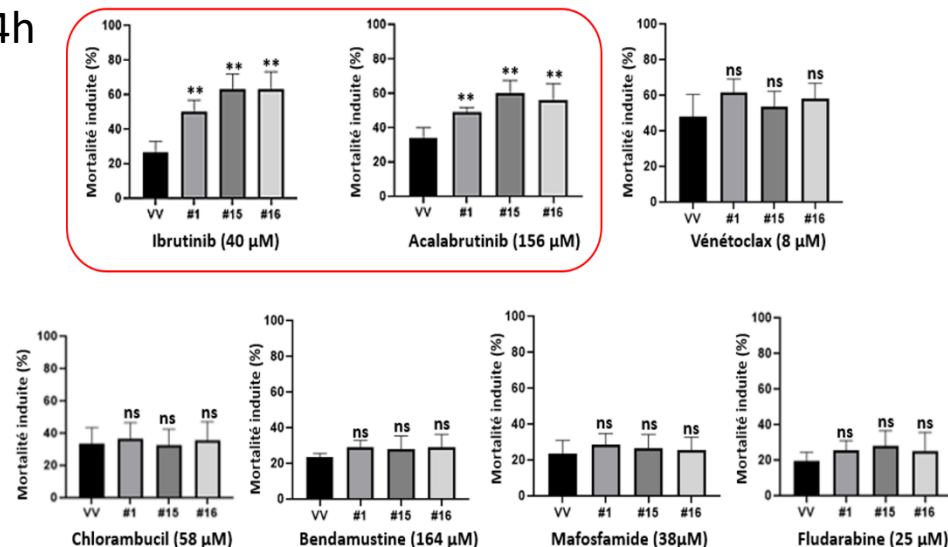
Daphné Krzisch, M2
Léa Dehgane, PhD

Réponse aux drogues anti-LLC (marquage Ann/PI – CMF)

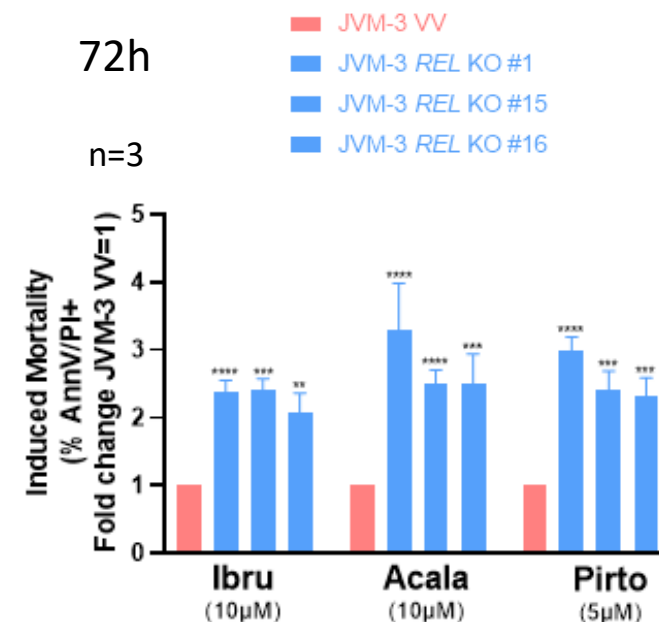
72h



24h



72h



- La lignée JVM-3 (2p+) est moins sensible aux BTKi que la lignée OSU-CLL (2p-)
- Cytotoxicité induite par les BTKi plus importante dans les clones JVM-3 REL KO
- Pas de différence observée avec les autres drogues anti-LLC

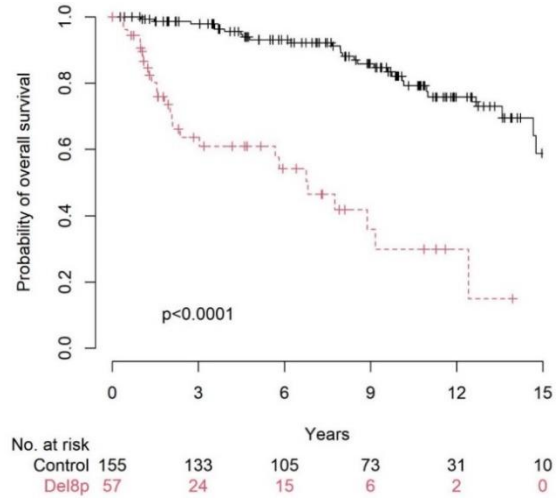
→ REL est spécifiquement impliqué dans la réponse aux BTKi

