



Détection des translocations Ig en OGM dans les hémopathies lymphoïdes

Journée Bionano
Paris le 13 novembre 2024

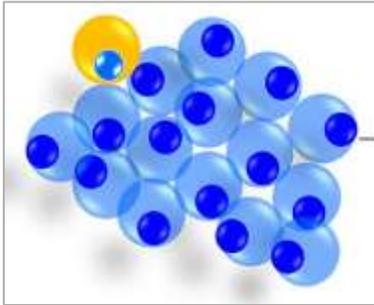


Christine Lefebvre

Agnès Daudignon

Les défis de la COG pour les pathologies lymphoïdes

- Les matrices : sg, mo, tissu frais ou congelé, cellules triées et leur degré d'infiltration

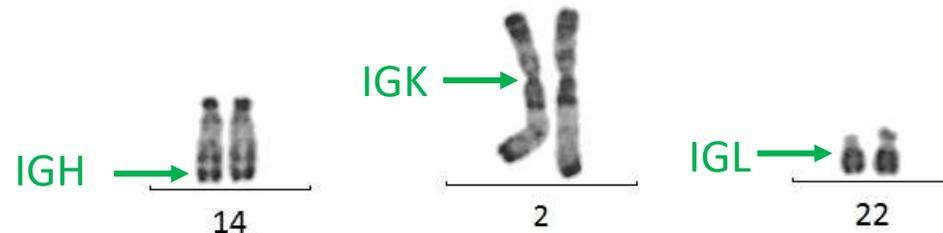


- Les translocations complexes / multiples de gènes importants pour le diagnostic et/ou le pronostic

High-grade B-cell lymphoma with *MYC* and *BCL2* rearrangements, HGBL *MYC/BCL2*

Multiple myeloma, canonical translocation t(4;14), t(14;16), t(14;20), t(11;14) et t(MYC)

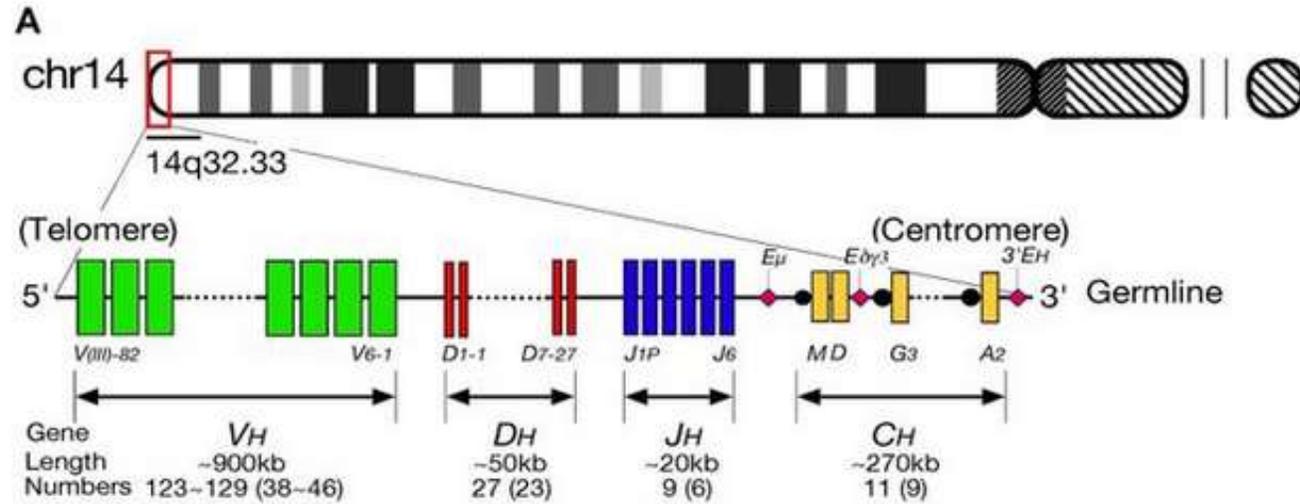
- Les translocations des gènes des IG : subtélomérique, péricentriques



- Translocations t(14q32) et recombinaisons VDJ clonotypiques
- Détection des t(14q32) déséquilibrées ou à sites de cassures 14q32 très télomériques
- Réarrangements cryptiques sur faux négatifs en FISH break-apart
- Performance des pipelines dans la détection des t(IGH)

Translocations t(14q32) et recombinaisons VDJ clonotypiques

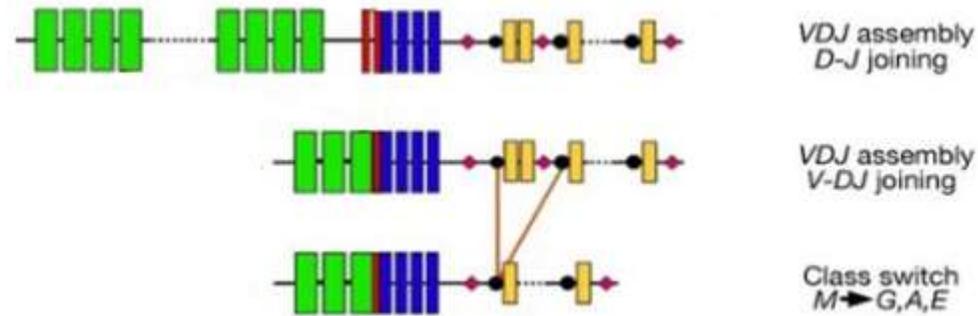
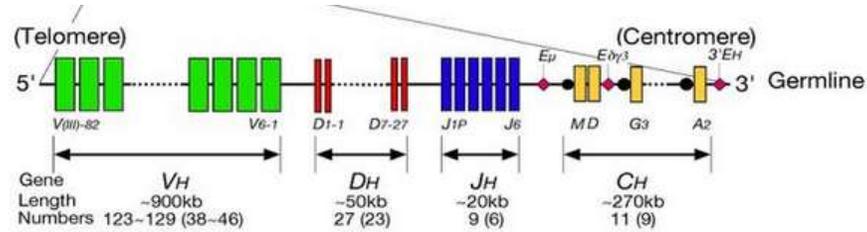
Structure du locus IGH



