

Caractérisation cytogénétique et moléculaire des syndromes lymphoprolifératifs B avec $t(2;7)/IGK-CDK6$

Une étude du GFCH

Coordonnateurs : Elise Chapiro
Baptiste Gaillard

SFH 15/03/2017

t(2;7)(p11;q21) et variantes

- Anomalie récurrente rare des **hémopathies lymphoïdes B** (environ 30 cas décrits)
- **Lymphomes spléniques de la zone marginale et LLC** et autres lymphomes B indolents
- Implication du locus **IGK** (*plus rarement IGL ou IGH*) et du gène **CDK6**
 - hyperexpression de **CDK6**, impliquée dans le cycle cellulaire



2

t(2;7)

7

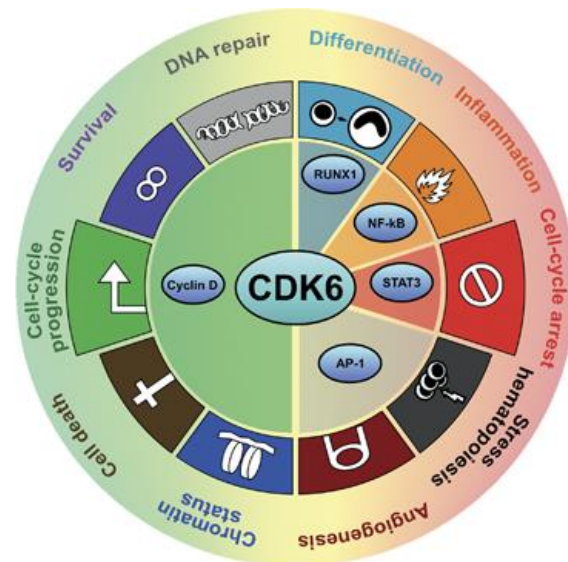


Table 2 Karyotype and genes involved in 23 patients with lymphoproliferative disorder identified in the literature

Pathology	Sex	Age	Karyotype	Genes	Reference
CLL	M	79	46,X,-Y,+12[1]/46,X,-Y,+12,t(7;14)(q21;q32)[16]/46,XY[3]	<i>CDK6/IGH</i>	(2)
CLL	NA	NA	No mitosis	<i>CDK6/IGH</i>	(8)
CLL	M	61	46,XY,t(7;22)(q22;q11),del(13)(q13q14)[12]/46,XY[9]	<i>CDK6/IGL</i>	(2)
CLL	F	78	46,XX,t(2;7)(p11;q22),del(6)(q13q16)[13]	ND	(7)
CLL	M	46	46,XY,t(2;7)(p11;q21.2)[8]/46,XY[22]	ND	(18)
CLL	M	56	46,XY,del(1)(p34.1p36.1),t(2;7)(p11.2;q22),add(7)(q32),-8,add(13)(p11.2),add(16)(q22),-17,+2mar[2]/46,XY[18]	ND	(19)
CLL	M	61	45,XY,t(2;7)(p11-12;q22),der(8)t(8;17)(p12;p11),-17[5]/47,XY,t(2;7),+5,+12[10]/46,XY[35]	<i>CDK6/?</i>	(2)
SMZL	NA	NA	t(2;7)(p11;q22) inc	?/ <i>IGK</i>	(3)
SMZL	NA	NA	t(2;7)(p11;q22) inc	?/ <i>IGK</i>	(3)
SMZL	NA	NA	t(2;7)(p11;q22) inc	?/ <i>IGK</i>	(3)
SMZL	NA	NA	t(2;7)(p11;q22) inc	?/ <i>IGK</i>	(3)
SMZL	NA	NA	t(2;7)(p11;q22) inc	<i>CDK6/IGK</i>	(3)
SMZL	M	84	44-45,XY,t(2;7)(p12;q22),der(8)t(8;21)(q22;q11),del(14)(q22)	<i>CDK6/IGK</i>	(20)
SMZL	NA	NA	NA	<i>CDK6/IGK</i>	(21)
SMZL	F	68	44-48,XX,add(2)(p13),add(7)(p11.2),+7,-8,add(9)(p22)X2,-13,del(13)(q12q14),-14,-17,-17,-19,+3mar	<i>CDK6/IGK</i>	(22)
SMZL	F	83	NA	<i>CDK6/IGK</i>	(22)
Atypical SMZL	F	75	46,XX,t(2;7)(p12;q21-22),der(8)t(8;17)(p12;p11),+12,-17/45,XX,t(2;7)(p12;q21-22),der(7)t(7;13)(q34-35;q21),-10,der(13)t(13;10)(p11;q?)	<i>CDK6/IGK</i>	(17)
SMZL (SLVL)	F	76	46,XX,t(2;7)(p11.23;q22.1),del(7)(q34q36.1),der(8)t(8;12)(p21;q11.1)[23]/46,XX[46]	<i>CDK6/IGK</i>	(1)
SMZL (SLVL)	M	52	46,XY,t(2;7)(p11;q22)[28]/46,XY[1]	<i>CDK6/IGK</i>	(1)
SMZL (SLVL)	M	64	46,XY,t(2;7)(p11;q21.2)	<i>CDK6/IGK</i>	(1)
MBL	F	75	46,XX,t(2;7)(p11;q22)[9]/46,XX[21]	<i>CDK6/IGK</i>	(16)
Low-grade BLPD	M	66	46,XY,t(2;7)(p11.2;q22)	<i>CDK6/IGK</i>	(22)
High-grade B-cell lymphoma, unclassifiable	M	56	46,XY,del(1)(p34.1p36.1),t(2;7)(p11.2;q22),add(7)(q32),-8,add(13)(p11.2),add(16)(q22),-17,+2mar	<i>CDK6/IGK</i>	(22)

