

Recommandations par pathologie

GFCH

22 juin 2016

La Maladie de Waldenström

Stéphanie Poulain

Christine Terré

Maladie de Waldenström (MW)

- **SLP chronique rare**
 - Incidence F 1,7/M ha H 3,4/M ha
 - Augmente avec l'âge
- **1 à 2 % des hémopathies malignes**
- **6% des SLP B**
- **Infiltration lymphoplasmocytaire de la m.o + IgM**
- **OMS : Lymphome lymphoplasmocytaire**
- **Révision 2016 : ajout MGUS à IgM, stade précoce MW**

MW Clinique

- **Infiltration tumorale**
 - Cytopénies +++ anémie
 - Fièvre, sueurs nocturnes, amaigrissement,
 - Adénopathie, SMG (20%)
 - Atteinte autres organes (poumon peau rein TD SNC) rare (5%)
- **IgM Sérique**
 - Hyperviscosité (céphalées, épistaxis, T visuels, hémorragies rétine)
 - Cryoglobuline I (20%), agglutinines froides, dépôts amyloïdes ou IgM
 - Neuropathie (20%)
- **1/3 patients asymptomatiques au Dg**

MW Critères Dg

2^{ème} Workshop International

- **IgM monoclonale sérique** (qque soit sa concentration)
- **Infiltration Médullaire : petits lymphocytes à différenciation plasmocytaire**
- **Infiltration à la biopsie médullaire souvent diffuse**
- **Phénotype des cellules médullaires :**
 - **IgM+, CD5-/+ , CD10-, CD19+, CD20+, CD22+, CD23-,**
 - **CD25+, CD27+,**
 - **FMC7+, CD103-**

Task Force Recherche de **mutation MYD88L265P (MO)**
London 2014 Si négatif, n'exclut pas le diagnostic de MW

Dg Différentiel

Infiltration B médullaire + IgM

- **MGUS IgM** < 10% CD19+/BOM /50% MYD55L265P
- **LLC,** Lymphocytose, Immunophénotype
- **MM à IgM** Cytologie, Immunophénotype, t(11;14)
- **LNH de MALT Extra nodaux** rarement atteinte médullaire
- **LZM nodaux** Histologie
- **sLZM, + difficile**
 - Orientation avec IP et Caryl

ImmunoPhénotype **MW**/**LZM**

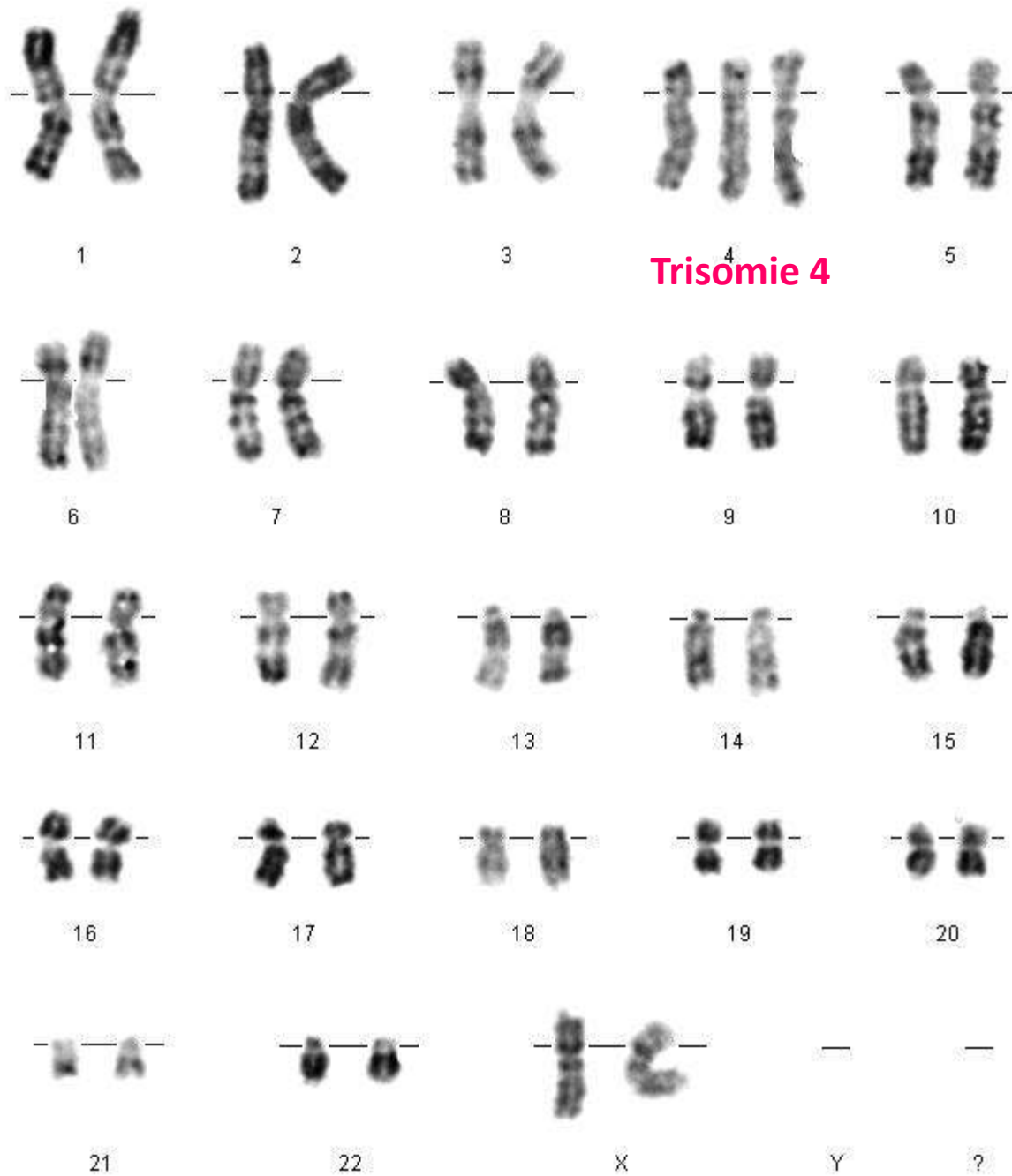
	MW	LZM
CD19	+	+
CD5	-/+ (20%)	-/+
CD23	- /+	-
slg	Moyenne à forte	++
FMC7	+/-	++
CD22	+	++
CD103	-	-/+
CD11c	-	+/-
CD25	++	+/-
CD79b	+	+
CD20	+	+
CD43	-	-
CD10	-	-

Cytogénétique **MW**/**SLZM**

MW	SLZM
Délétion 6q (30 à 50%) 2RMD 6q21 et 6q23 Rares	10% Délétion 7q (30-50%) Taille variable, plusieurs RMD+++7q36
Trisomie 4 ou 4q (20%) Rares	0% Trisomie 1q (1q21)
Trisomie 3 ou 3q	Trisomie 3 ou 3q
Trisomie 6p	Trisomie 12
Trisomie 18 ou 18q	Trisomie 18 ou 18q
Délétion 11q (<i>ATM</i>)	Délétion 11q (<i>ATM</i>)
Délétion 13q (<i>MIRN15A, MIRN16-1</i>)	Délétion 13q (<i>MIRN15A, MIRN16-1</i>)
Délétion 17p (<i>TP53</i>)	Délétion 17p (<i>TP53</i>)
Peu de translocation IGH (<10%)	tIGH rares et non spécifiques (<10%) t(2;7)(p12;q21)t(7;14)(q21;q32)/ CDK6 t(6;14)(p21;q32) /CCND3 t(9;14)(p13;q32) /PAX5 t(14;19)(q32;q13) /BCL3

Trisomie 4 dans MW

- Trisomie 4 isolée dans MW : 2 cas au CHV , 1 dans la littérature, pas d'étude FISH réalisée
- Etude xcentrique en 2006 : 39 patients
 - CC : 3 trisomie 4 et 1 trisomie 4q
 - FISH Cen4 sur culot CG: 4 nouvelles trisomies 4
- **20% trisomie 4**
- **Trisomie 4 pas décrite dans d'autres SLP**
- Etude en CGH array ADN tumoral/Constit
 - 7 patients pas de nouveaux déséquilibres
 - Etude Fonseca 2013 sur 42 MW idem
- Etude liaison 11 familles à haut R MW : 4q33-4q34





1



2



3



4



5

Grenoble
C.Lefebvre

mar



6



7



8



9



10



11



12



X



13



14



15



16



17



18



19



20

4q



21



22

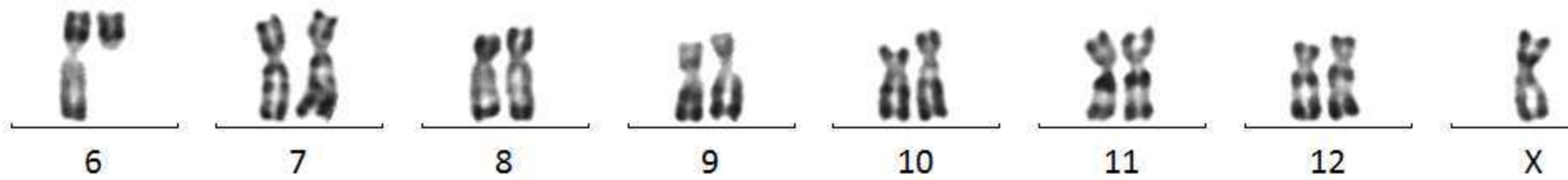
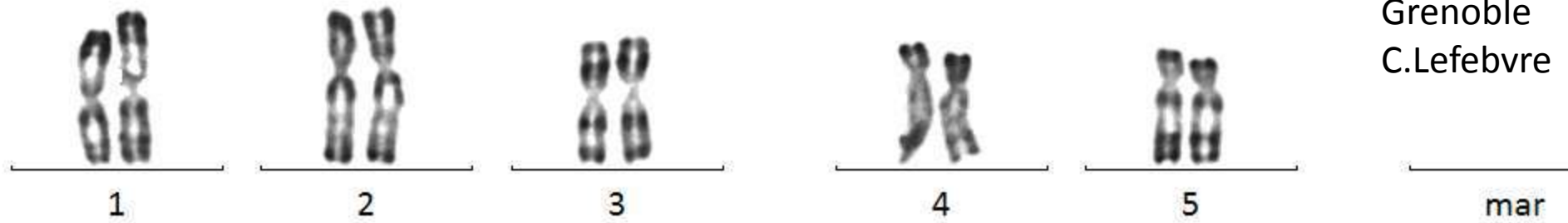