- Dernier segment VH (VH(III)-82) à 220 Kb du télomère 14qter
- Les trois enhancers du locus IGH sont localisés dans la région 3' du locus IGH
- Peuvent interagir avec le promoteur du locus IGH grâce à la structure tridimensionnelle de l'ADN

Translocations t(14q32) et recombinaisons VDJ clonotypiques

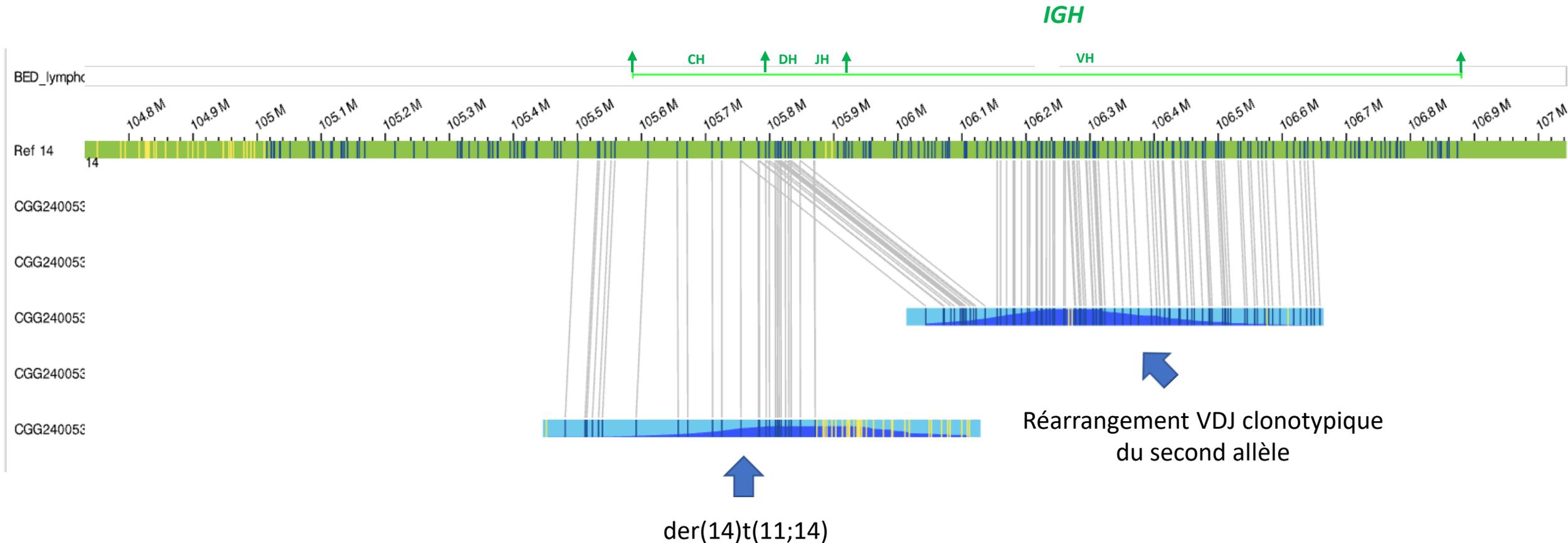
Réarrangements IGH physiologiques



- Les translocations se produisent au cours du processus physiologique de recombinaison clonotypique VDJ, ou au moment du switch de classe, selon les pathologies.

