

Leukemia, janvier 2024

Non-IG::MYC in diffuse large B-cell lymphoma confers variable genomic configurations and MYC transactivation potential

Chunye Zhang^{1,2,17}, Ellen Stelloo^{3,17}, Sharon Barrans^{4,17}, Francesco Cucco^{1,5,17}, Dan Jiang^{1,6}, Maria-Myrsini Tzioni¹, Zi Chen¹, Yan Li^{1,7}, Joost F. Swennenhuis³, Jasmine Makker ¹, Livia Rásó-Barnett⁸, Hongxiang Liu⁶, Hesham El-Daly⁹, Elizabeth Soilleux¹, Nimish Shah¹⁰, Sateesh Kumar Nagumantry¹¹, Maw Kyaw¹², Mahesh Panatt Prahlanan¹³, Reuben Tooze ^{4,14}, David R. Westhead ¹⁵, Harma Feitsma³, Andrew J. Davies¹⁶, Catherine Burton⁴, Peter W. M. Johnson ¹⁶ and Ming-Qing Du ¹✉

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Limited 2024

Contexte

DLBCL : lymphome B agressifs **hétérogènes**

Cellule d'origine
(COO)

Anomalies génétiques

Mécanismes moléculaires

Evolution clinique

Activated B-cell like **ABC**

Vs

Germinal center B-cell like **GCB**

Contexte

DLBCL : lymphome B agressifs hétérogènes

Cellule d'origine
(COO)

Anomalies génétiques

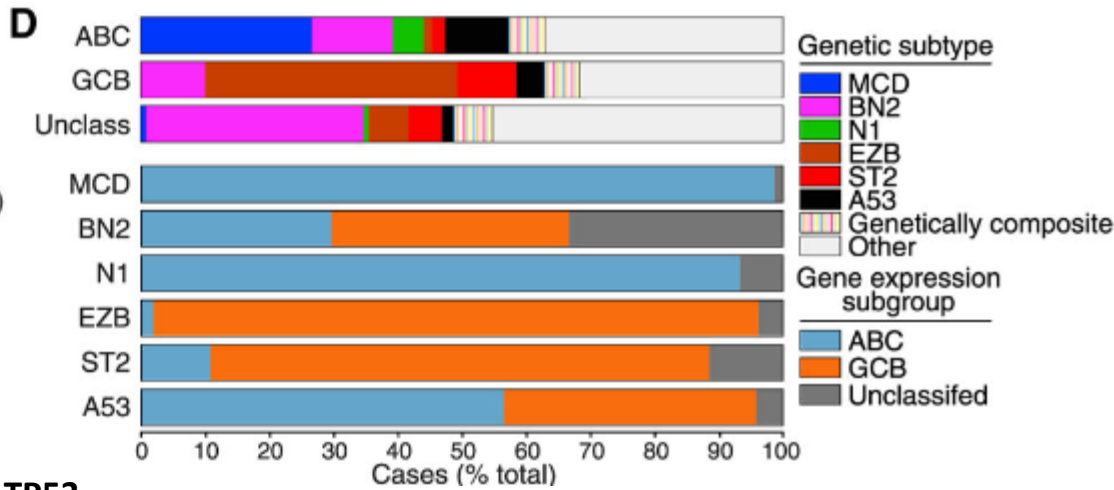
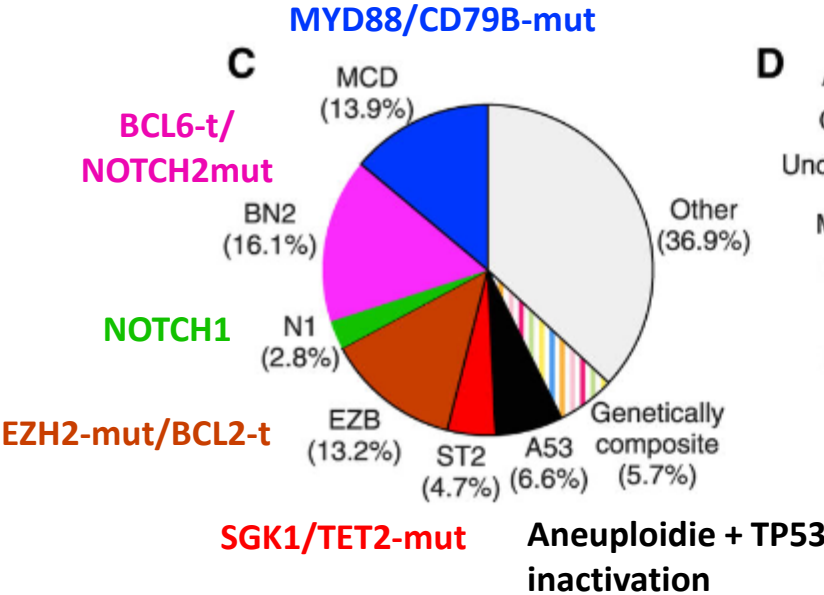
Mécanismes moléculaires

Evolution clinique

LymphGen Classifieur

Activated B-cell like **ABC**
Vs
Germinal center B-cell like **GCB**

Selon signature MYC
EZB-MYC+
EZB-MYC-



Mais peu d'applications cliniques pour l'instant.....

Diagnostic / pronostic de routine

IPI

BCL2-t

MYC-t

BCL6-t

MYC-t = 8-14% de tous les DLBCL

+/- BCL2 ou BCL6 (DH)

~18% DH MYC/BCL6

~40% DH MYC/BCL2

+/- BCL2/BCL6 (TH)

~9% des MYC-t

Groupe hétérogène :

