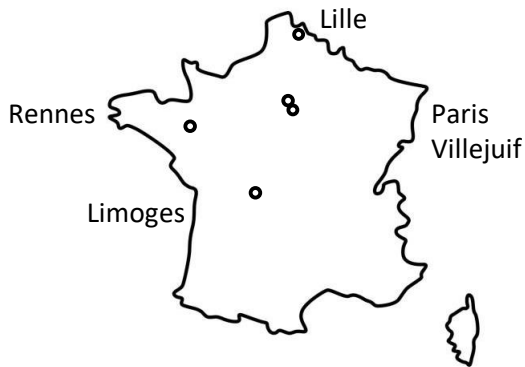


**Réseau français de recherche sur la
macroglobulinémie de Waldenström :**
initiatives et résultats préliminaires



Damien Roos-Weil
Pitié-Salpêtrière, Paris

Olivier Bernard
Said Aoufouchi
Stéphanie Poulain
Bertrand Arnulf
Jean Feuillard
Christelle Vincent-Fabert

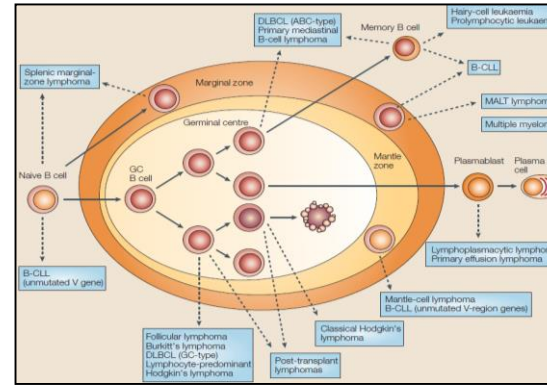
Karl Balabanian
Marion Espéli
Céline Delaloy
Thierry Fest
Florence Nguyen-Khac

Macroglobulinémie de Waldenström (MW) – Questions ?

Cellule d'origine ?

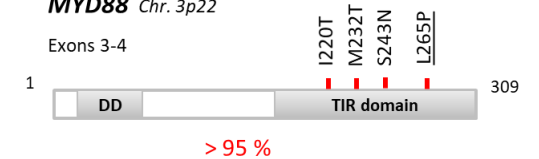
Mécanismes de transformation tumorale ?

Modélisation murine
Approche multiomics



MYD88 Chr. 3p22

Exons 3-4

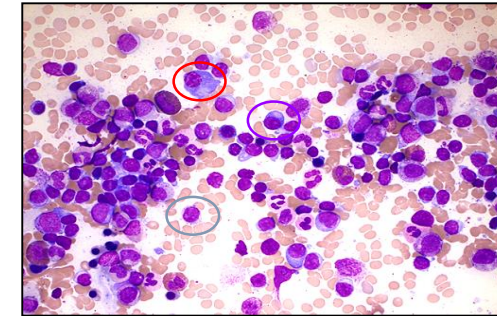


CXCR4 Chr. 2q22.1

Exon 2

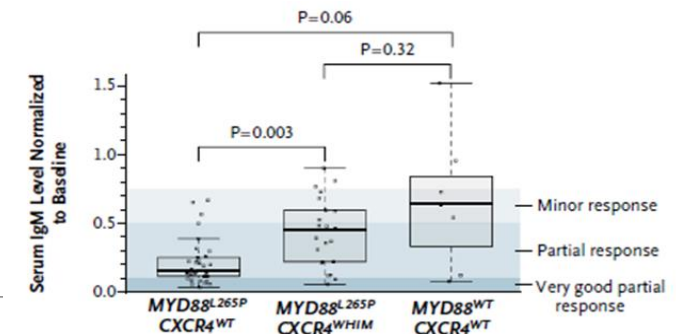
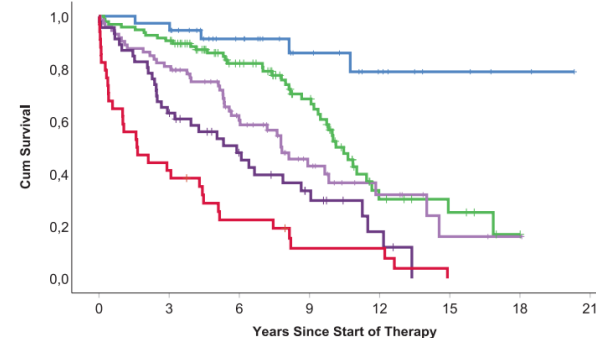
Blocage de la différenciation lympho-plasmocytaire ?

Fonctions/plasticité des lymphos B/plasmocytes de la MW ?



Hétérogénéité clinique ?

Intégration anomalies intrinsèques / extrinsèques
Approche multiomics
Microenvironnement



