

LALB avec réarrangement de
MLL/KMT2A :
merci la FISH!

Baptiste Gaillard

09/10/2018

Cas de l'enfant S... M... née le 07/07/2015

- 06/11 : rhino-pharyngite depuis le début de semaine dernière
 - consultation chez le médecin traitant
- 10/11 : apparition d'une lésion péri-orbitaire droite, disparaissant spontanément
- 11/11 : apparition d'une éruption cutanée maculo-papuleuse du tronc et de la racine des membres, spontanément résolutive,
- 11/11 au soir : apparition d'un purpura pétéchial fébrile (38°C) = consultation au SAU du CH
 - injection IV de CEFTRIAXONE 1g
 - décision de transfert au SAU du CHU après avis hématologique
- EXAMEN CLINIQUE A L'ENTREE AU SAU (12/11/17) :
 - purpura pétéchial généralisé
 - poussée mammaire droite (suspicion de prémature thélarche en cours d'exploration)
 - ADP diffuses inguinales, axillaires, et jugulo-carotidienne
 - splénomégalie

Cas de l'enfant S... M... née le 07/07/2015 (3)

- Biologie le 12/11 à 14h30 :
 - leucocytes = 3,3 G/L
 - PNN 1 G/L
 - lymphocytes 2,1 G/L
 - frottis : présence de moins de 10% de cellules lymphoïdes activées et matures
 - Plaquettes 15 G/L
 - Hémoglobine 83 g/L
 - Coagulation :
 - TCA 1,3x
 - TQ 96%
 - fibrinogène 3,9 g/L
 - D-Dimères 2,38 mg/L
 - Iono = RAS de notable

AU TOTAL = pancytopénie fébrile avec éruption purpurique et poly-
adénopathies faisant suspecter une hémopathie maligne

Myélogramme prévu le 13/11/2017

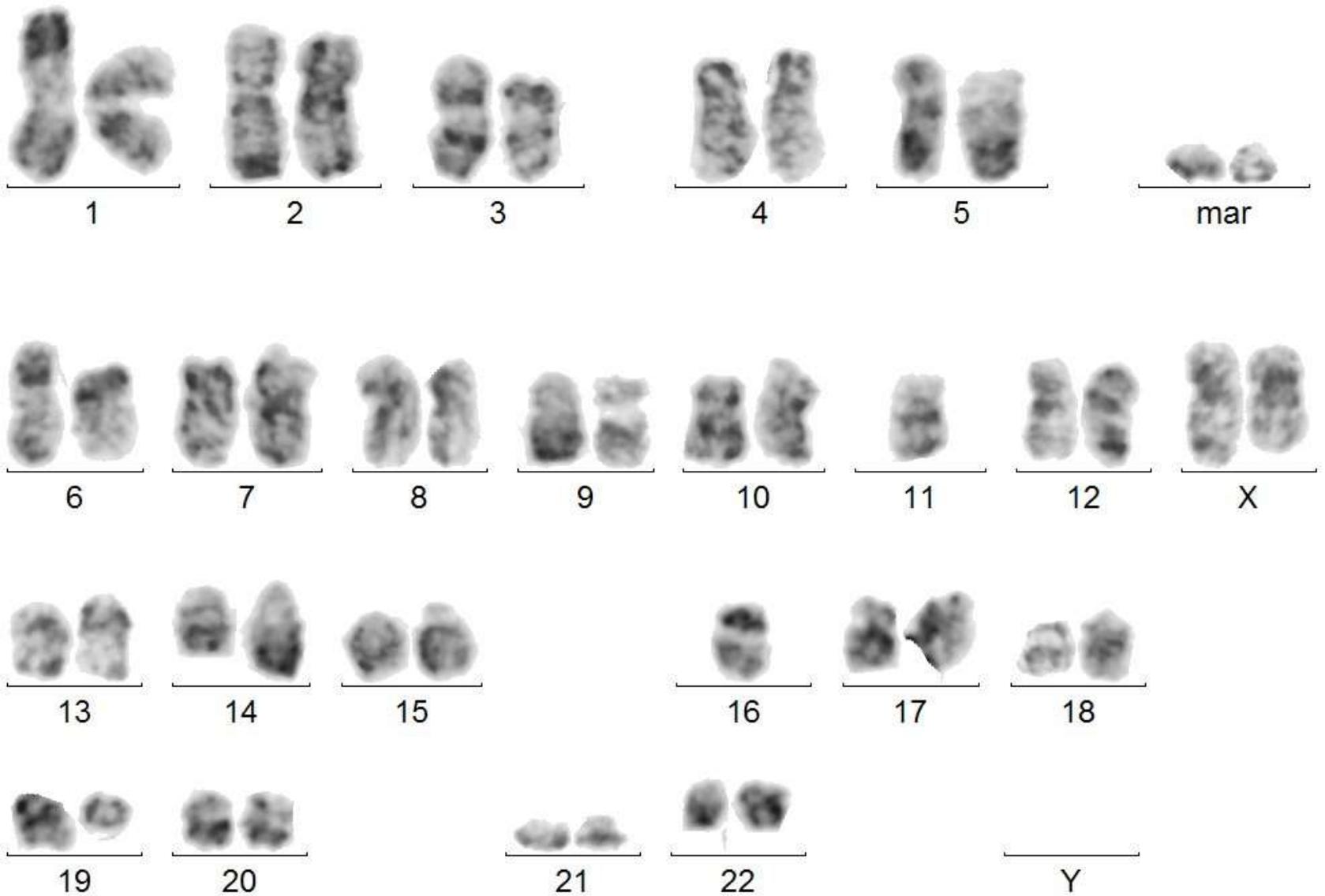
Myélogramme 13/11/2018

- Moelle de richesse diminuée (dilution du prélèvement?), infiltrée par 80% de blastes indifférenciés de taille petite à moyenne, au rapport nucléo-cytoplasmique élevé, sans granulations cytoplasmiques
 - Autres lignées très peu représentées
- Aspect cytologique compatible avec une leucémie aiguë lymphoïde
- NB : difficulté d'aspiration+++