30% **GCB**

30% **ABC**

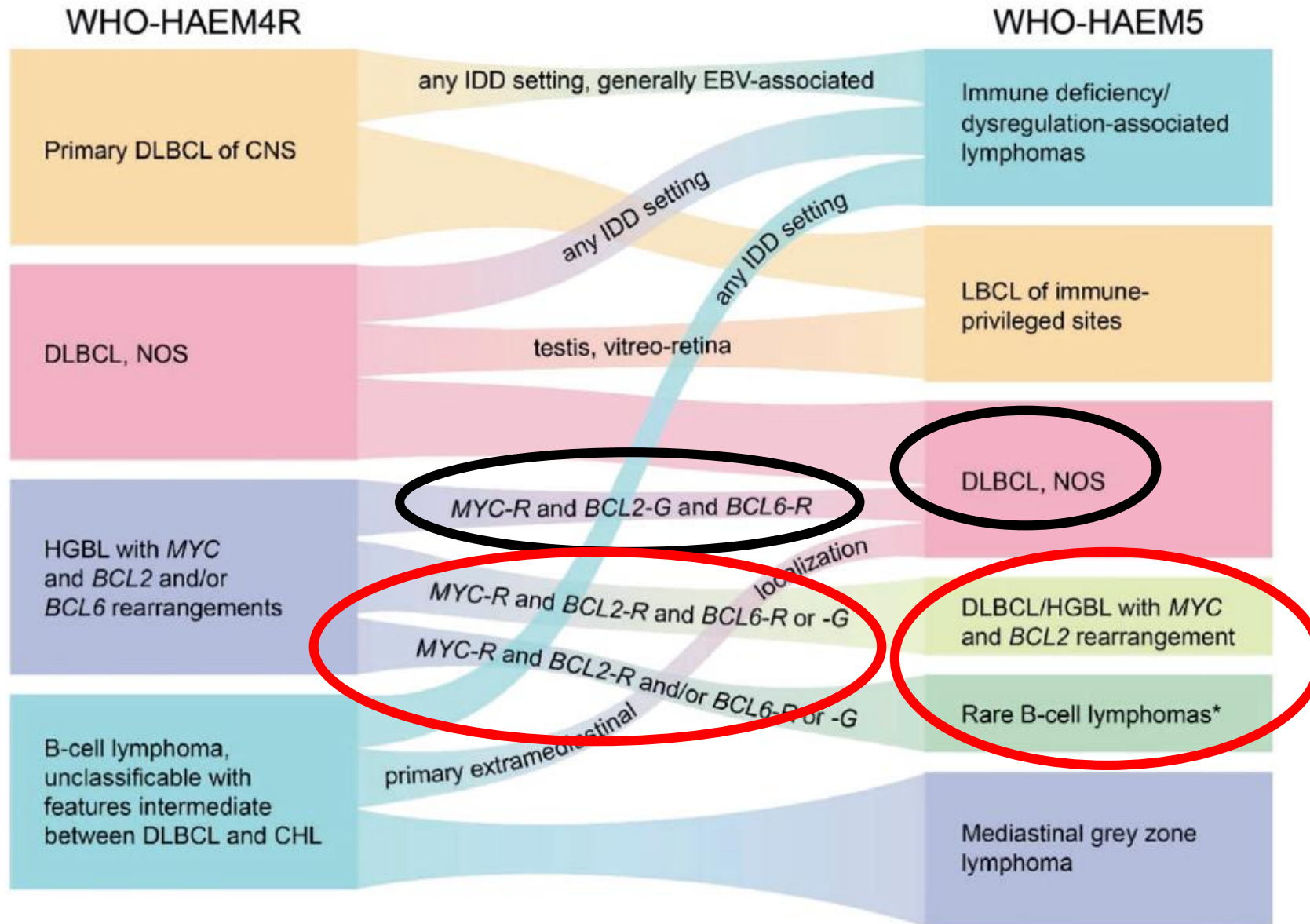
15% inclassifiables

Plus de **BN2** mais pas de type
moléculaire caractéristique

Principalement des sous type **GCB**
EZB-MYC+

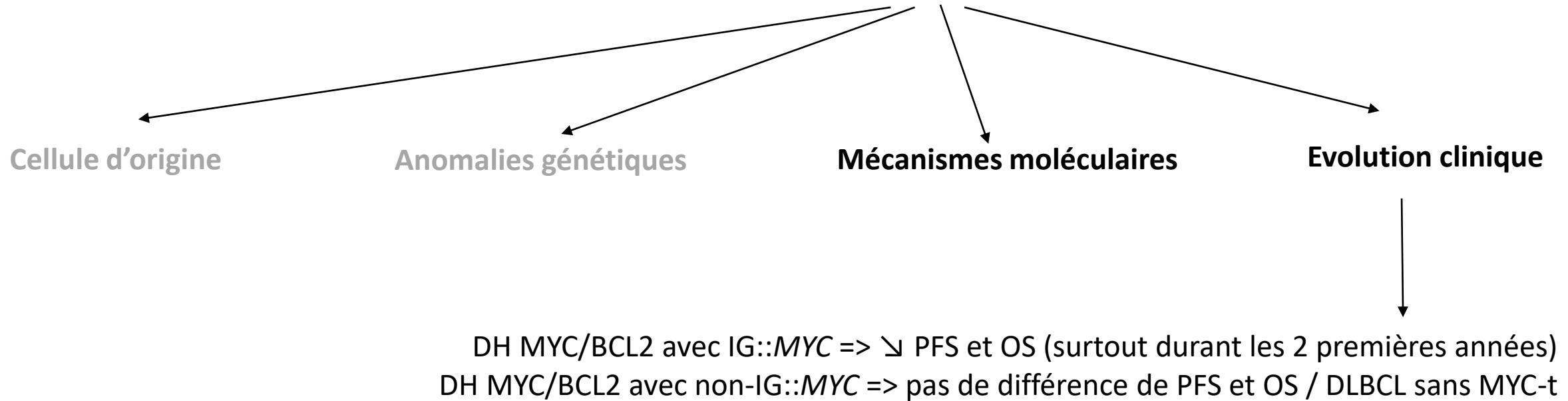
WHO-HAEM5

Contexte



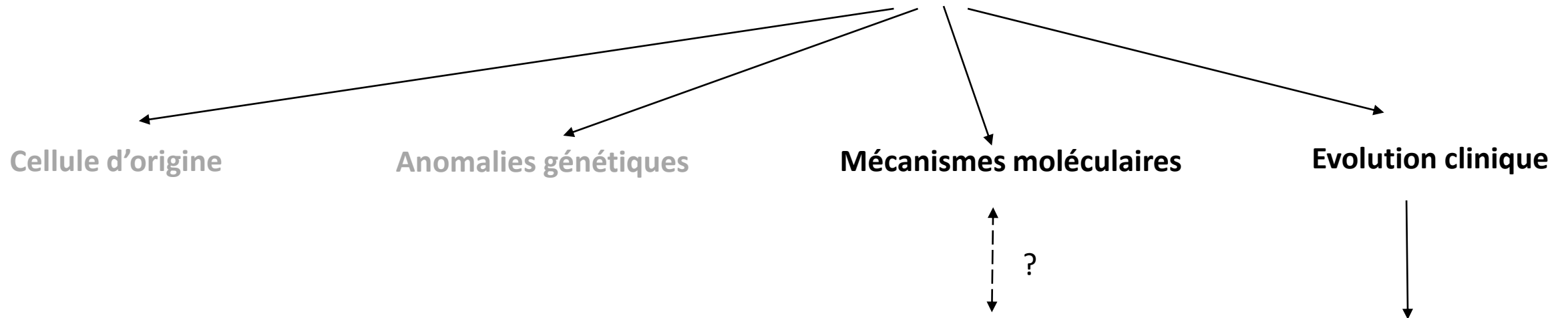
Contexte

DLBCL : lymphome B agressifs **hétérogènes**



Contexte

DLBCL : lymphome B agressifs **hétérogènes**



Expression très variable de MYC (de 0 à 100% des cellules tumorales) ds DLBCL MYC-t

IGH::MYC

Point de cassure : 5'UTR et intron 1 de MYC et région switch du locus *IGH*

⇒ MYC sous le super enhancer *IGH*

⇒ Surexpression MYC constitutive

+

Mutations de *MYC* (gain de fonction)

Non IG::MYC

Partenaires : ***BCL6*** >>> *ZCCHC7* et *RFTN1*

⇒ Quelle fréquence exacte parmi les non-IG ?