Paris

Saint Louis
INSERM U1160 – EMiLy



M. Espéli
K. Balabanian
B. Arnulf

Paris

Pitié-Salpêtrière, CRC
INSERM U1138 - DRiHM



F. Nguyen-Khac
D. Roos-Weil

Lille

UMR9020 CNRS
U1277 INSERM



S. Poulain

Rennes

INSERM U1236-MOBIDIC



C. Delaloy
T. Fest

Limoges

CRIBL UMR CNRS7276
INSERM1262



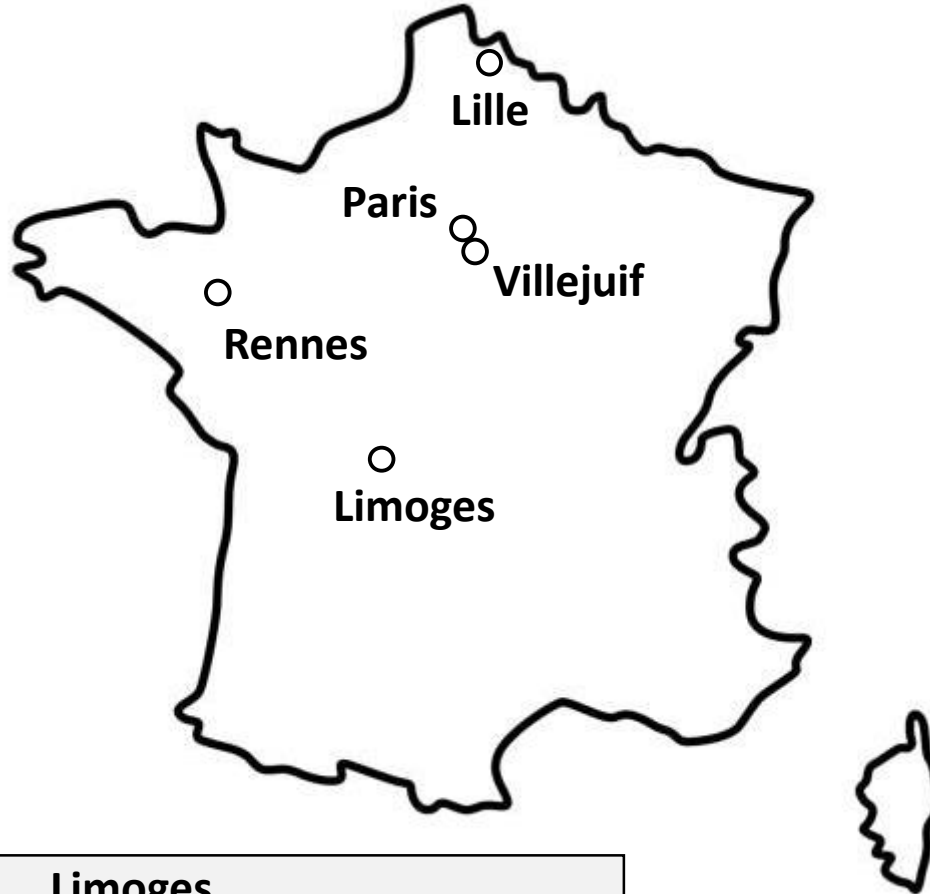
C. Vincent-Fabert
J. Feuillard

Villejuif

Gustave Roussy
INSERM U1170 – UMR 9019



O. Bernard
S. Aoufouchi

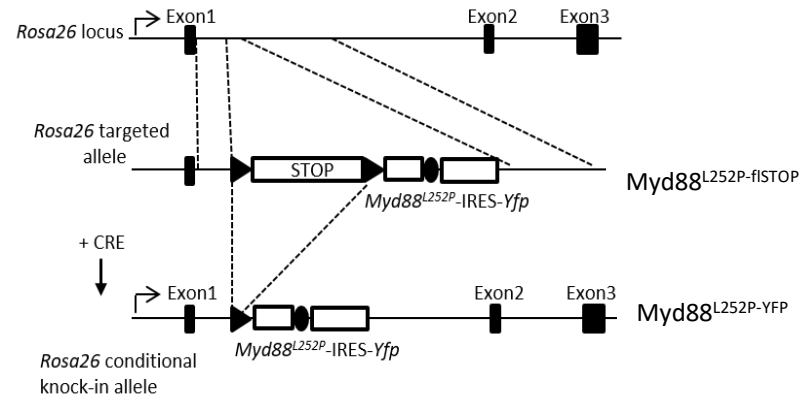


Initiatives et résultats préliminaires

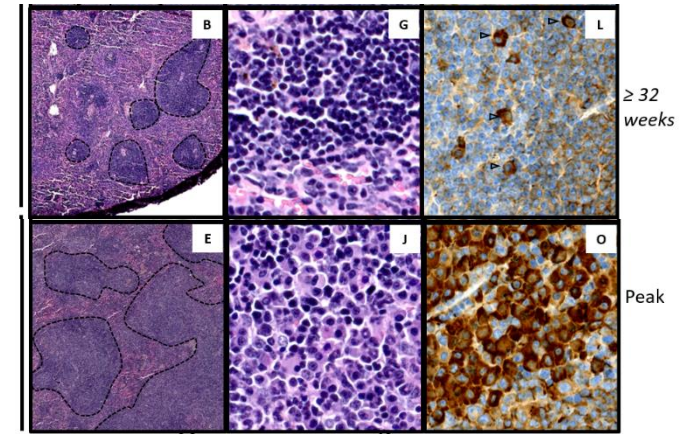
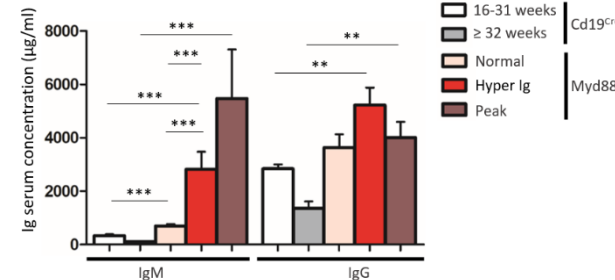
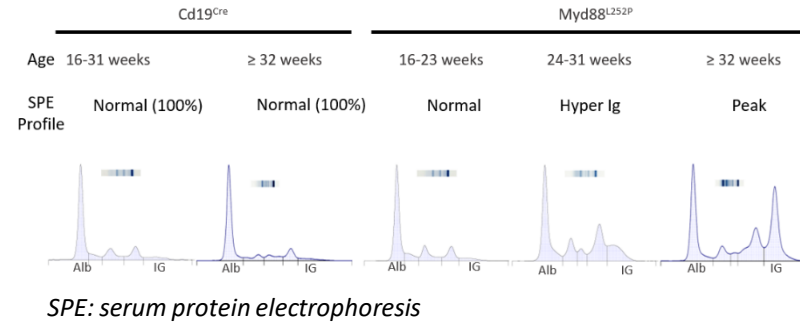
1. Modélisation murine
2. Différenciation lymphoïde B / plasmocytaire
3. Analyse multiomics des anomalies intrinsèques
4. Microenvironnement
5. Intégration

Modélisation MW – Souris *Myd88* L252P

Création d'un modèle transgénique conditionnel avec insertion du cDNA de *Myd88*^{L252P} et de la protéine de fluorescence YFP dans le locus *Rosa26*

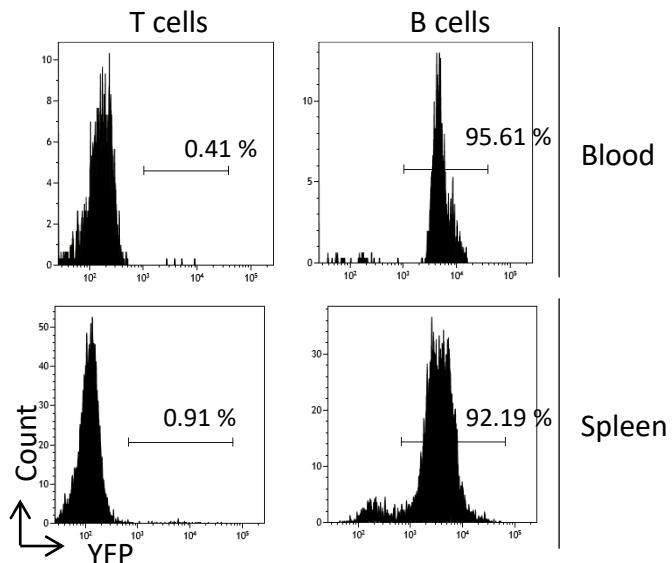


Suivi sanguin au cours de temps

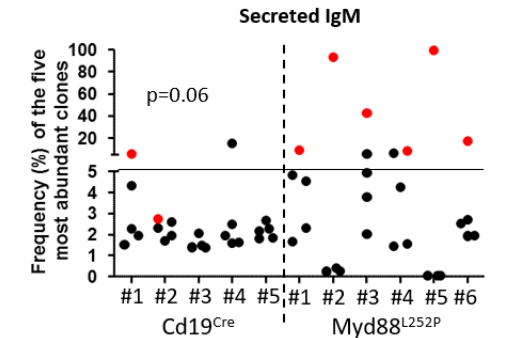


Augmentation de la taille des follicules avec des petits et grands lymphocytes dont des cellules lymphoplasmocytaires (marquage Mouse Ig)