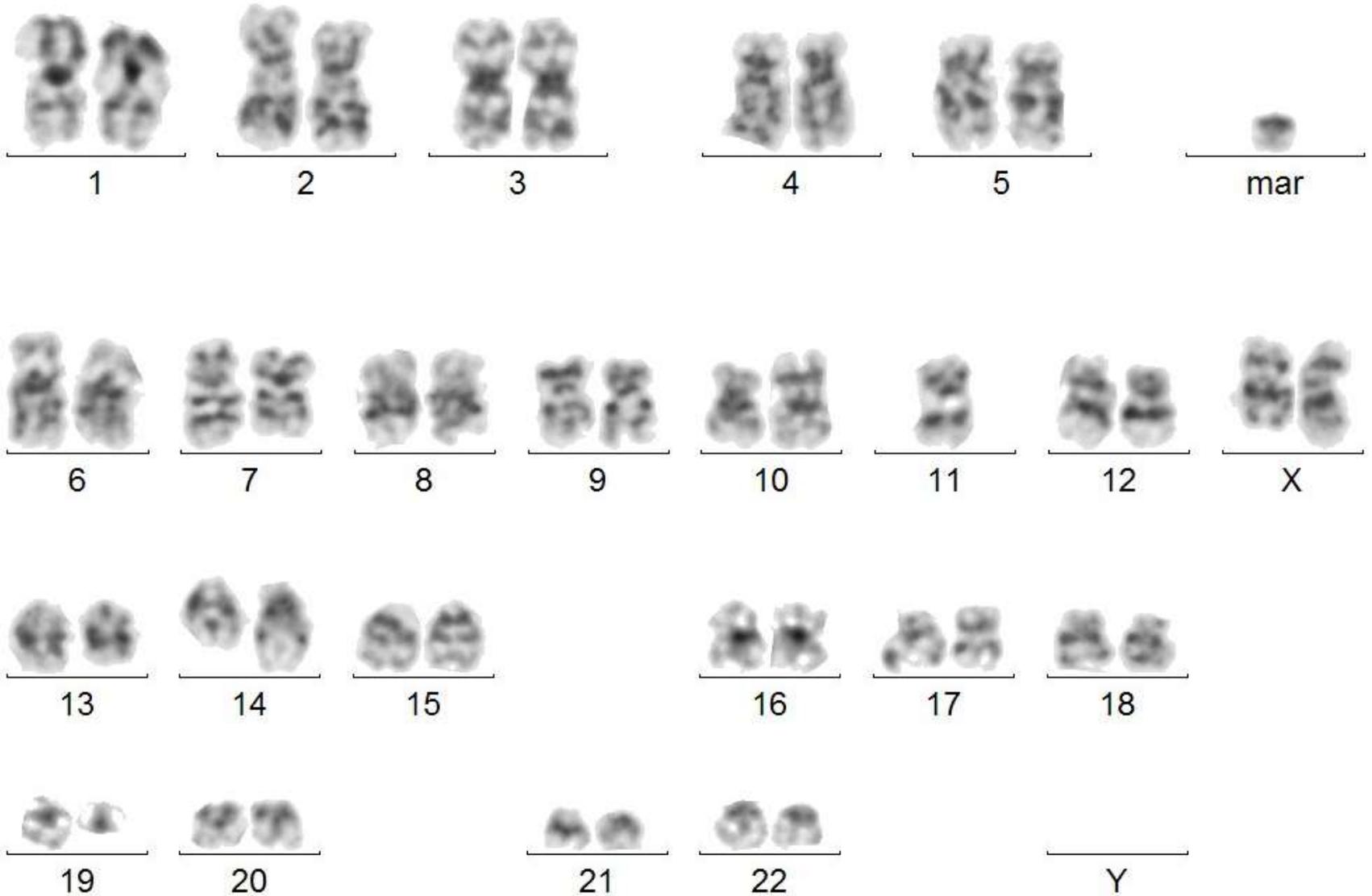
Immunophénotypage 15/11/2018

- Mise en évidence d'une population blastique CD45 faible modéré représentant 81% des éléments analysés :
 - **CD34(+)** HLA DR(+) CD38(+)
 - Expression des marqueurs lymphoïdes : CD79a cyt(+) CD19(+) CD22(+) CD20(-) **CD10(+)** **Chaîne μ cyt(+)** **IgM(S)(+)** chaînes légères kappa/lambda (-) **TdT(+)** CD58(+)
 - Absence d'expression des marqueurs myéloïdes et lymphoïdes T
- Immunophénotypage compatible avec une **LAL B au stade mature (EGIL B-IV)**