Y



mar

Trisomie 4q



Délétion 6q
Quasi-totalité bras long



Chromosomal aberrations and their prognostic value in a series of 174 untreated patients with Waldenström's macroglobulinemia

47% anomalies

28% 13% 8% 4% 11% 6% 8% 3%

	Complex karyotype	Sex chromosome loss	Translocation	6q deletion	Trisomy 18	Trisomy 4	Trisomy 12	13q14 deletion	17p13 (TP53) deletion	11q22 (ATM) deletion	14q32 (IGH) translocation
Complex karyotype*	-	1	0.00022	0.043	1	0.58	0.26	0.26	0.17	0.57	1
Sex chromosome loss		-	0.08	1	0.2	1	1	0.21	0.33	1	1
Translocation			-	0.29	0.6	0.58	0.52	0.084	0.03	1	1
6q deletion				-	0.5	1	1	1	0.41	0.1	0.5
Trisomy 18					-	0.0029	0.53	1	1	1	1
Trisomy 4						-	0.059	0.55	0.42	1	1
Trisomy 12							-	0.49	1	1	1
13q14 deletion								-	0.55	0.15	1
17p13 (TP53) deletion									-	1	1
11q22 (ATM) deletion										-	1
14q32 (IGH) translocation											-

White cells correspond to positive (significant or not) associations

Grey cells correspond to negative (significant or not) associations

*Associations between complex karyotype and other cytogenetic findings were assessed on the subset of 45 patients with abnormal karyotype

Caryotype dans MW

- Comme pour les SLP B chroniques

MO 72h avec dsp30/IL2

- **Intérêt**

Aide au Dg

Valeur pronostique

- 6q- défavorable dans certaines études
 - 2 RMD 6q21(BLIMP1) et 6q23(TNFAIP3)
- 17p-
 - Perte p53 associée à survie + courte
- +12
 - Survie sans progression + courte

FISH pb hémodilution, TP53?, Cen12?

A l'heure des nouvelles technologies ?

Output of method	Method	Resolution	Sensitivity	UPD detection	Dividing cells needed	Distinction of individual clones	Screening for new lesions	Unbalanced lesions
	Metaphase cytogenetics	Low	10%	No	Yes	Yes	Yes	Yes
	FISH	Low	High	No	No	Yes	No	No
	SNP	High	2-30%	Yes	No	No	Yes	No
	CGH	High	2-30%	No	No	No	Yes	No
	Whole genome	High	25%	Yes	No	No	Yes	Yes

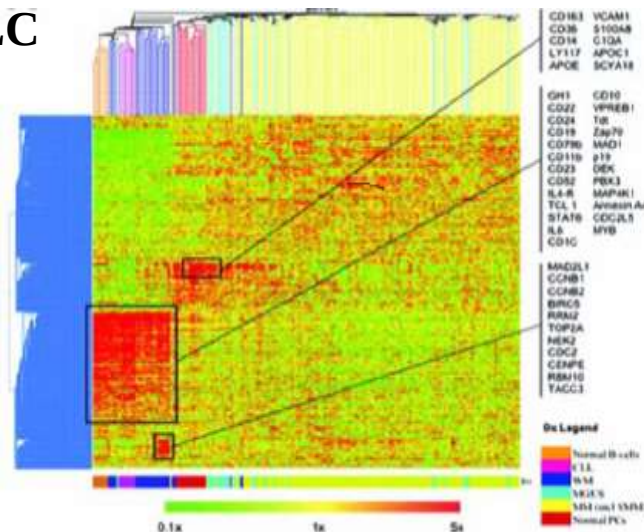
GEP: une entité transcriptionnelle

	Chng et al (Blood, 2006)	Gutierrez et al (Leukemia, 2007)	Paiva et al Blood 2016
N	23	10	10
Comparaison	8 LLC/ 101MM/ 25 s MM	11 LLC / 12 MM	4 MGUS IgM/ 4 MW AS/6 MW S
Référence	Plasmocytes N/ CD19 N	Plasmocytes N/ CD19 N	B CD25CD22
Sélection	Sélection + (CD19 et ou CD138+)	CMF	CMF

Plus proche de la LLC

IL6 +++
Voie MAPK
CD1c++
Cycline D3
↗ p15, p18, p57

Bach2, IRF4

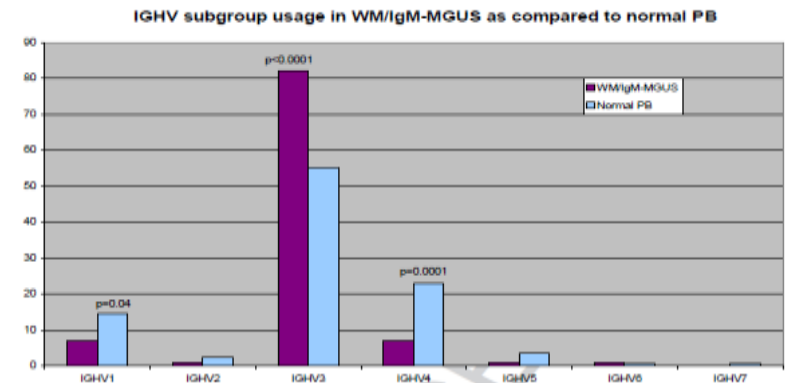


MW/N CD22+CD25- :
327 gènes
MW/CD22 low CD25+:
51 gènes

Quelle origine?

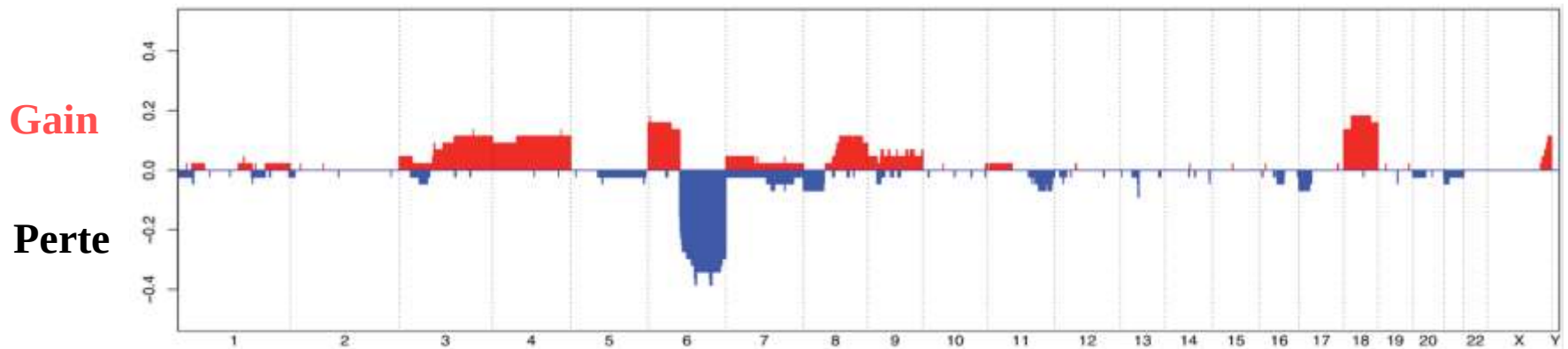
- Cellule mémoire de la Zone marginale ?
 - IgM + IgD- CD27+
 - IgM CD19+ CD22 low CD25+ CD27+?
- Cellule post centre germinatif n'ayant pas subi de switch avant la transformation
 - Class Switch Recombinaison
 - Statut mutationnel Vh : 91% Muté
 - Vh3 :76%
 - VH 3-23 :29%
 - Absence de séquence consensus en CDR3
 - Cellules clonotypiques :
 - Sang et MO/ CMF- BM

IGHV subgroup usage in WM/IgM-MGUS as compared to normal PB



Les puces

- 58 à 83% des pts avec anomalies (Gains / Délétions)
 - Délétion 6q : la plus fréquente
 - Faible niveau des récurrences des autres anomalies
- Définition des zones minimales altérées
 - Gènes impliqués dans la régulation de la voie de NF κ B
 - TRAF3 : Mutation <5%
 - TNFAIP3 (6q25) < 10%