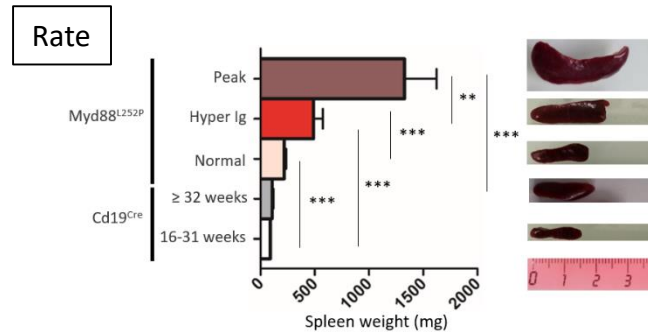
Expression restreinte aux cellules B après croisement avec les souris *Cd19*^{Cre}.



Forte relation entre MYD88^{L252P} and les cellules B sécrétant l'IgM
Expansion polyclonale suivie d'une restriction clonale aux cellules B sécrétant l'IgM



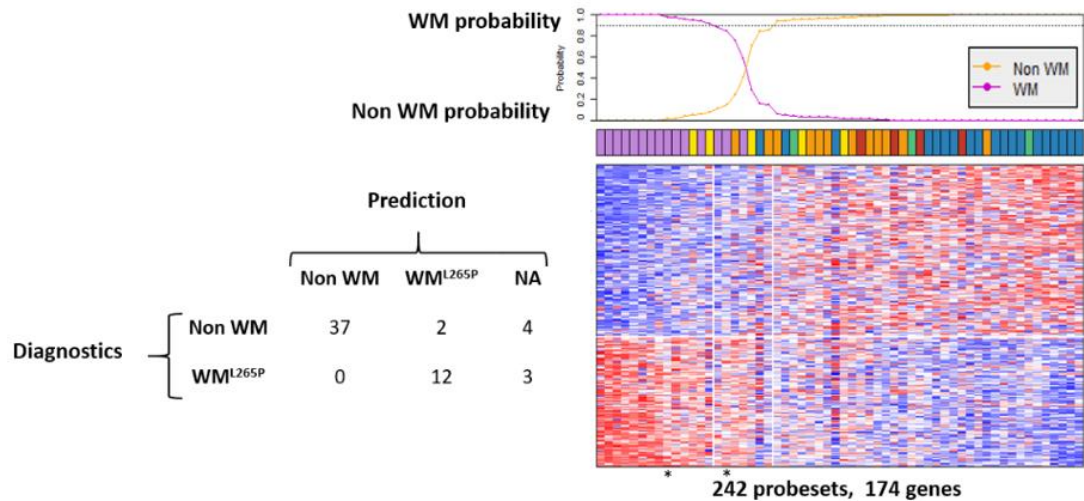
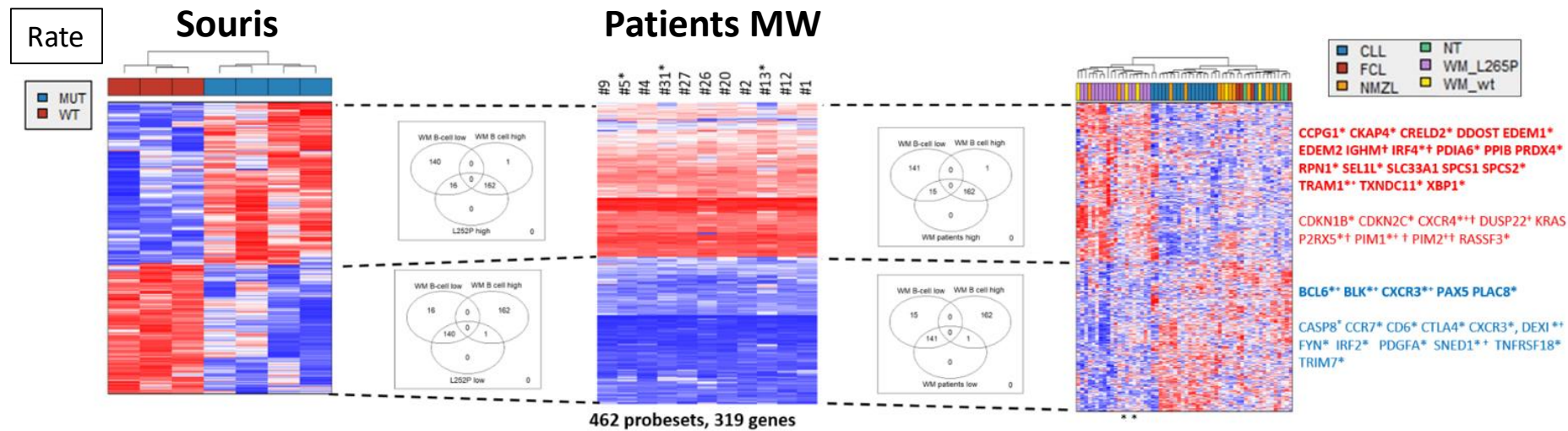
Expansion d'un clone B oligo ou monoclonal restreint à l'IgM



Développement tumoral dans la rate

Equipe C. Vincent-Fabert, J. Feuillard
(Limoges)

Modélisation MW – *Souris Myd88 L252P*



Collaboration
 C. Vincent-Fabert, J. Feuillard (Limoges)
 S. Poulain (Lille)

Signature transcriptomique commune entre les tumeurs murines *Myd88^{L252P}* et les patients WM

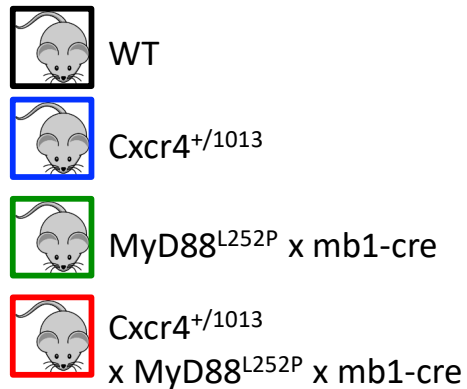
Modélisation MW - Impact des mutations *Cxcr4* et *Myd88*

