

# **Protocole MyeChild 01 : place de la cytogénétique**

**Wendy CUCCUINI (hôpitaux Saint-Louis & Robert Debré, Paris)**

**Marina LAFAGE (hôpital Timone, Marseille)**

## Protocole MyeChild 01 :

**Essai Clinique international de phase III randomisé LAM pédiatriques, avec étude de dose du Gemtuzumab Ozogamicin (GO) + chimiothérapie d'induction.**

### ***Critères inclusions :***

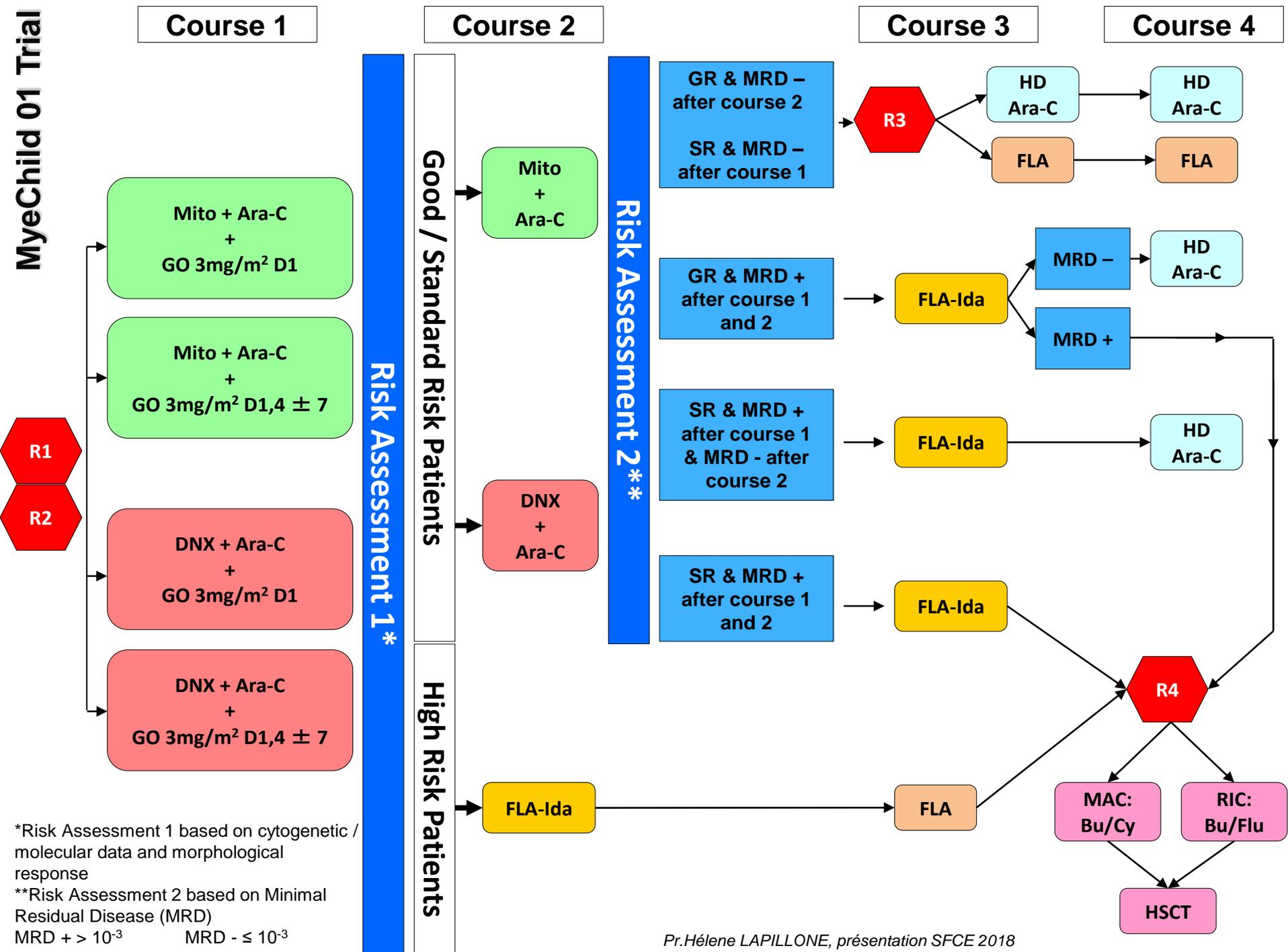
les pathologies *de novo* ou secondaires sont : les LAM, les syndromes myélodysplasiques de haut risque, les sarcomes granulocytaires isolés ; chez l'enfant et le jeune adulte **de moins de 18 ans.**

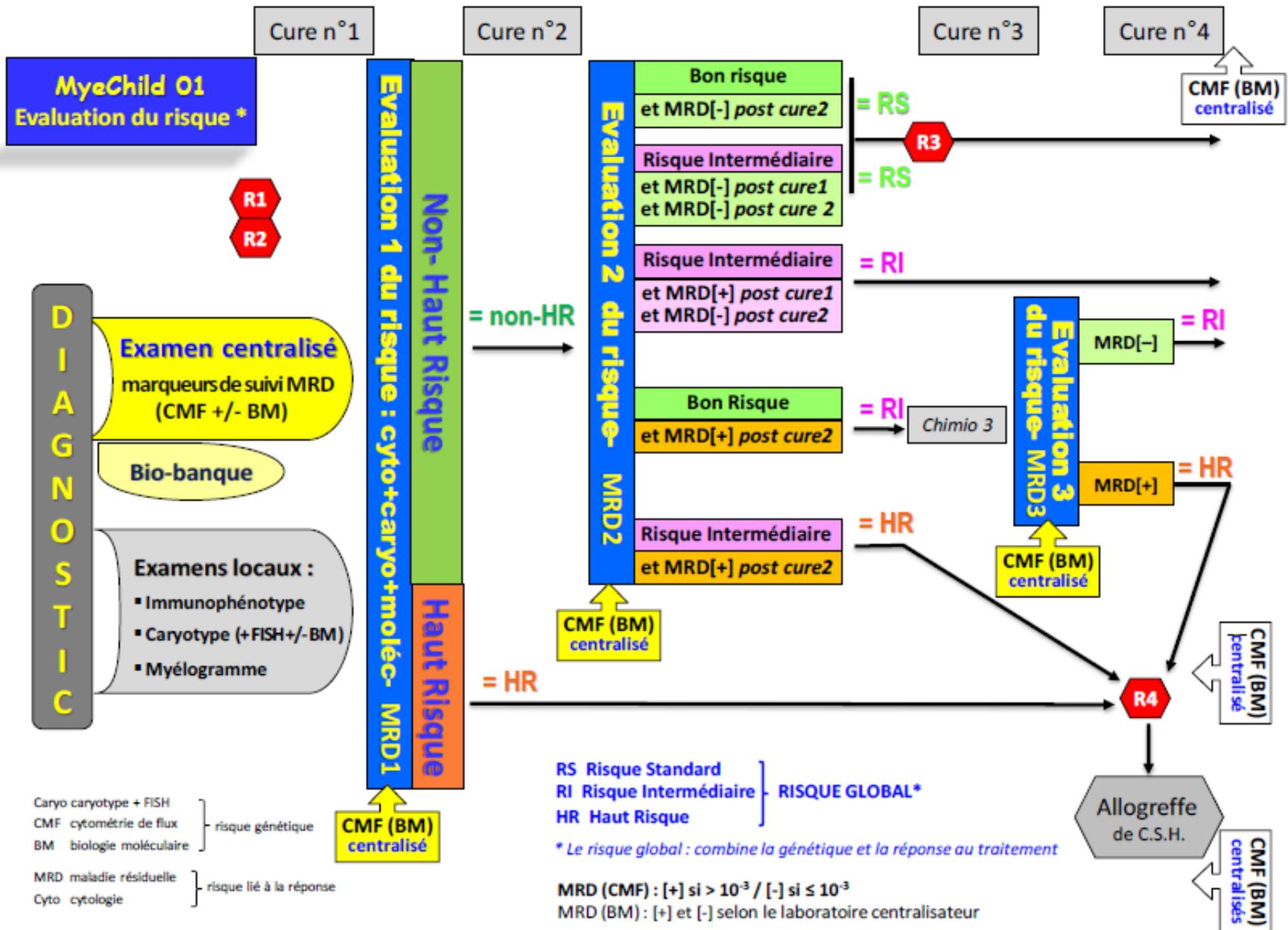
### ***Critères exclusions :***

LAM3, LAM DS (+21c), LMC

### ***Objectifs :***

- Améliorer l'EFS des patients en réduisant le risque de rechute et la toxicité ;
- Introduire du GO en première ligne de traitement ;
- Définir la meilleure anthracycline à utiliser en phase d'induction
- Réserver l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques aux patients à haut risque (HR).