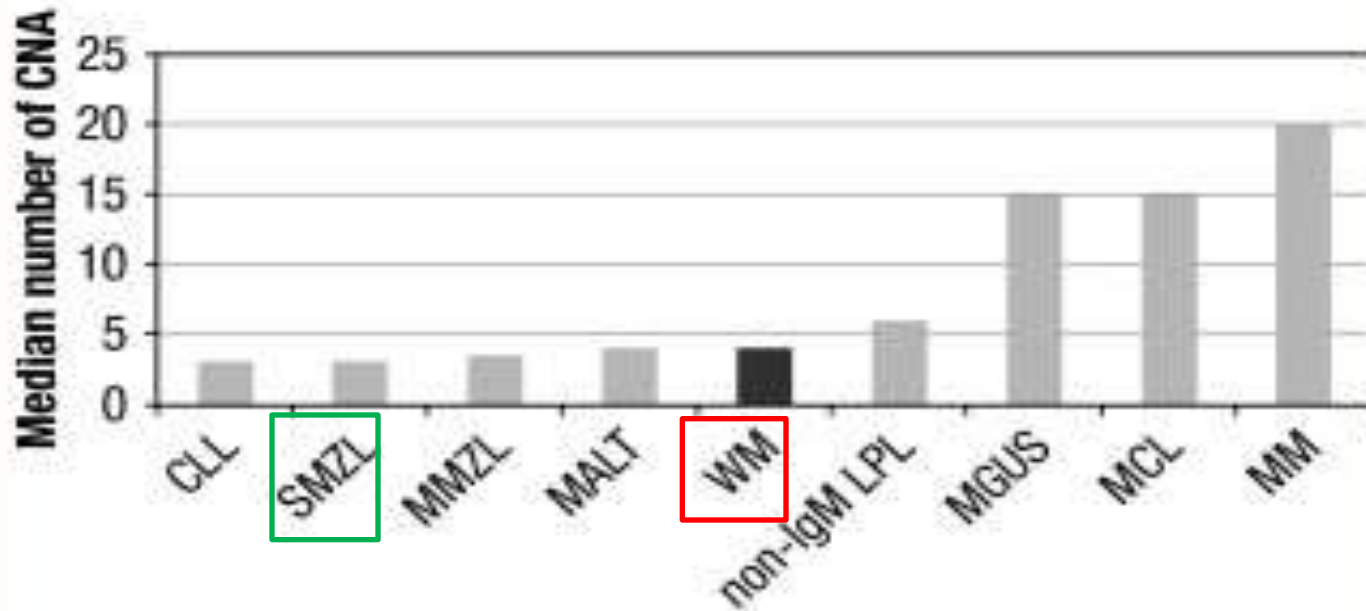


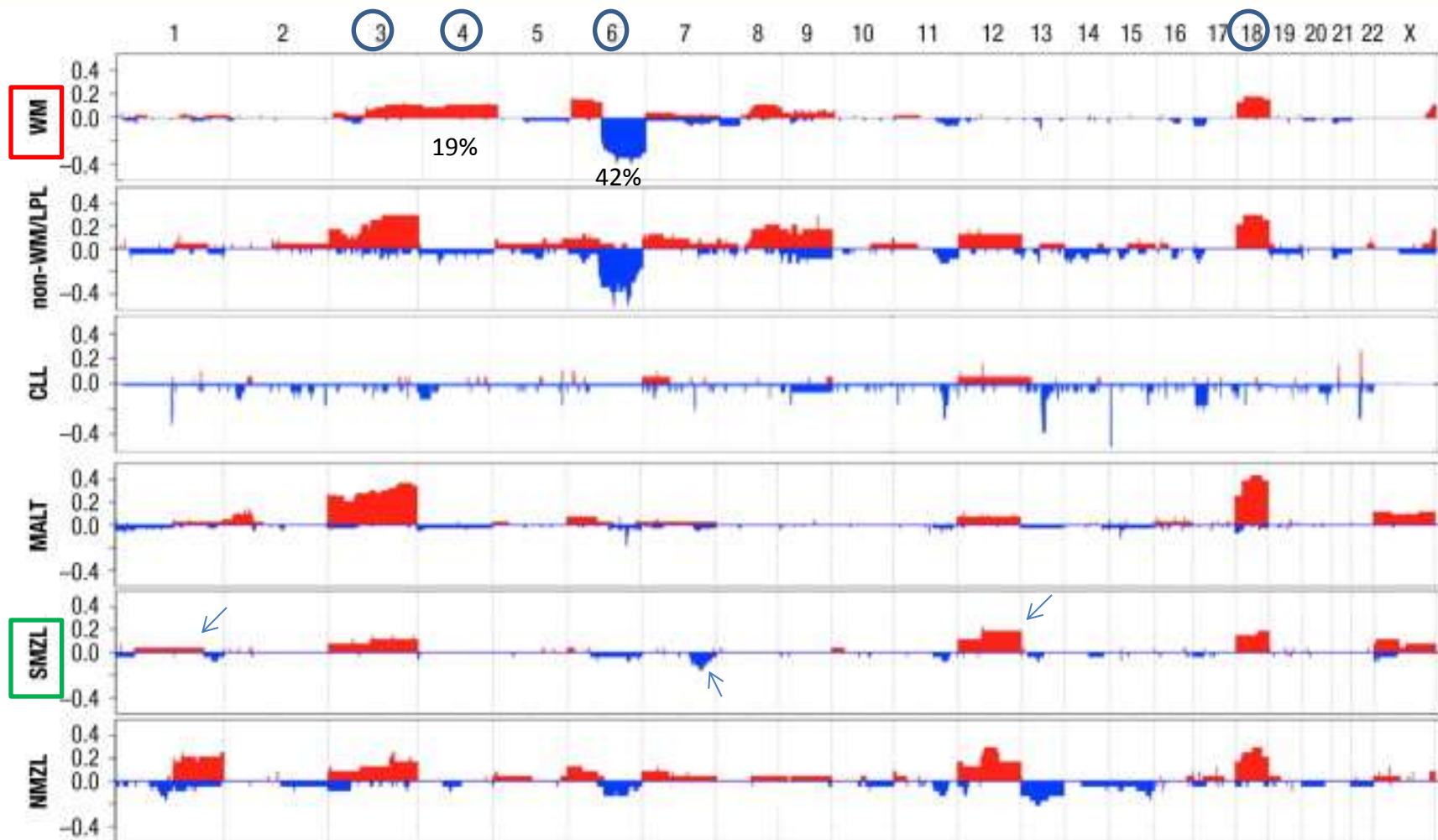
Genomic abnormalities of Waldenström macroglobulinemia and related low-grade B-cell lymphomas. [Braggio E¹](#), [Fonseca R](#). Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia 2013

CGH array 243.000 et 1M sondes

42 MW, 14 LPL sans IgM, 35sLZM, 20ggLZM, 46 MALT, 20 MGUS, 52LLC

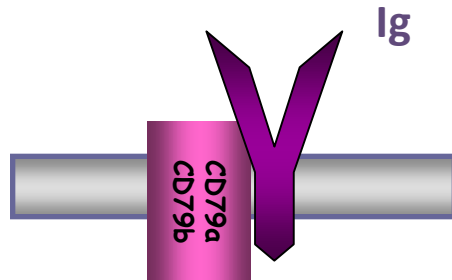
Anomalie dans 83% des MW, 4 CNA (0-27)





CN LOH : De nouveaux gènes candidats?

- CN-LOH/ UDP acquise <15%
-
- UPD of the long arm of chromosome 17q includes CD79B, a component of BCR

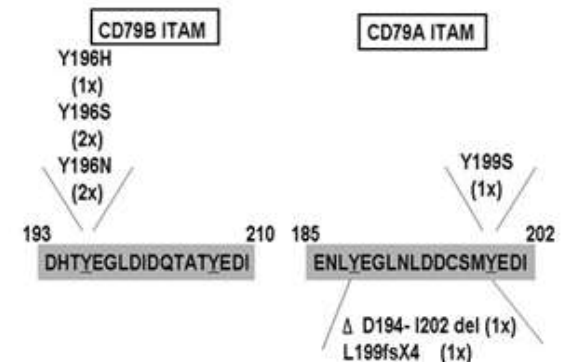
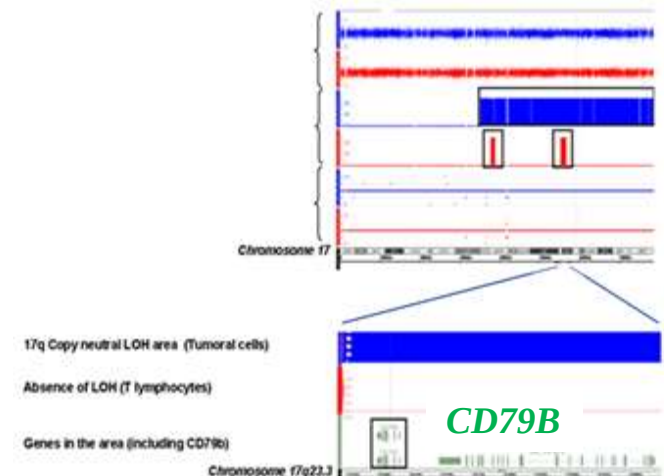


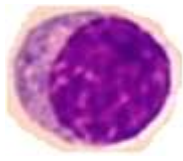
- Mutations du *CD79A* et *CD79B* ont été initialement décrites dans les DLBCL ABC
- Domaines ITAM : 15% of WM

Tous sont mutés MYD88 L265P



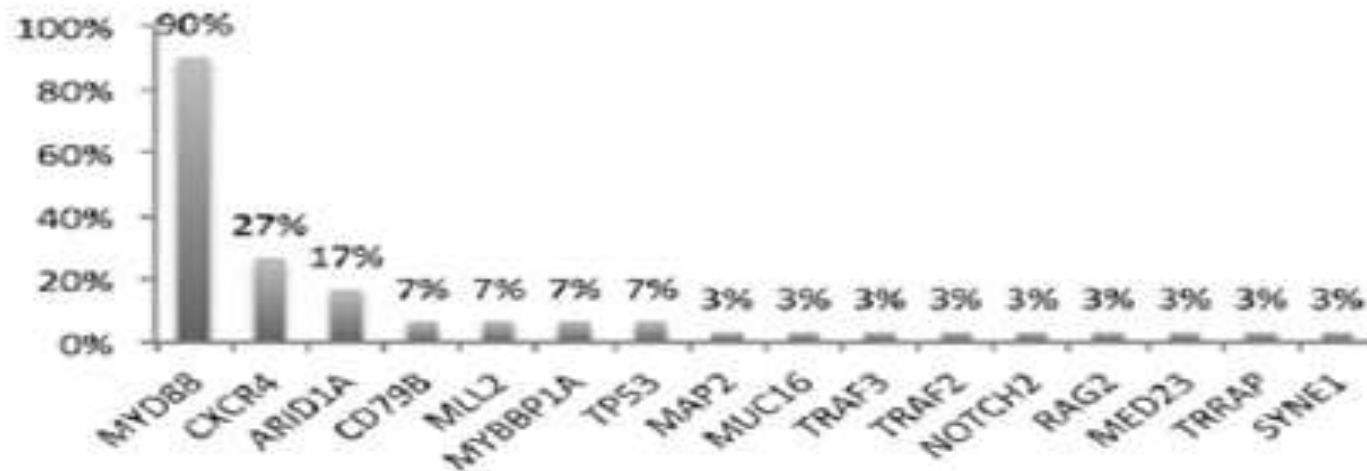
BCR/MYD88 , une coopération?