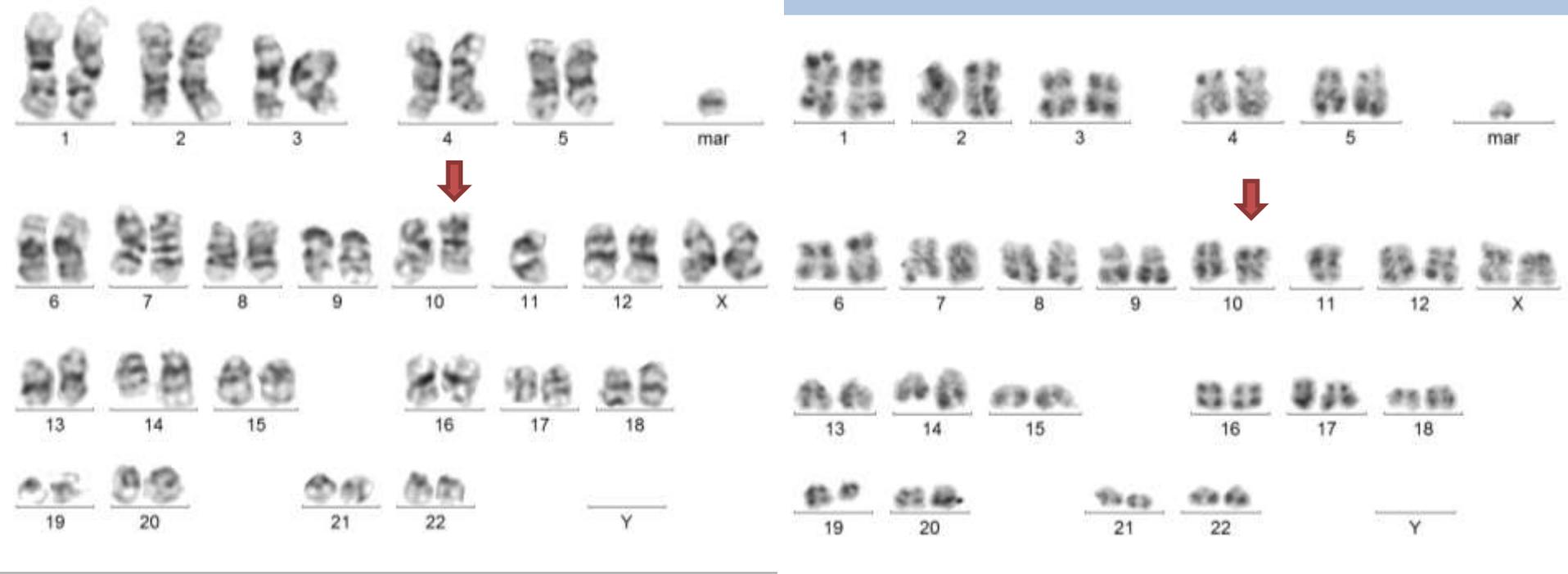
Bandes R



Bandes G

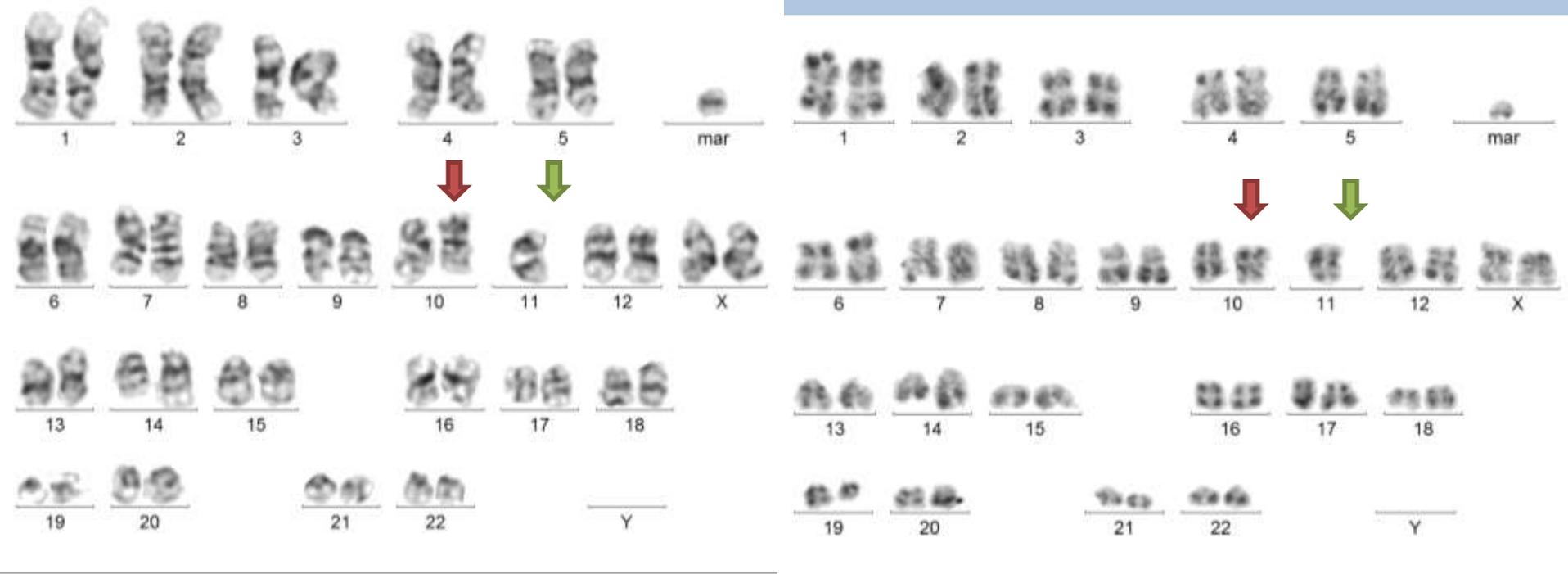


Cytogénétique



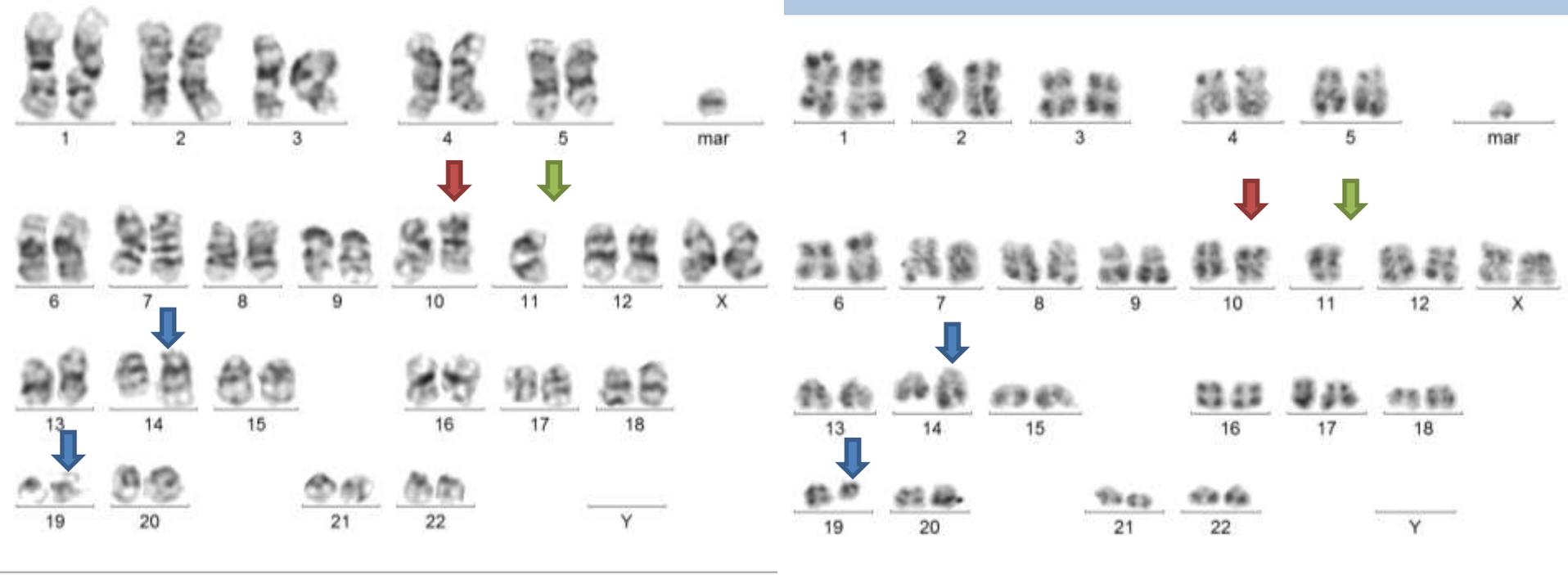
46,XX,**add(10)(p12)**,-11,?t(14;19)(q32;q13.1),+mar[9]/46,XX[18]

Cytogénétique



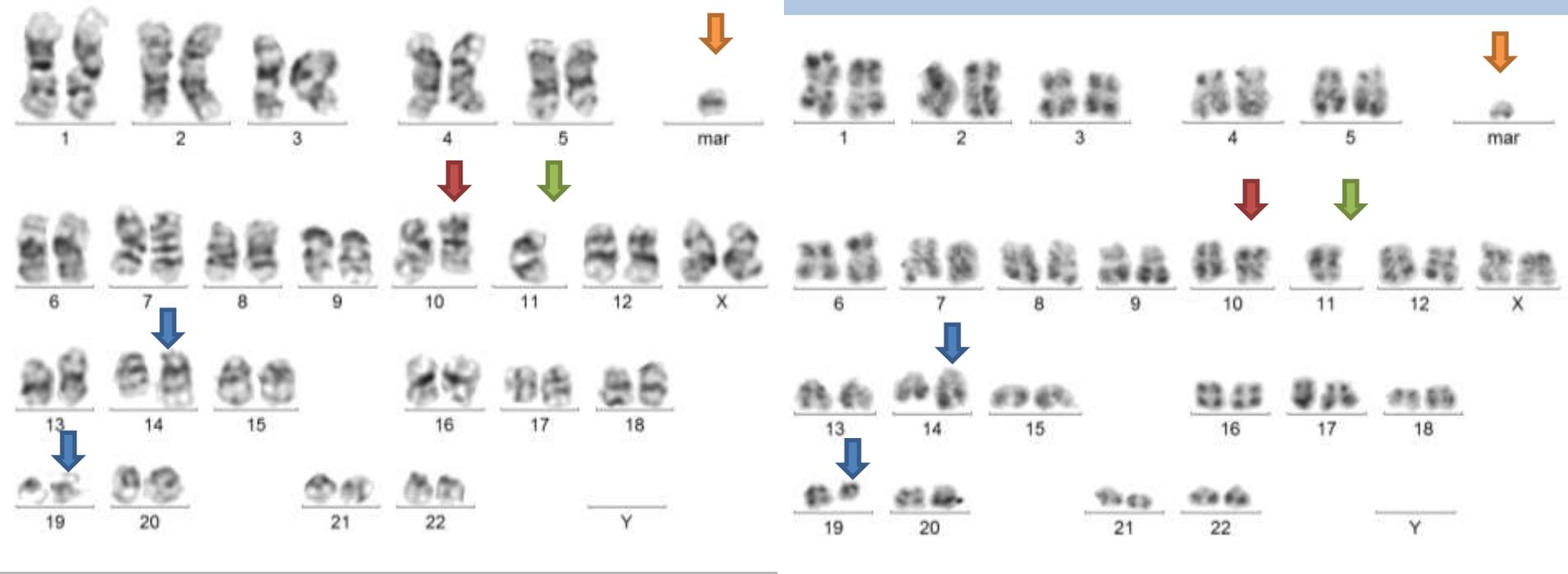
46,XX,**add(10)(p12)**,**-11**,?t(14;19)(q32;q13.1),+mar[9]/46,XX[18]