Translocations t(14q32) et recombinaisons VDJ clonotypiques

Carte optique des t(IGH) et recombinaison VDJ en RVA

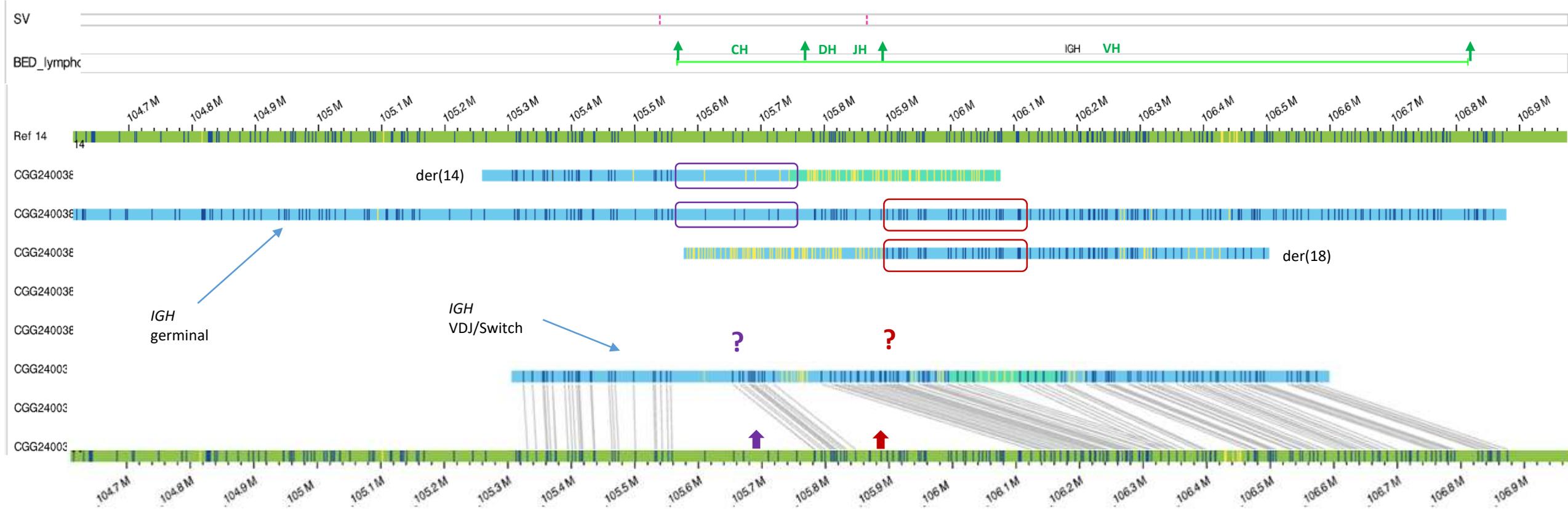


- Les translocations ont lieu sur le chromosomes 14 non impliqué dans la recombinaison « clonotypique » VDJ (*Keats JJ et al, Blood 2003, PMID:12393535*) au moins pour les cas simples qui se produisent au stade de cellules naïves.

Translocations t(14q32) et recombinaisons VDJ clonotypiques

Carte optique des t(IGH) et recombinaison VDJ en DN

Ex :t(14;18) dans un DLBCL

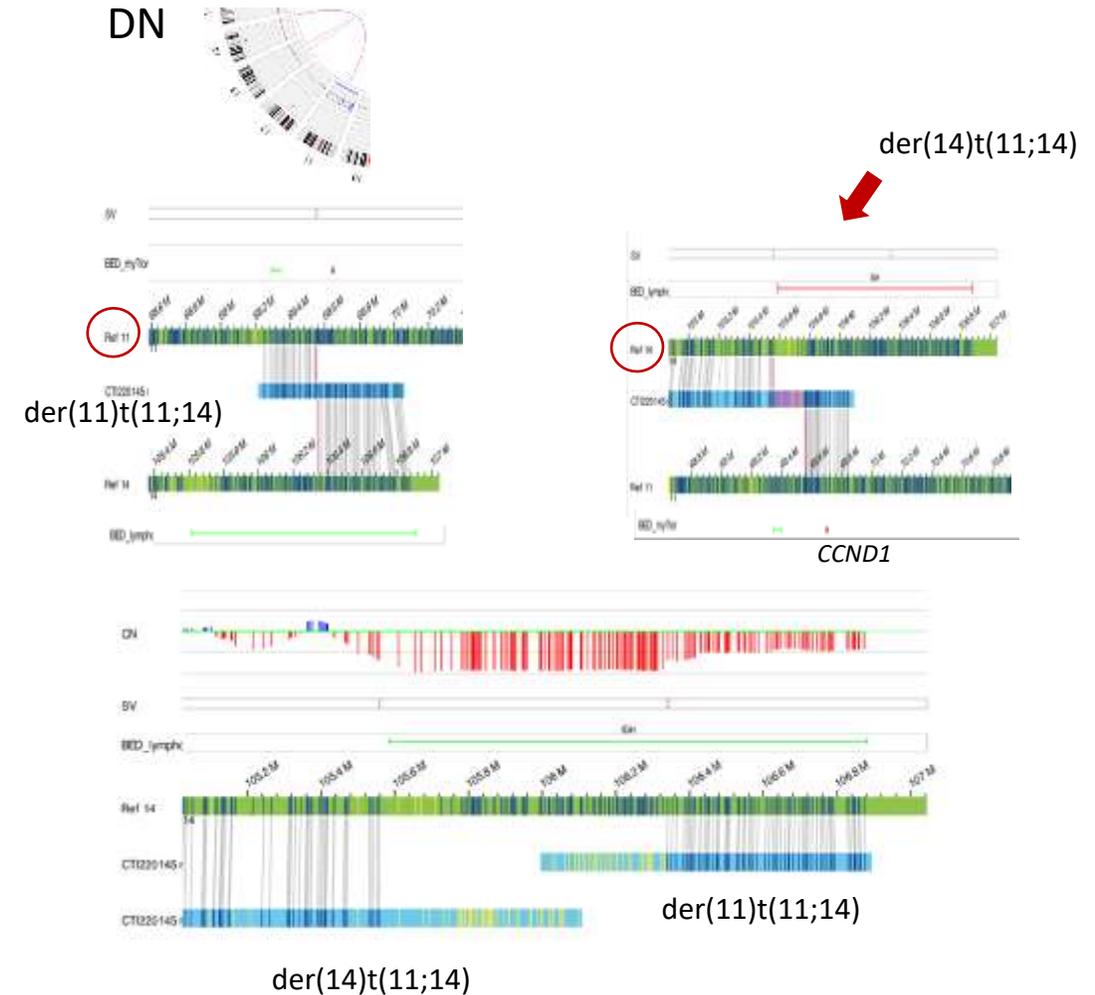
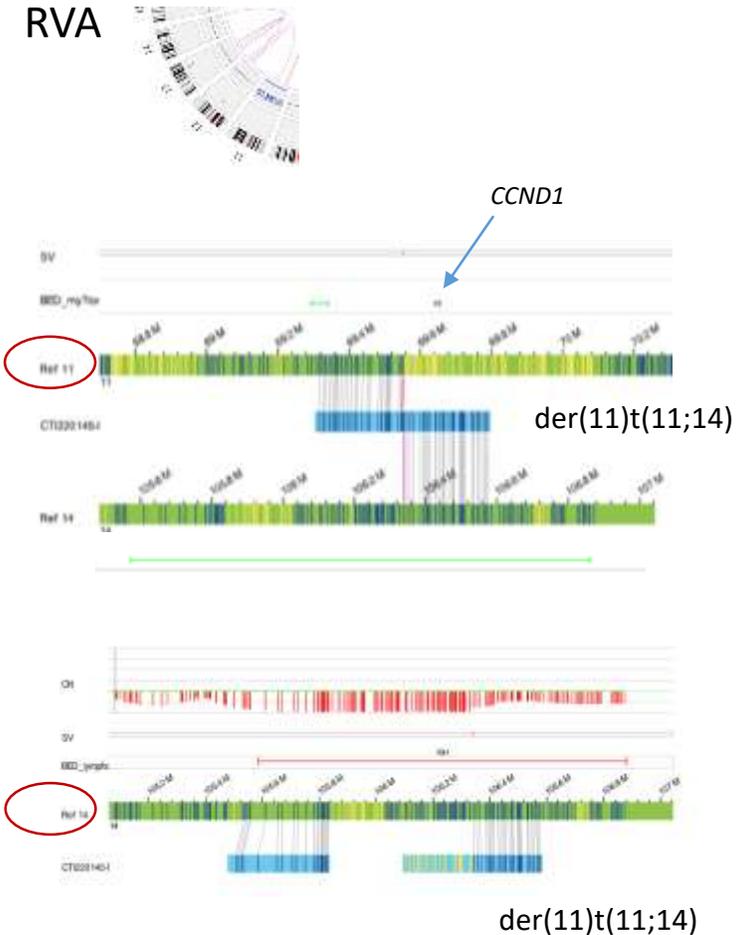