Profil génomique de la MW

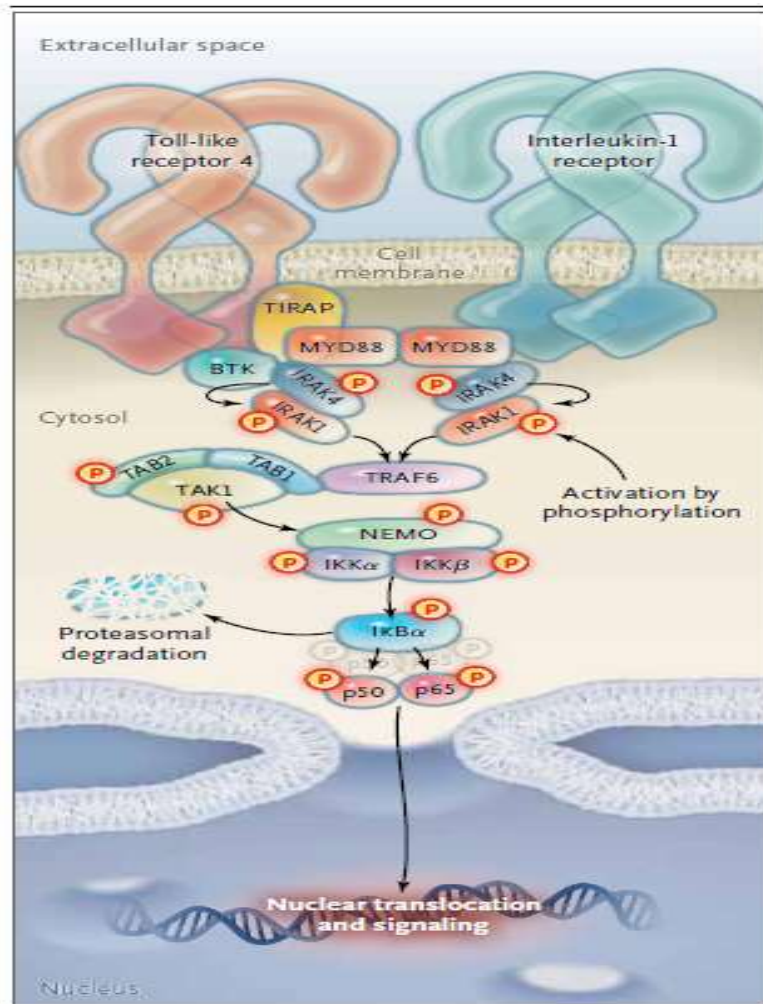
- Cytogénétique/ CGHa/ SNPa:
 - Des anomalies récurrentes: Délétion 6q, +4
 - CN-LOH/ UPD < 15%
- Whole genome sequencing (Treon, NEJM, 2012/ Hunter, Blood 2014)
 - N= 30 patients
- MYD88 L265P : un événement fondateur?
- Autres mutations > 15% : *CXCR4* *ARID1a*



MYD88 L265P Somatic Mutation in Waldenström's Macroglobulinemia

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

S Treon, et al 2012



- Whole genome n=10
- MYD88 L265P 90% des MW
- Formes sporadiques
- Formes familiales

Mutation Gain de fonction



Activation

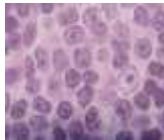
BTK , HCK , TAK1

STAT3 IL6 / IL10

NFKB

« Epidémiologie » des mutations *MYD88L265P*

20 à 30%
DLBC ABC



WM > 85%

Lymphome
lymphoplasmocytaire
non IgM?

MGUS IgM 50%

Absente

Myélome à IgM
Myélome
IgG /IgA MGUS
Cryoglobuline
Amylose non Ig M
LNH manteau



Leucémie à tricholeucocytes

Rare



< 10% MZL (IgM)



< 5% LNH
Folliculaire



<5% LLC

Absent LLC IgM

CXCR4

- ➔ SDF1 (Mo):

- Migration/Adhésion
- Interaction avec VLA4

- Mutation gain de fonction de CXCR4

« WHIM like » identifiée par le WG

Non sens/ Frame shift

- Fréquence:

8 à 30%

Différence de sensibilité / Mutations explorées

- Modélisation in vitro/ in vivo

S338X : Activation d'Akt et Erk

Désensibilisation après interaction avec SDF1

Maladie disséminée/ Formes extramédullaires

Chimiorésistance

R à Ibrutinib S à Bortézomib

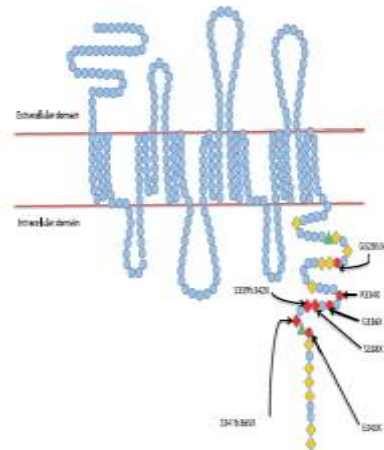
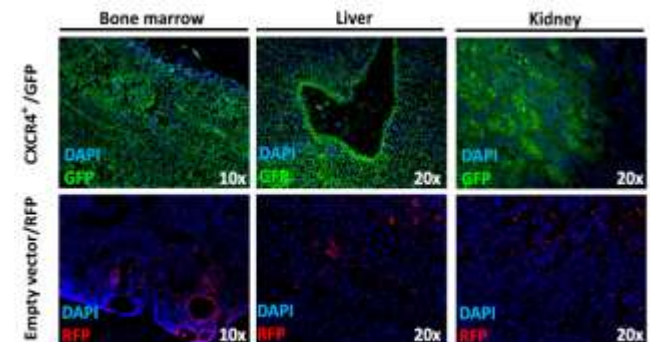


Table 1. Somatic mutations in the C terminus of CXCR4 identified by Sanger sequencing and stratified by MYD88 L265P mutation status in WM patients

n	MYD88 status	Mutation type	Nucleotide change	Amino acid change
1	L265P	NS	r.997 A>T*	K333X*
3	L265P	NS	r.1000C>T	R334X
7	L265P	NS	r.1013C>A	S338X
15	L265P	NS	r.1013C>G†	S338X†
1	WT	FS	r.931_933insT	T311fs
3	L265P	FS	r.952_954insA	T318fs
2	L265P	FS	r.951_953delACCTC	T318fs
1	L265P	FS	r.954_956insC	S319fs
1	L265P	FS	r.958_960delTG	V320fs
1	L265P	FS	r.963_965insC	R322fs
1	L265P	FS	r.969_971insG	S324fs
1	L265P	FS	r.978_980insT	K327fs
1	L265P	FS	r.984_986insT	L329fs
1	L265P	FS	r.993_995insA	G332fs
1	L265P	FS	r.1005_1007insT	G336fs
2	L265P	FS	r.1013_1015delATCT	S338fs
1	L265P	FS	r.1018_1019delATCTGTTTCCACTGAGT	S338fs
3	L265P	FS	r.1012_1014insT	S338fs
1	L265P	FS	r.1015_1017delICT	S339fs
1	L265P	FS	r.1020_1022delT	S341fs
1	L265P	FS	r.1024_1026delICT	S342fs
1	L265P	FS	r.1030_1041CTGAGTCTTC>GT	S344fs
1	L265P	FS	r.1033_1035delAQ	E345fs



CXCR4⁺ overexpressing WM cells with aggressive ability to disseminate to bone marrow, liver, and kidney in SCID.Bg mice as demonstrated by immunofluorescence imaging of GFP-tagged CXCR4⁺ WM cells. DAPI, 4',6-diamidino-2-phenylindole; RFP, red fluorescent protein. Adapted from Figure 2D in the article by Roccaro et al that begins on page 4120.