Cytogénétique



46,XX,**add(10)(p12)**,**-11**,**?t(14;19)(q32;q13.1)**,+mar[9]/46,XX[18]

Cytogénétique



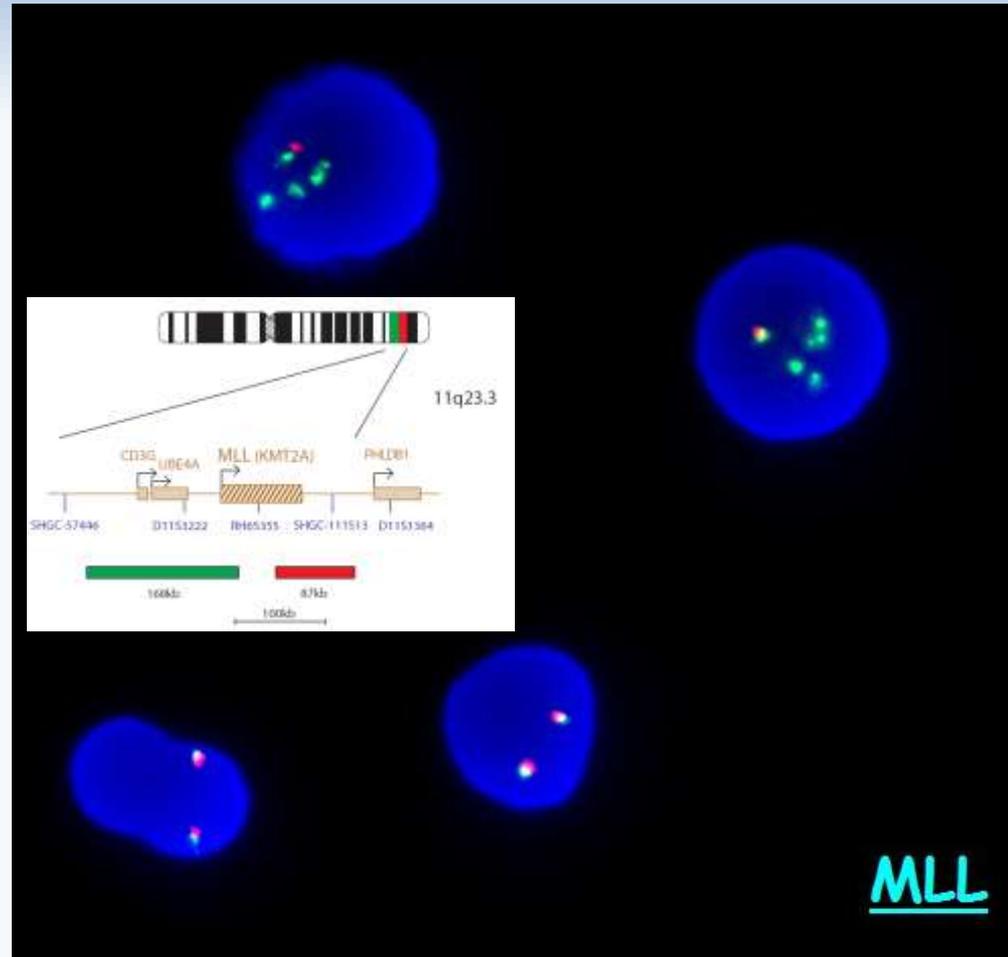
46,XX,**add(10)(p12)**,**-11**,**?t(14;19)(q32;q13.1)**,**+mar**[9]/46,XX[18]

clone à 46 chromosomes qui comporte dans 7 des 18 mitoses classées (et sur environ 100 mitoses observées, sous réserve de la qualité des chromosomes dans les mitoses anormales) :

- un probable remaniement du bras court d'un chromosome 10;
- la perte d'un chromosome 11;
- un remaniement du bras long d'un chromosome 14 en q32;
- la perte d'un chromosome 19 associée à un chromosome 22 supplémentaire (ou une délétion du bras long ou court d'un chromosome 19);
- la présence d'un chromosome marqueur.

1^{ère} étude FISH (sondes CytoCELL)

- ETV6-RUNX1 double fusion = RAS
- TCF3 "break apart" = délétion d'un signal dans 15,5% des noyaux, non confirmée en mitoses (pour l'interprétation du caryotype, orientation sur une probable monosomie 19)
- MLL/KMT2A "break apart" =
 - en noyaux = 1 signal de fusion + 2 à 4 signaux uniquement pour la partie 5' du gène (environ 20% des noyaux)
 - pas de mitose avec un profil anormal