Del8p : association à des facteurs de pronostic défavorable

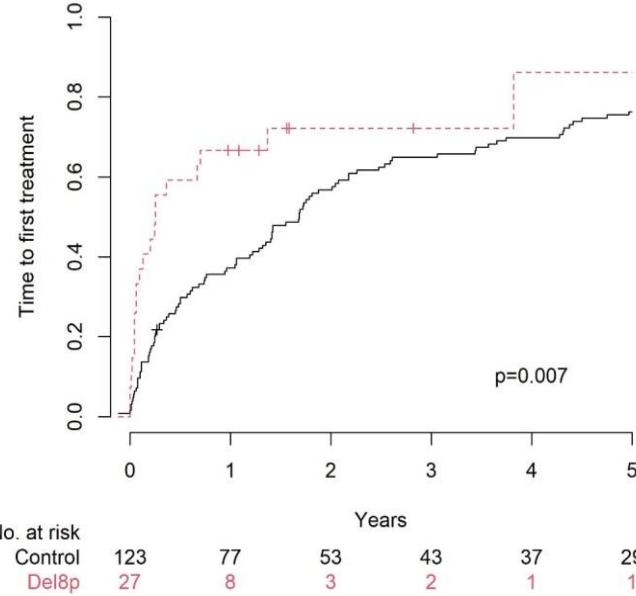
Parameter	Del8p N=57	Non-del8p N=155	P-value
Sex (F)	24/57 (42.1%)	61/155 (39.4%)	0.838
Age at diagnosis, years median (min-max)	59.0 (31.0-86.0)	60.0 [25.0-94.0]	0.906
Binet stage at diagnosis			0.097
A	26/36 (72.2%)	97/115 (84.3%)	
B	8/36 (22.2%)	17/115 (14.8%)	
C	2/36 (5.6%)	1/115 (0.9%)	
Treated	48/55 (87.3%)	138/155 (89.0%)	0.916
Number of treatments, median (min-max)	2.0 (0.0-7.0)	2.0 [0.0-9.0]	0.315
IGHV unmutated	35/48 (72.9%)	70/151 (46.4%)	0.002
TP53 disrupted (mutated and/or deleted)	22/47 (46.8%)	25/97 (25.8%)	0.020
Complex karyotype (>=3 abn)	33/46 (71.7%)	34/155 (21.9%)	<0.001
Highly complex karyotype (>=5 abn)	20/46 (43.5%)	12/155 (7.7%)	<0.001
Number of chromosomal abnormalities by karyotype, median (min-max)	4.0 (1.0-14.0)	1.0 (0.0-8.0)	<0.001
Döhner FISH abnormalities			
Del13q	32/54 (59.3%)	97/155 (62.6%)	0.787
Del17p	20/55 (36.4%)	16/154 (10.4%)	<0.001
Tri12	4/53 (7.5%)	34/154 (22.1%)	0.031
Del11q	27/52 (51.9%)	27/155 (17.4%)	<0.001
8q24 (MYC) gain	25/57 (43.9%)	6/155 (3.8%)	<0.001
2p gain	14/56 (25.0%)	6/155 (3.8%)	<0.001