Les WM avec mutation de *CXCR4* constituent une entité génomique

Fréquence plus élevée

+4 ($p=0.002$),

délétion 6q ($p=0.038$) et gain Xq ($p=0.002$)

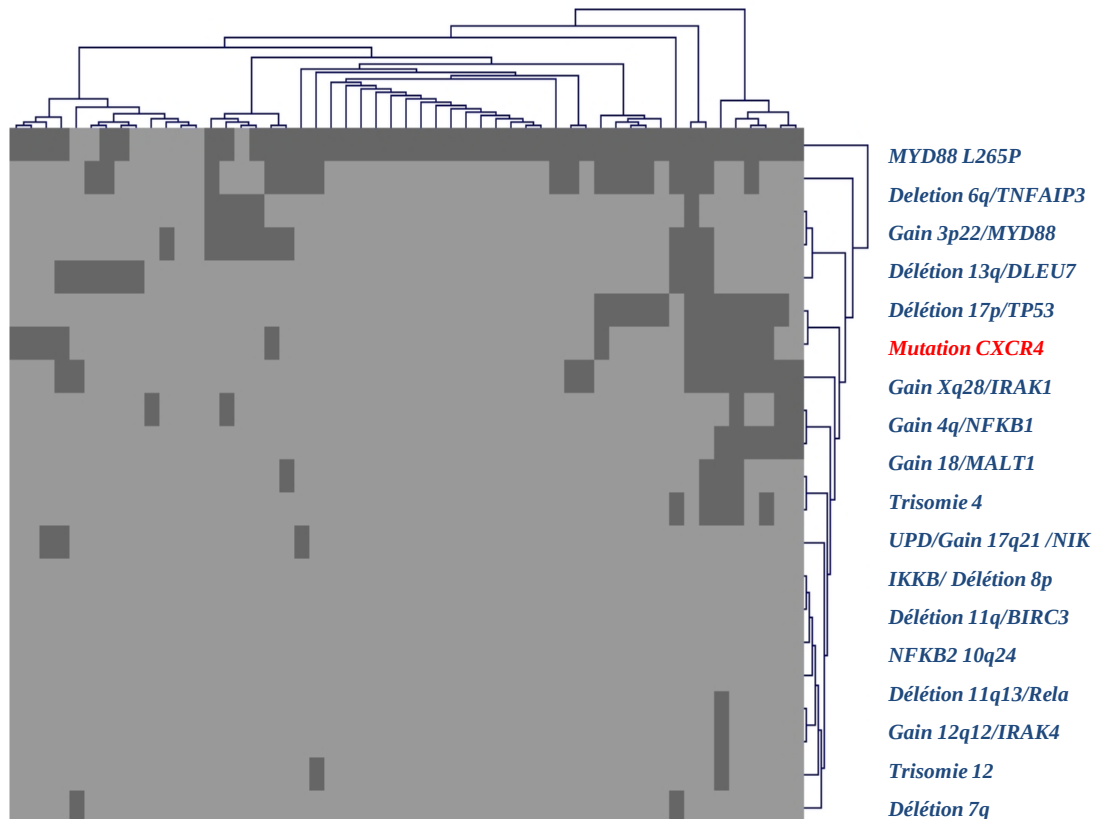
Fréquence d'anomalies plus importante ($p=0.01$)

N= 53 WM

Absence
d'anomalies



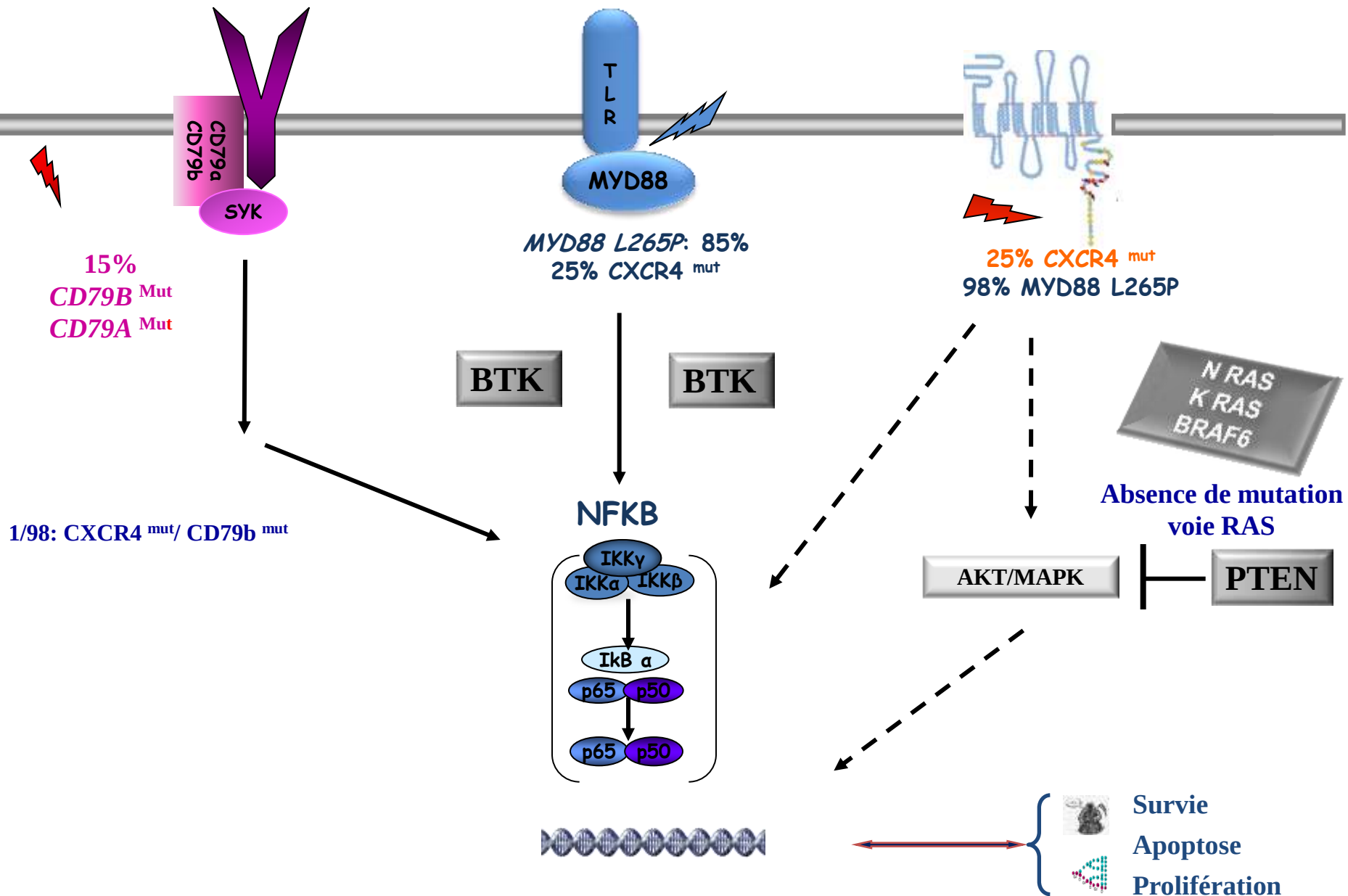
Présence
d'anomalies



Voie du BCR

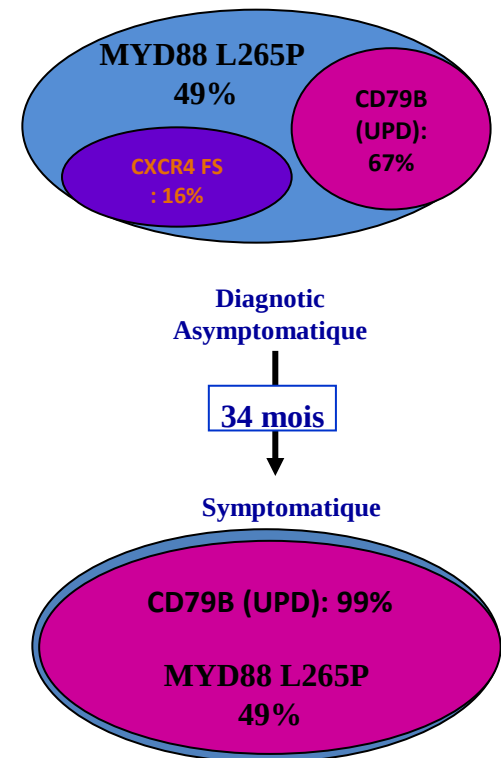
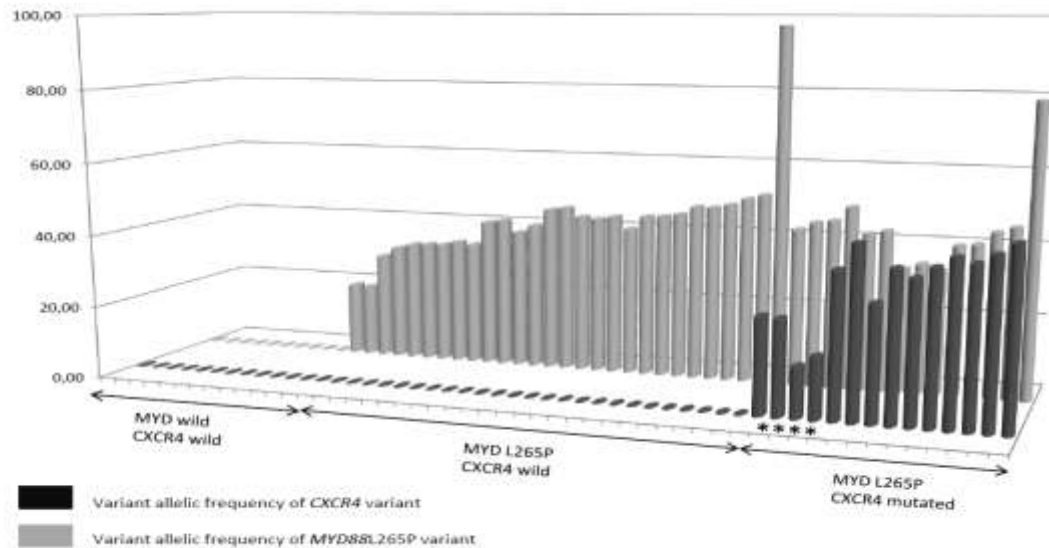
Voie des TLR

Axe CXCL12/ CXCR4



CXCR4

- Mutations sous clonales dans 1/3 des cas
- Anomalies secondaires à MYD88L265P?
- CXCR4 associé à EFS plus courte dans les MW AS?