Collaboration modèle animal, équipes :

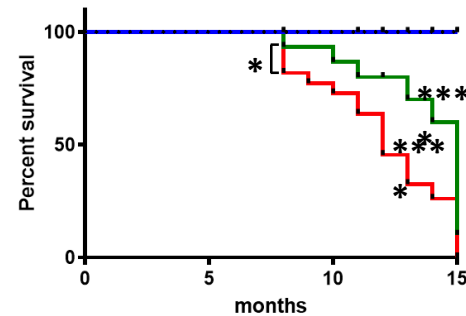
M. Espéli, K. Balabanian (Paris)

C. Vincent-Fabert, J. Feuillard (Limoges)

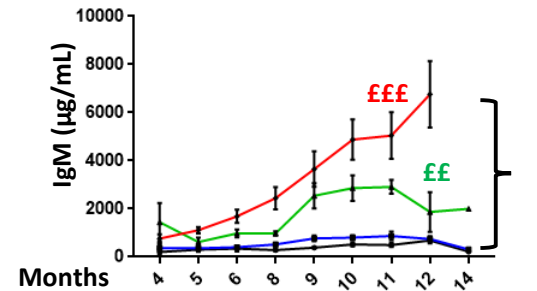
Le gain de fonction de *Cxcr4* exacerbe le phénotype observé en présence du gain de fonction de *MyD88*



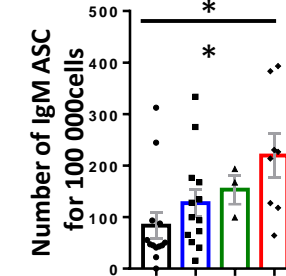
• Survie



• IgM sérique



• Cellules sécrétrices d'IgM médullaire



Données générées par Mélanie Khamyath, doctorante (UPCité) sous la supervision de M. Espéli

Projets : Impact des mutations de *Cxcr4* et *MyD88* sur:

→ la différenciation et la fonction des cellules sécrétrices d'IgM

Tests fonctionnels, cultures et études transcriptomiques

→ la migration et la localisation des cellules sécrétrices d'IgM dans la moelle osseuse

Test de migration ex vivo et in vivo, 3D immunofluorescence et analyse automatisée par IA

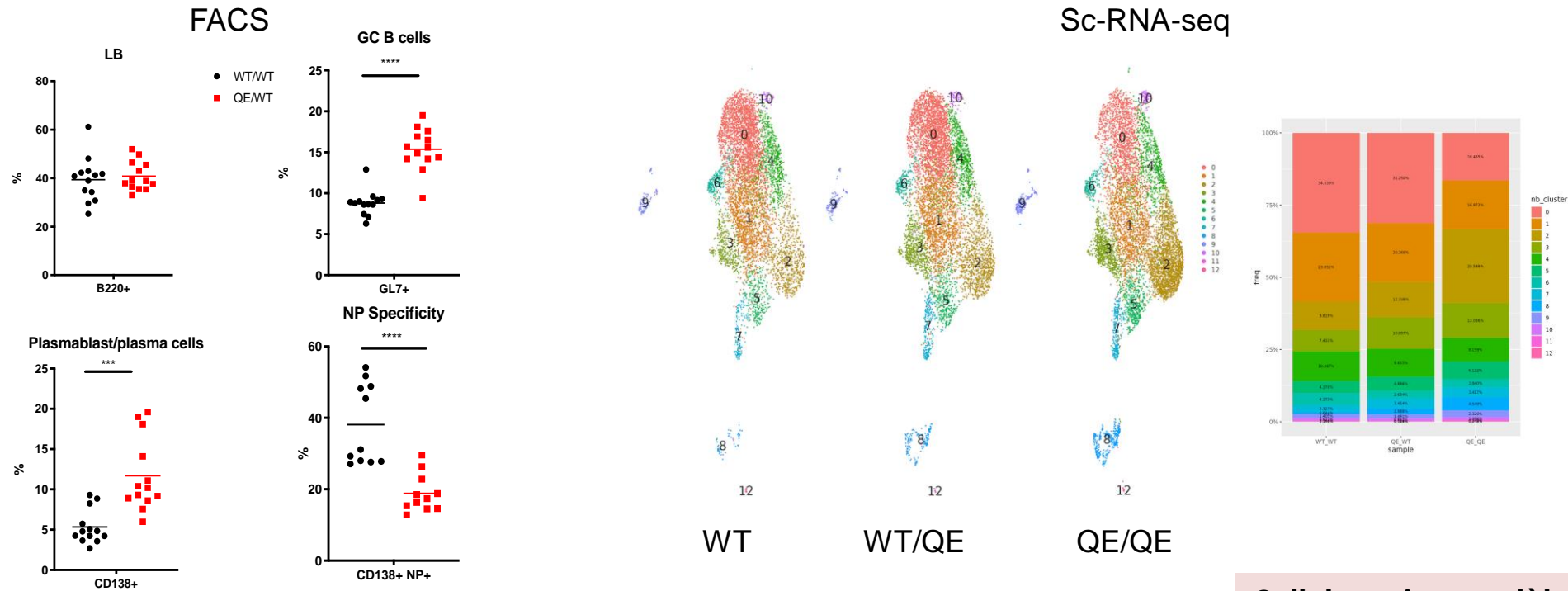
Modélisation MW - KI SPI1 Q226E chez la souris

Effet de la mutation *SPI1*-QE sur maturation et transformation des lymphocytes B ?

J12 après immunisation par NP-CGG

Spi1QE augmente la différenciation (non-spécifique) plasmocytaire

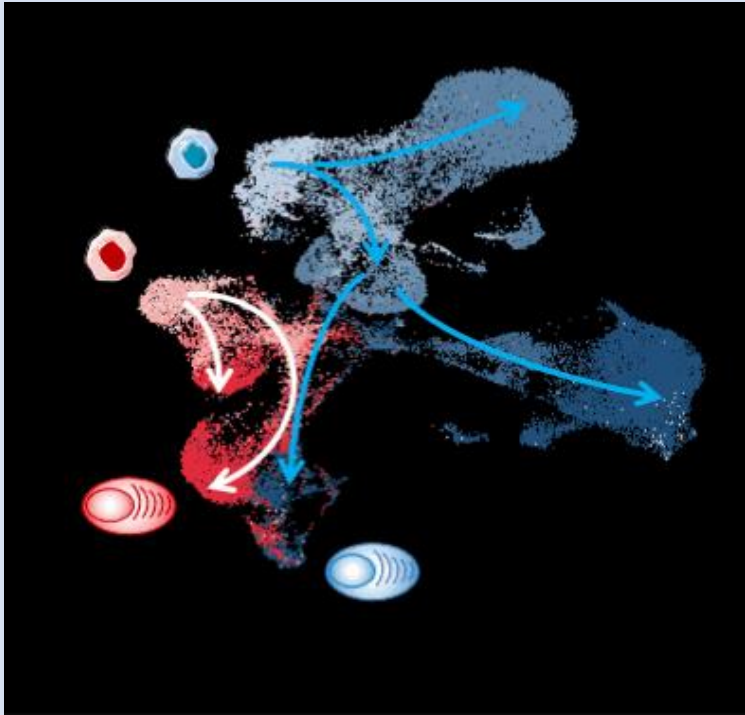
O. Bernard
S. Aoufouchi
(Villejuif)



Questions : Mécanismes ? Coopération avec MYD88 ?