1- les translocations IGH se produisent à partir de la molécule IGH germinale

2- les points de cassures en IGH varient selon le dérivé observé : importance de donner les points de cassures à partir de la carte optique du dérivé oncogénique

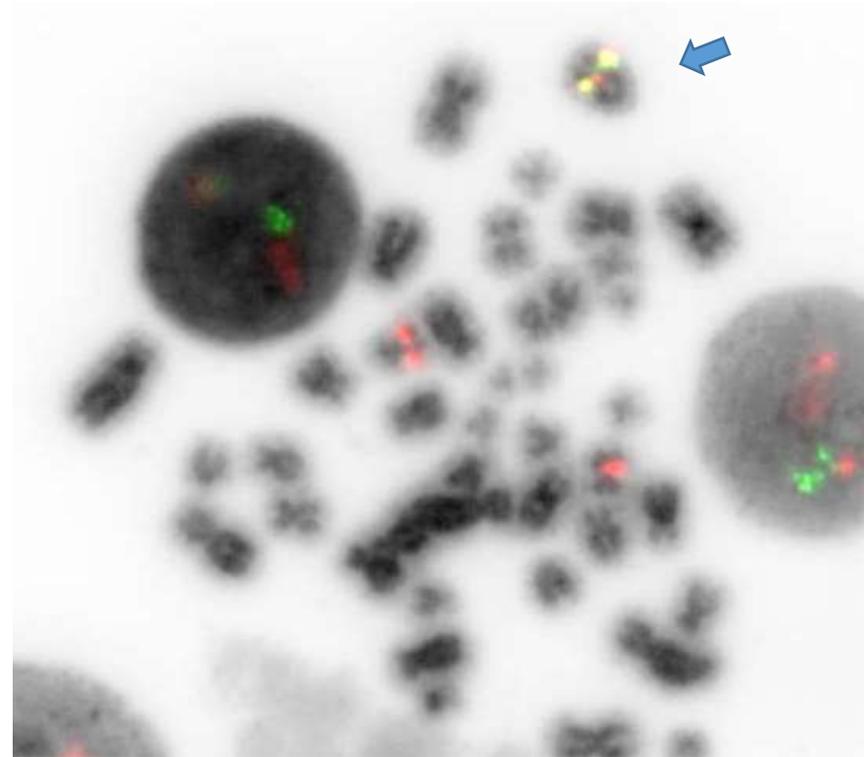
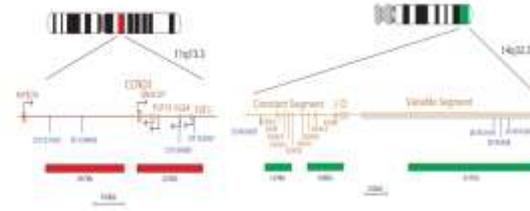
Détection des t(14q32) : cartes optiques et algorithmes

- Pour certaines t(IgH) (point de cassures se produisant plutôt en 3'IGH), l'OGM en RVA détecte la translocation via la molécule partenaire (dérivé alternatif).
- En revanche, les deux molécules der(14) et der(partenaire) sont détectables en DN.