Abbreviations: NA, not available; ND, not determined; SLVL, splenic lymphoma with villous lymphocytes; MBL, monoclonal B-cell lymphocytosis; BLPD, B-cell lymphoproliferative disorder.

? means undetermined

Buts de l'étude et méthodes

⇒ caractériser les SLPB avec translocation t(2;7) et variantes sur une large série

1) Analyse cytologique

- ✓ Relecture : K Maloum (Pitié-Salpêtrière, Paris), C Lecoq-Lafon/M Pannetier (Reims)

2) Analyse phénotypique

- ✓ Recueil des données : score de Matutes/*Royal Marsden Hospital* (RMH) ± autres marqueurs

3) Caractérisation cytogénétique

- ✓ Validation des caryotypes par les membres du GFCH
- ✓ Vérification de l'implication du locus des gènes *IGK* (ou *IGL* ou *IGH*) et du gène *CDK6* par FISH
- ✓ Anomalies cytogénétiques associées : sondes FISH systématiques (CEP12, 13q14, ATM, TP53, BCL2, BCL6, 7q22/7q36)

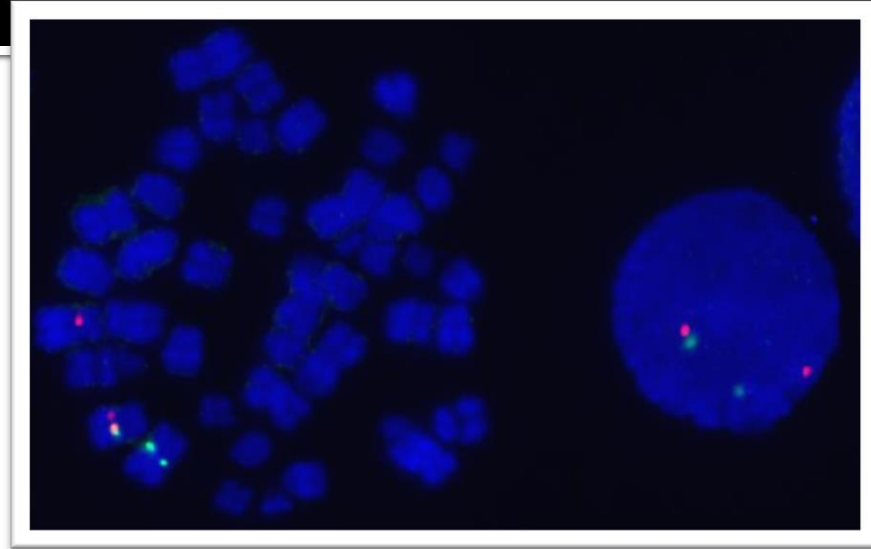
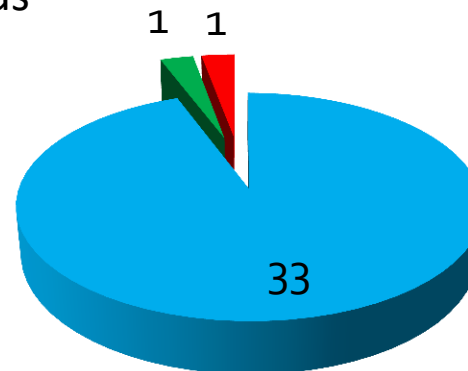
4) Caractérisation moléculaire

- ✓ Statut mutationnel *IGHV* et répertoire (analyse de fragments + séquençage Sanger selon le protocole ERIC)
- ✓ Recherche de mutations dans les gènes impliqués de façon récurrente dans les SLPB
 - *TP53* ex4-9 (séquençage Sanger selon protocole ERIC + analyse sur la base de l'IARC)
 - *MYD88* L265P (PCR en temps réel discrimination allélique)
 - *NOTCH2* ex34 (séquençage Sanger + analyse sur les bases COSMIC et ENSEMBL)