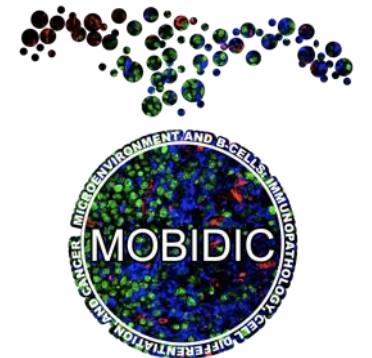
Collaboration modèle animal, équipes :
O. Bernard, S. Aoufouchi (Villejuif)
C. Vincent-Fabert, J. Feuillard (Limoges)
M. Espéli, K. Balabanian (Paris)

Différenciation plasmocytaire des cellules MW – *Etude à l'échelle unicellulaire*

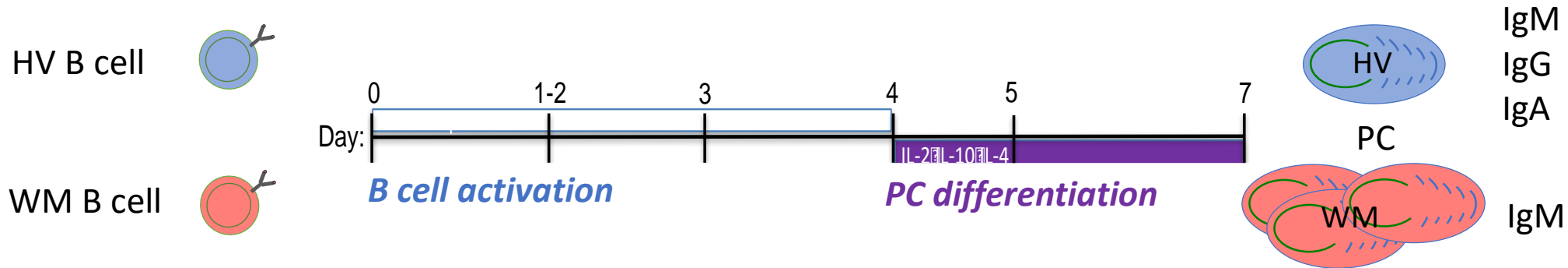


- How WM B cell respond to stimuli and differentiate?
- Is there a failure of B-cells to properly differentiate into plasma cells?
- What is the transcription factor network that governs the peculiar lymphoplasmacytic differentiation arrest?

Equipe C. Delaloy, T. Fest
(Rennes)

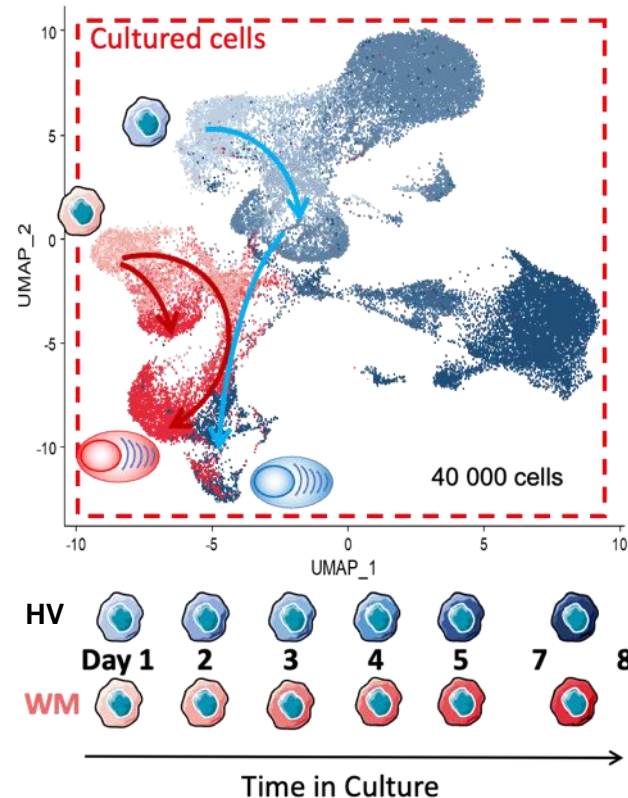
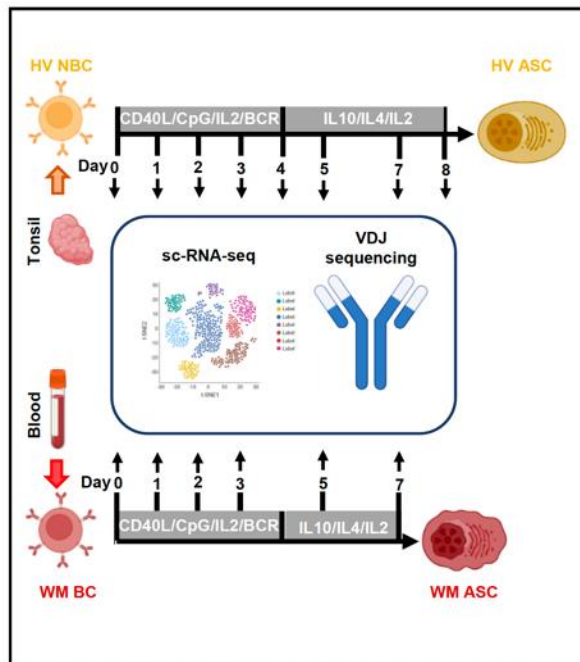