# MyeChild 01 Trial

## Risk stratification at diagnosis and diagnostic tools

- **Good risk**
  - CBF leukemias:
    - t(8;21)(q22;q22)/*RUNX1-RUNXT1* K +/- FISH +/- BM
    - inv(16)(p13q22),t(16;16)(p13;q22)/*CBFB-MYH11* K +/- FISH +/- BM
  - Normal Karyotype
    - with *NPM1* mutation w/o *FLT3-ITD* K + BM
    - with double *CEBPA* mutant w/o *FLT3-ITD*
  
- **Standard risk**
  - t(9;11)(p22;23),t(11;19)(q23;p13)*
  - MLL rearrangements not classified as high risk : *t(1;11)(q21;q23)*,
  - All other abnormalities which are neither good or poor risk K +/- FISH +/- BM
  
- **High risk**
  - monosomy 7\*, monosomy 5 and del(5q) K +/- FISH
  - t(6;9)(p23;q34)/*DEK-NUP214* K +/- FISH +/- BM
  - t(9;22)(q34;q11)/*BCR-ABL* K +/- FISH +/- BM
  - t(6;11)(q27;q23)/*MLL-MLLT4*,t(10;11)(p11.2;q23)/*MLL-MLLT10*,  
t(4;11)(q21;q23)/*MLL-AFF1* K +/- FISH +/- BM
  - inv(3)(q21q26)/t(3;3)(q21;q26)/3q26 abnormalities *EVI1+*(FISH) K +/- FISH +/- BM
  - *t(5;11)(q35;p15)/NUP98-NSD1*, K + FISH + BM
  - *inv(16)(p13q24)/CBFA2T3-GLIS2* K + BM
  - *12p abnormalities (including MNX1-ETV6)* K +/- FISH (+/- BM)
  - *FLT3-ITD* w/o *NPM1* or *CBF* BM

\*2/3 cases associated with constitutional *GATA2*

# t(9;11)(p22;q23) MLL-AF9/t(11;19)(q23;p13)MLL-ENL/ELL: littérature

Creutzig U et al , Blood 2012 (BFM-98)

**Table 4.** Influence of Different MLL Rearrangements and Rare Translocations on Outcome

MLL Rearrangements and Rare Translocations	Patients		5-Year pEFS		P (log-rank)*	5-Year pOS		P (log-rank)*
	No.	%	%	SE		%	SE	
Patients with an MLL rearrangement	91	100	34	5	.0005	49	5	.0011
t(9;11)(p22;q23)	32	35	42	9	.41	51	9	.2
t(9;11)(p22;q23) with other aberrations	13	14	31	14	.23	30	14	.042
t(11;19)(q23;p13)	10	11	60	15	.69	58	16	.76
Other MLL rearrangements than t(9;11) and t(11;19)	40	44	24	7	.0002	47	8	.0068
t(10;11)(p11-p13;q23)	11	12	20	13	.14	50	16	.42
MLL rearrangements with unknown translocation partner	9		16	14	.27	43	19	.52

Patients With Rare MLL Rearrangements	No. of Patients	BMT (first CR/NR)	Events
t(1;11)(q21;q23)	2	Yes	CCR
		No	CCR
t(1;11)(p32;q23)	1	No	ED
		Yes	CCR
t(11;17)(q23;q21)	3	No	Relapse
		NK	Relapse
		Yes	CCR
t(6;11)(q27;q23)	5	No	ED
		Yes	CCR
		No	Death in CC
		Yes	Relapse
		Yes	NR

Abbreviations: pEFS, probability of event-free survival; pOS, probability of overall survival; CIR, cumulative incidence of relapse; BMT, bone marrow transplantation; CR, complete remission; NR, no response; CCR, continuous complete remission; ED, early death; +, still alive at last follow-up; NK, not known.  
\*P value indicates whether the differences are significant in comparison with other patients with cytogenetic data.

**Table 5.** Cytogenetic Risk Groups According to Results\* of Study AML-BFM 98

Risk Group According to Cytogenetics	Cytogenetics
Standard-risk group	Favorable cytogenetics (8;21)(q22;q22) or AML1-ETO t(15;17)(q22;q21) or PML-RAR $\alpha$ Inversion (16)(p13;q22) or CBF $\beta$ /MYH11
Intermediate-risk group	Intermediate cytogenetics Aberration of 7q Trisomy 8 without favorable genetics Aberrations of chromosome 5 without favorable genetics MLL rearrangement t(9;11) without additional aberrations MLL rearrangement t(11;19) Other cytogenetic aberrations† Normal karyotype*
High-risk group	Unfavorable cytogenetics MLL rearrangement in t(9;11) with additional aberrations MLL rearrangements other than t(9;11) and t(11;19) Monosomy 7 Aberrations involving 12p without favorable genetics Complex karyotypes‡
Rare unfavorable cytogenetics	t(9;22)(q34;q11), t(8;16)(p11;p13); t(6;9)(p23;q34), t(7;11)(p15;p15), t(7;12)(q36;p13)§

Harrison.C et al, JCO 2010(MRC-UK):

**t(9;11) n=40, EFS: 62 et Os: 73 (10 ans)**

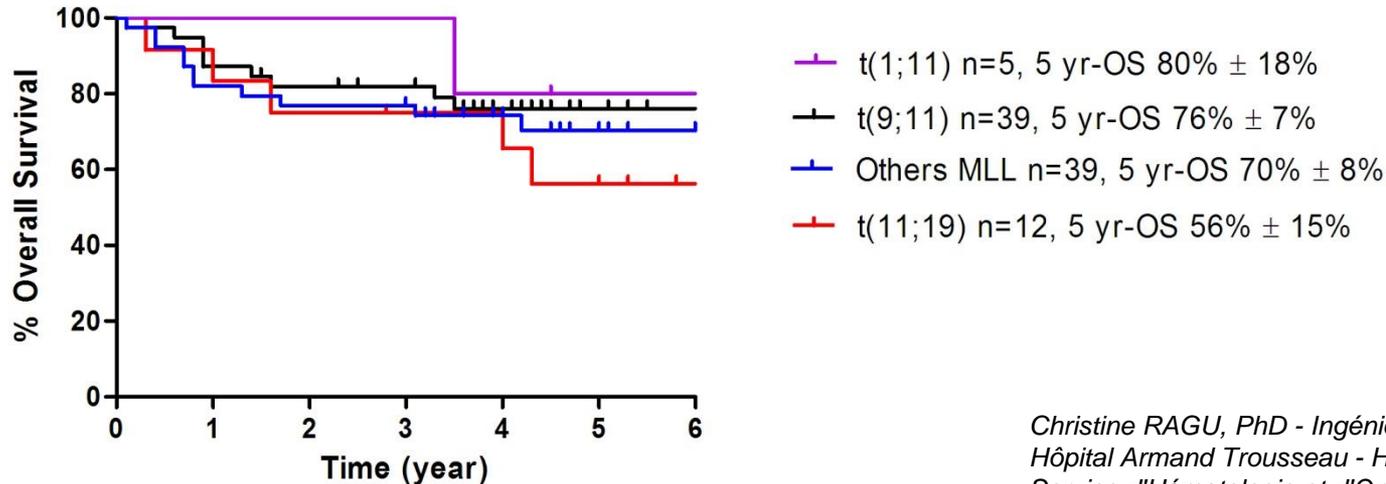
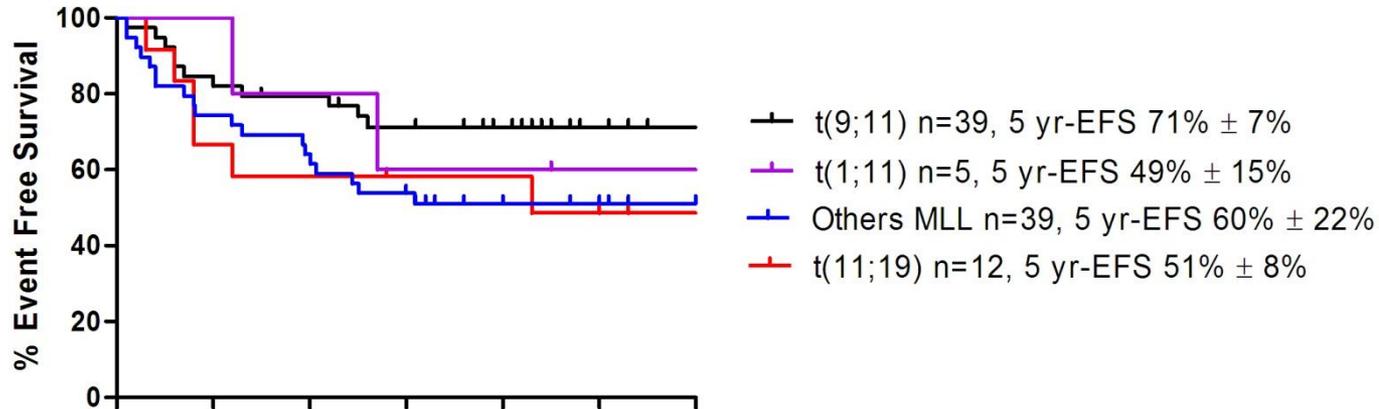
**t(10;11) n=22, EFS: 62 et Os: 68 (10 ans)**

**« All MLL » n =95, EFS : 59 et Os: 68 (10 ans)**

*Pas d'individualisation de t(11;19) individualisée*

# t(9;11)(p22;q23) MLL-AF9/t(11;19)(q23;p13)MLL- ENL/ELL/t(1;11)(q21;q23)MLL-AF1Q Données ELAM02

**MLL positifs (n=95)**  
 t(9;11) 43% (n=39) dont 70% isolée  
 t(11;19) 16% (n=12)  
 t(1;11) 5% (n=5)  
 « MLL autres » 43% (n=39)



# t(1;11)(q21;q23) et pronostic?

**Creutzig U et al, Blood 2012 ,  
et JCO 2010 (risque favorable)**

**Blagobind Bv et al, Blood, 2009**

t(1;11)(q21;q23) 25 cases

EFS, 5 ans : 92%

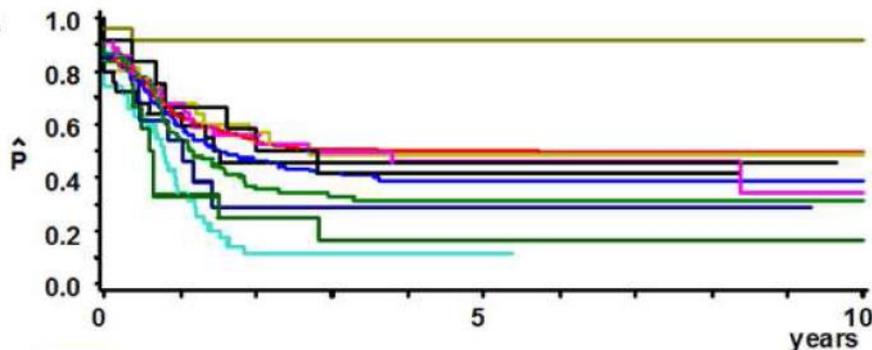
**ELAM02:**

5 cases:

- filles
- 4 t(1;11) isolée <2ans
- 1 t(1;11) complexe (9 ans)
- OS,5ans 80%
- EFS,5ans 60%

**MRC-UK:**

2 cases dont 1 DCD



t(1;11)(q21;q23)	0.92, SE=0.06 (N= 24, 2 events)
t(9;11)(p22;q23)	0.50, SE=0.03 (N=321, 158 events)
t(11;19)(q23;p13)	0.49, SE=0.09 (N= 31, 15 events)
t(11;19)(q23;p13.1)	0.45, SE=0.09 (N= 33, 19 events)
t(11;19)(q23;p13.3)	0.43, SE=0.10 (N= 23, 13 events)
t(11;17)(q23;q21)	0.42, SE=0.14 (N= 12, 7 events)
11q23/MLL other	0.39, SE=0.04 (N=143, 85 events)
t(10;11)(p12;q23)	0.32, SE=0.05 (N= 97, 64 events)
t(4;11)(q21;q23)	0.29, SE=0.13 (N= 13, 9 events)
t(10;11)(p11.2;q23)	0.17, SE=0.11 (N= 12, 10 events)
t(6;11)(q27;q23)	0.11, SE=0.05 (N= 35, 31 events)

# Caryotype complexe (CC : sup ou = à 3 anomalies) et anomalies 17p

**Creutzig.U et al, Blood 2012 (BFM-98):**

CC (n=35/502), 8%, EFS 33%

**Harrison.C et al, JCO 2010 (MRC-UK):**

CC (3 ou 5 aberrations; n=112/729) 15%, EFS 42%

*analysés indépendamment* des anomalies stratifiantes  
de risque favorable/défavorable

**-> aucun effet significatif sur les résultats.**

**aucun effet observé** pour les caryotypes complexes  
typiques ou associant une **délétion de 17p.**

**ELAM02:**

CC (n=56/435), 13%

**Mais majorité des caryotypes complexes sont associés à des anomalies primaires récurrentes stratifiantes** dont MLL, inv16, t(8;21), t(1;22), -7, del7q, etc...