Détection des t(14q32) déséquilibrées

Myélome multiple :

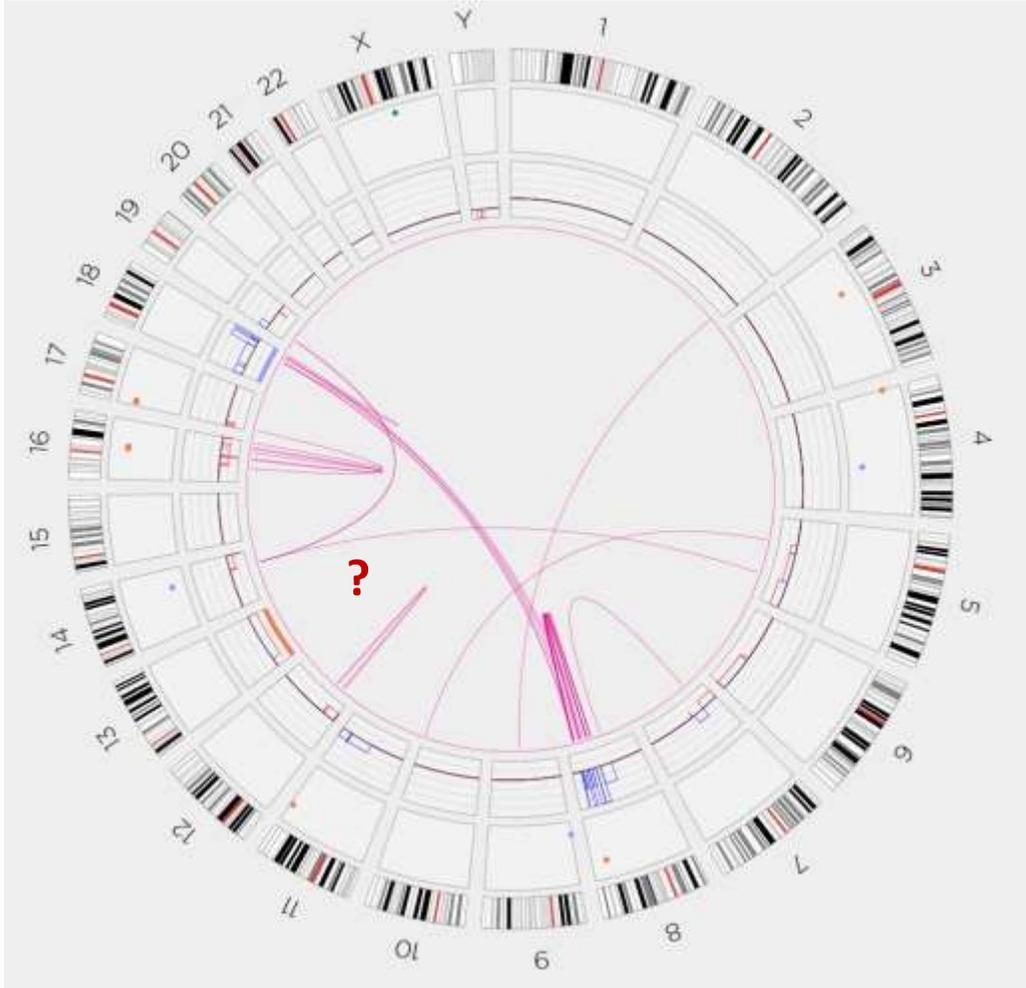


t(11;14)(q13;q32) déséquilibrée dans CK

nuc ish(CCND1x3,IGHx1)(CCND1 con IGHx1)[66/100]