Del8p : impact clinique

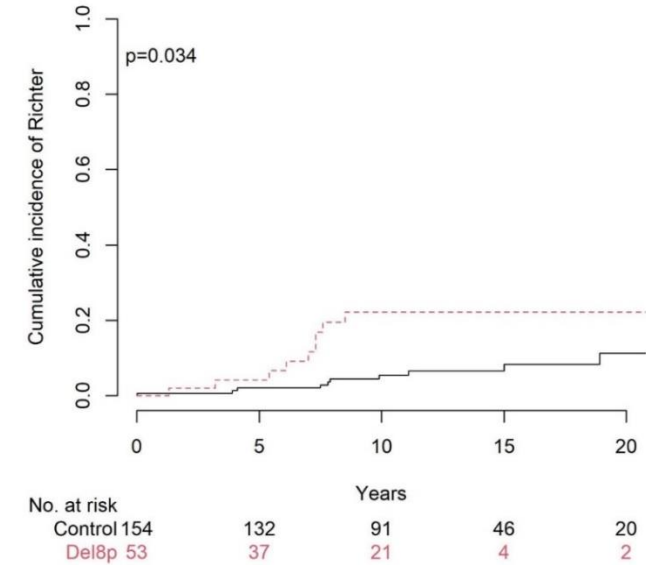
Overall survival



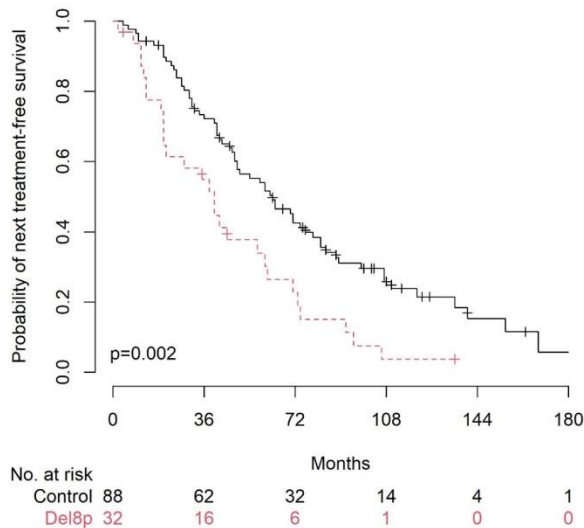
Time to first treatment



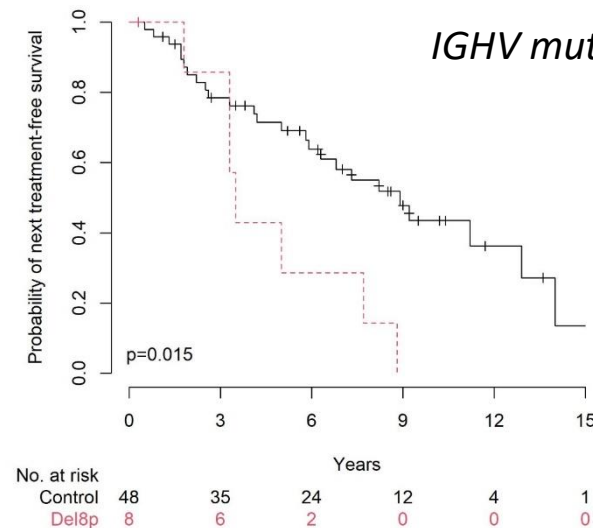
Incidence of Richter Transformation



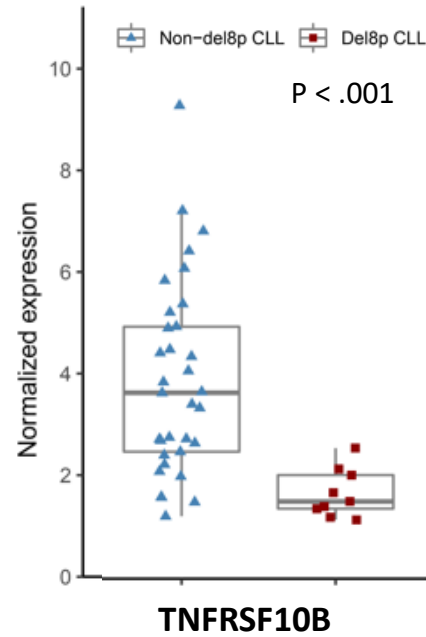
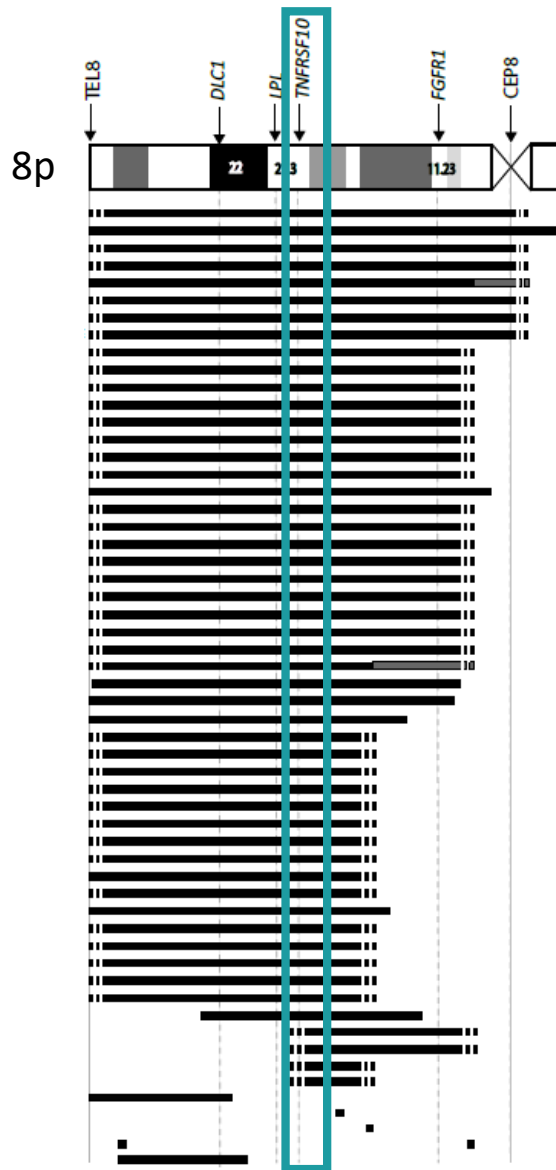
Time to next treatment after fludarabine-based regimen