Différenciation plasmocytaire des cellules MW - *Modélisation in vitro*

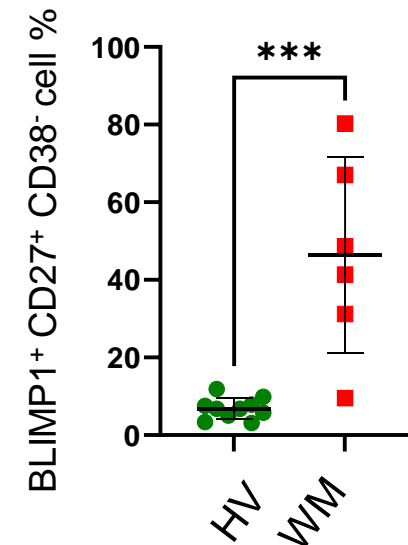


LeGallou JI. 2014
 Caron Cell Rep 2015
 Hipp Nat Comm 2017
 Pignarre Blood 2020

➤ Plasticité des B de WM *in vitro*



➤ Différenciation plasmocytaire anormale



MW – Anomalies intrinsèques et extrinsèques

Equipe O. Bernard
(Villejuif)

Equipe S. Poulain
(Lille)

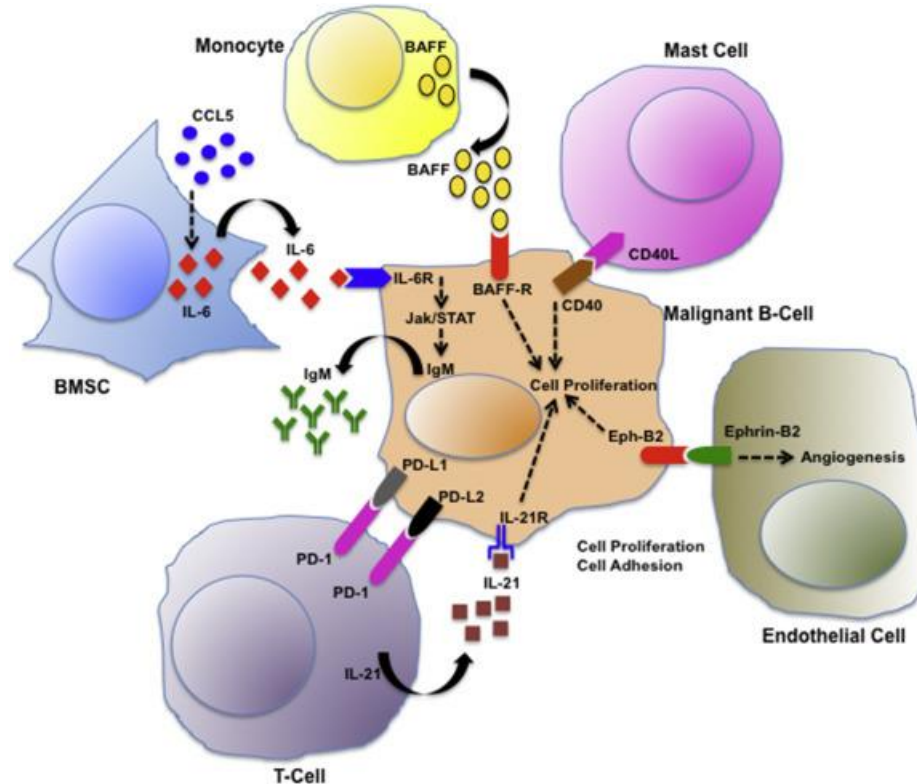
Equipe F. Nguyen-Khac, D. Roos-Wei
(Paris)

Cytogenetics

WES
Targeted NGS

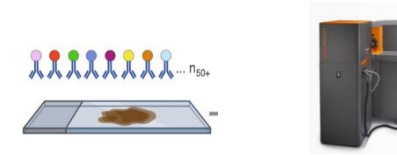
IGHV repertoire

DNA methylation



Tumoral microenvironment

Mass cytometry (Hyperion)
Single-cell RNAseq



Clinical data and biological samples

WM local cohorts (300 pts)

Prospective study ECWM1 (110 pts)



MW – Approche multiomics / mécanismes de transformation

Equipe O. Bernard
(Villejuif)

Patients WM (cellules tumorales médullaires triées CD19+)

Profil mutationnel

Analyse génome entier

Profil de transcription

Profil de méthylation

Profil ATAC-seq et CHIP-seq

Sc-RNA-seq

mutations somatiques

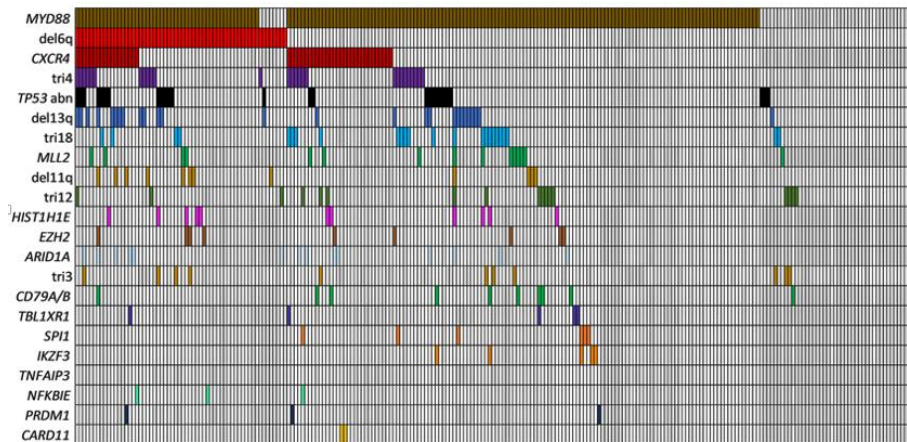
CNV, mutations non-codantes

voies signalisation, transcription dérégulées

stades de différenciation, cellule d'origine

cellules d'origine, modification structure chromatinienne

hétérogénéité cellulaire



Analyse et intégration →

Description générale

Rôle des mutants

MYD88

SPI1

CXCR4

ARID1A

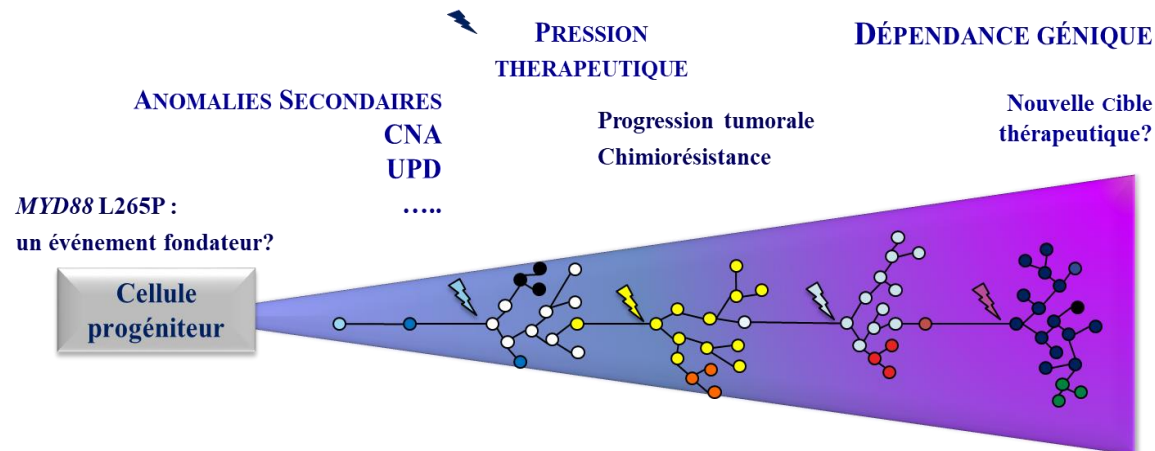
MW – Dynamique et hétérogénéité clonale



Equipe S. Poulain
(Lille)