*A noter que 1/3 des MLL sont complexes.*

## ELAM02 données cytogénétiques

### Résumé : anomalies récurrentes

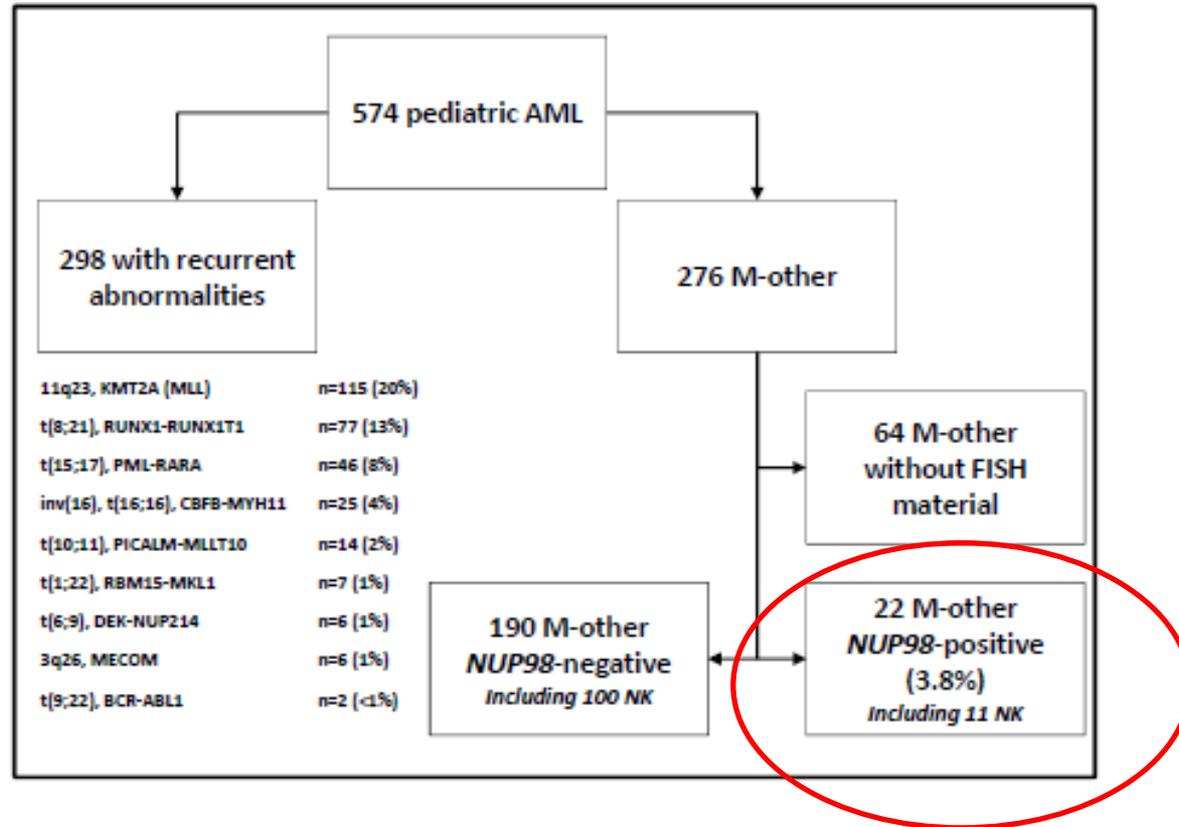
Anomalie	Nombre	Fréquence
MLL +	95	22 %
t(8;21)	59	14 %
inv(16)	32	7 %
-7 isolé	9	2 %
+8 isolé	9	2 %

Fréquence <2%		
17p	7	1,6 %
5q-	7	1,6 %
t(10;11) CALM-AF10	7	1,6 %
t(6;9) DEK-CAN	5	1,2 %
<b>11p15 / NUP98</b>	<b>4</b>	<b>0,9 %</b>
t(1;22) OTT-MAL	3	0,7 %
7q- isolé	3	0,7 %
3q26 / EVI1	3	0,7 %
t(8;16) / MOZ	2	0,5 %
t(3;5) NPM-MLF1	2	0,5 %
<b>Anomalies 12p</b>	<b>10</b>	<b>2 %</b>
t(9;22) BCR-ABL	1	0,2 %

# NUP98

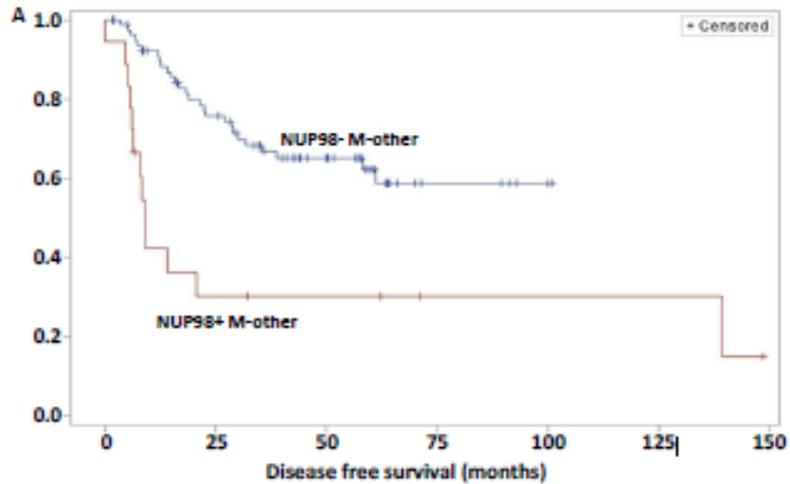
**NUP98 is rearranged in 3.8% of pediatric AML forming a clinical and molecular homogenous group with a poor prognosis**

Struski S et al, (Toulouse), GCFH, Leukemia avril 2016

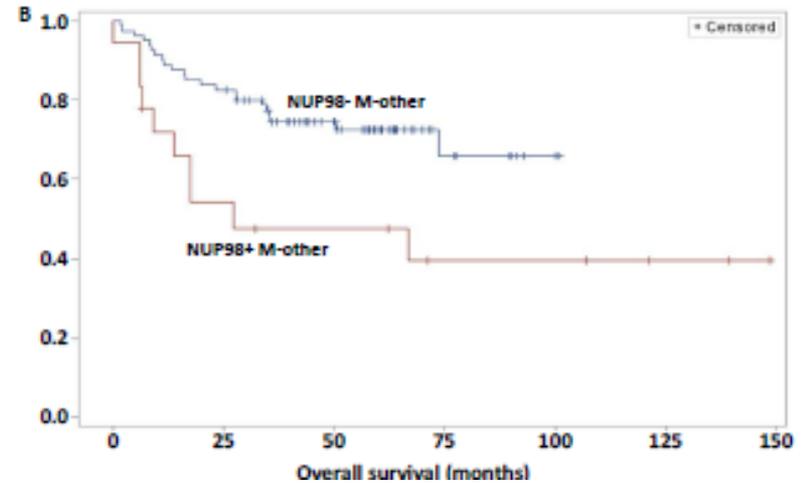


70 % NUP98-NSD1, l'identification des nouveaux partenaires n'a pas été possible, et les autres partenaires déjà connus ne sont pas en nombre suffisants pour évaluer leur pronostic.

# NUP98



La survie sans maladie à 5 ans est de 30% par rapport à 62% dans les NUP98 négatifs ( $p < 0,001$ ), semblable à d'autres publications (Hollink Ih et al, Blood 2011 et Shiba N et al, Gene Chromo Cancer, 2013)