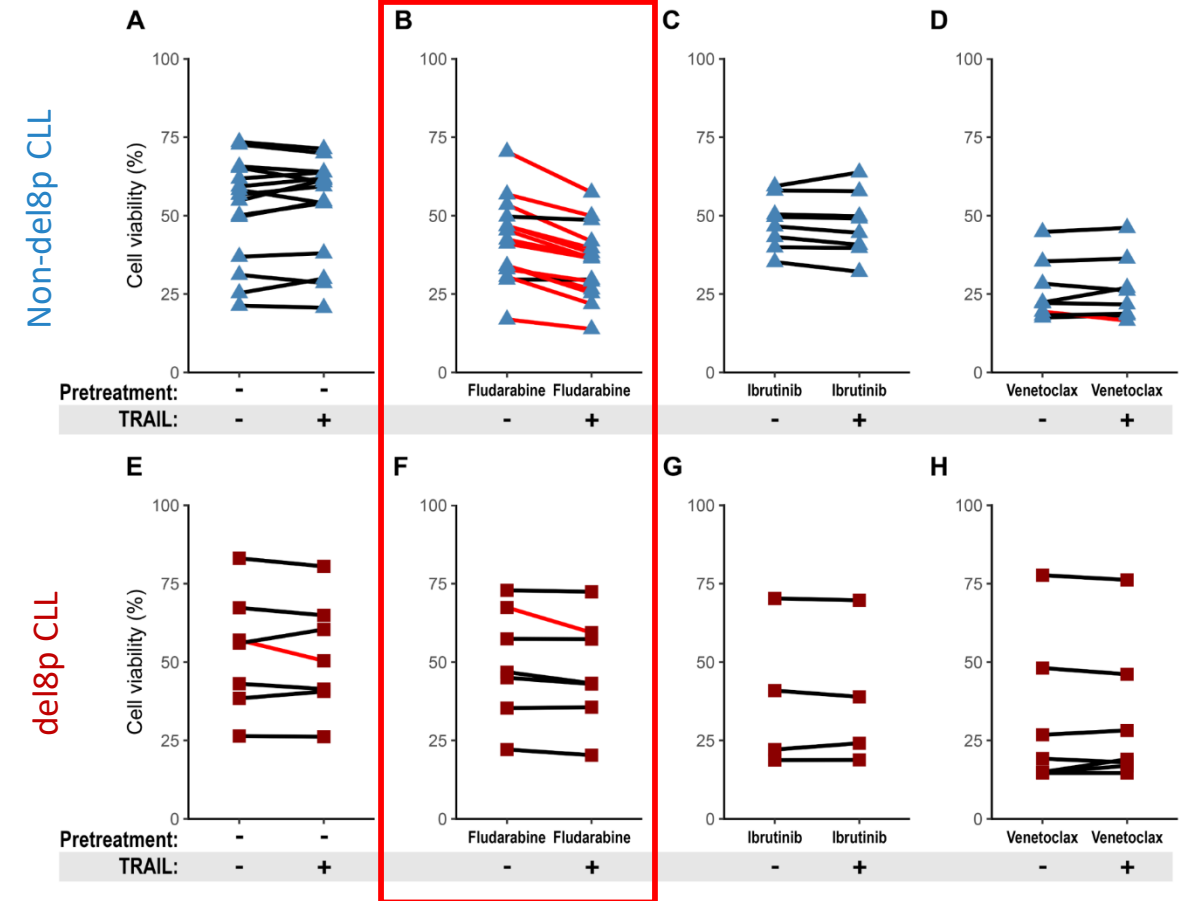
IGHV mutated



Del8p : relevance des gènes *TNFRSF10*



Del8p → expression diminuée de TNFRSF10 B



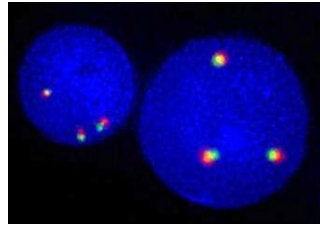
Perte de la potentialisation par TRAIL de l'apoptose induite par la fludarabine dans les cellules del8p