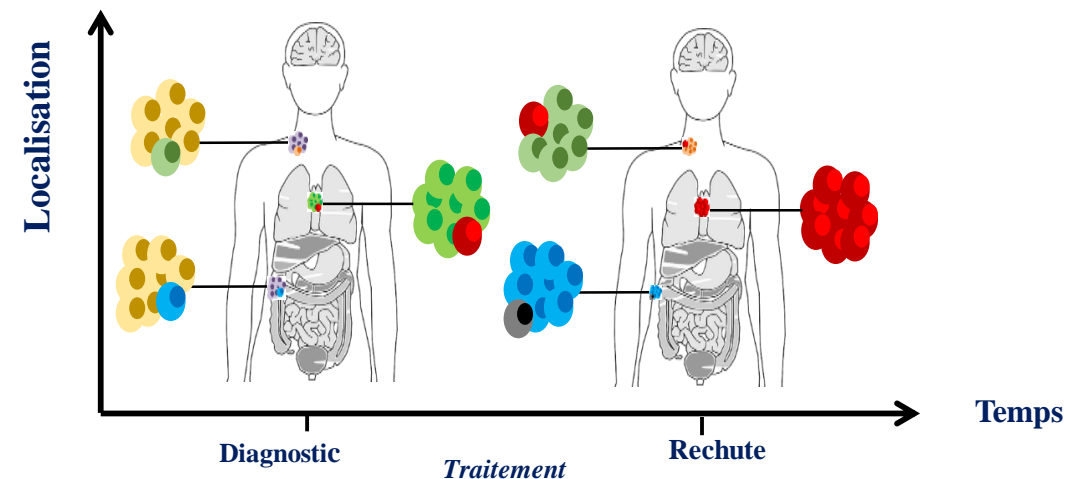
- **Comprendre les mécanismes de la dynamique de l'architecture clonale dans la MW**

- Rôle pronostique
- Hématopoïèse clonale
- Contexte de thérapie ciblée : identification d'une dépendance génique ?



- **Explorer de l'hétérogénéité territoriale**

- Comparaison des profils génomiques selon la localisation
- Place des ADN circulants?



MW – Microenvironnement tumoral (MET)

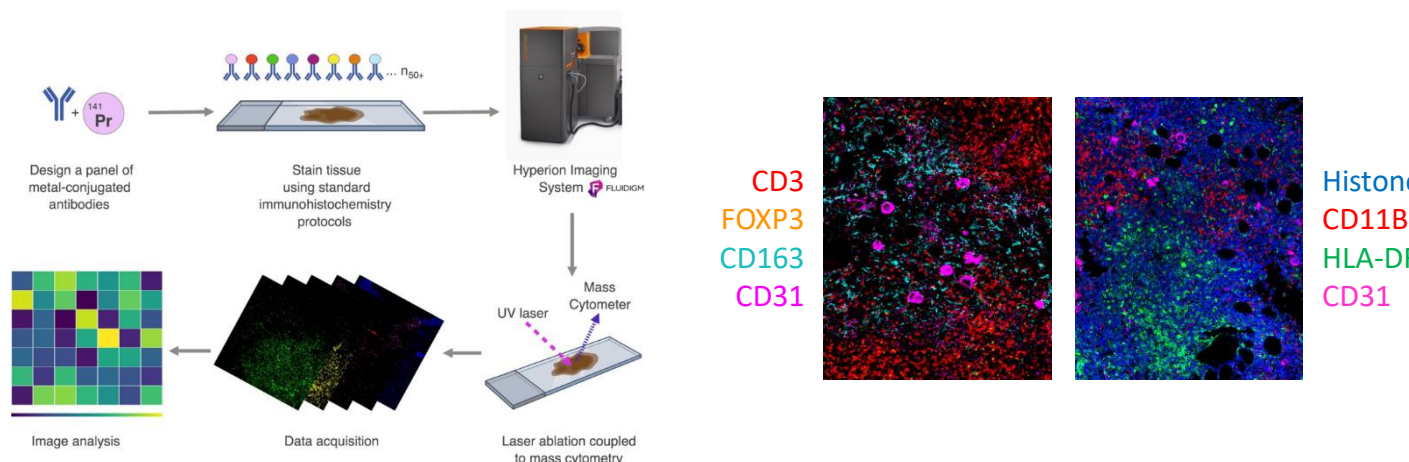


**BM samples
WM patients**

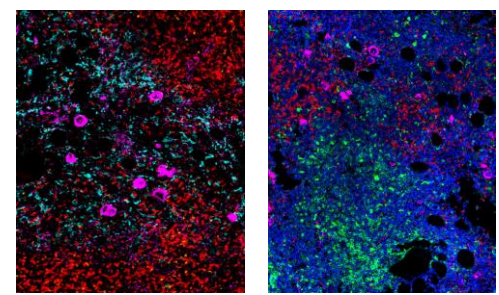


Equipe F. Nguyen-Khac, D. Roos-Weil
Jonathan Caron
(Paris)

Collaboration équipes
modèles murins (*MYD88, CXCR4, SPI1*)