Caractéristiques générales des patients

- 35 patients avec syndrome lymphoprolifératif B inclus à ce jour
 - 22 H/13 F
 - Age médian au diagnostic = 71 ans
- Translocations *CDK6*
 - confirmation de l'implication du gène ***CDK6*** par FISH dans tous les cas

partenaires de *CDK6*
(n=35)



CDK6

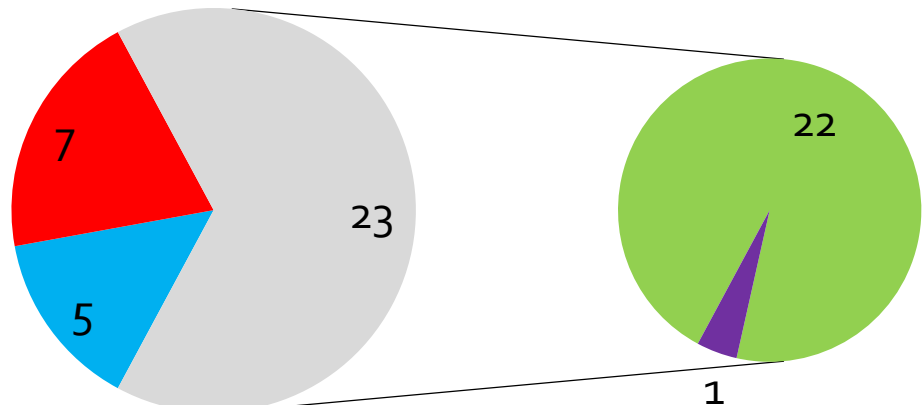
2 BACS : RP11-246N14 (FITC) + RP11-90H9 (Rhodamine)

■ IGK
■ IGH
■ TRAD

Analyse cytologique

- Diagnostics (Relecture cytologique de 27/35 cas, ou diagnostic retenu dans le centre d'origine)

- LLC/LL
- SLPB,U
- LZM
- LZM type MALT

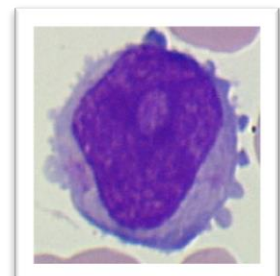
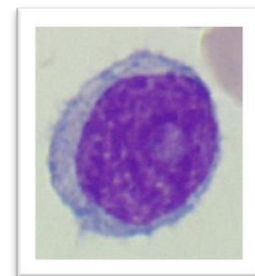
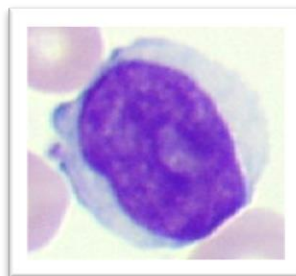


LLC/LL : leucémie lymphoïde chronique/lymphome lymphocytaire

SLPB,U : syndrome lymphoprolifératif B non classé

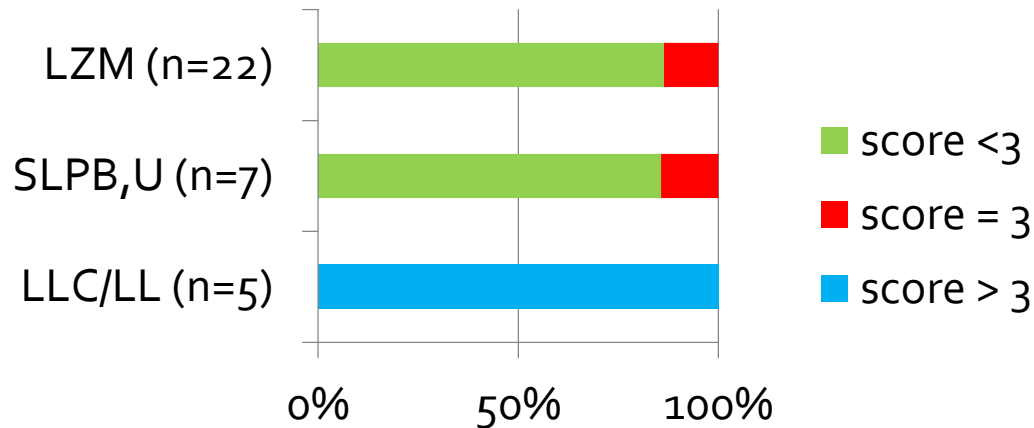
LZM : lymphome de la zone marginale

- Fréquente composante lymphoïde nucléolée (type « prolymphocytoïde ») dans 17/27 (63%) cas
 - LZM : 14/19 (74%)
 - SLPB,U : 3/4 (75%)
 - LLC/LL : 0/4 (0%)