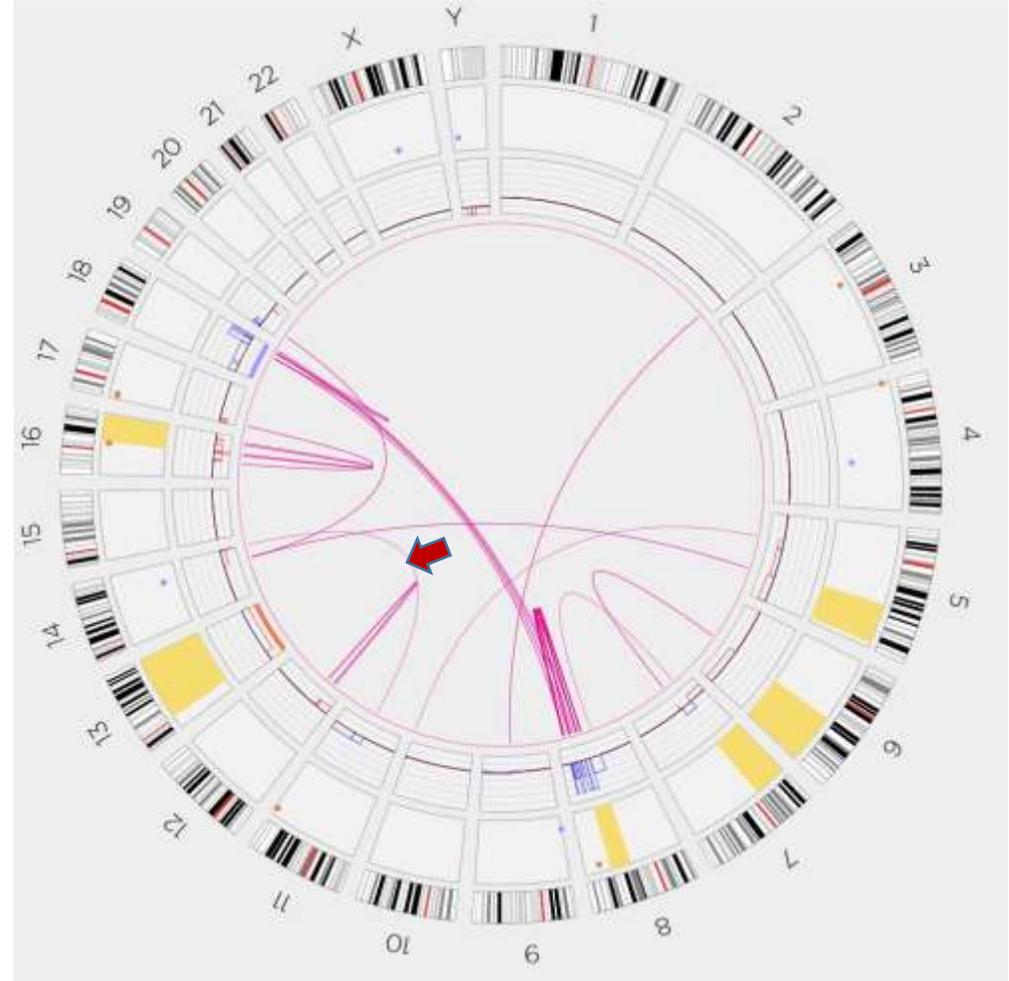
Détection des t(14q32) déséquilibrées

Rare Variant analysis hg38
324x



t(11;14) non détectée en RVA

De Novo analysis hg38
187x

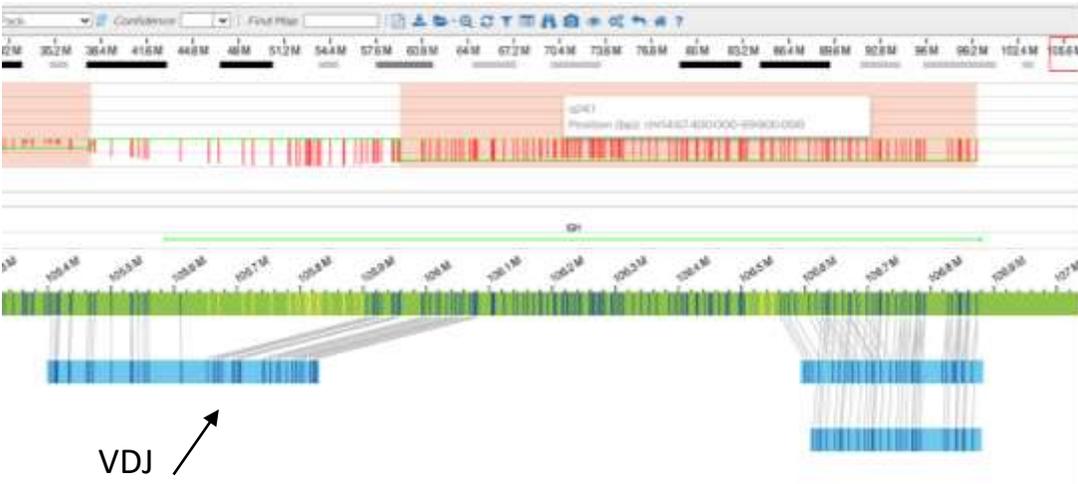


t(11;14) vue en deNovo
VAF 0.33

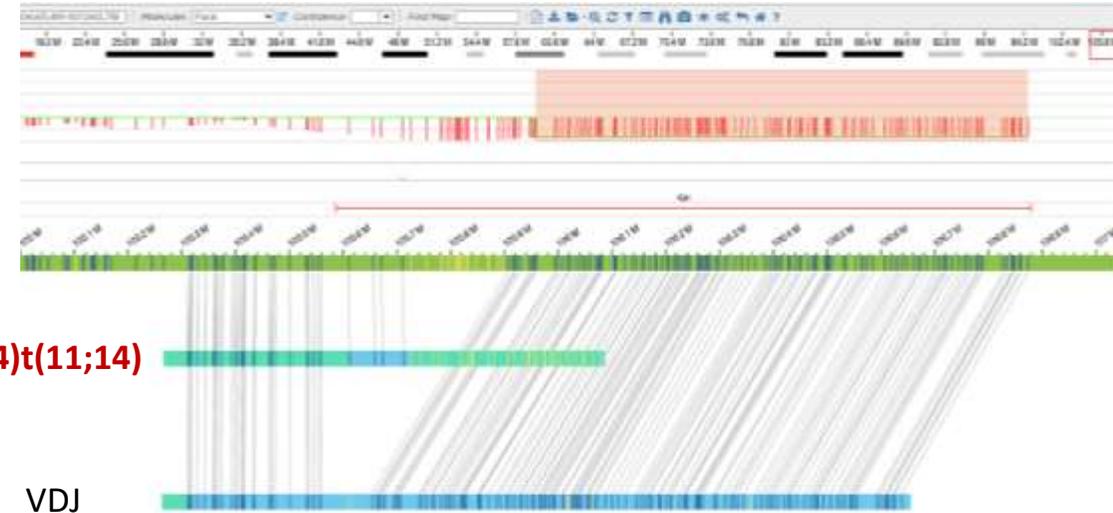
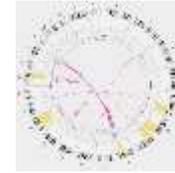
Pourquoi?