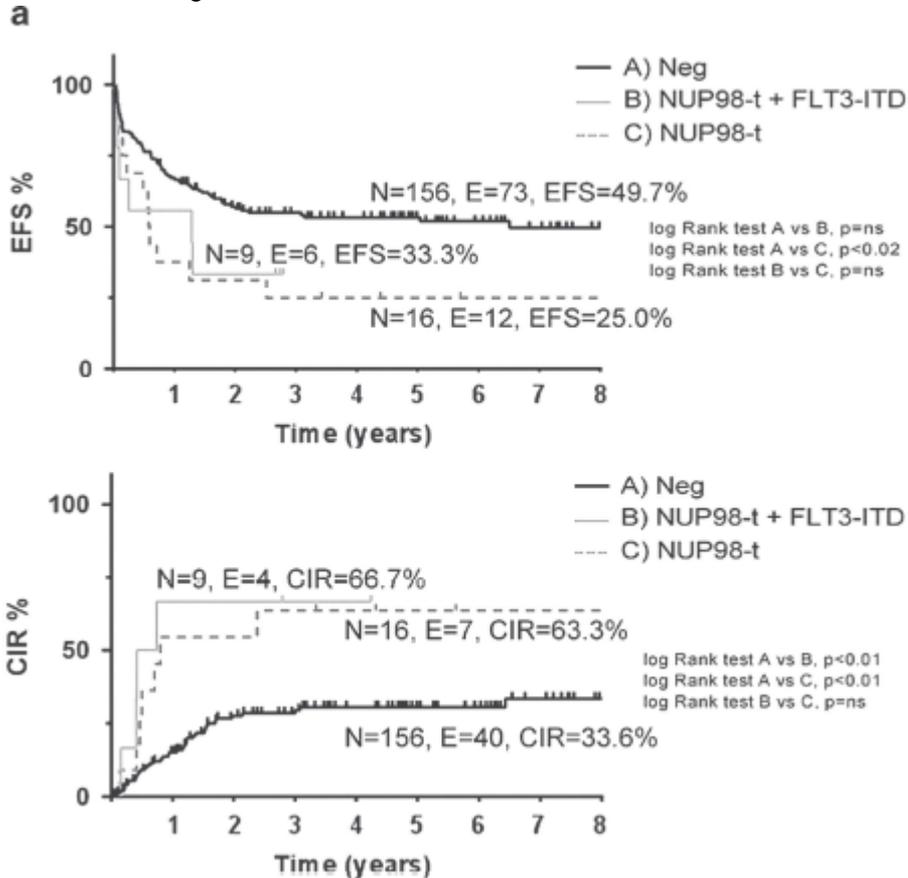


La survie globale à 5 ans (OS) à 48% significativement plus faible par rapport au groupe témoin à 72% ( $p < 0,001$ ), légèrement mieux que l'OS à 4 ans rapporté par d'autres publications (20% ou 33) (Hollink Ih et al, Blood 2011 et Shiba N et al, Gene Chromo Cancer, 2013)

# NUP98

From: NUP98-fusion transcripts characterize different biological entities within acute myeloid leukemia: a report from the AIEOP-AML group

V bisio, M Pigazzi et al, *Leukemia* vol 31.nov 2017



Les NUP98-t +/- FLT3-ITD (N = 16)

- **EFS ( 25%) plus mauvaise** par rapport au reste des patients LAM (49,7%) sans mutations connues
- un **risque de rechute (CRI) significativement plus élevé**

NUP98 réarrangé dans 5% des AIEOP AML group :

**12 NUP98 NSD1(63%)**  
**3 NUP98 JARID1 (LAM7++)**  
**2 NUP98 PHF23**  
**3 NUP98 autre!**

# Anomalies 12p

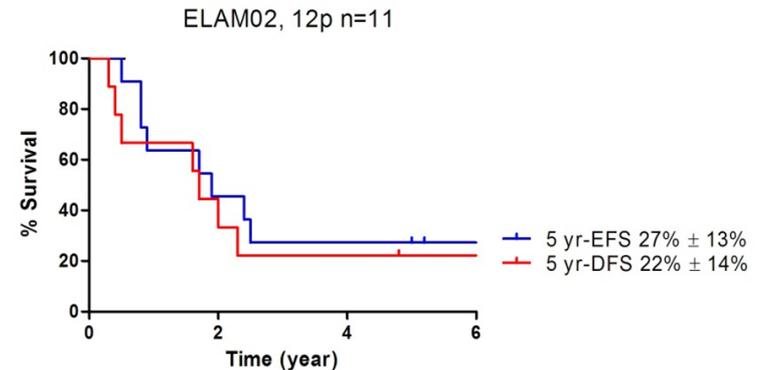
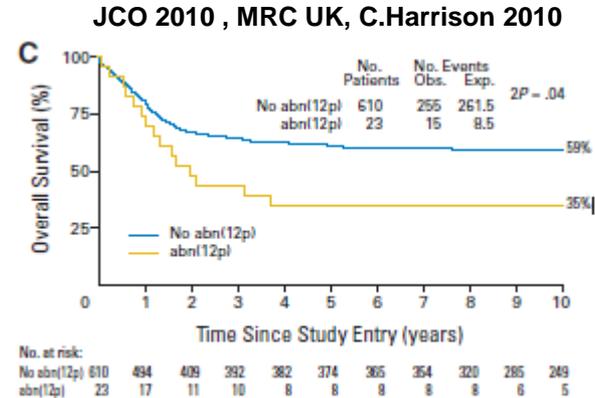
**MRC UK**, Harrison C et al (JCO, 2010) :  
 n = 23/729, 3%; 10 ans EFS: 22%, p = 0,002 (OS:35%)

**BMF-98**, Creutzig U et al (Blood 2012) :  
 n = 9/454, 2% ; 5 ans EFS 22% ,p = 0001 (OS:22%)

**ELAM02** données pour les anomalies de 12p :  
 n=10/433 , 2%; 5 ans EFS 27%

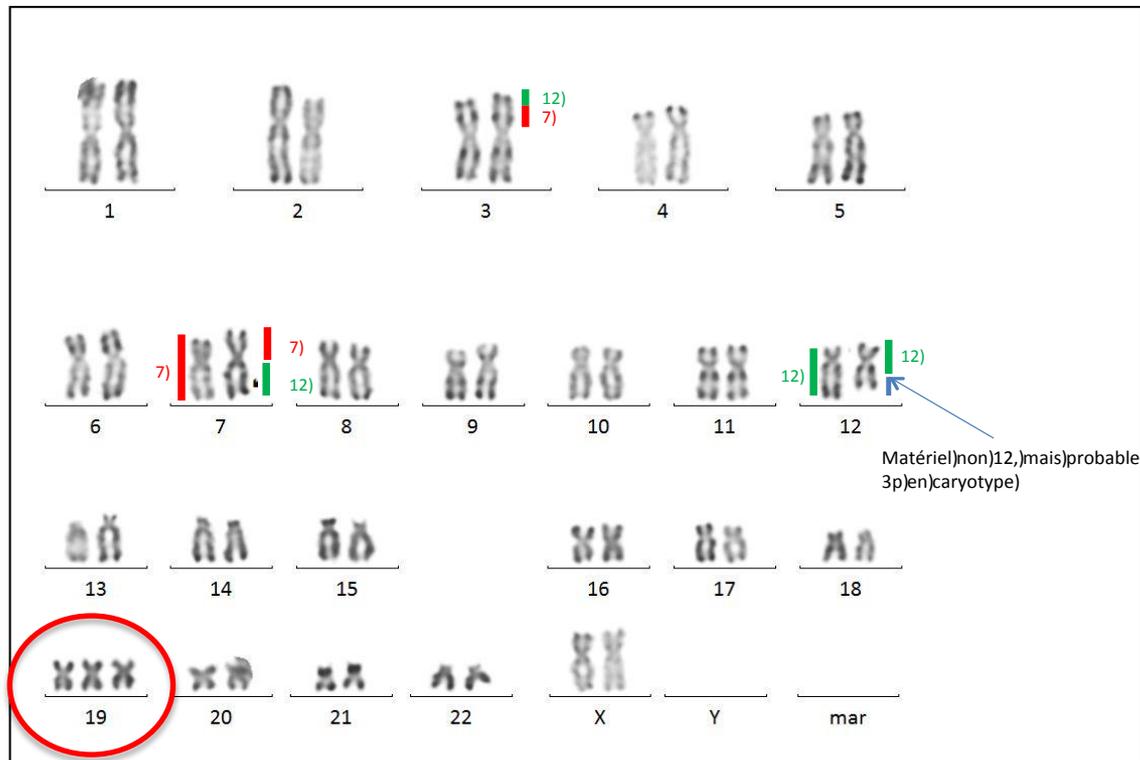
**12p délétion** : 5/433 pts (médiane 15,9 ans)  
 del (12) (p13): quatre cas associés à caryotype  
 complexe ou d'autres anomalies, isolé

**12p translocation**: 5/433 pts (âge médian de 8,8 ans)  
 t (2;12) / t(12;22) (respectivement 6 et 16 ans)  
**t (7;12) ETV6 + associés à + 19**: 3pts (médiane 1,12 ans)



# Translocation t(7;12)(q36;p13) MNX1-ETV6(HLXB9-ETV6)

- **Atteinte exclusive des nourrissons** (moins de 2 ans) *Von Bergh AR. Genes Chromosomes Cancer 2006*
- Prédominance des formes immatures *Raimondi 1999*
- Translocation cryptique *Tosi S. Genes Chromosomes Cancer 2000* , FISH **ETV6** *Naieil A 2013*
- **Association fréquente à une trisomie 19** *Simmons 2002, Tosi 2003, Hauer 2007, Park 2009,*
- Pronostic effroyable : 100% de décès à 5 ans *Von Bergh AR. Genes Chromosomes Cancer 2006*



# AMKL

Leucémie Aiguë Mégacaryoblastique (AMKL) 4~15% des nouveaux diagnostics LAM pédiatrique.

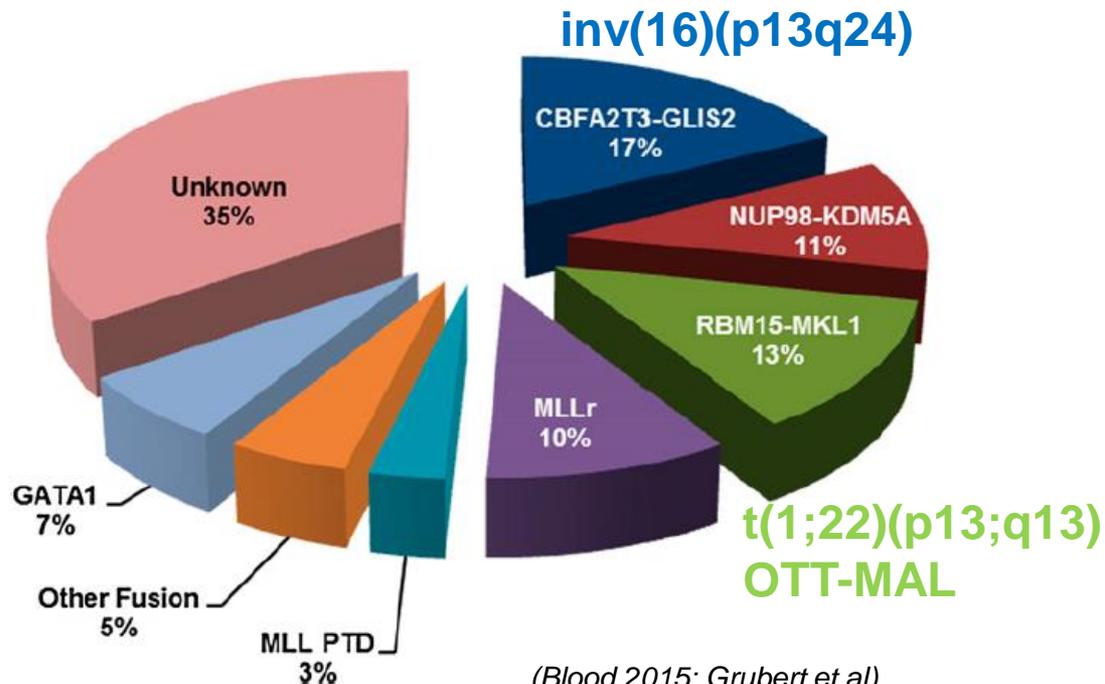
**AMKL** chez les enfants atteints du **syndrome de Down (DS)** (+21c) sont caractérisée par une mutation de **GATA1** qui coopère avec la trisomie 21, suivie de l'acquisition d'autres mutations somatiques.