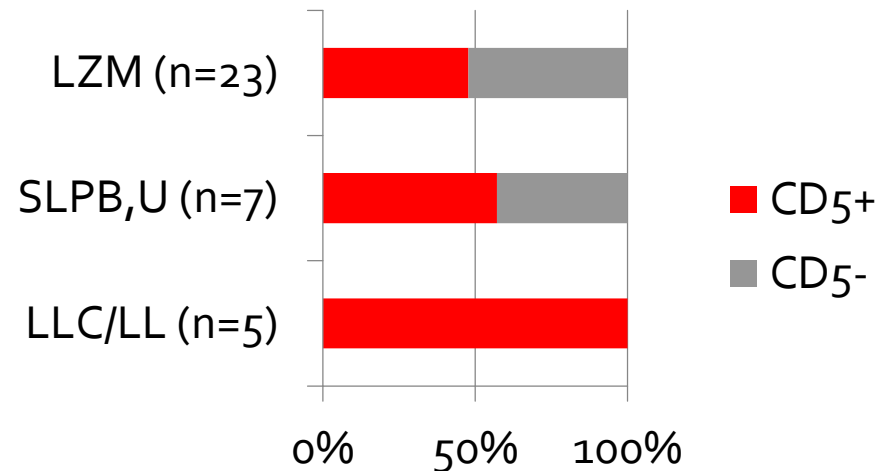


Analyse phénotypique

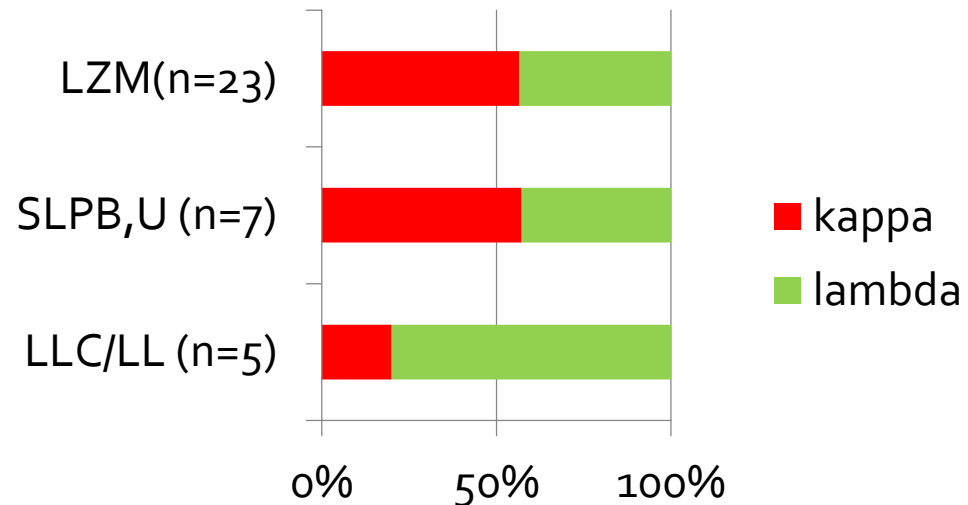
- Valeur du score de Matutes/RMH en fonction du diagnostic