Gain et translocations *MYC* : résultats préliminaires

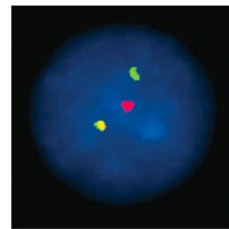
Sur les 82 premiers patients inclus

Gènes/chromosomes partenaires des t(*MYC*), n=33

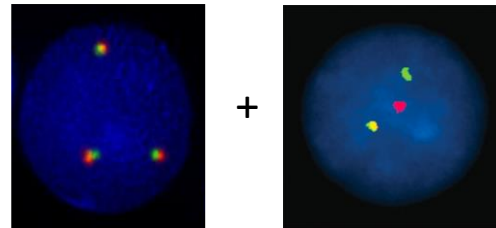
Gain d'une ou plusieurs copies, n=47



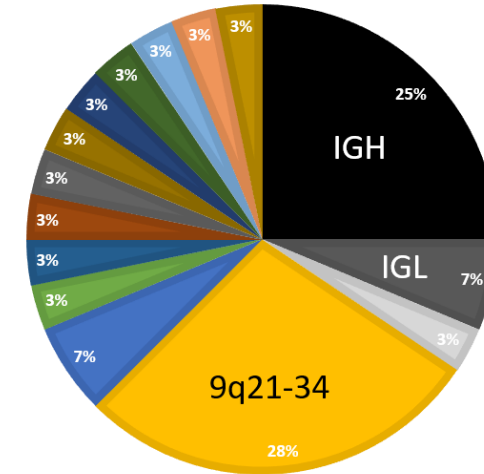
Translocations, n=27



Les 2 (Gain + t), n=8

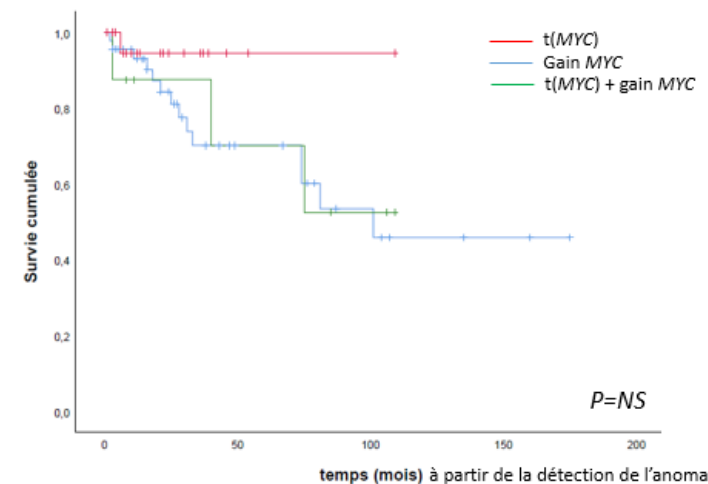


- 14q32
- 22q11
- 14q11
- 9q
- 18q
- 10q31
- 13q13
- 4p16
- 17q22
- 1p32
- 3p25
- 3q13
- 5q12-q13
- 7p2?2
- 2p21



IG : 35%
Non-IG : 65%

OS



Gain et translocations *MYC* : projet

Cellules primaires : gain *MYC* / t(*MYC*)



1. Analyses génomiques : comparaison gain / translocation

- Anomalies moléculaires/chrom. associées
- Partenaires de *MYC* dans les t(*MYC*) non IG

Paysage mutationnel : NGS, panel 47 gènes
(Hôpital PSL, C Bravetti/F Davi)

Optical Genomic Mapping (Bionano) (Hôpital SAT)