⇒ Impact sur l'expression et l'activation de MYC mal connu

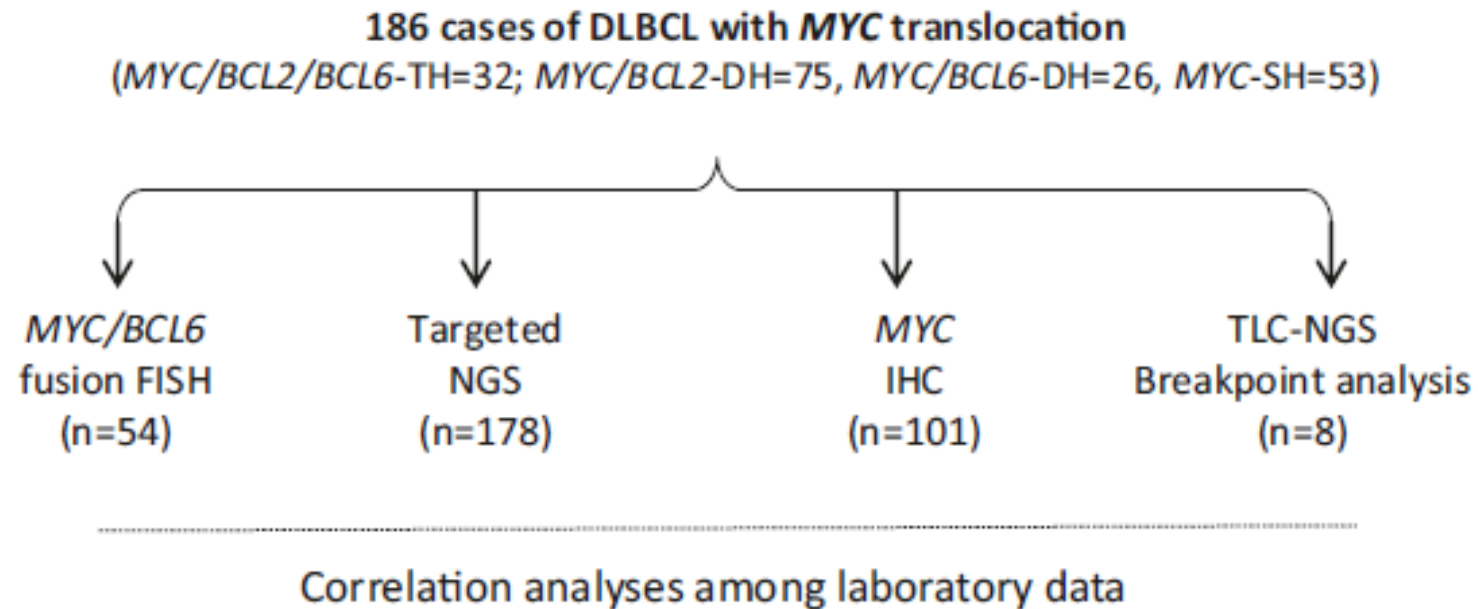
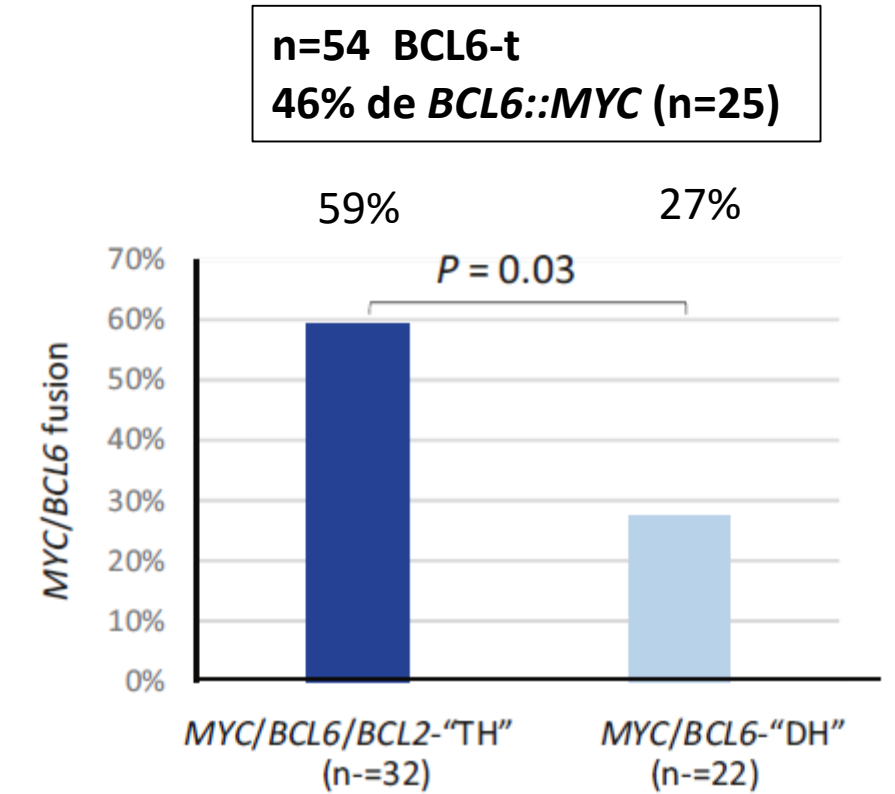
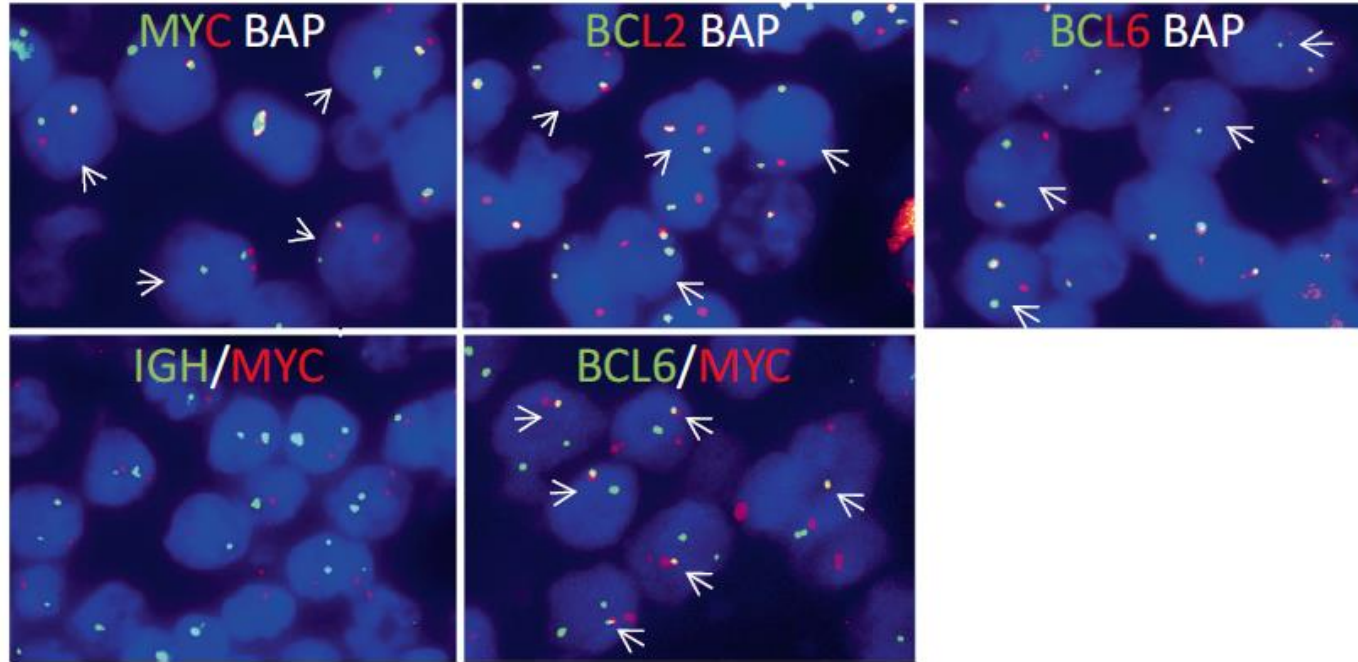


Fig. 1 Summary of DLBCL with *MYC* translocation and experiments carried out.