Hypothèse au soir du 17/11/2018

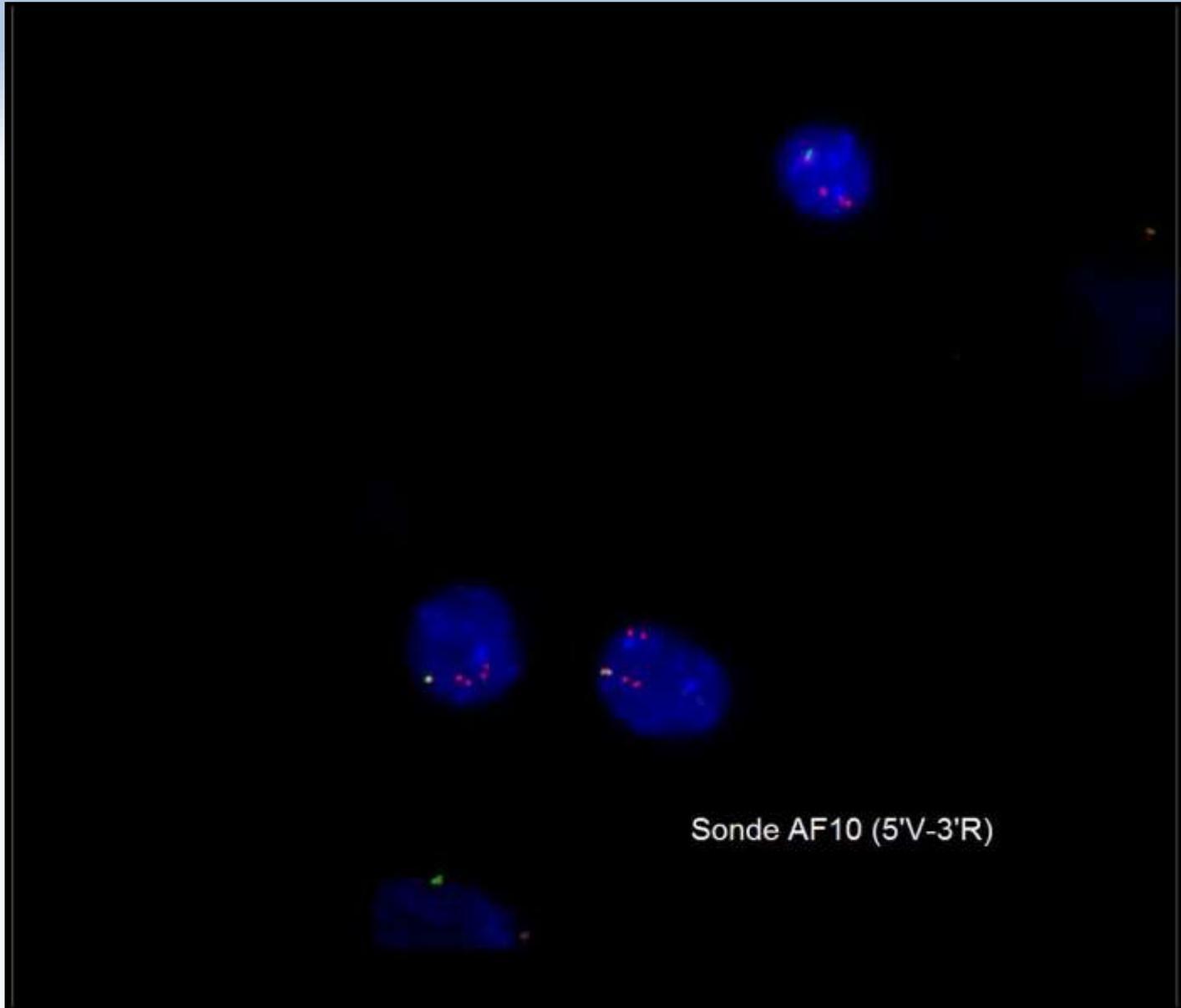
- Contexte de LAL B IV ou mature
- Au niveau moléculaire, aucun transcrite pour les cibles suivantes = *ETV6-RUNX1/BCR-ABL1/AFF1-KMT2A/TCF3-PBX1*
- Hypothèse après consultation de Marina Lafage-Pochitaloff/Wendy Cuccuini/Christine Lefebvre:
 - remaniement *MLL/AF10* mais %age de noyaux anormaux très différent du pourcentage théorique de blastes médullaires (anomalie primaire?)
 - faire une sonde *IGH/MYC* étant donné l'aspect du der(14), même si le caryotype n'oriente pas instinctivement vers un Burkitt :
 - si *IGH/MYC* réarrangé : Burkitt généralement TdT neg, jamais CD34 et IgM de surface => IgM à vérifier avec l'immunophénotypage
 - Pour un « Burkitt-like » = besoin d'une image claire d'un gain 11q (avec souvent inversion). Ici gain de 5'MLL mais pas de réelle certitude d'un gain de grande taille 11q
 - Attention aux t(14;19) *IGH/EPOR* car absence du 19 et 14q+ (image a priori compatible) = LAL-B Ph-like?

2nde étude FISH sur frottis médullaires

- FISH IGH-MYC = pas de remaniement de type t(8;14)/*IGH-MYC* et pas de remaniement du locus *IGH* (2 signaux uniquement dans les noyaux)
- FISH MLL/KMT2A sur frottis médullaire (80% de blastes au moins) = confirme la présence d'un remaniement du gène *MLL/KMT2A* (1 signal de fusion associé à 2 à 4 signaux pour l'extrémité 5' de la sonde (aspect des signaux couplés 2 par 2)) **dans environ 91% des noyaux analysés.**
- Analyse des transcrits de fusion multiplex de type RT-MLPA (Lille) = incident, technique non réalisée pour résultat avant inclusion
- Envoi lames de frottis médullaires pour FISH AF10 à Toulouse