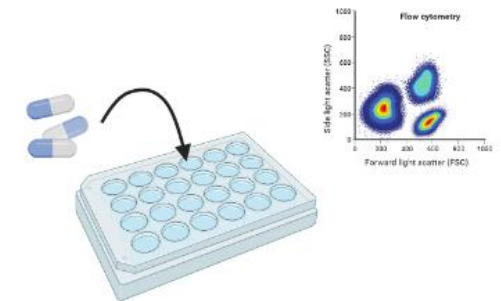
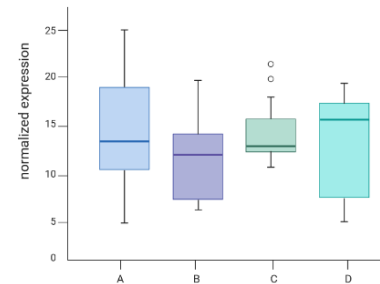
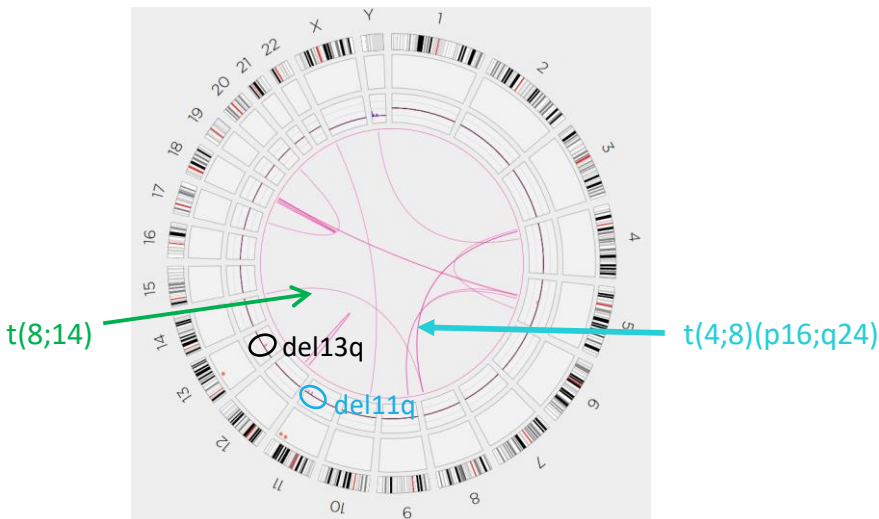
2. Conséquences fonctionnelles sur la voie *MYC*

Expression de *MYC* et gènes cibles
(q/ddPCR, WB)

Comparaison g/t ; t IG vs non IG

3. Réponse aux drogues *in vitro*

BTKi, venetoclax, fludarabine ...
Associations de drogues
(CMF, Cell TiterGlo, MTS)



Conclusion

Originalité : 3 anomalies chromosomiques rares et peu explorées : gain 2p, del 8p et a-MYC

Larges cohortes uniques

Approches complémentaires : suivi clinique, cellules primaires, modèles cellulaires

Analyses génomiques, fonctionnelles, réponses au drogues, analyses de survie

Données préliminaires

- **Gain 2p** : association à la **résistance aux BTKi** covalents et non covalents
- **Del8p** : risque augmenté de **transformation en Richter**, lien avec la résistance à la **fludarabine**, y compris chez les patients *IGHV* mutés
- **Anomalies MYC** : hétérogénéité des partenaires de **translocations** et évolution clinique différente des gains *MYC* ?

Retombées attendues : adaptation de la prise en charge des patients : recherche **systematique de ces anomalies avant traitement**, choix de la thérapie, suivi des clones tumoraux sous traitement, détection précoce des résistances/rechutes

Remerciements



Centre de Recherche des cordeliers

Equipe Drug resistance in hematological malignancies

Florence Nguyen-Khac

Santos Susin

Léa Dehgane

Daphné Krzisch

Ludovic Jondreville

Damien Roos-Weil

Delphine Garnier

Luce Smagghe

Mariana Tannoury

Kenza Dubois

Aurélie Brousse

Hématologie Clinique Hôpital Pitié-Salpêtrière

Damien Roos-Weil

Véronique Leblond

Sylvain Choquet

Karim Maloum

Nathalie Jacque

Véronique Morel

Cytogénétique Hématologique Hôpital Saint-Antoine

Faten Hsoumi

Nasséra Abermil

Analyses statistiques

Marouane Bouyaba

FILO GFCH

**Tous les membres qui
ont inclus des patients**

Financements



fonds de
recherche
clinique
en hématologie