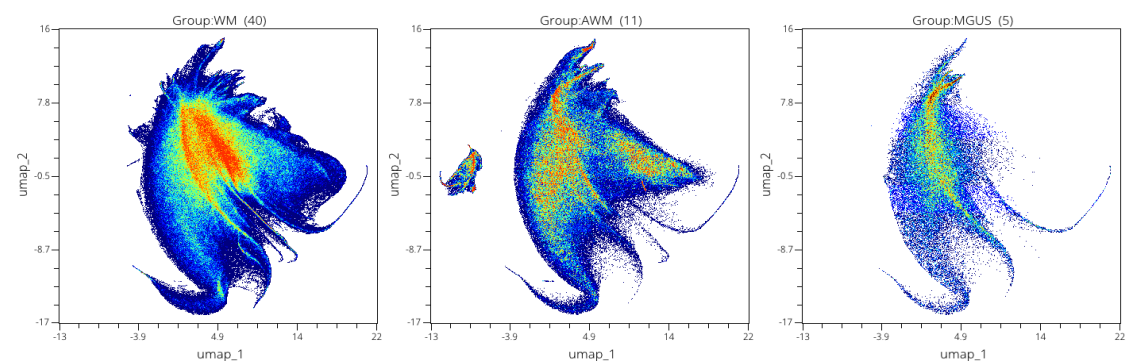


CD3
FOXP3
CD163
CD31

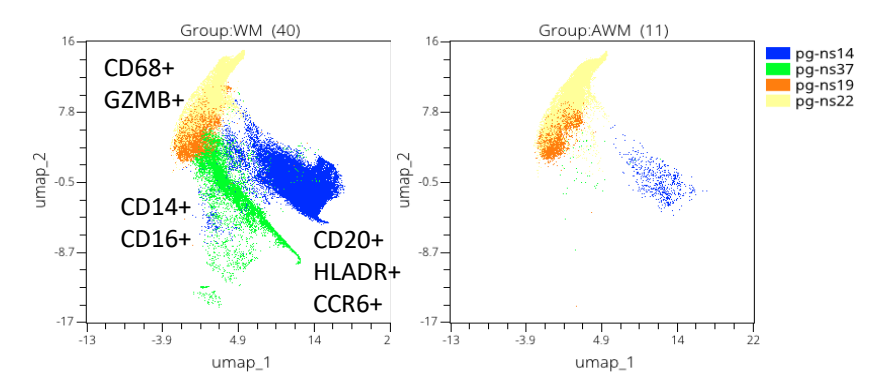


Histone
CD11B
HLA-DR
CD31

CD3	FOXP3	CXCR4	HLA-DR	CD31	CD11b	LAG3
CD4	CD19	CCR4	CD56	A-SMA	CD68	TIM3
CD8	CD20	CCR6	CD13	COL-I	CD163	TIGIT
CD25	CD38	CD45RO	TRYPTASE	CD14	PD1	GZMB
CD27	CD138	CD45RA	E-CADHERIN	CD16	PDL1	KI67



Symptomatic Asymptomatic MGUS IgM
WM



Symptomatic Asymptomatic
WM

Conclusion / Perspectives

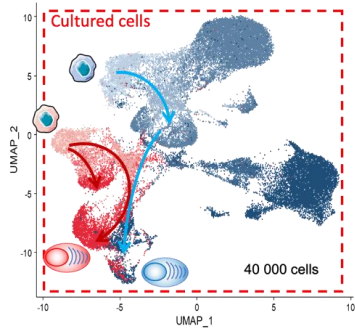
Mécanismes transformation tumorale ?
 Différenciation lympho-plasmocytaire ?
 Hétérogénéité clinique ?



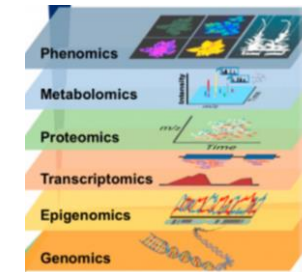
Souris
 MYD88/CXCR4/SPI1



Cellules primaires
 patients MW

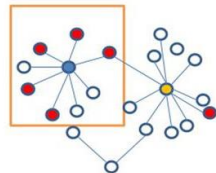
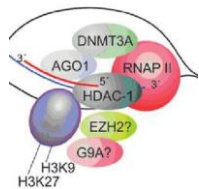


Modélisation murine
 Différenciation plasmocytaire in vitro
 Approches multiomiques

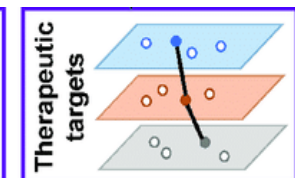
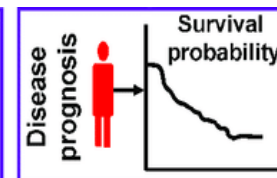
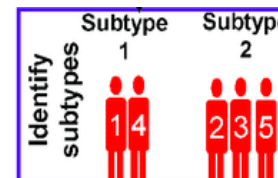


Intégration analyses

Rôle des mutants
 Coopération oncogénique



Caryotype/FISH, NGS ciblé
 Caractéristiques et survies



Remerciements

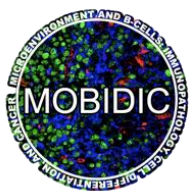
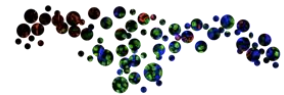
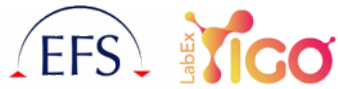
Céline Delaloy
Thierry Fest
Nicolas Hipp
Simon Leonard
Alexis Grasseau
Mathilde Periou

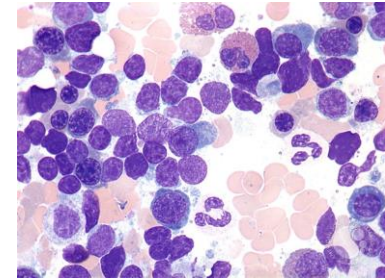
M. Espéli
K. Balabanian
Bertrand Arnulf
Mélanie Khamyath

Christelle Vincent-Fabert
Jean Feuillard

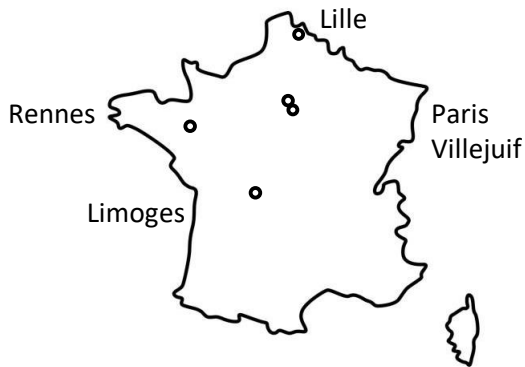
Olivier Bernard
Said Aufouchi

Stéphanie Poulain
Pierre Morel





**Réseau français de recherche sur la
macroglobulinémie de Waldenström :**
initiatives et résultats préliminaires



Damien Roos-Weil
Pitié-Salpêtrière, Paris

Olivier Bernard
Said Aoufouchi
Stéphanie Poulain
Bertrand Arnulf
Jean Feuillard
Christelle Vincent-Fabert

Karl Balabanian
Marion Espéli
Céline Delaloy
Thierry Fest
Florence Nguyen-Khac