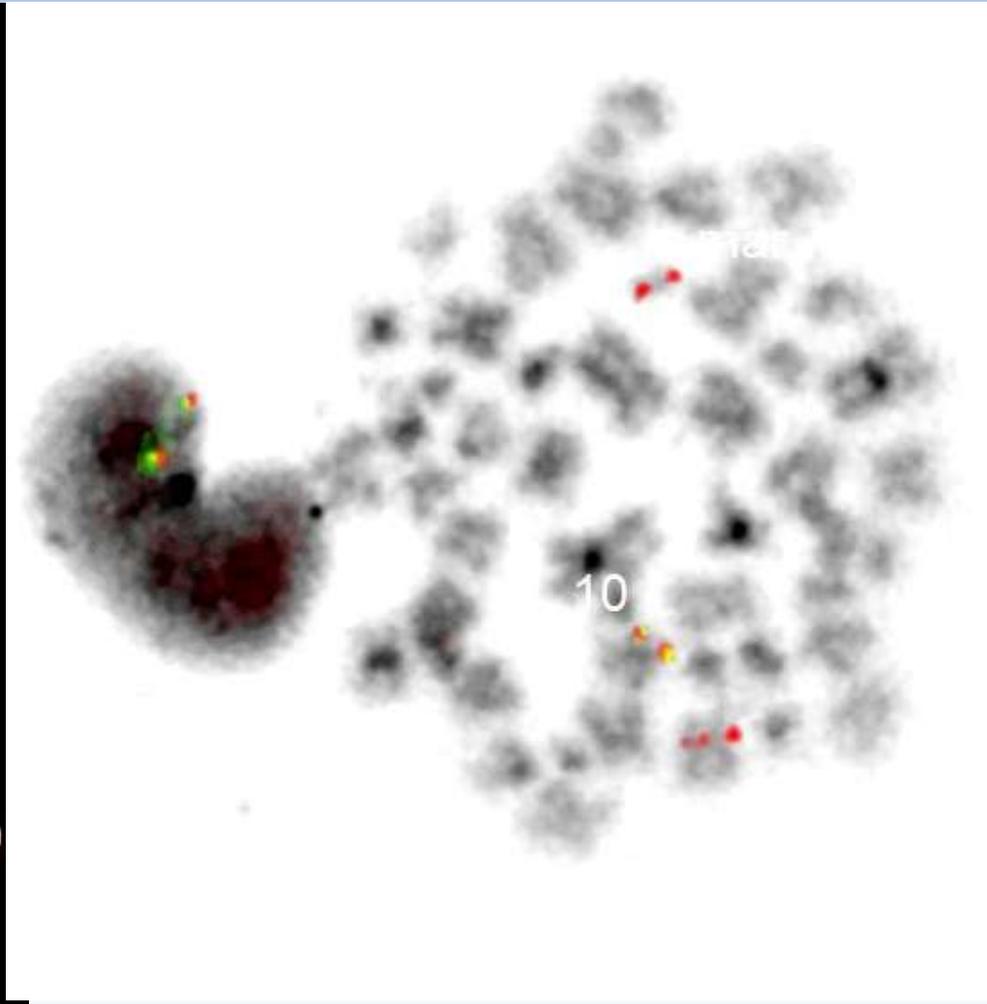
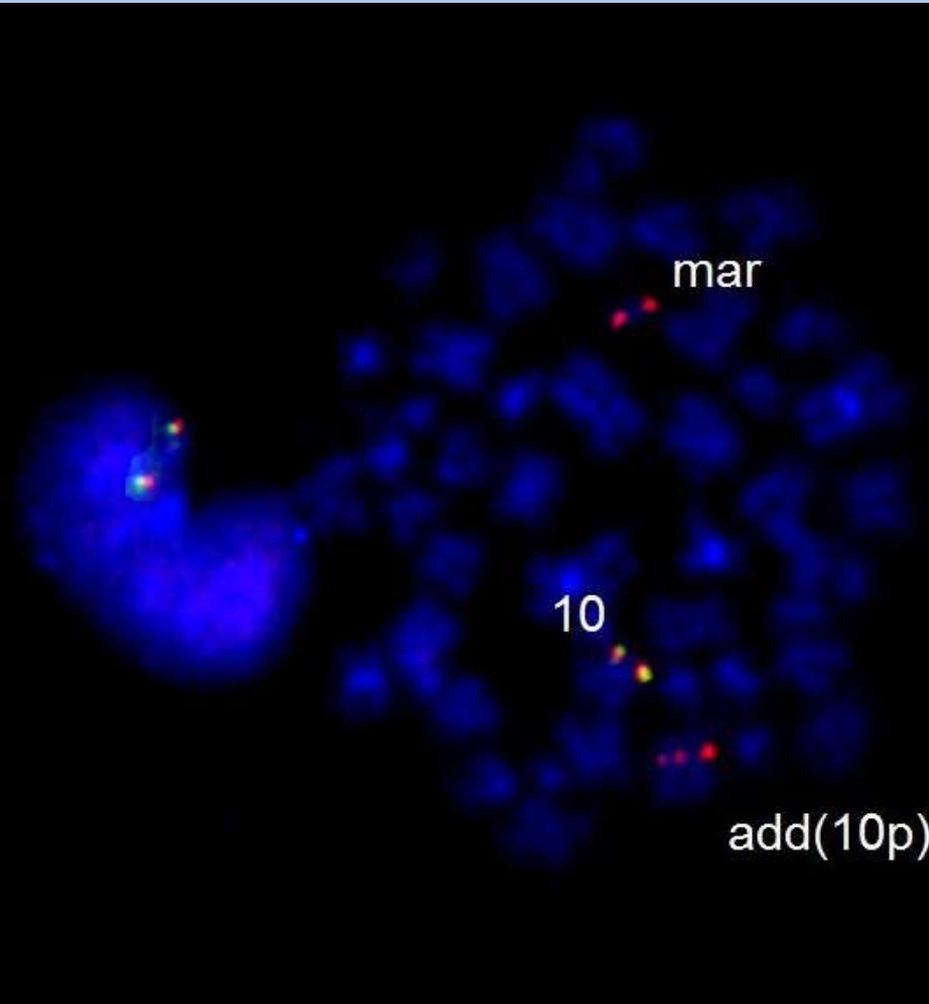
Etude FISH AF10/MLLT10

I. Luquet Toulouse AF10 break apart « maison »

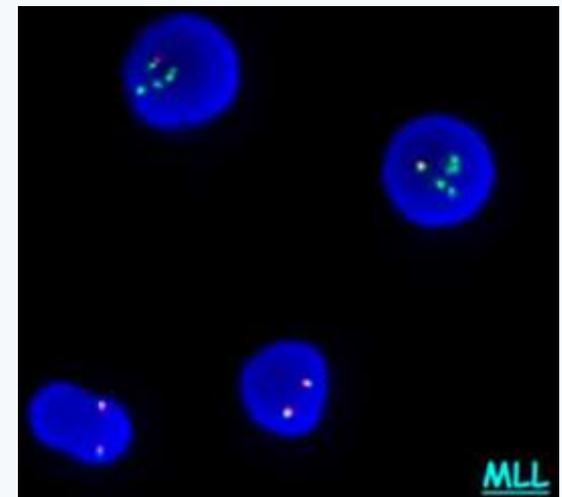
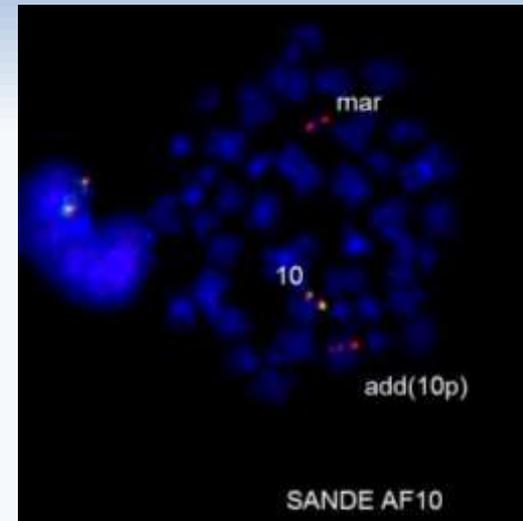
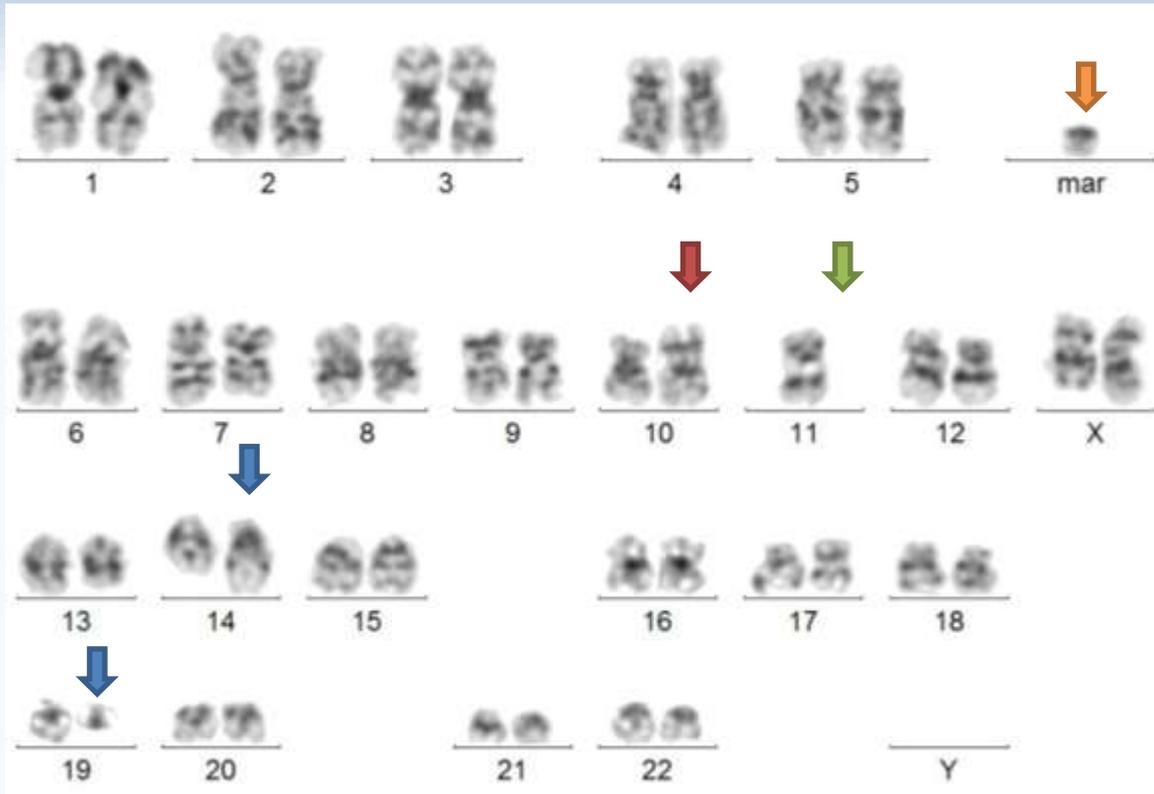