- Fréquence de positivité du CD5

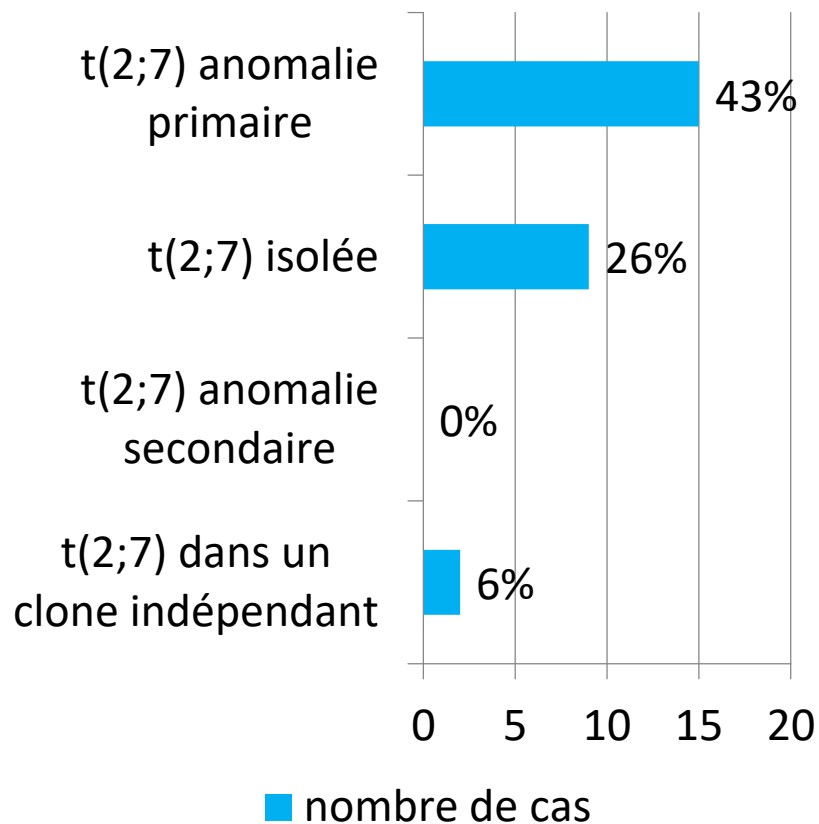


- Répartition kappa/lambda

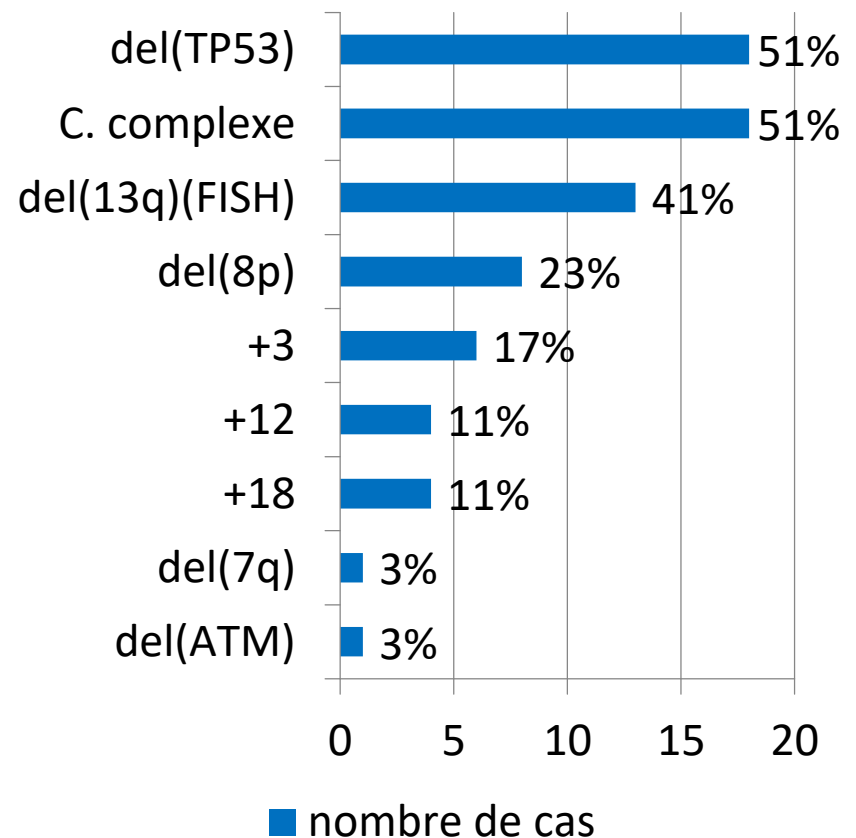


Analyse cytogénétique

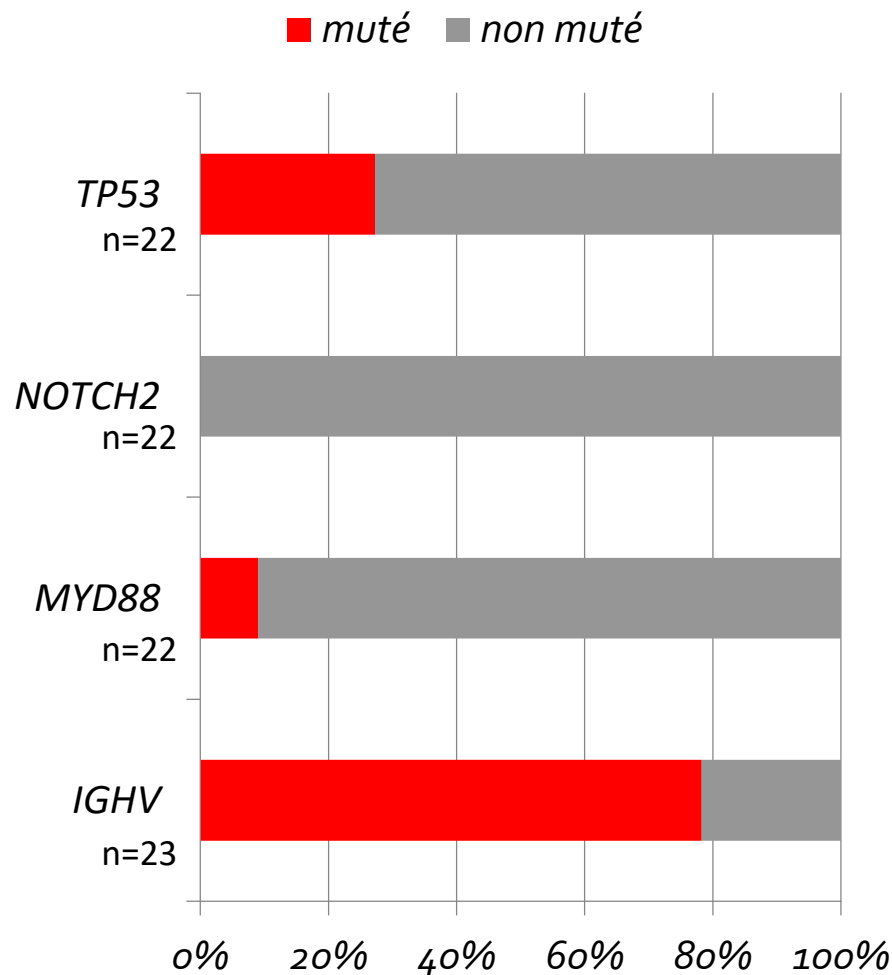
Place de la t(2;7) dans le caryotype
(n=35)



Anomalies associées à la t(2;7)