Détection des t(14q32) déséquilibrées

RVA

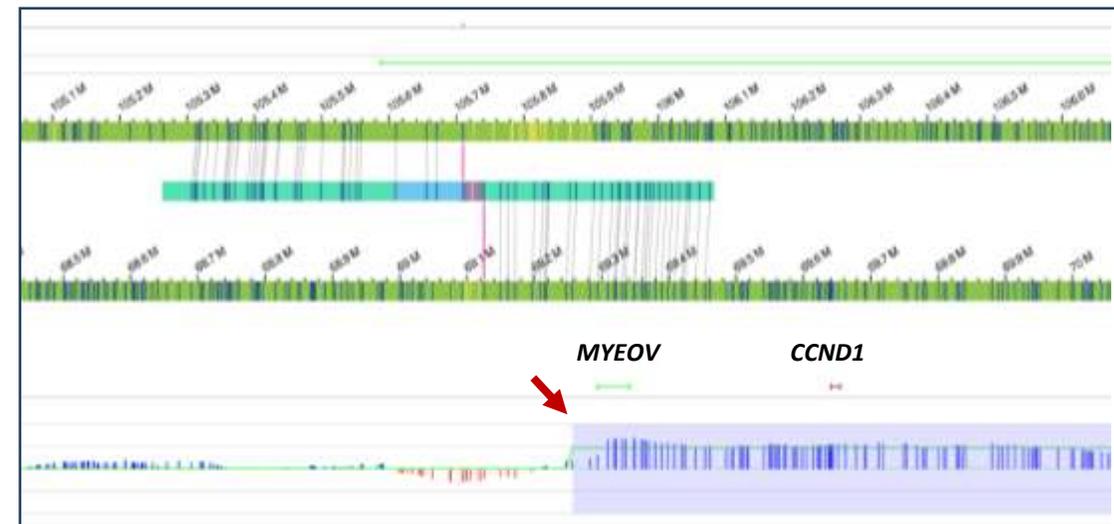


DN



der(14)t(11;14)

VDJ

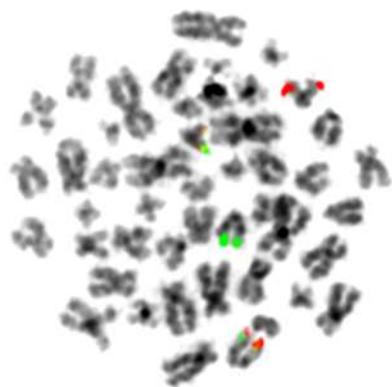
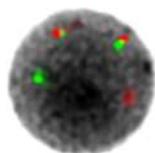


- En cas de translocation déséquilibrée, avec perte du chromosome partenaire, celle-ci peut donc être non détectée en RVA
 - être attentifs aux gains ou pertes démarrants sur des sites d'intérêt

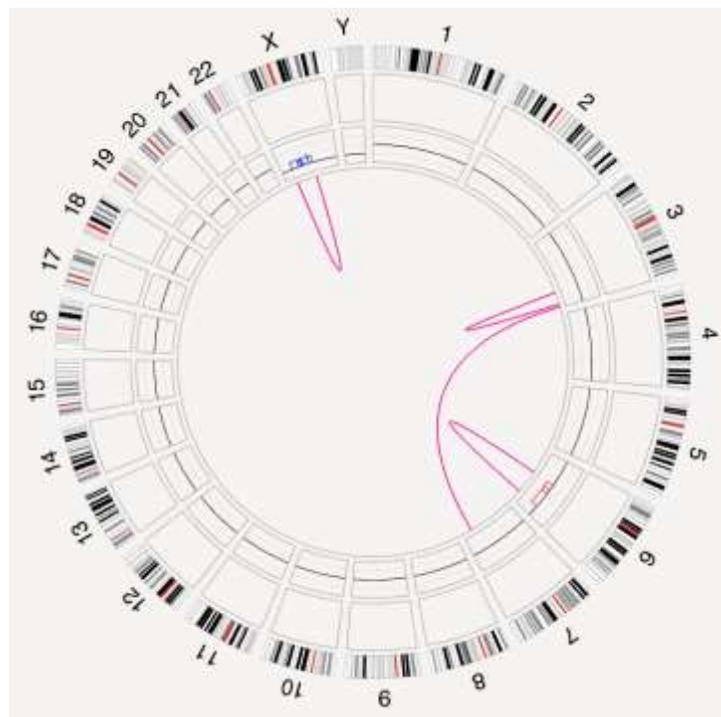
Détection des t(14q32) à sites de cassures 14q32 très télomériques

- #5938 Lymphome Folliculaire avec t(14;18)/IGH::*BCL2* (clone 75%)