Etude FISH AF10/MLLT10

I. Luquet Toulouse AF10 break apart « maison » sur lames de Bandes R envoyées en parallèle des frottis médullaires (Vu avec IL)



Conclusion étude cytogénétique



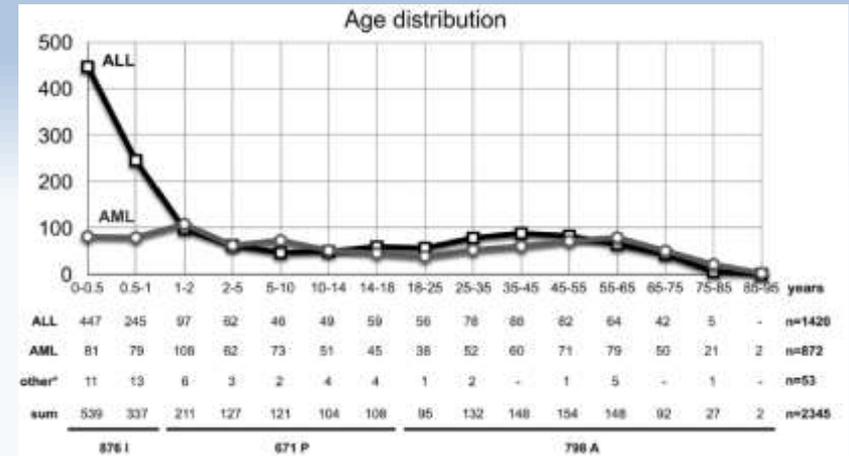
LALB IV avec remaniement
MLL/KMT2A et *AF10/MLLT10*

Complément biologie moléculaire

- Analyse des transcrits de fusion multiplex de type RT-MLPA (Lille) = finalement négative
- Envoi à Claus Meyer
 - Transcrit *MLL-AF10* ou *KMT2A-MLLT10* présent
 - MLL : intron 7
 - AF10 : intron 12

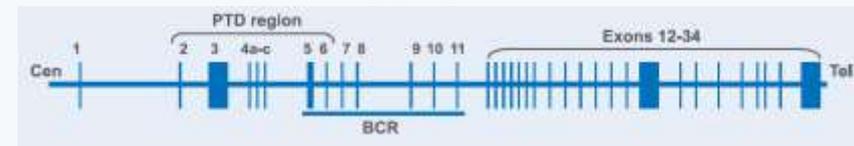
LAL B avec remaniement de MLL/KMT2A

- LALB chez enfant < 1 an
- Phénotype = de type B-I (CD10-)
- Nombreux partenaires