TLC-NGS targeted locus capture NGS
Sur FFPE

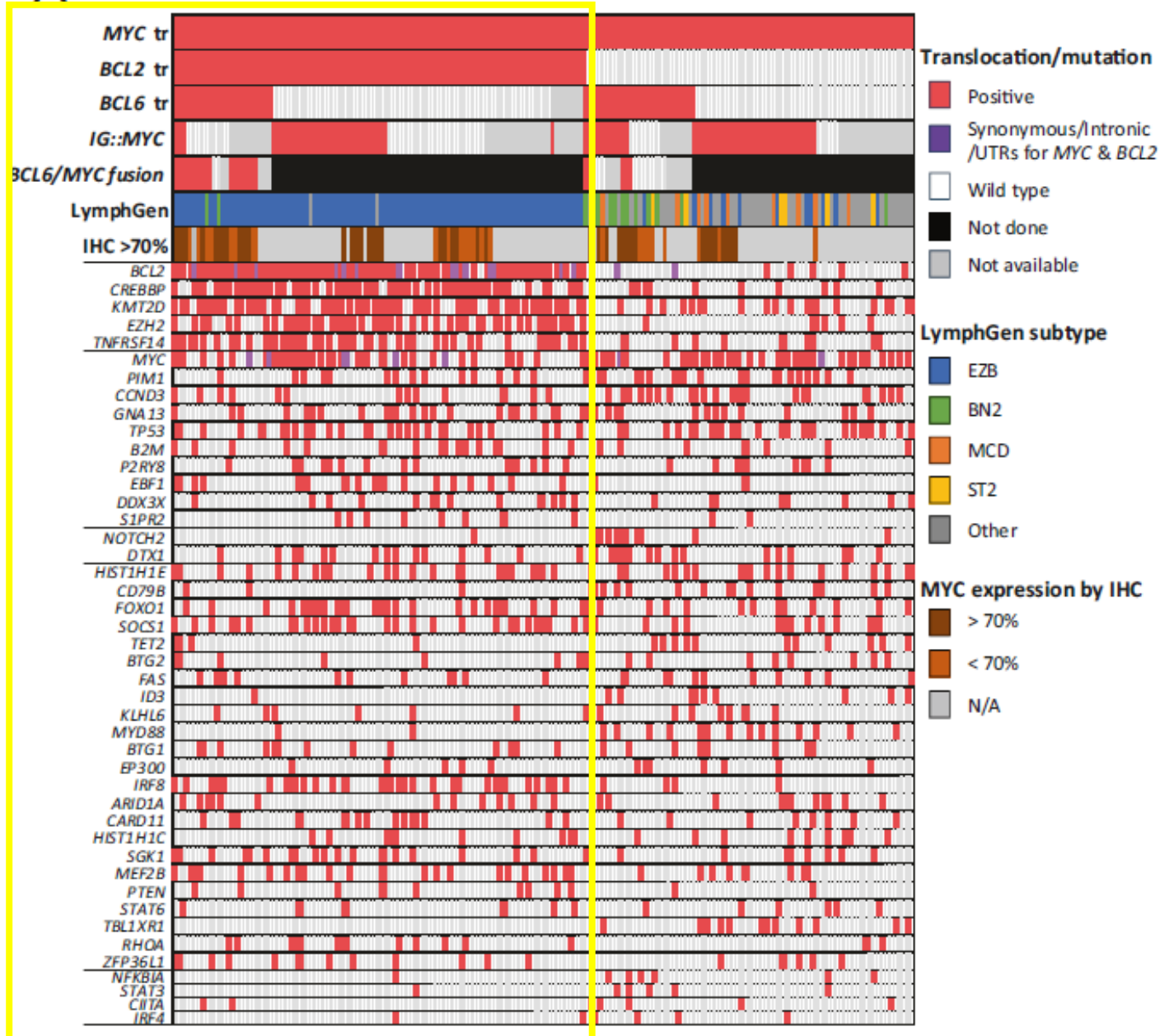


En complément si fusion *BCL6::MYC* :
Sonde DF MYC/IGH et MYC/IGL ou IGK
6/24 avec fusion IGH::*MYC* (translocation à 3)

Fig. 2 *MYC/BCL6* fusion accounts for a high proportion of DLBCL with *MYC* and *BCL6* translocation. **A** Example of interphase FISH in a case with a triple hit (TH), in which the *MYC* and *BCL6* translocation detected by their breakapart probes (BAP) are due to *MYC/BCL6* fusion. **B** The frequency of *MYC/BCL6* fusion is significantly higher in cases with *MYC/BCL6/BCL2*-“TH” than those with *MYC/BCL6* “double hit” (DH).

Caractéristiques génétiques

A



EZB = EZH2-mut/BCL2-t

BN2 = BCL6-t/NOTCH2mut

MCD = MYD88/CD79B-mut

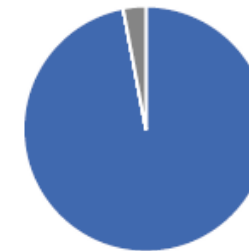
ST2 = SGK1/TET2-mut

other

MYC/BCL2/BCL6-TH
(n=24)



MYC/BCL2-DH
(n=67)



MYC/BCL6-DH
(n=26)