(n=35)

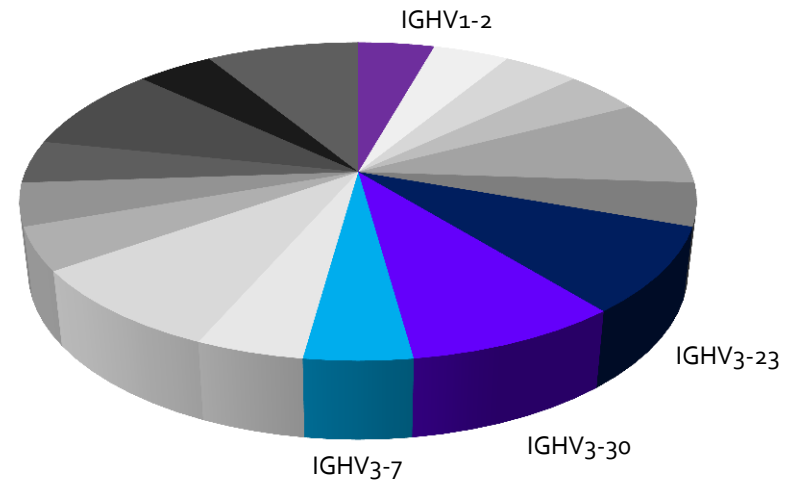


Analyse moléculaire

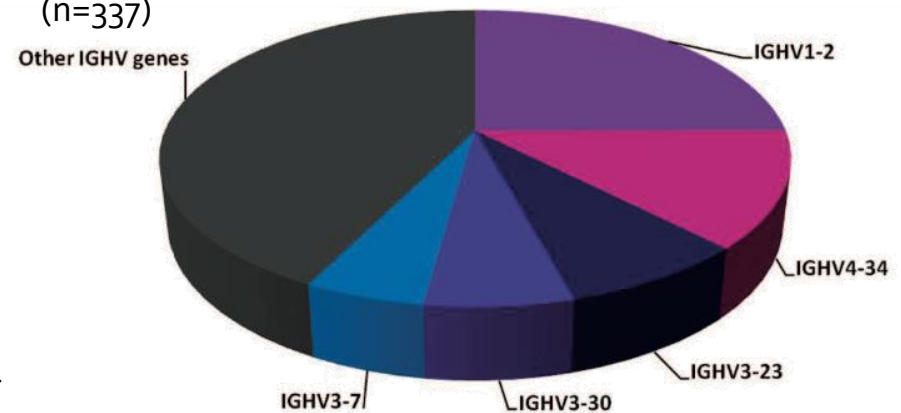


Remarque : *IGHV* non muté si =100% d'homologie pour LZM et >98% d'homologie pour LLC/LL

Distribution du répertoire *IGHV* dans la cohorte (n=23)