**Non-DS-AMKL** se caractérise par une chimère oncogénique, comprenant des gènes connus pour jouer un rôle dans l'hématopoïèse normale.

**CBFA2T3(ETO2)-GLIS2**, fusion la plus fréquente identifiée à ce jour dans ce sous-ensemble de patients => **mauvais pronostic**.

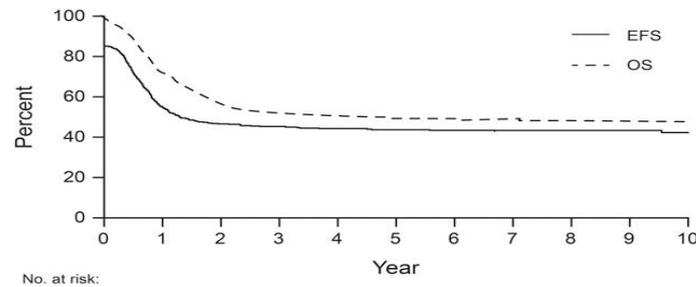


« hauts risques »  
**MyeChild 01**

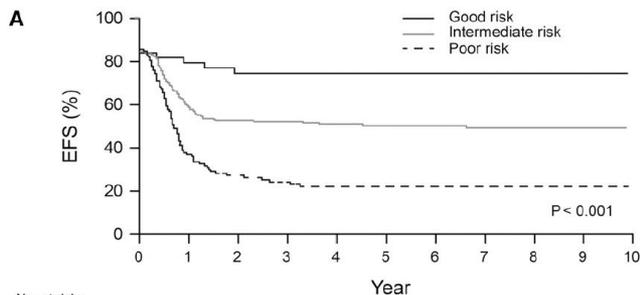


# AMKL

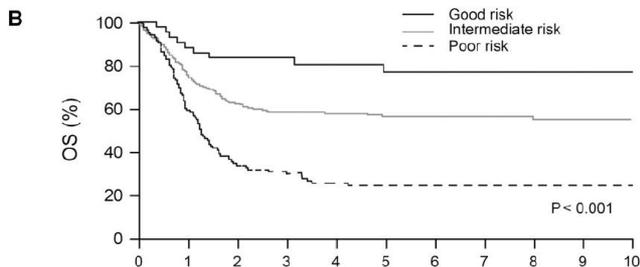
Etude « cytogénétique standard »  
**490** patients de novo AMKL Non-DS  
 diagnostiqué **1989-2009**  
 Age médian de **1,5 ans** (0-18 ans),  
**7,8% LAM pédiatrique**  
 (EFS) sans événement 43,7%  
 la survie globale (OS) 49,0%  
 (*Blood 2015; Inaba.H et al*)



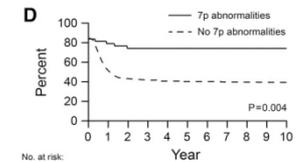
Sur la base de la fréquence et du pronostic  
 les AMKL peuvent être classé à 3 groupes  
 à risque:



No. at risk:	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Good risk	43	36	33	30	26	23	21	19	18	17	15
Intermediate risk	214	180	124	106	95	85	73	55	42	34	24
Poor risk	115	98	42	29	23	18	16	12	8	6	4



**Bon risque** : anomalie 7p (11,6%)



**Risque intermédiaire** : t (1;22) (p13;q13) / OTT-MAL  
 (*RBM15-MKL1*)(13,6%) et 11q23 / MLL sauf t (9;11)

**Mauvais risque** : caryotype normaux, -7,  
 anomalies 9p, y compris la t(9;11)(p22; q23) (6%)  
 -13 /13q-, et -15

# MyeChild 01 Trial

## Risk stratification at diagnosis and diagnostic tools

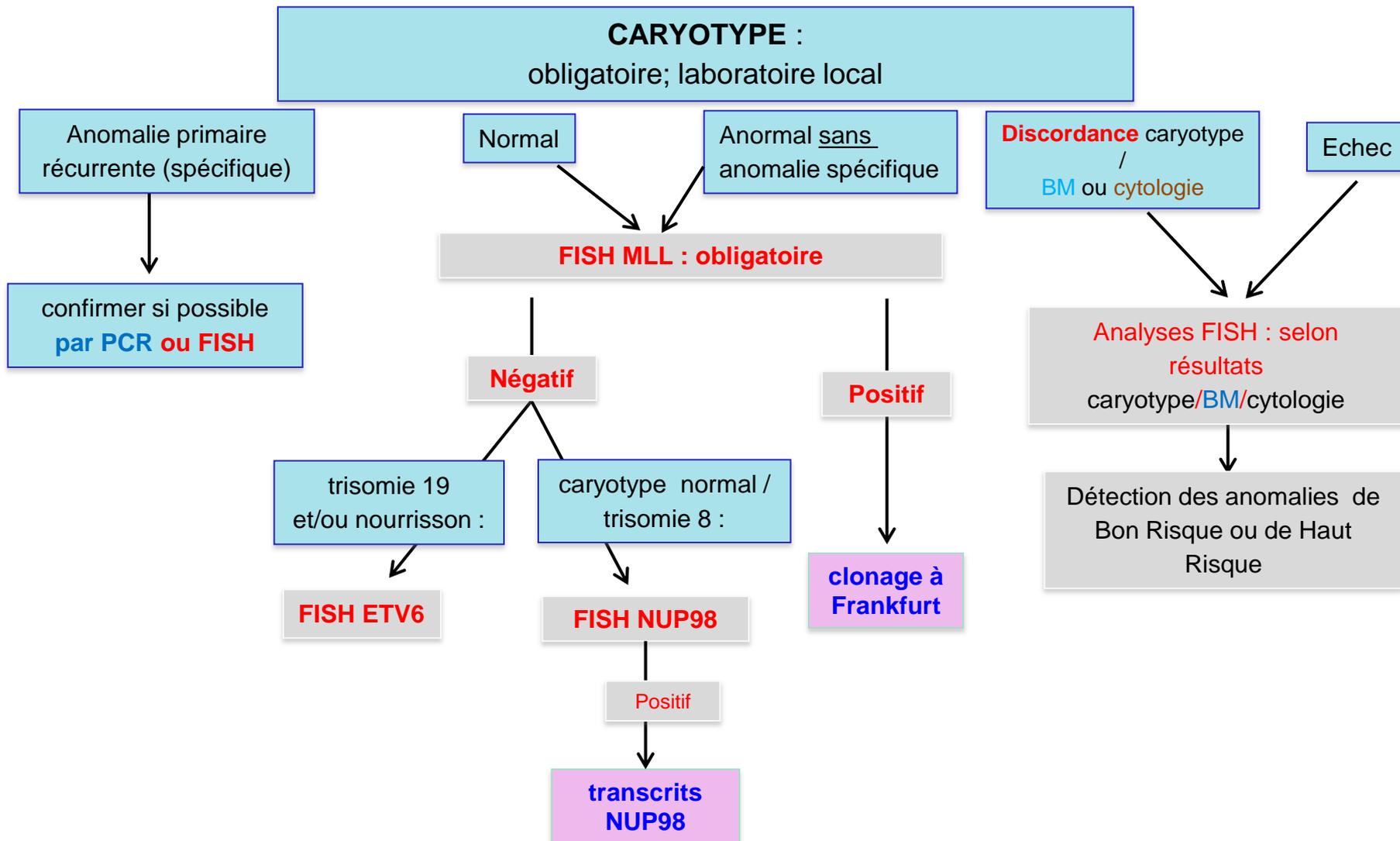
- **Good risk**
  - CBF leukemias:
    - $t(8;21)(q22;q22)/RUNX1-RUNX1T1$
    - $inv(16)(p13q22),t(16;16)(p13;q22)/CBFB-MYH11$
  - Normal Karyotype with *NPM1* mutation w/o *FLT3-ITD*
  - Normal Karyotype with double *CEBPA* mutant w/o *FLT3-ITD*
- **Standard risk**
  - $t(9;11)(p22;23),t(11;19)(q23;p13);$
  - MLL rearrangements not classified as high risk :  $t(1;11)(q21;q23),$
  - All other abnormalities which are neither good or poor risk
- **High risk**
  - monosomy 7\*, monosomy 5 and del(5q)
  - $t(6;9)(p23;q34)/DEK-NUP214$
  - $t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL$
  - $t(6;11)(q27;q23)/MLL-MLLT4, t(10;11)(p11.2;q23)/MLL-MLLT10,$
  - $t(4;11)(q21;q23)/MLL-AFF1$
  - $inv(3)(q21q26)/t(3;3)(q21;q26),abn 3q26 EVI1+(FISH)$
  - $t(5;11)(q35;p15)/NUP98-NSD1,$
  - $inv(16)(p13q24)/CBFA2T3-GLIS2 (AMLK)$
  - 12p abnormalities (including *MNX1-ETV6*)
  - *FLT3-ITD* w/o *NPM1* or *CBF*