Biologie des MGUS Ig M

- Immunophénotypage:

Présence de cellules « WM like »
CD22^{low}/CD25/CD27+/IgM

- Absence de délétion 6q? (Schop, 2002)

- Statut mutationnel VH : ↑Vh3

- Mutation *MYD88 L265P*:

10 à 50% +++

Associée à un risque d'évolution vers un WM

- Mutation de *CXCR4* : 20% S338X

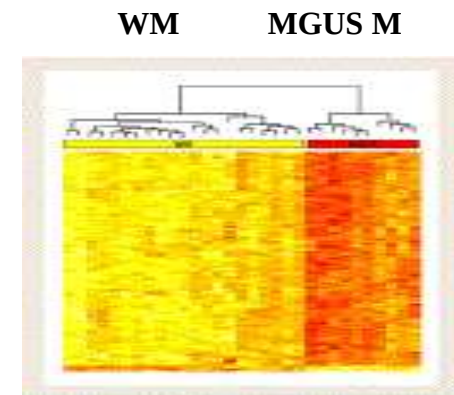
- SNPa : n=9

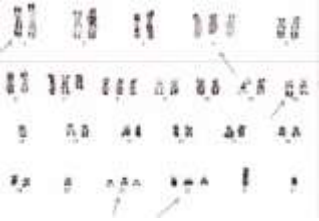
- Del6q, +18,...
- Absence de +4

- Une signature transcriptionnelle?

- Non : Paiva et al
- Oui : Trojani et al

IgM-MGUS (N = 67)	
% of BM B cells	2.2 (0.2–12)
% of patients with >10% BM B cells ^a	1%
% of light-chain-isotype-positive B-cells	75 (8–100)
% of patients with complete B-cell light-chain restriction	1%
% of BM PCs	0.32 (0–2.4)
% of light-chain-isotype-positive PCs	70 (10–100)
% of patients with complete PC light-chain restriction ^a	8%



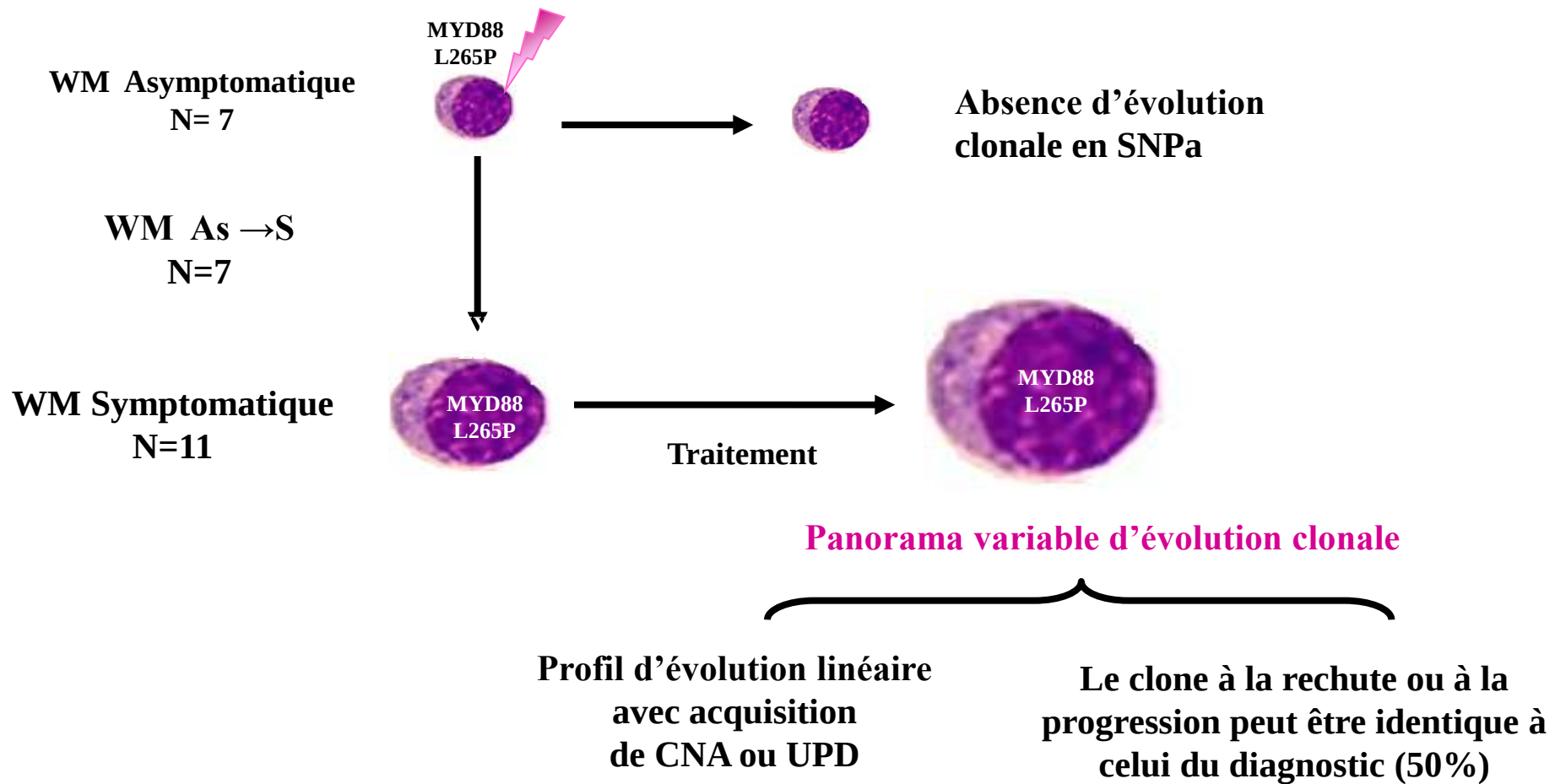


Un génome instable?

- **Mutation de gènes de réparation de l'ADN?**
 - ARID1A 17% (5/30) décrite dans d'autres cancers (sein , poumon,...)
 - HIST1H1E (2/10)
- **Des translocations souvent déséquilibrées : 15% des caryotypes**
- **Un défaut d'expression de protéines impliquées dans la réparation de l'ADN**
↓↓ KU70
- **De rares cas de chromothripsis :**
 - Un mécanisme d'instabilité génomique décrit dans différents cancers à des fréquences variables
 - 10 à 100 réarrangements chromosomiques dans des régions localisées
 - Chromosome 3
 - Chromosome 6



Quelle est la dynamique de l'évolution clonale dans la WM?



Rôle de la chimiothérapie ?

Progression d'un clone mineur ?

Emergence d'un clone différent au cours de la progression ?

Bilan: Nouvelles Technologies

- **Expression génique :**

Profil + proche LLC que MM

Clone détectable dès le stade MGUS IgM

Une signature en miRNA

- **Séquençage Haut Débit :**

Mutation MYD88L265P dans 90% des MW

Mutation CXCR4 : 25 à 30%

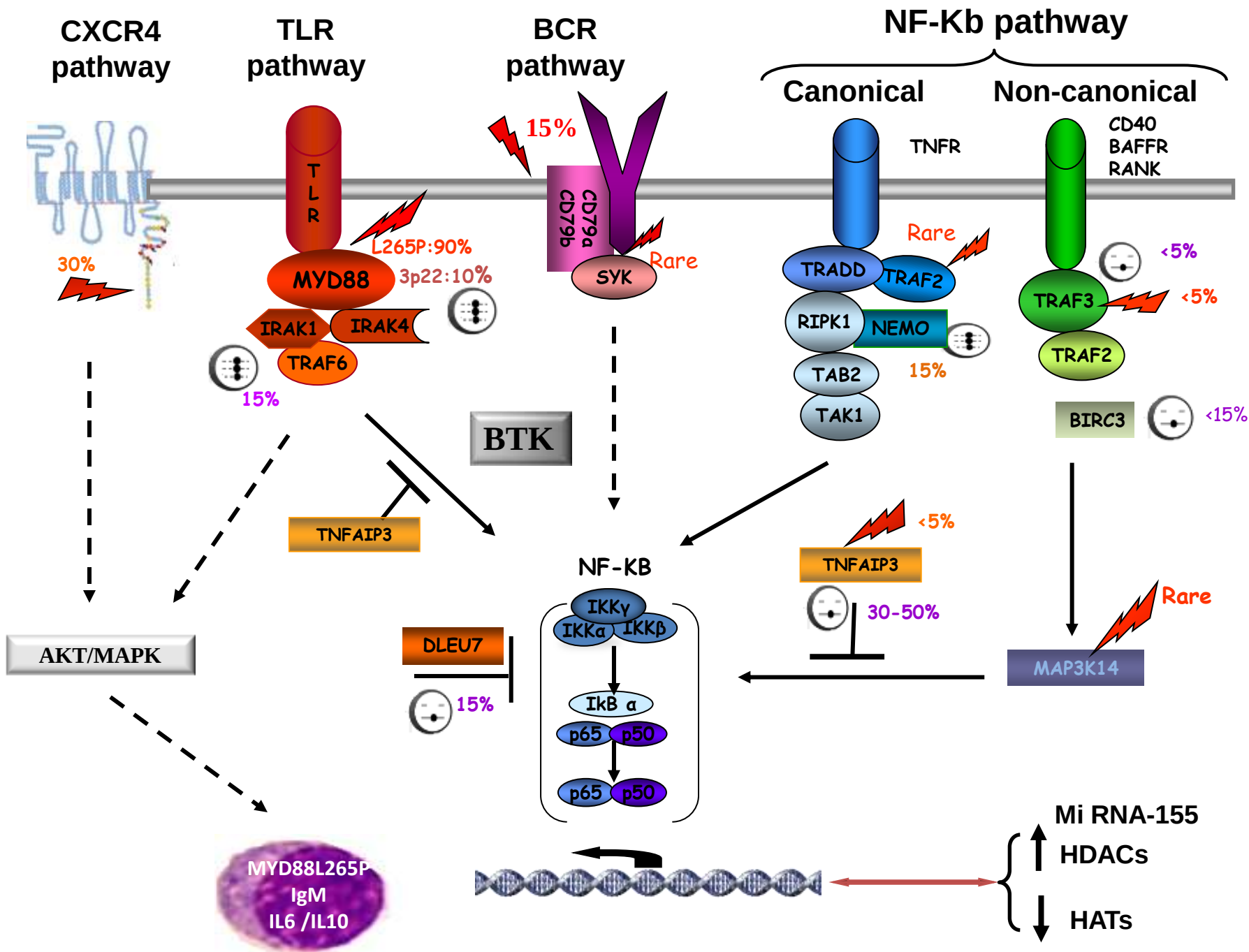
Autres mutations rares: Rôles?