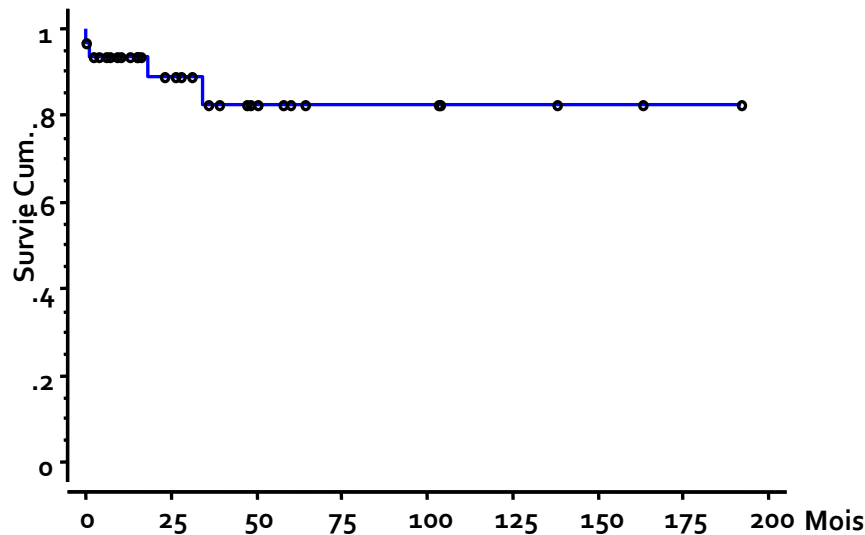
Distribution du répertoire *IGHV* dans les LZMS (n=337)



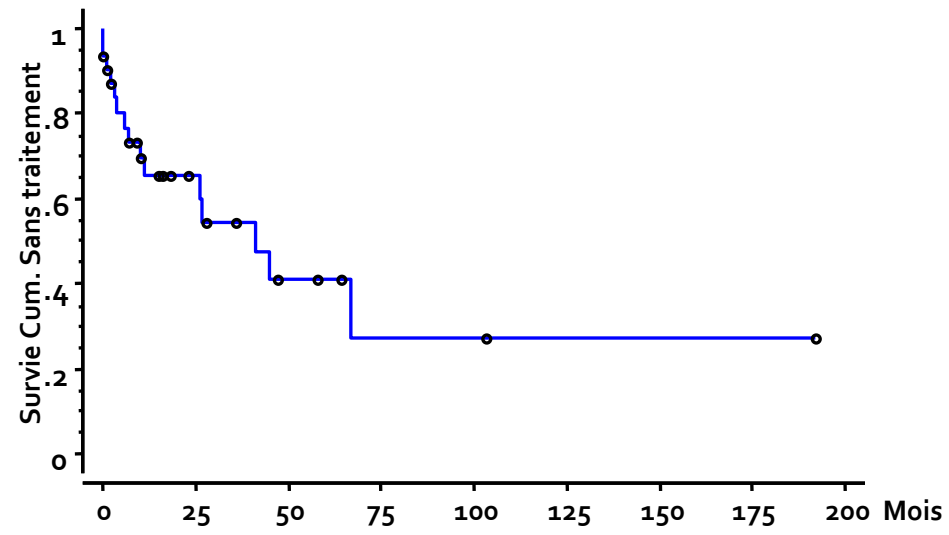
Données cliniques

- Médiane de suivi ($n=33$) = 28 mois [0;192]
- Patients décédés = 4/32
- Patients traités = 15/32 (47%)