\*2/3 cases associated with constitutional *GATA2*

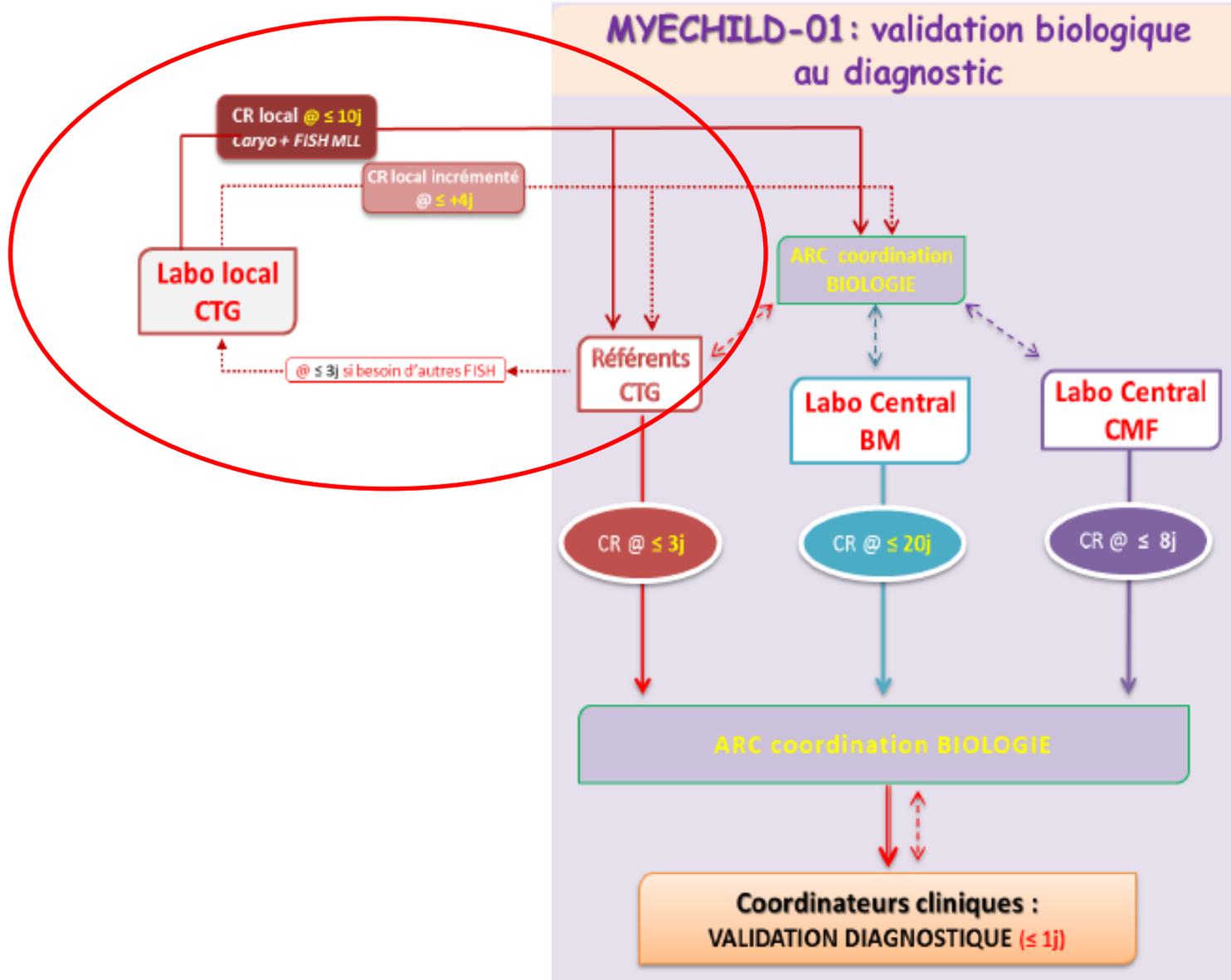
\*\* AMKL

# Protocole MyeChild 01

## Biologie – Cytogénétique



# Circuit de l'information biologique pour la validation diagnostique (1)

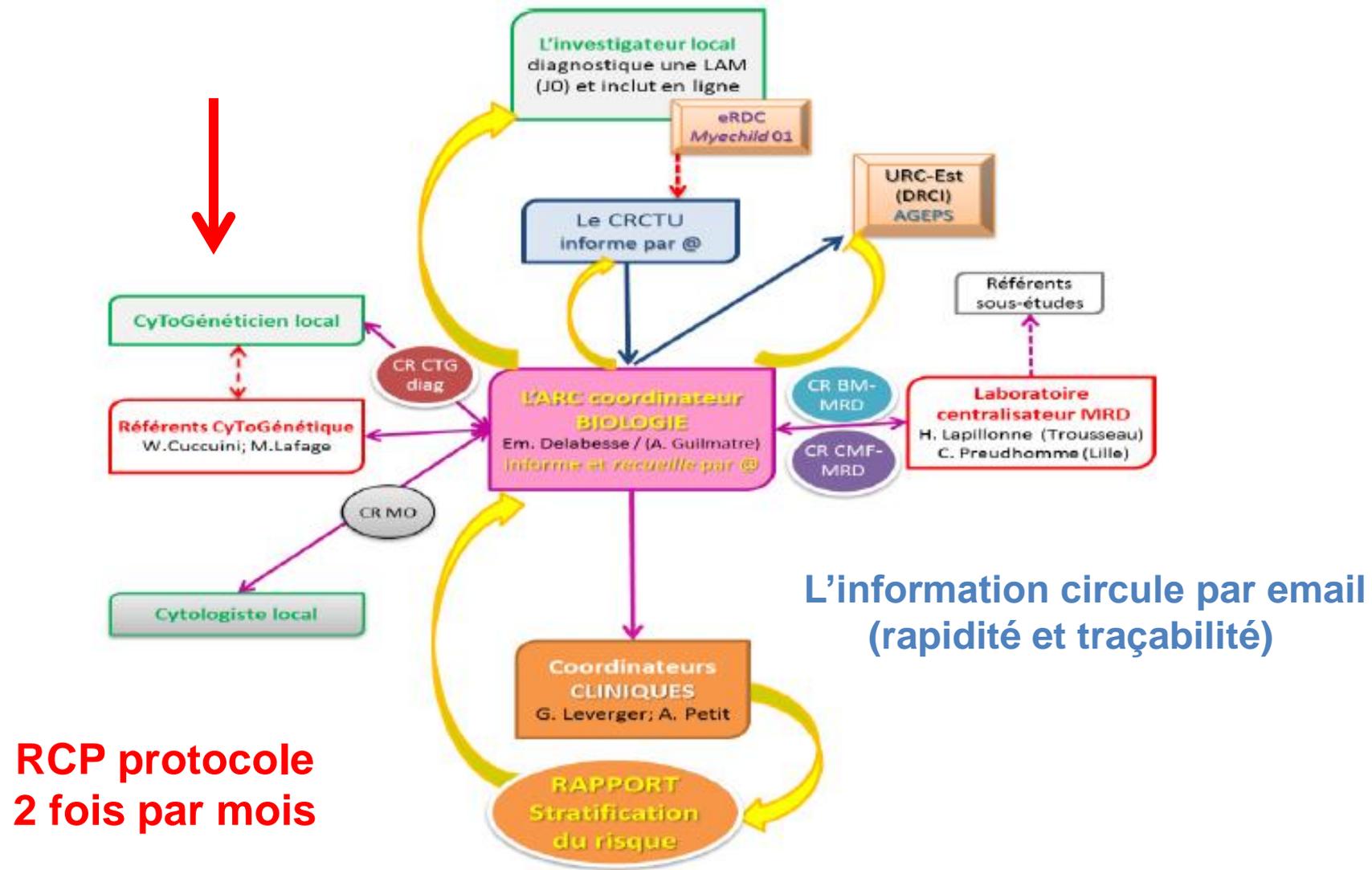


## Circuit de l'information biologique pour la validation diagnostique (2)

- 1/ **Sous 10 jours après réception locale du prélèvement**, le cytogénéticien local envoie son CR (caryotype standard et FISH MLL si besoin) aux ARC de coordination biologique :  
[Delabesse.Emmanuelle@iuct-oncopole.fr/](mailto:Delabesse.Emmanuelle@iuct-oncopole.fr)  
[audrey.guilmatre@aphp.fr/](mailto:audrey.guilmatre@aphp.fr)  
[maxime.ferreboeuf@aphp.fr](mailto:maxime.ferreboeuf@aphp.fr)>  
qui l'envoient aux référent CTG et au référent BM.
  
- 2/ **Sous 3 jours, le référent CTG indique l'utilité de test(s) complémentaire(s)** : le cytogénéticien local dispose jusqu'à **7 jours** supplémentaires pour renvoyer par email le nouveau CR aux ARC qui envoie aux référent CTG et au référent BM
  
- 3/ **Sous 2 à 3 jours**, le référent CTG contresigne le CR finalisé « MyeChild01 » et l'envoie par email aux ARC qui transfère aux référents BM