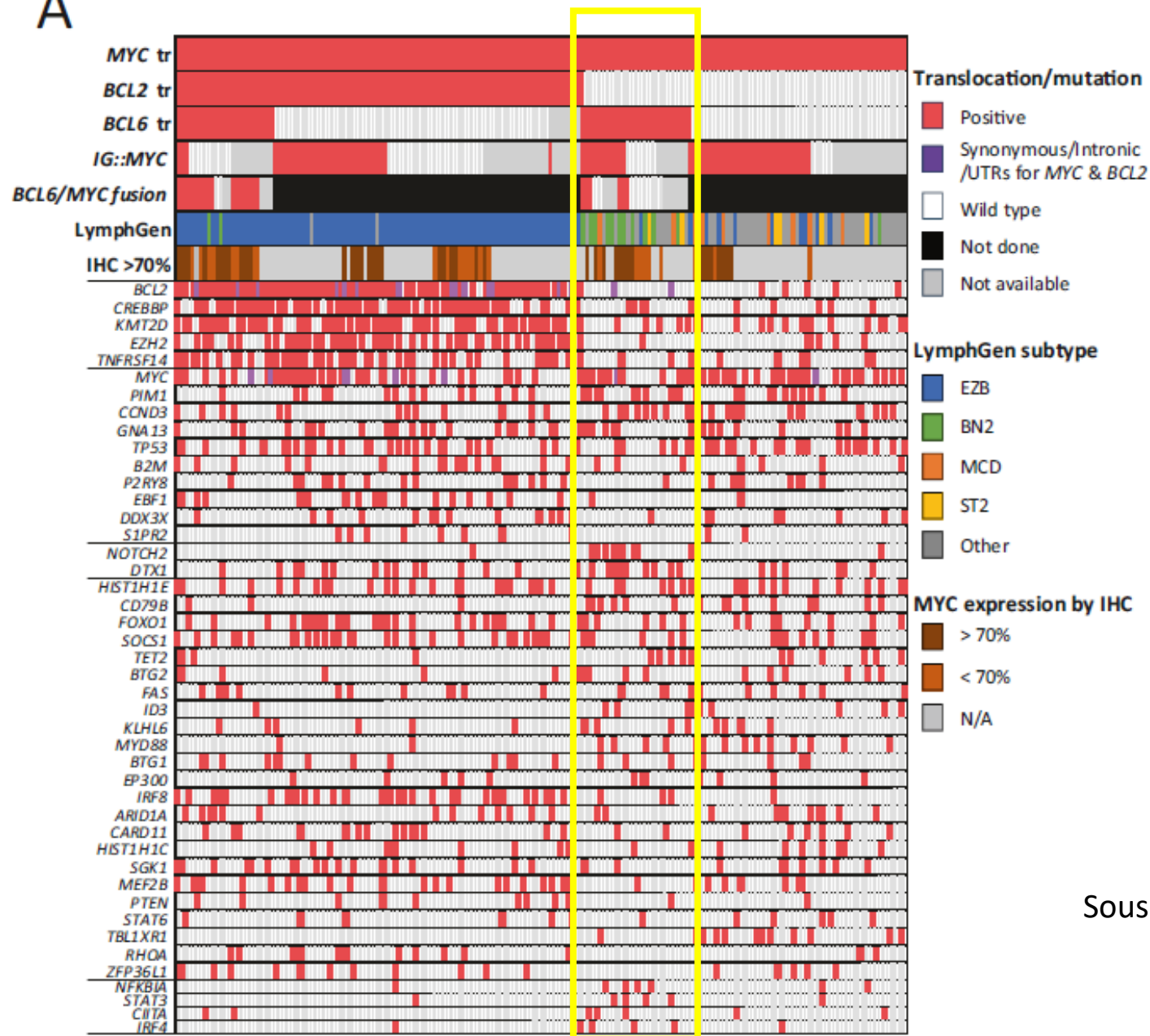
■ EZB ■ BN2 ■ MCD ■ ST2 ■ Other

Mutations associées aux LF
BCL2, CREBBP, KMT2D, EZH2, TNFRSF14

COO= Principalement **GCB**
Sous groupe **EZB-MYC+** (92% et 97%)
Pas de différence entre MYC/BCL6 + ou -

Caractéristiques génétiques

A



EZB = EZH2-mut/BCL2-t

BN2 = BCL6-t/NOTCH2mut

MCD = MYD88/CD79B-mut

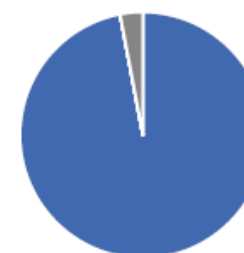
ST2 = SGK1/TET2-mut

other

MYC/BCL2/BCL6-TH
(n=24)



MYC/BCL2-DH
(n=67)



MYC/BCL6-DH
(n=26)



■ EZB ■ BN2 ■ MCD ■ ST2 ■ Other

Profil mutationnel peu caractéristique

COO variable

Sous groupes LymphGen variables: BN2 et others (inclassifiées)

Pas de différence entre MYC/BCL6 + ou - (peu de cas)

Expression de MYC

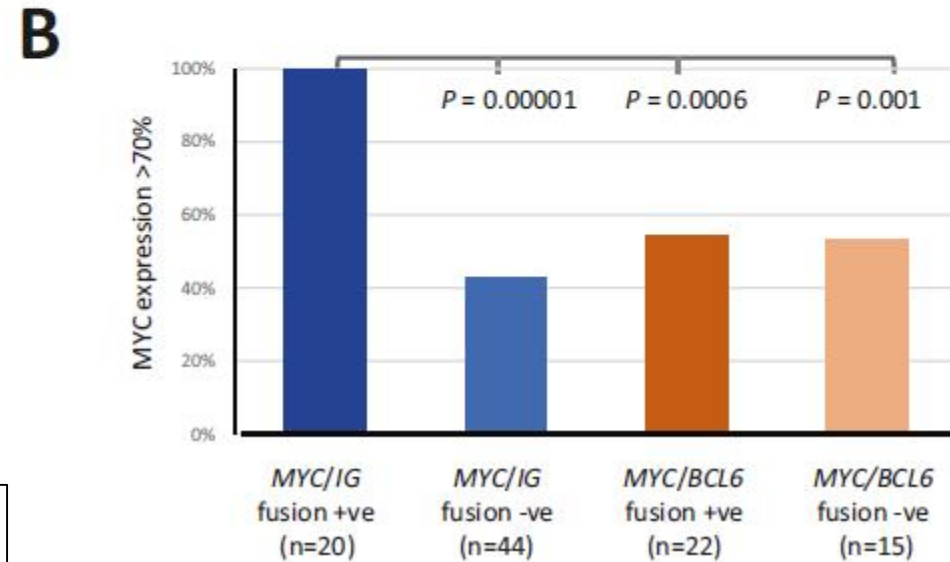
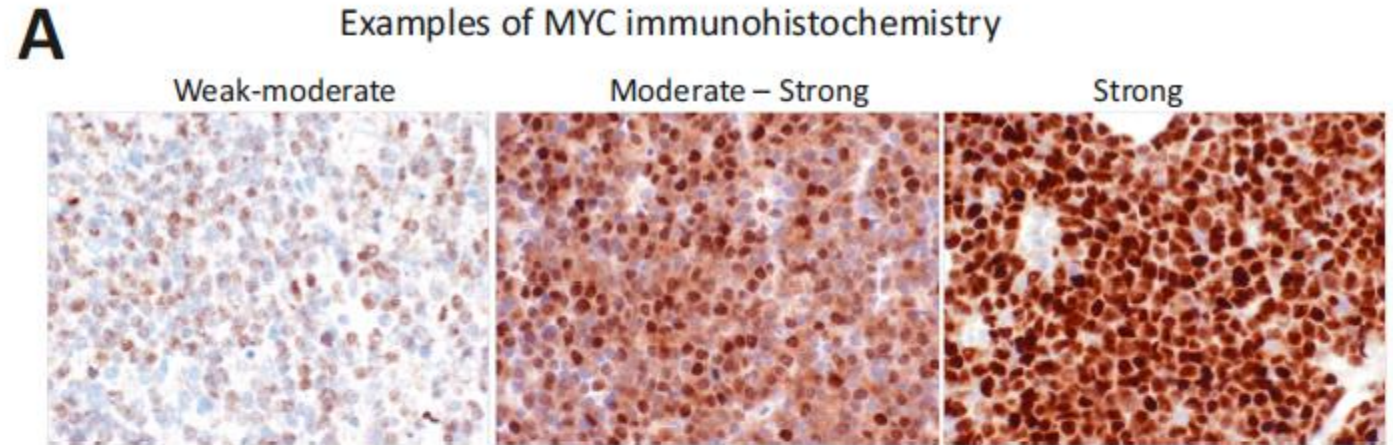
Expression MYC haute si IHC > 70% des cellules (marquage modéré ou fort)