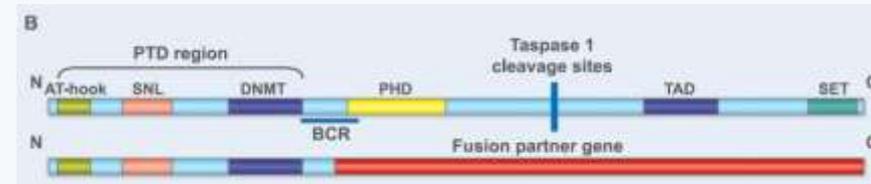


Leukemia (2018) 32, 273–284; doi:10.1038/leu.2017.213

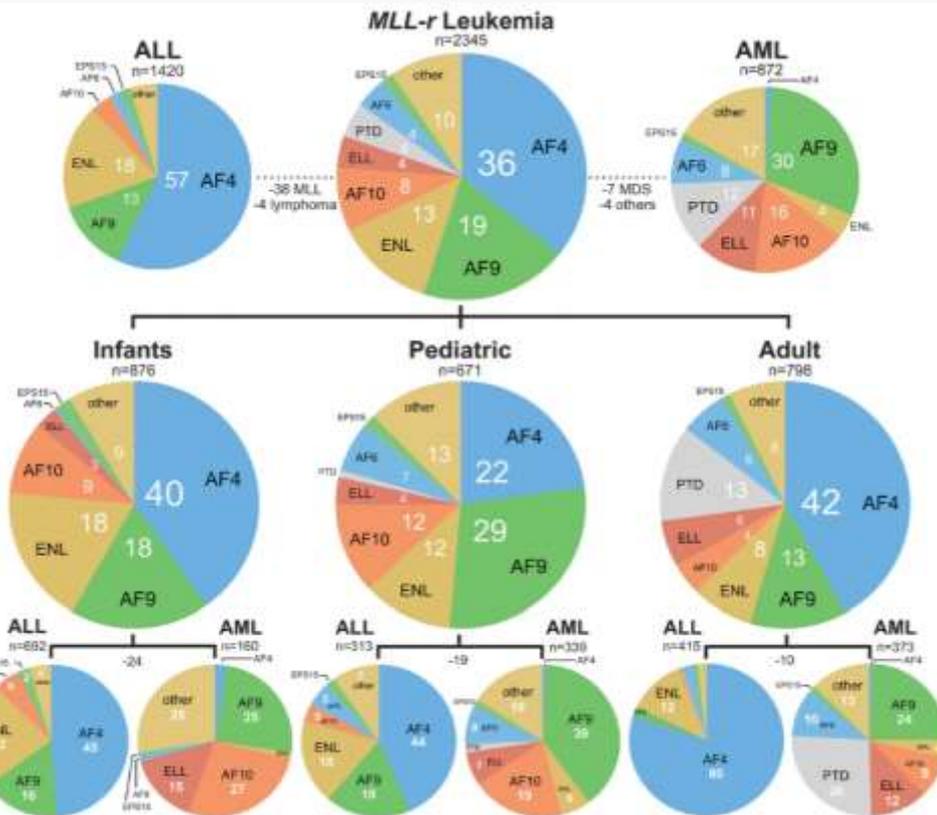
Gène



Protéine et conséquence du remaniement

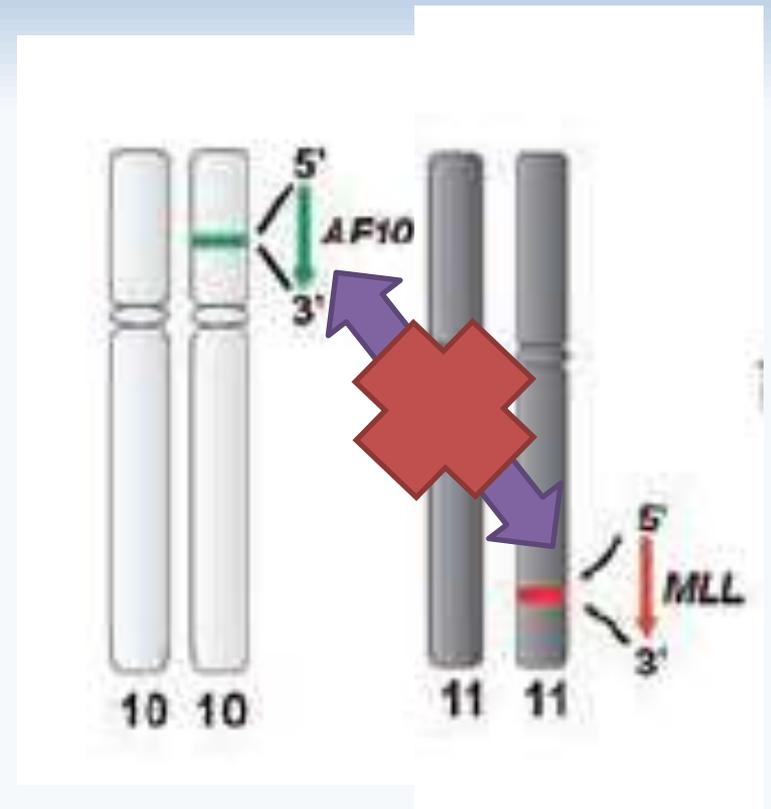


Cancer Res 2008;68(24):10024-7; doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-2208



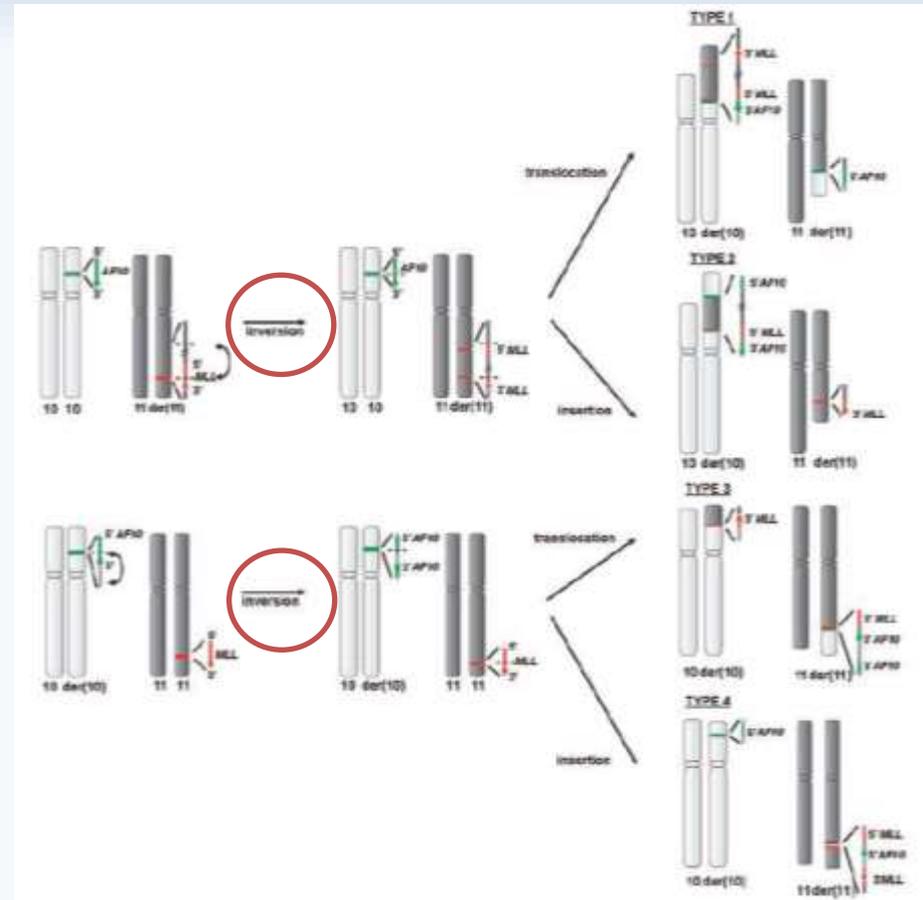
LALB avec remaniement MLL/KMT2A-AFF10/MLLT10

- Essentiellement observé dans les LAM
- Problème = impossible de réaliser une translocation classique par échange de deux bras chromosomiques



LA avec remaniement MLL/KMT2A-AFF10/MLLT10

- Essentiellement observé dans les LAM
- Problème = impossible de réaliser une translocation classique par échange de deux bras chromosomiques
- Nécessité d'une étape **d'inversion** d'un des deux gènes pour obtenir le transcrit



Conclusion

- Merci la FISH!
 - mais existence de cas où elle est prise à défaut (pour revue : De Braekeleer et al, Blood Cells, Molecules, and Diseases 44 (2010) 268–274) = conseil de prendre un sonde avec séparation de signal et couvrant la partie 5' (Vysis dans leur article)
 - Attention au profil atypique de MLL/KMT2A, même en cas de faible proportion
- Et surtout merci à toutes les techniques permettant de conclure avant l'inclusion dans un protocole dans un cas un peu compliqué!
- Devenir de la patiente
 - 09/2018 = 2^{ème} cure MTX phase M2 pour LAL BHR selon CAALL F01
 - Pas d'évènement intercurrent avec bonne tolérance globale du traitement (et pas d'élément pour un échappement/rechute à ce jour)

Remerciements

- Pascale Cornillet-Lefebvre
- Marina Lafage-Pochitaloff
- Wendy Cuccuini
- Christine Lefebvre
- Hélène Cavé/Aurélie Caye-Eude
- Nathalie Gradel
- Isabelle Luquet/Stéphanie Struski et leur équipe