**La validation du risque diagnostique**  
**-> aux alentours du J23 par rapport à l'inclusion dans l'essai**

# Circuit et coordination de l'information « Résultats »

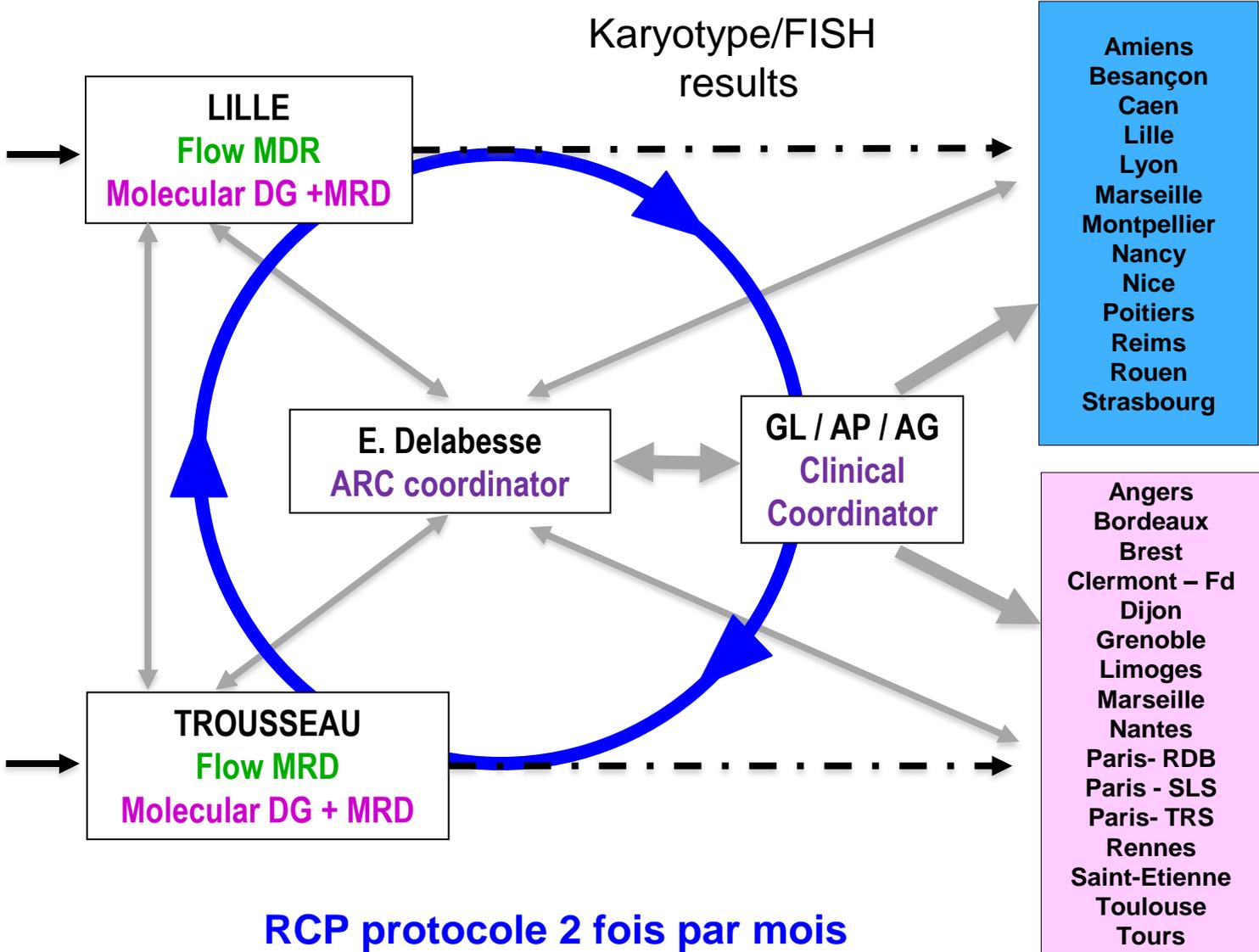


**28 centers**

**Turnaround times for questions**

- Amiens
- Besançon
- Caen
- Lille
- Lyon
- Marseille
- Montpellier
- Nancy
- Nice
- Poitiers
- Reims
- Rouen
- Strasbourg

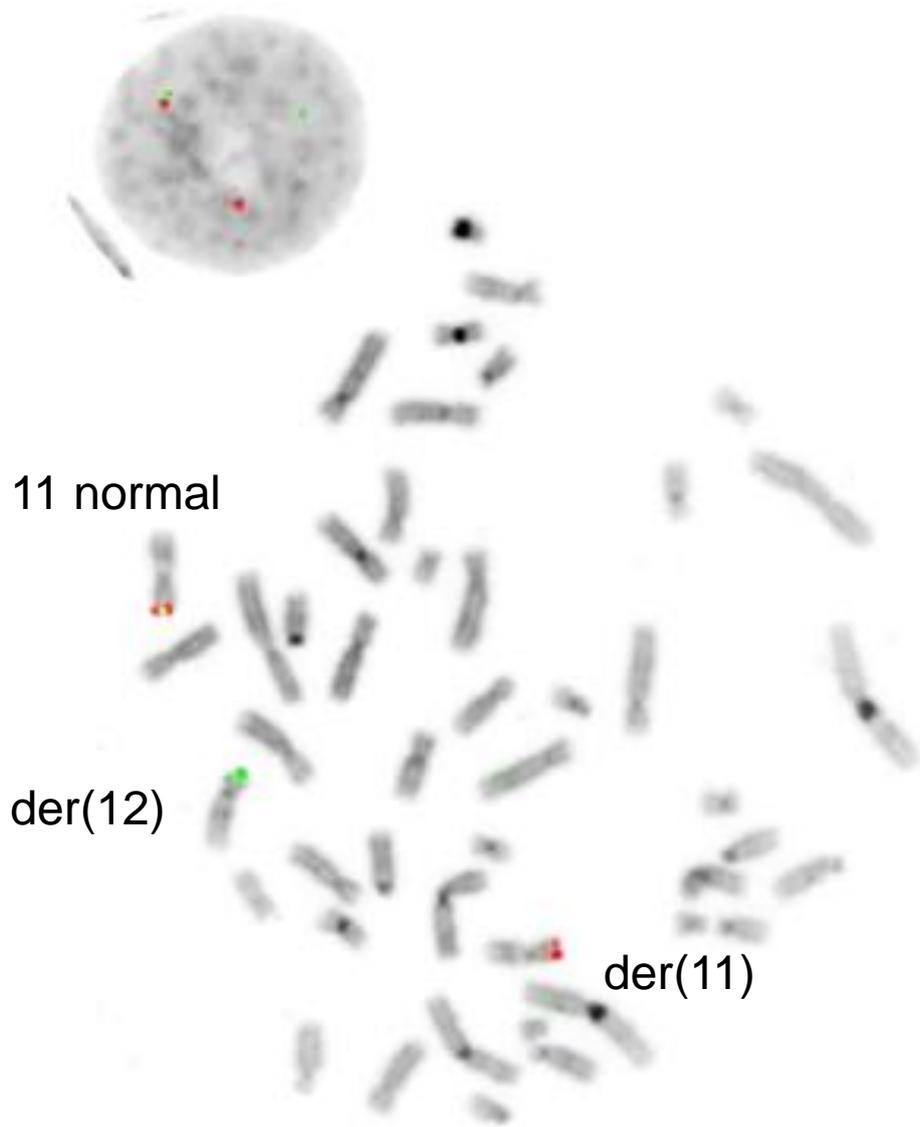
- Angers
- Bordeaux
- Brest
- Clermont – Fd
- Dijon
- Grenoble
- Limoges
- Marseille
- Nantes
- Paris- RDB
- Paris- SLS
- Paris- TRS
- Rennes
- Saint-Etienne
- Toulouse
- Tours