Uniformément haute si IG::MYC (100%)

Variable si MYC::BCL6 (50%)

Pas de différence avec MYC/BCL6 -

⇒ Les non-IG::MYC (dont BCL6) n'entraînent pas toutes une expression constitutive de MYC



Analyse des points de cassure

TLC-NGS targeted locus capture NGS

Sur FFPE

8 cas, incluant 4 non-IGH::MYC (dont 3 MYC/BCL6 fusion) et 4 IGH::MYC

⇒ Confirmation de chaque réarrangement

⇒ Description détaillée des points de cassure et identification des partenaires

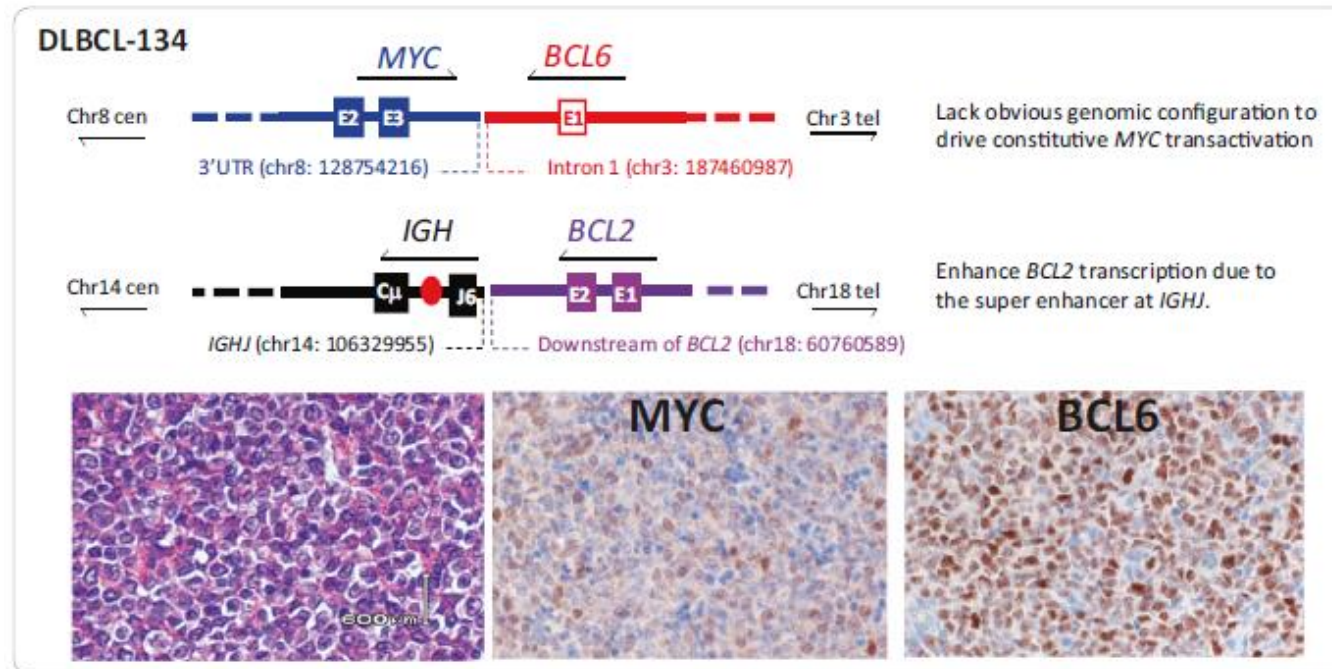
Fig. 4 MYC protein expression and its correlation with MYC translocation partner. A Examples of MYC immunohistochemistry and grading; (B) high MYC protein expression is invariably seen in DLBCL with IGH::MYC, but only in up to 50% cases with non-IGH::MYC translocation..

Table 1. Detection of chromosome translocation by TLC-NGS.

Targets* Case	BCL2	BCL6	MYC	IGH
DLBCL-134	IGH	MYC	BCL6	BCL2
DLBCL-173	IGH	MYC	BCL6	BCL2
DLBCL-136	IGH	chr16 (CIITA, intron 1)	chr8 (TOX, intron 1)	BCL2
DLBCL-123		IGH, MYC	BCL6, IGH	BCL6, MYC
DLBCL-154	IGH, BCL6	BCL2, IGH; chr3 (no genes annotated)	chr12 (HNRNPA1, intron 1)	BCL2, BCL6
LO318	IGH, chr17 (~55 Mb)	chr4 (~40 Mb)	IGH	BCL2, MYC
DLBCL-96		IGH	IGH	BCL6, MYC
DLBCL-178		chr13 (LCP1, intron 1)	chr14 (~69 Mb)	

*Various targets captured by the TLC-NGS design, while the fusion partners identified are shown in the corresponding cell in each case.

Parmi les 3 cas de *MYC::BCL6*



juxtaposition directe entre les locus *MYC/BCL6*

Les points de cassure :

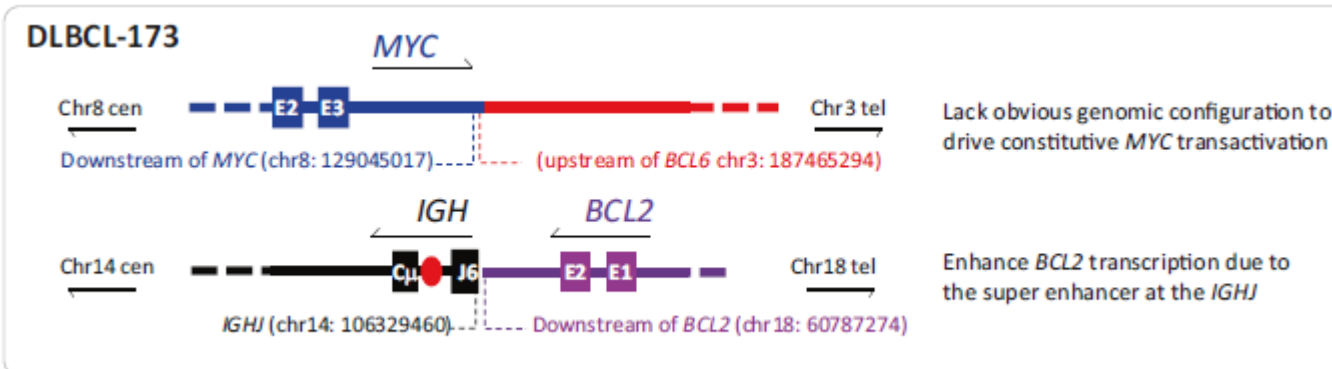
- en aval de *MYC* ou dans 3'UTR
- en amont de *BCL6* ou dans l'intron 1

orientation inverse des 2 gènes

Pas de changement de structure de la région 5'*MYC* (contrôle transcriptionnel)