Survie globale à 10 ans : 82,4%

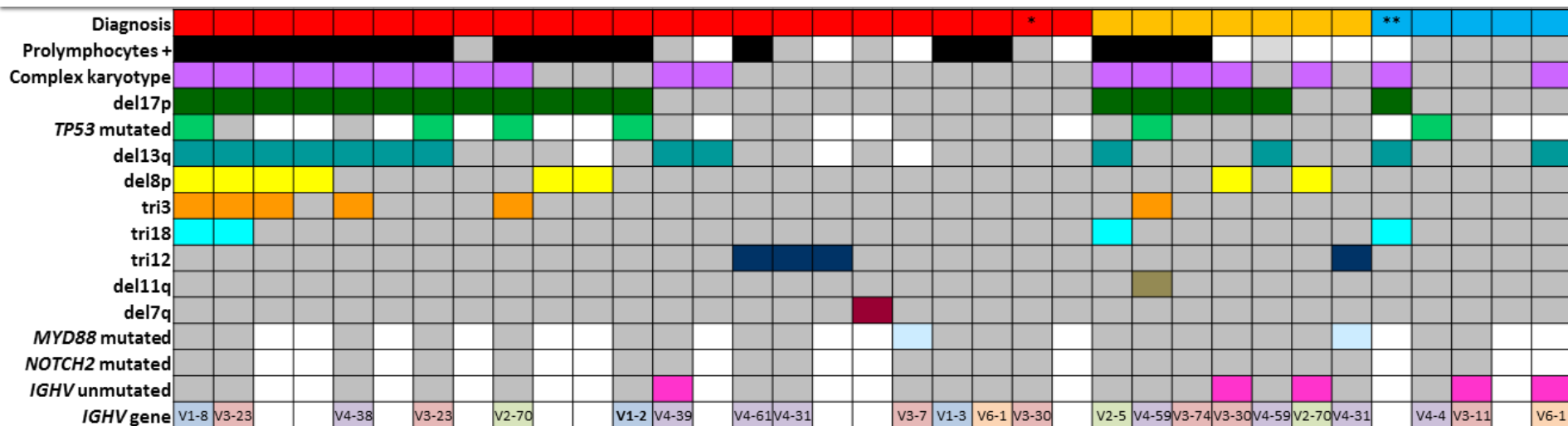


Survie sans traitement (mois $\pm$ SE) : 41 ± 14.57



- Pas d'impact des anomalies *TP53* sur la survie sans traitement

Distribution des anomalies



- Association significative des anomalies du gène *TP53* avec le caryotype complexe (p=0,02) et la del13q (p=0,04)
- +12 = observée uniquement parmi les patients sans anomalie de *TP53*
- Globalement = **répartition similaire des anomalies entre les LZM *CDK6+*/SLPB,U *CDK6+***

	LZM <i>CDK6</i> + (n=23)	SLPB,U <i>CDK6</i> + (n=7)	LZM (littérature)
Caryotype complexe ^a	11/23 (48%)	5/7 (71%)	53% ²
DelTP53	12/23 (52%)	5/7 (71%)	18% ² (FISH)
Mutation TP53	4/13 (31%)	1/7 (14%)	16% ¹
Del13q14 (FISH)	9/20 (45%)	2/7 (29%)	5% ² (K)
Del8p	6/23 (26%)	2/7 (29%)	4% ²
Tri3	5/23 (22%)	1/7 (14%)	25% ²
Tri18	2/23 (9%)	1/7 (14%)	10% ²
Tri12	3/23 (13%)	1/7 (14%)	8% ²
Del7q	1/23 (4%)	0/7 (0%)	39% ²
Del11q	0/23 (0%)	1/7 (14%)	5% ²
Mutation NOTCH2	0/13 (0%)	0/7 (0%)	10% ¹
Mutation MYD88	1/13 (8%)	1/7 (14%)	7% ¹
IGHV muté ^b	12/13 (92%)	5/7 (71%)	87% ³
IGHV1-02	1/13 (8%)	0/7 (0%)	25% ³
Expression du CD5	11/23 (48%)	4/7 (57%)	25% ³

a. Caryotype complexe : ≥3 anomalies

b. IGHV cut-off : 100% LZM/USBCL
98% LLC/SLL

¹Parry, Clin Cancer Res, 2015 (175 LZMs)

²Salido, Blood, 2010 (330 LZMs)

³Bikos, Leukemia, 2012 (337 LZMs)

Conclusion

- Série la plus importante documentée à ce jour
 - d'autres inclusions en cours
- Translocation impliquant le gène *CDK6* = **SLPB indolents plutôt de type LZM**
 - peut être aussi observée dans la LLC
- Distinction des LZM *CDK6+* par rapport aux LZM « classiques » par :
 - contingent « prolymphocytoïde » plus fréquent
 - expression du CD5 plus fréquente
 - **fréquence élevée des anomalies du gène *TP53***
 - **faible incidence des délétions 7q**
 - absence de restriction du répertoire *IGHV*
- SLPB,U *CDK6+* = caractéristiques **similaires** avec les LZM *CDK6+*
- >90% des cas = implication du locus *IGK*
 - 1 cas atypique avec implication du locus *TCR*
 - pas d'explication de cette fréquence, notamment par rapport au locus *IGH* beaucoup plus fréquemment réarrangé dans les translocations IG des autres syndromes lymphoprolifératifs B

Remerciements

- CHU Pitié-Salpêtrière
 - **F Nguyen-Khac**
 - **E Chapiro**
 - K Maloum
 - C Gabillaud
 - C Lesty
- CHU Reims
 - **P Cornillet-Lefebvre**
 - Équipe technique de biologie moléculaire
 - C Lecoq-Lafon
 - M Pannetier
- Membres du GFCH
 - N. Nadal (Dijon)
 - A Ittel (Strasbourg)
 - S Struski (Toulouse)
 - C Lefebvre (Grenoble)
 - JB Gaillard (Nîmes)
 - M Lafage/E Balducci (Marseille)
 - C Barin (Tours)
 - MA Collonge-Rame (Besançon)
 - S Richebourg (Quebec, Canada)
 - P Lemaire (Le Mans)
 - S Defasque (Pasteur-Cerba)
 - I Radford-Weiss (Necker, Paris)
 - A. Bidet (Bordeaux)