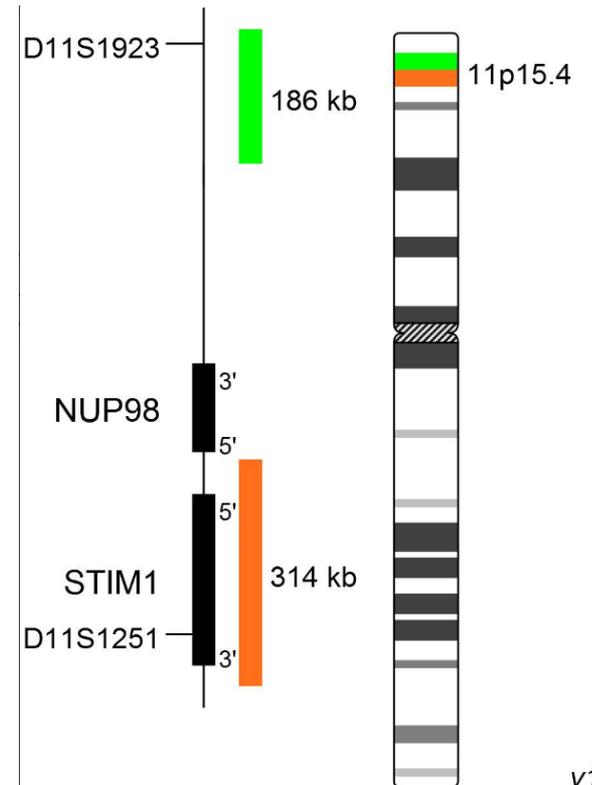
**RCP protocole 2 fois par mois**

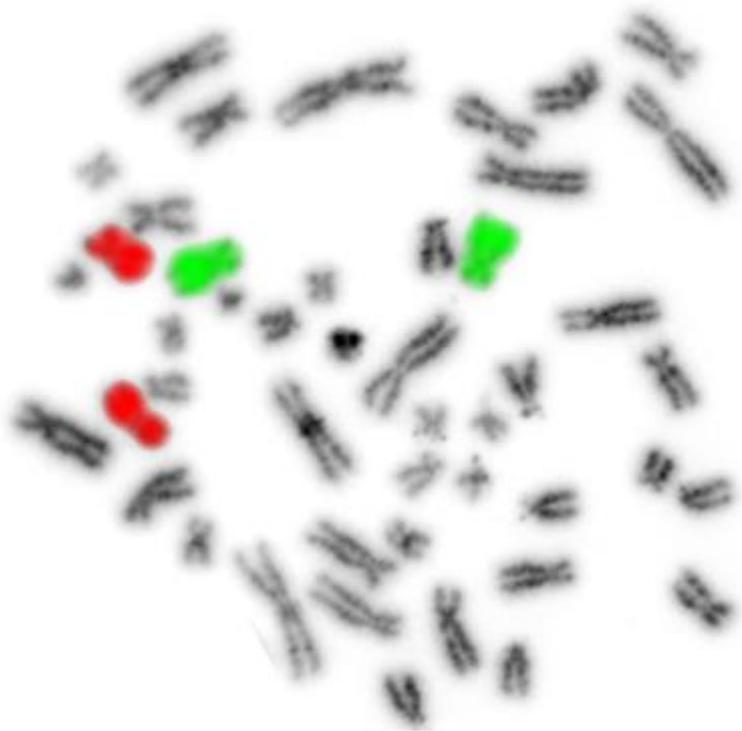
N° inclusion	DN	date DG	Age	FAB	Karyotype	FISH	Cytogenetic Group	Molecular Group	Cytogenomic Group	Cytogenomic Risk	MRD CMF	MRD Molecular
TNO 0098	01/10/2010	21/06/2018	7 ans, 8 mois	LAM5	46,XY,t(11;12)(p15;p13)[19]/46,XY[1]	.ish t(11;12)(p15;p13)(5'NUP98+,KDM5A+;3'NUP98+,KDM5A+)[5].nuc ish (MLLx2)[200], (NUP98x2)(5'NUP98 sep 3'NUP98x1)[90/100],(NUP98,KDM5A)x3 (NUP98 con KDM5A x2)[90/100]	12p/NUP98-KDM5A	High NUP98-KDM5A	12p NUP98	High	Yes	No
TNO 0099	03/06/2003	23/06/2018	15 ans, 0 mois	LAM4e	46,XY,inv(16)(p13q22)[13]/46,XY[7]	.ish inv(16)(p13)(5'CBFB+(q22)(3'CBFB+)[5].nuc ish (CBFBx2)(5'CBFB sep 3'CBFB x1)[80/100]	inv16/CBFB	Low CBFB-MYH11	CBFB	Low	No	Yes CBFb-MYH11
TNO 0105	04/03/2007	30/07/2018	11 ans, 4 mois	LAM1	46,XY[20]	.nuc ish (MLLx2),(NUP98x2),(CBFA2T3,GLIS2x2),(ETV6x2),(CBFBx2)[200]	Normal K	Intermediate NPM mut.B FLT3-ITD	Other	Intermediate	Yes	Yes NPM1
TNO 0118	23/05/2002	13/09/2018	16 ans, 3 mois	LAM2	46,XY,del(7)(q22q36)[4]/47,idem,+21[18]	.ish del(7)(q21q36)(7q22-,7q31-,WCP7+)[7/20].nuc ish (MLLx2),(NUP98x2),(CBFBx2),(ETV6x2),(CBFA2T3,GLIS2x2)[200],(7q22x1,7q31x1)[95/100],(AML1x3)[95/100]	del7q	None FLT3 neg, NPM neg, AML1ETO neg, EVI1 and WT1 surexp	Other	Intermediate	Yes	Yes WT1
TNO 0119	22/07/2015	20/09/2018	3 ans, 1 mois	LAM7	58~59,XX,+2,+2,+4,+6,+7,+der(8)t(1;8)(q11;p2?1),+10,+13,+14,+18,+19,+19,+22,+mar[cp20]	.nuc ish(NUP98x2),(MLLx2),(ETV6x2),(CBFA2T3,GLIS2)x2[200]	hyper sup 50	None FLT3 neg, NPM neg, CBFA2T3-GLIS2 neg, OTT-MAL neg, WT1 surexp	Other	Intermediate	No	Yes WT1
TNO 120	01/07/2001	27/09/2018	17 ans, 2 mois	LAM	45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22)[12]/46,XY[8]	ND	t(8;21)	Low RUNX1-RUNX1T1	CBF	Low	Yes	Yes RUNX1-RUNX1T1



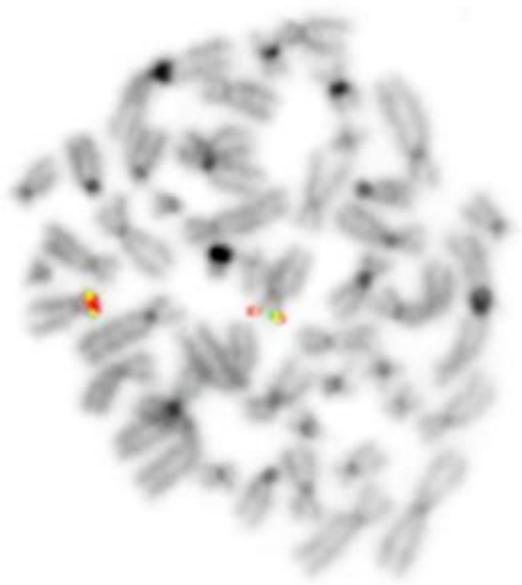


### NUP98 break apart (Metasystems)

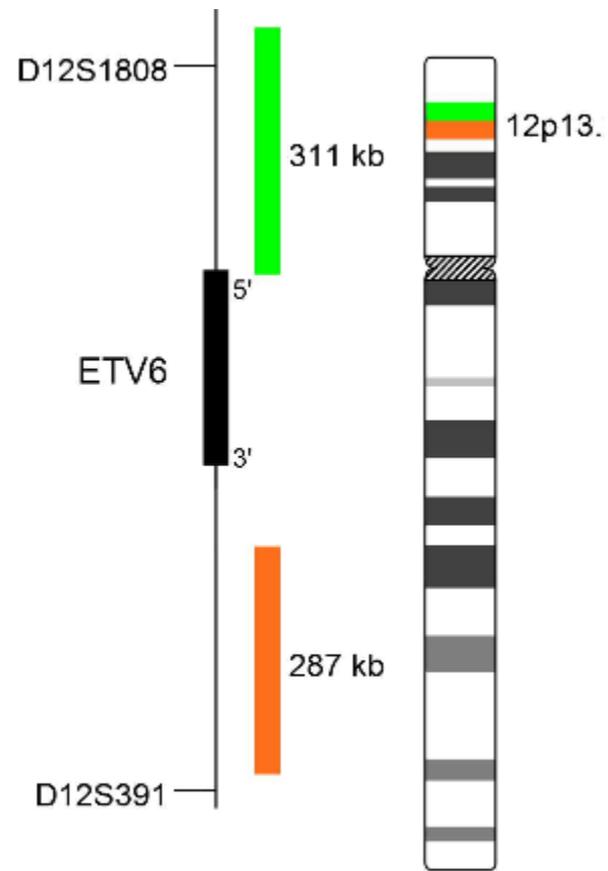


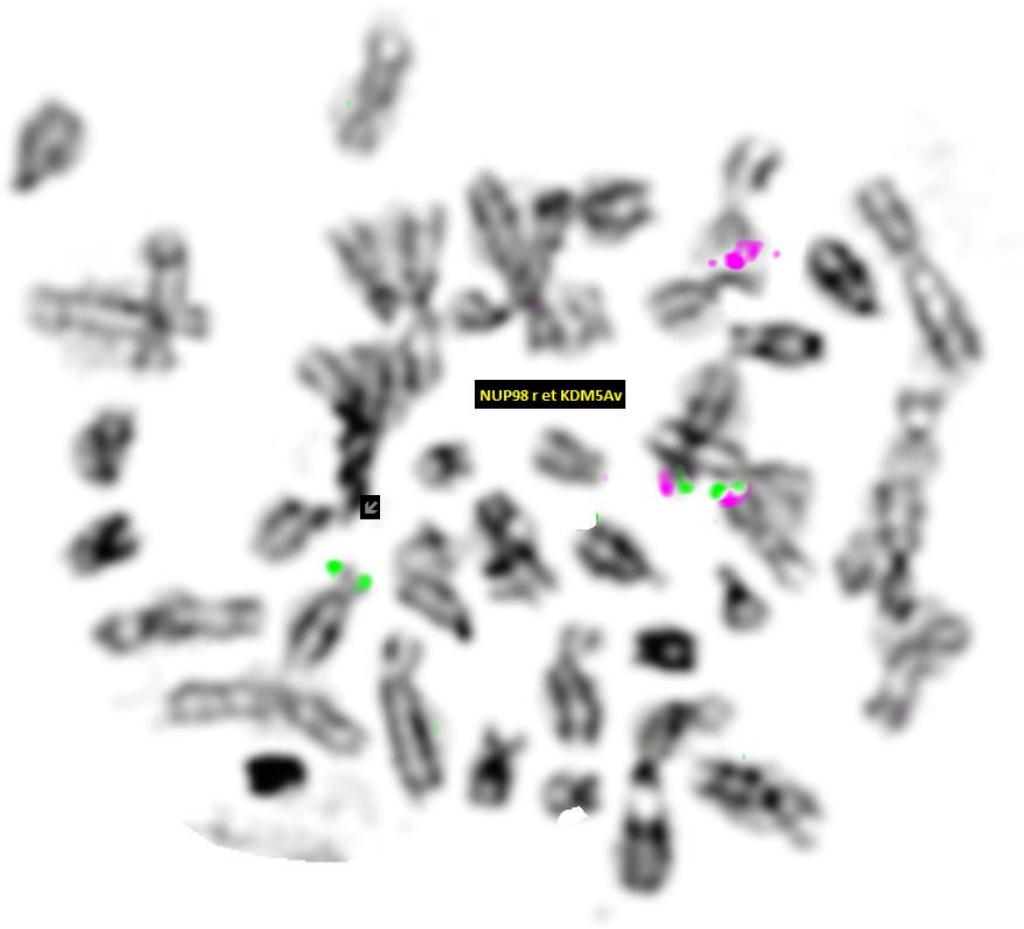


WCP 11R et 12v

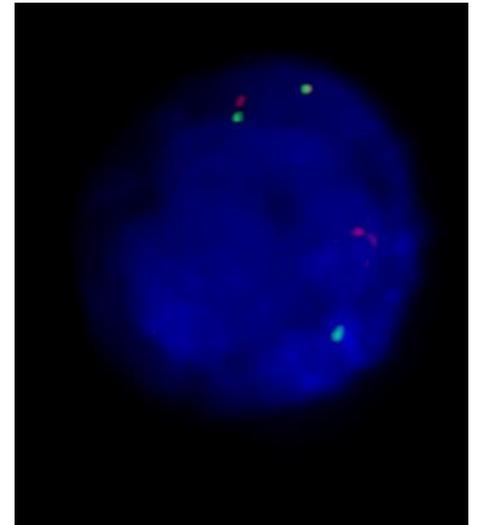


### ETV6 break apart





NUP98 TrX  
KDM5A green  
Dual fusion



**Remerciements :**

**ELAM02 - Myechild 001**

**Guy LEVERGER**

**André BARUCHEL**

Anne AUVRIGNON

Mathilde CHEPTOU

**Hélène LAPILLONNE**

**Claude PREUDHOMME**

Eric Delabesse

**GUILMATRE Audrey**

**DELABESSE Emmanuelle**

**FERREBOEUF Maxime**

 **Groupe**  
**Francophone de**  
**Cytogénétique**  
**Hématologique**

**Marina LAFAGE**

**Nicole DASTUGUE**

Et tous pédiatres, biologistes, ARC impliqués dans ELAM02/MyeCHILD