Rôle incertain des super enhancers en aval de *MYC* et dans la région 5'*BCL6*

=> Expression *MYC* faible < 40% des cellules

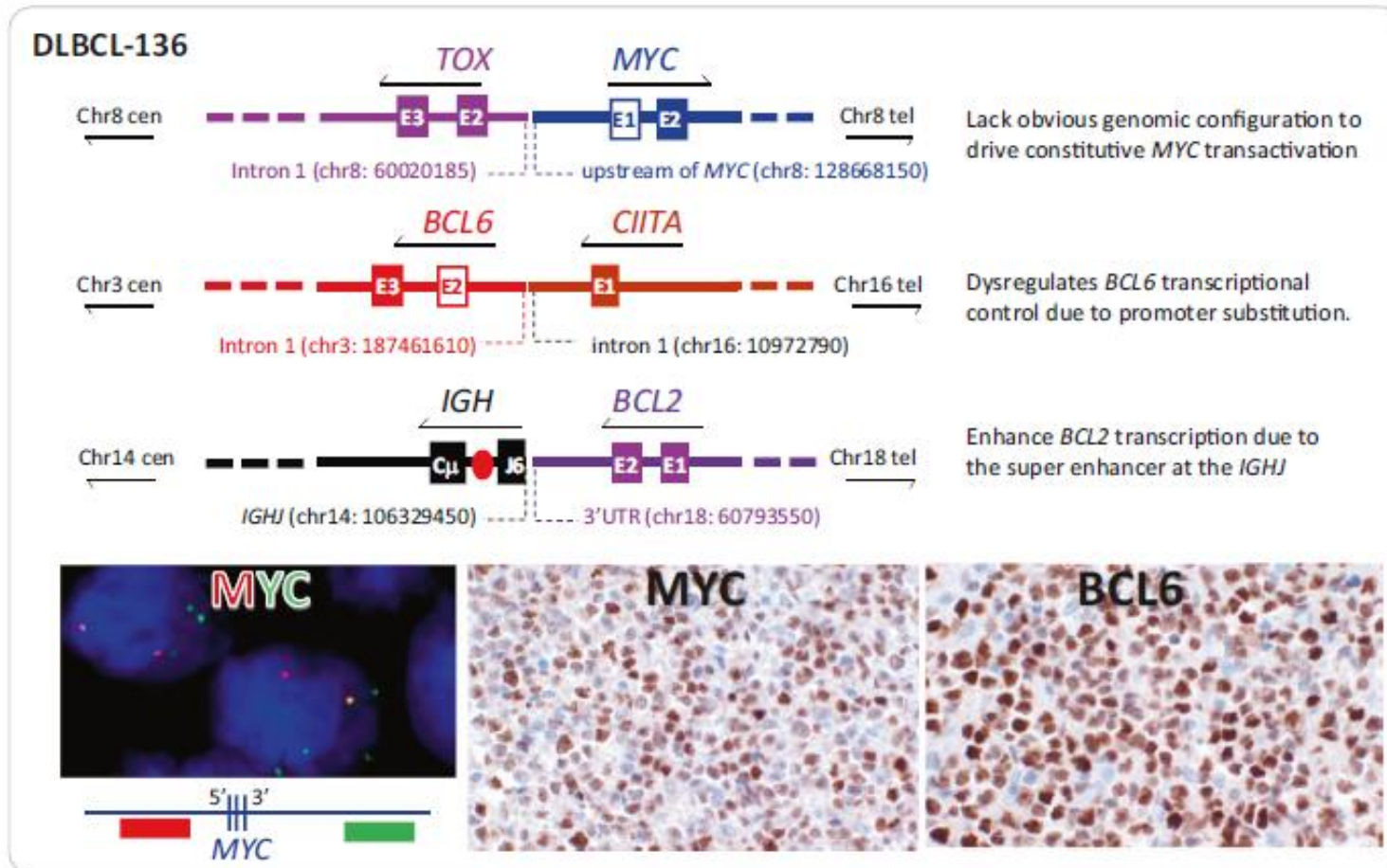


Pas de détermination précise des points de cassure de la region IGH insérée, mais comprend le **super-enhancer de la région switch *IGH***

=> Expression MYC forte

Parmi les 5 cas sans *MYC::BCL6*

Description de 2 nouveaux partenaires de MYC chez 2 patients



TOX 8q12

breakpoint en amont du gène *MYC*

TOX ne semble pas + directement la transcription de *MYC* :

TOX/*MYC* orientation inverse

Perte de la région 5'*TOX* de régulation transcriptionnelle

TLC-NGS et FISH => gain de copie du réarrangement (x3–6 FISH) et du *MYC* normal (x2)