— **NGS ciblé:** Architecture clonale

- **Cytogénétique/ CGH array/SNP array :**

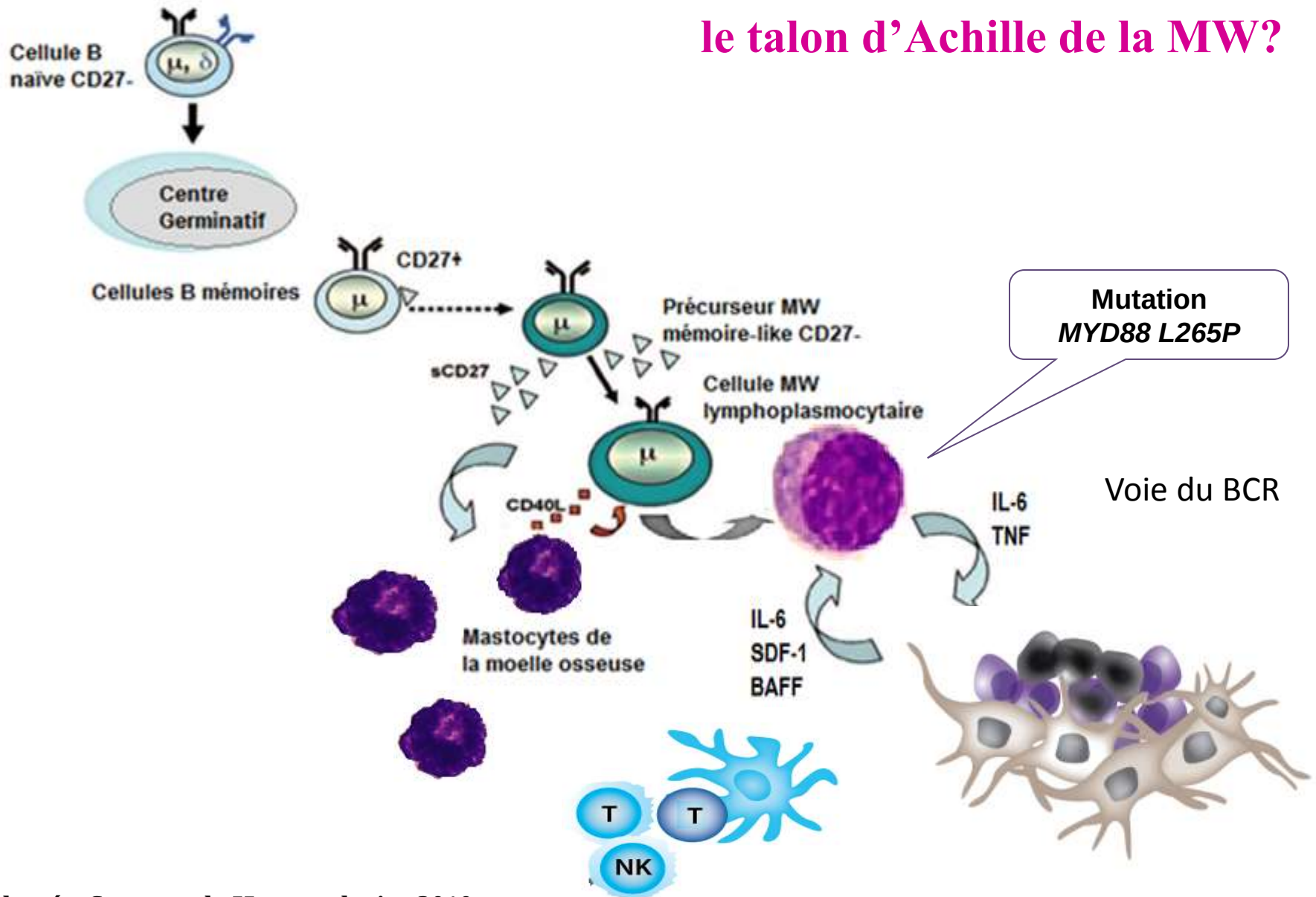
Pas d'autres anomalies récurrentes à fréquence élevée

mais nouveaux marqueurs



Un dialogue entre la cellule MW et son microenvironnement?

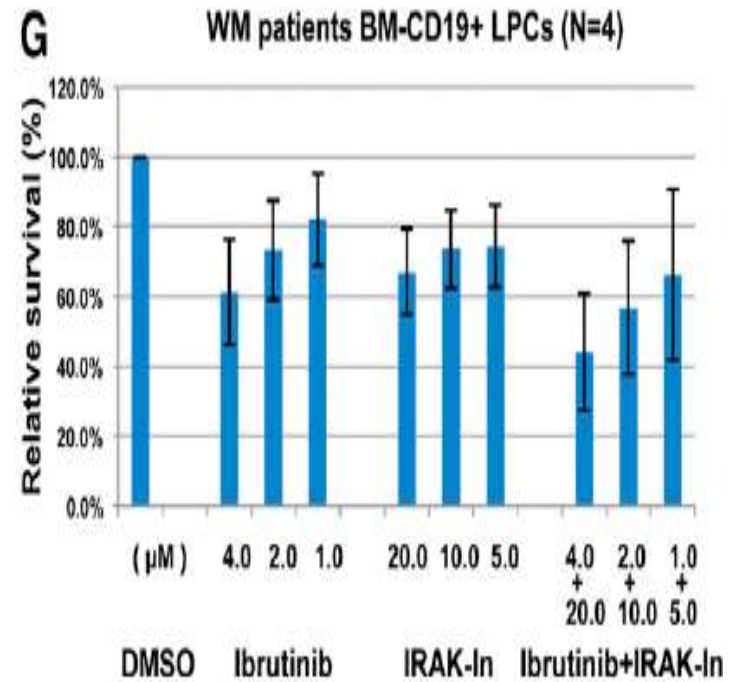
le talon d'Achille de la MW?



Des thérapies ciblées?

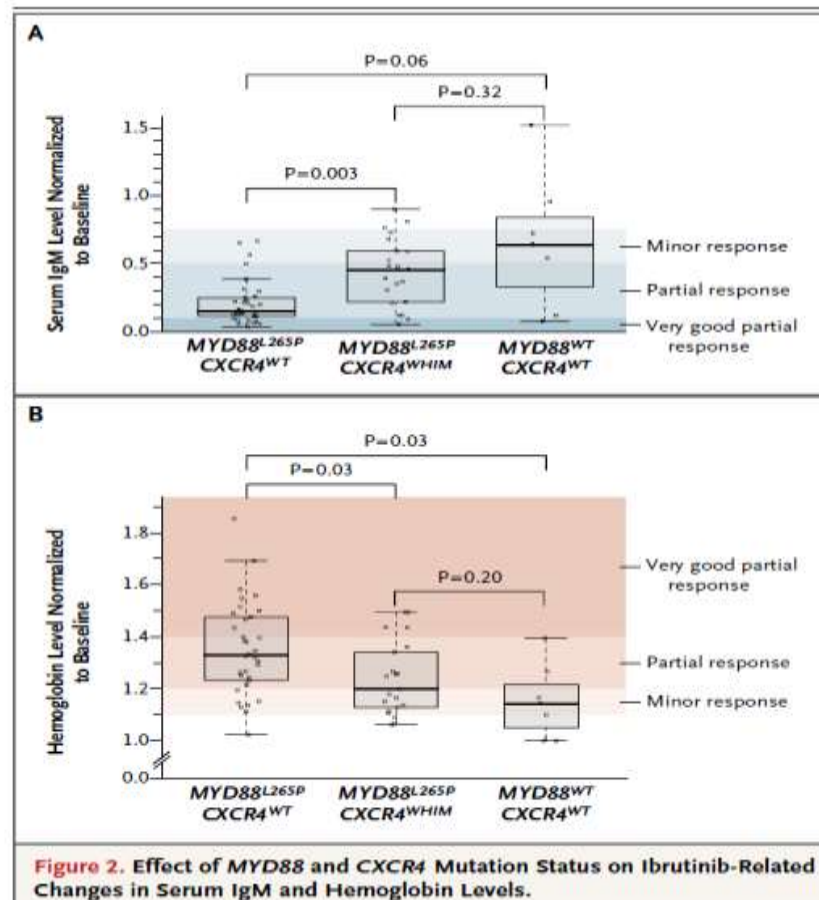
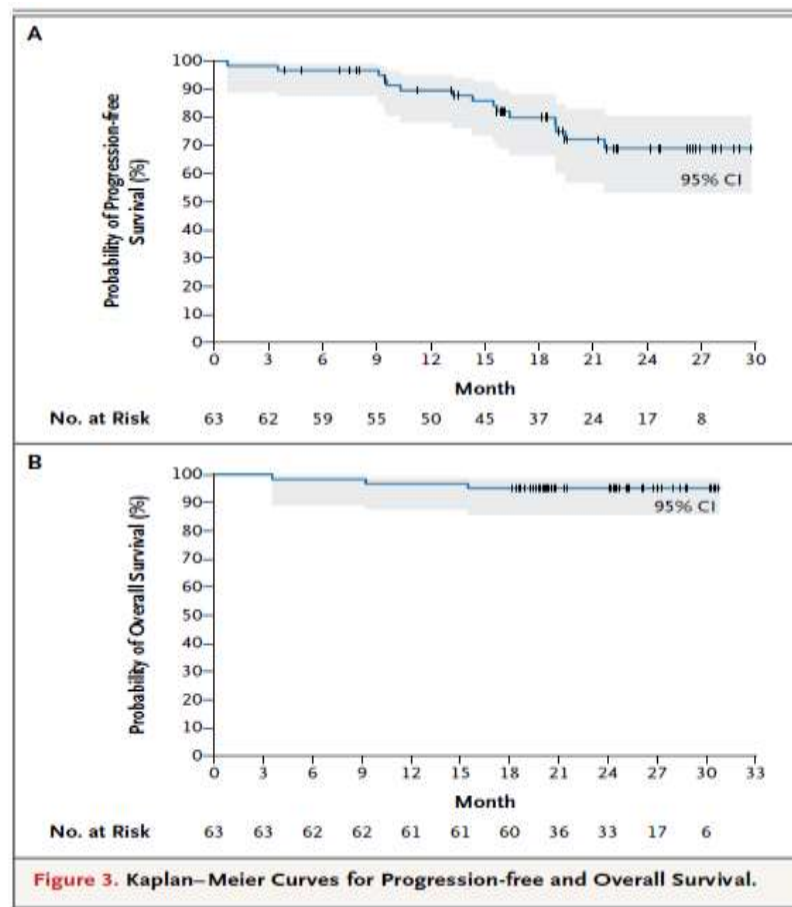