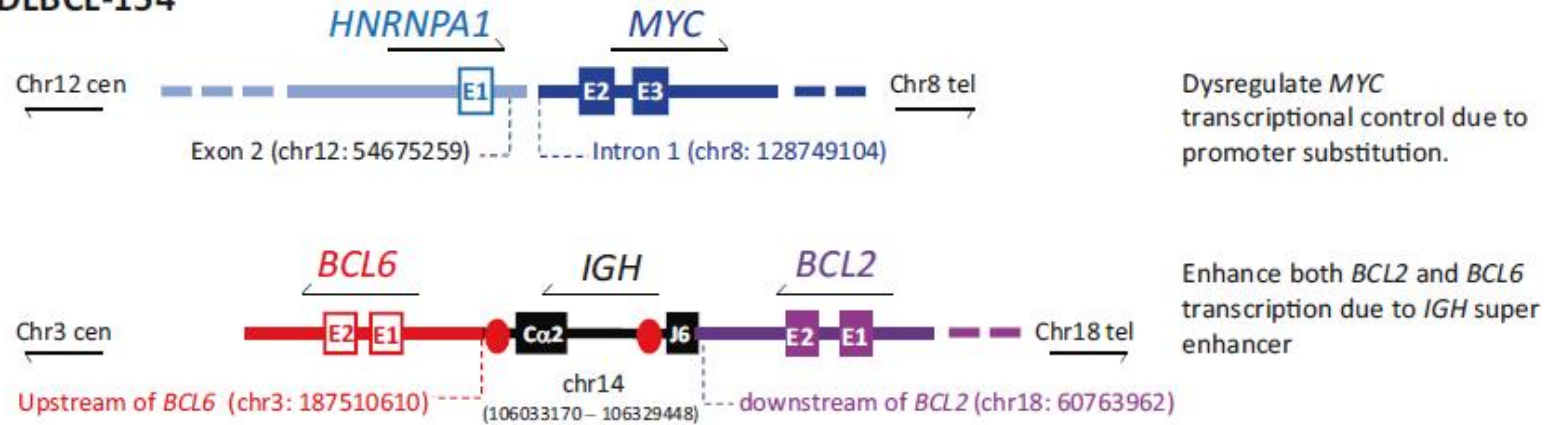
=> Expression *MYC* modérée

CIITA::BCL6 : fusion déjà connue

Parmi les 5 cas sans MYC/BCL6

Description de 2 nouveaux partenaires de MYC chez 2 patients

DLBCL-154



HNRNPA1 12q13

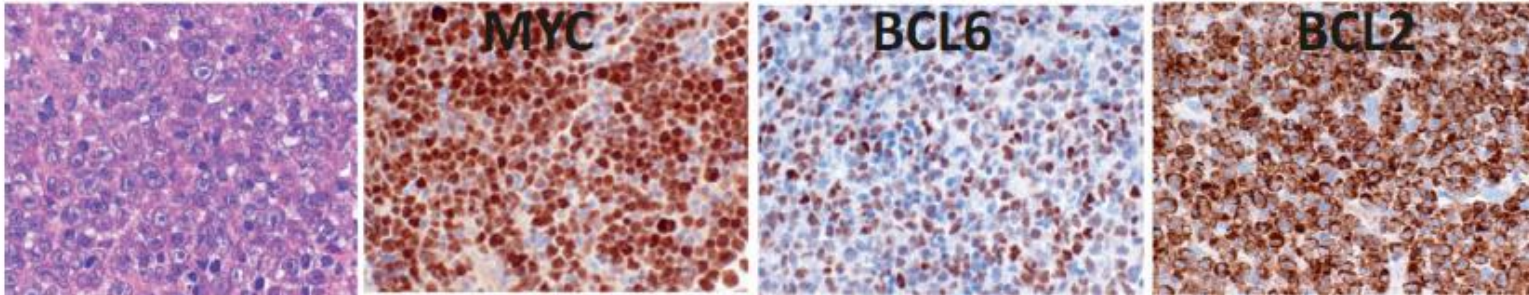
Même orientation

breakpoint dans l'intron 1 de *MYC*

MYC placé sous le contrôle transcriptionnel de *HNRNPA1*

= ribonucléoprotéine nucléaire à l'expression ubiquitaire

=> Expression *MYC* forte



Analyse des points de cassure

Parmi les 5 cas sans *MYC::BCL6*

Description de 2 nouveaux partenaires chez 2 patients

+ 3 cas *IGH::MYC*

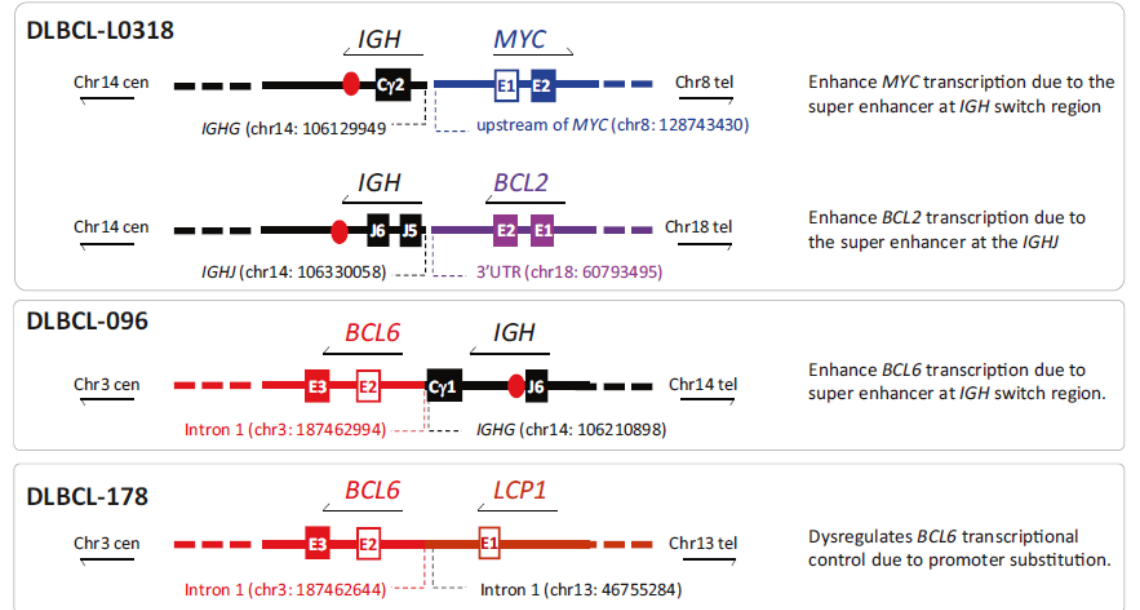


Table 1. Detection of chromosome translocation by TLC-NGS.

Targets* Case	<i>BCL2</i>	<i>BCL6</i>	<i>MYC</i>	<i>IGH</i>
DLBCL-134	<i>IGH</i>	<i>MYC</i>	<i>BCL6</i>	<i>BCL2</i>
DLBCL-173	<i>IGH</i>	<i>MYC</i>	<i>BCL6</i>	<i>BCL2</i>
DLBCL-136	<i>IGH</i>	chr16 (<i>CIITA</i> , intron 1)	chr8 (<i>TOX</i> , intron 1)	<i>BCL2</i>
DLBCL-123		<i>IGH</i> , <i>MYC</i>	<i>BCL6</i> , <i>IGH</i>	<i>BCL6</i> , <i>MYC</i>
DLBCL-154	<i>IGH</i> , <i>BCL6</i>	<i>BCL2</i> , <i>IGH</i> : chr3 (no genes annotated)	chr12 (<i>HNRNPA1</i> , intron 1)	<i>BCL2</i> , <i>BCL6</i>
LO318	<i>IGH</i> , chr17 (~55 Mb)	chr4 (~40 Mb)	<i>IGH</i>	<i>BCL2</i> , <i>MYC</i>
DLBCL-96		<i>IGH</i>	<i>IGH</i>	<i>BCL6</i> , <i>MYC</i>
DLBCL-178		chr13 (<i>LCP1</i> , intron 1)	chr14 (~69 Mb)	

*Various targets captured by the TLC-NGS design, while the fusion partners identified are shown in the corresponding cell in each case.

Take-home messages

- 1) Les translocations *MYC::BCL6* surviennent dans un nb important de DLBCL MYC-t, surtout les TH MYC/BCL2/BCL6 (59%) et dans une moindre mesure les DH MYC/BCL6 (27%)
- 2) Les translocations *MYC::BCL6* surviennent par juxtaposition directe des locus MYC et BCL6
=> *t(3;8)(q27;q24)/BCL6::MYC* et *t(3;8;14)(q27;q24;q32)/IGH::BCL6/MYC* (déjà décrites)
- 3) L'expression protéique de MYC est uniformément élevée dans les DLBCL IG::MYC
=> *Peut expliquer la survie ∇ des DH MYC/BCL2 IG::MYC*
- 4) L'expression protéique de MYC est variable dans les DLBCL non-IG::MYC, y compris les *MYC::BCL6*, car la configuration génomique n'entraîne pas toujours une activation constitutive de MYC
⇒ *Différence de survie (ou non) entre les DLBCL non-IG::MYC avec IHC high versus low ?*
⇒ *Survie similaire (ou non) entre DLBCL IG::MYC et DLBCL non-IG::MYC avec IHC high ?*
- 5) Les mécanismes moléculaires de l'expression de MYC :
⇒ *Transactivation par proximité (qui peut varier) d'un super enhancer quelle que soit l'orientation des gènes (région jonction ou switch d'IGH)*
⇒ *Substitution de promoteur*
⇒ *Gain de copie*
- 6) Quelle place pour FISH et IHC dans le diagnostic de routine ? Importance de la détermination du partenaire IG vs non-IG