- PKC bêta ✂ Enzastaurin
- Akt ✂ Perifosine
- mTOR ✂ Everolimus
- Tyrosine kinase ✂ Glivec
- Src (TK) ✂ AZD0530 (AZD)
- Protéasome ✂ Bortézomib
- Panobinostat ✂ Histone déacetylase
- FGFR3 ✂ Dovitinib
- PI3K-delta inhibitors
- BTK ✂ Ibrutinib
- MYD88 ✂ Anti IRAK1/4
 - Seul ou en association



Ibrutinib in Previously Treated Waldenström's Macroglobulinemia

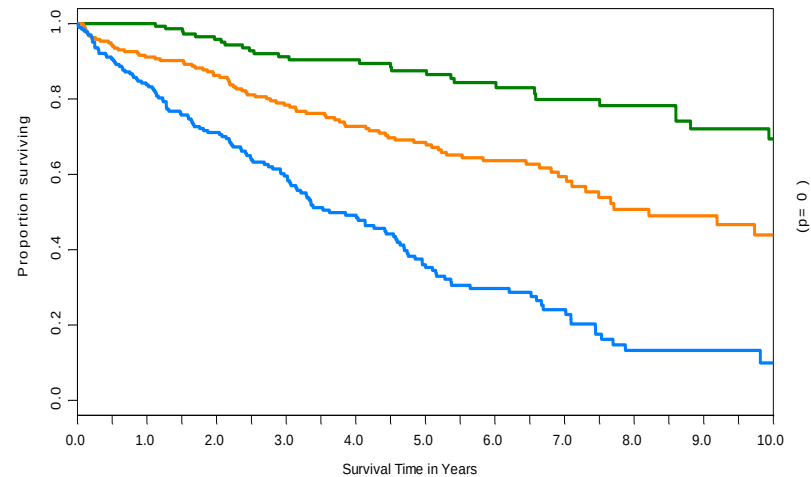
Steven P. Treon, M.D., Ph.D., Christina K. Tripsas, M.A., Kirsten Meid, M.P.H., Diane Warren, B.S., Gaurav Varma, M.S.P.H., Rebecca Green, B.S., Kimon V. Argyropoulos, M.D., Guang Yang, Ph.D., Yang Cao, M.D., Lian Xu, M.S., Christopher J. Patterson, M.S., Scott Rodig, M.D., Ph.D., James L. Zehnder, M.D., Jon C. Aster, M.D., Ph.D., Nancy Lee Harris, M.D., Sandra Kanari, M.S., Irene Ghobrial, M.D., Jorge J. Castillo, M.D., Jacob P. Laubach, M.D., Zachary R. Hunter, Ph.D., Zeena Salman, B.A., Jianling Li, M.S., Mei Cheng, Ph.D., Fong Clow, Sc.D., Thorsten Graef, M.D., M. Lia Palomba, M.D., and Ranjana H. Advani, M.D.



Des facteurs pronostiques biologiques?

International Prognostic Scoring System WM

- Age > 65 ans
- Plaquettes < 100 g/l
- IgM > 70g/l
- Hémoglobine < 115g/l
- B2 > 3mg/l



Number of patients at risk:

Low	155	152	133	110	96	87	64	51	43	33	25
Inte	216	194	174	143	126	106	79	50	32	23	14
High	203	170	136	95	73	48	31	20	9	6	3

- High risk: > 2 facteurs 36% survie à 5 ans
- Low risk <1 facteur sauf âge 87% survie à 5 ans
- 1^{ère} ligne et rechute

De nouveaux facteurs pronostiques biologiques?

- Cytogénétique/ FISH?
 - Délétion 17p? +12 ?
- MYD88 L265P?
- Mutation de CXCR4?
 - Ibrutinib Yes
 - Carfizomib No
- FcG RIIIA FF : réponse au rituximab
- Masse tumorale /IPSSWM
 - s CD27, s HLA classe I
 - FLC
 - wWF
- Nouveaux critères de réponse / Nouvelles thérapeutiques ?
 - FLC : Outil de suivi? pas validé
 - Maladie résiduelle?
 - CMF > 5%
 - MYD88 L265P : quelques cas publiés

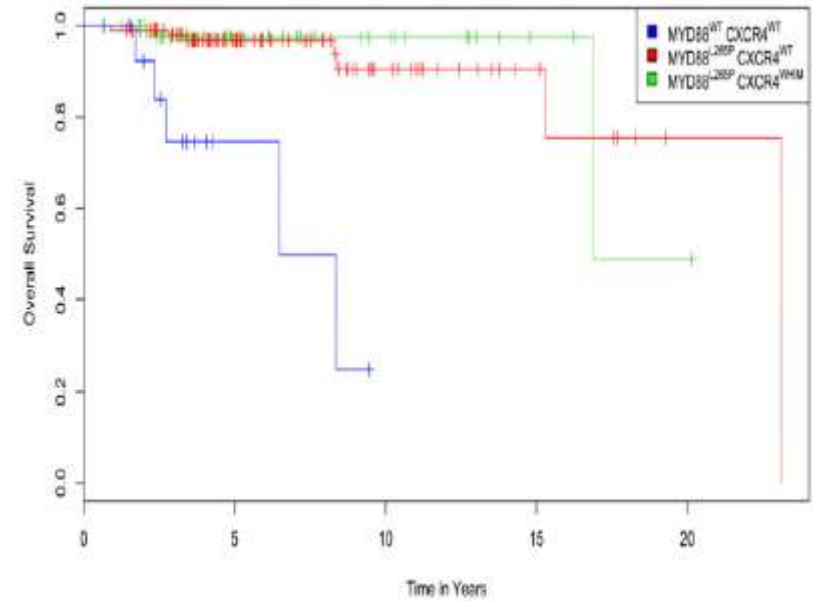


Figure 2. Kaplan-Meier plot for overall survival of 175 WM patients from time of diagnosis stratified by MYD88 and CXCR4 mutation status. Differences in survival curves based on CXCR4 and MYD88 mutation status were significant ($P < .0001$), as was the analysis based on MYD88 status alone ($P < .0001$) by Fleming-Harrington log-rank analysis.



1944

Maladie de Waldenstrom

Entité polymorphe cliniquement et biologiquement

1998

- Des avancées depuis 5 ans:

2002

- Une mutation : MYD88 L265P

2006

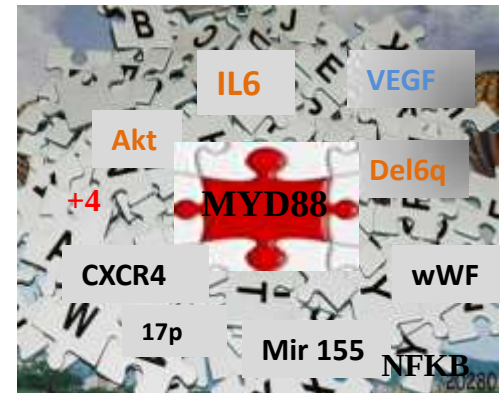
- Des voies de signalisation dérégulées
- Une signature transcriptionnelle
- Des anomalies additionnelles

2007

- Un microenvironnement tumoral « actif »
- Des modèles murins

2008

Une nouveau modèle d'oncogénèse?



- Prise en charge thérapeutique :

2009

Rationnel biologique pour thérapeutique ciblée : Ibrutinib

2012

- International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia Amsterdam 2016

2016