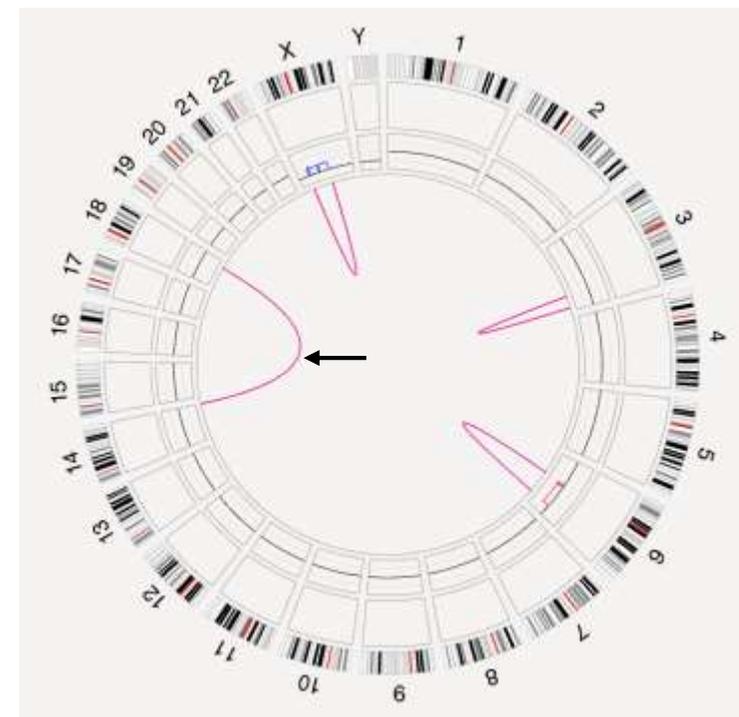
FISH IGH/BCL2



RVA

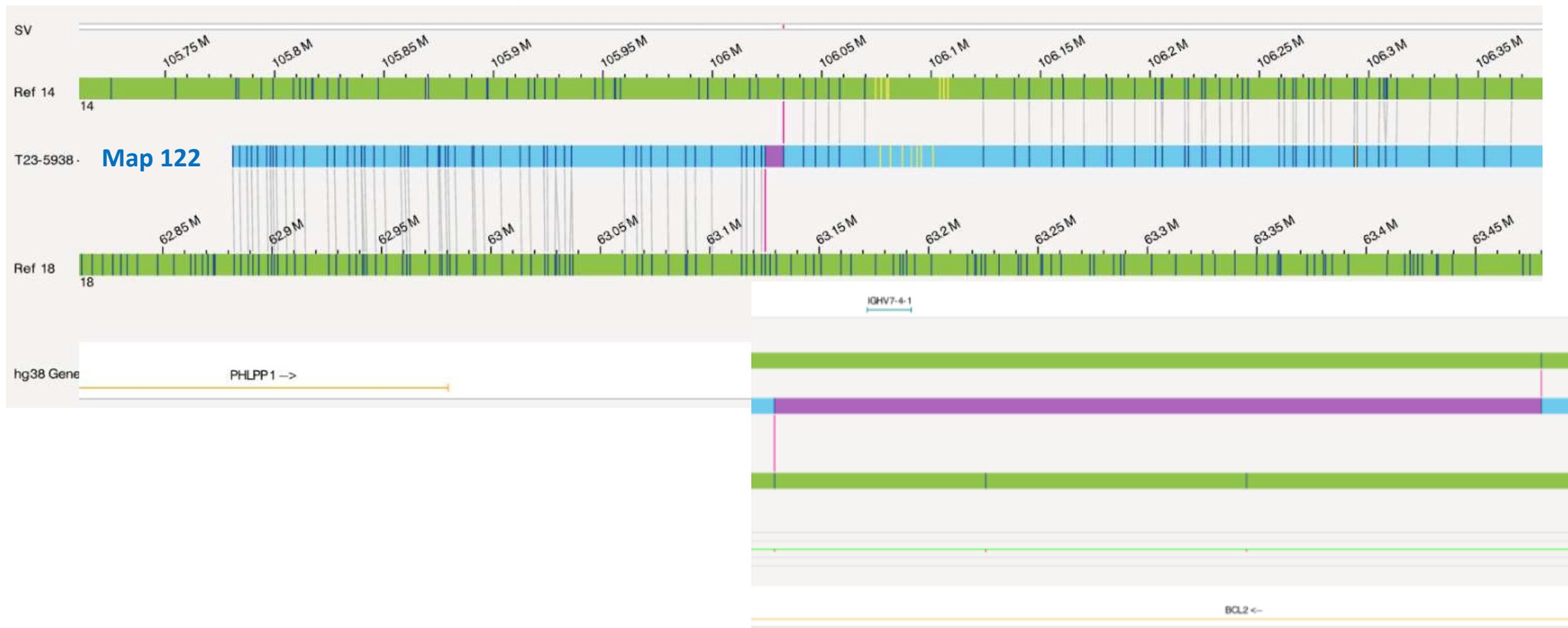


De Novo Assembly / Guided Assembly



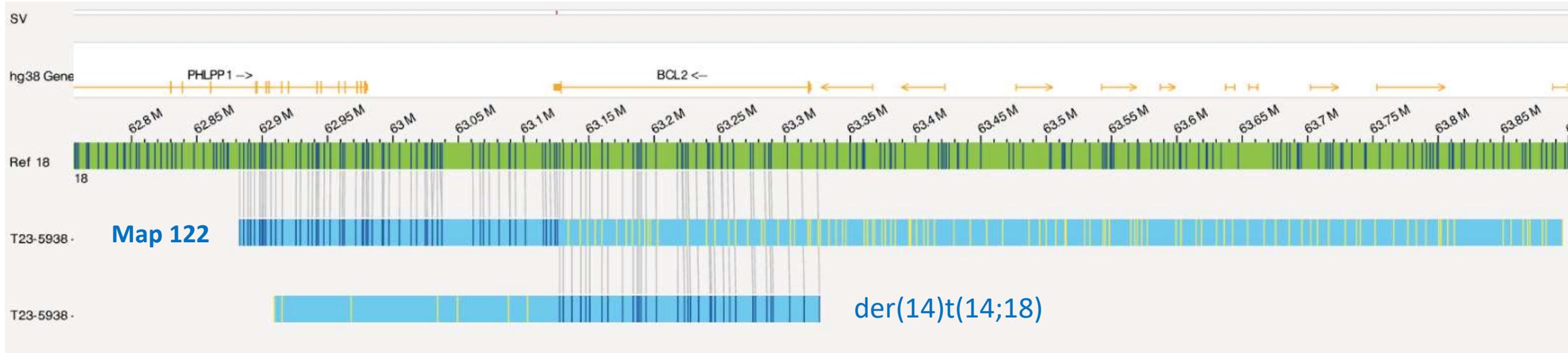
Détection des t(14q32) à sites de cassures 14q32 très télomériques

- Guided Assembly et De Novo Assembly
 - Point de cassure 14q32.33 : dans la région variable de IGH
Position 106032520 = gène *IGHV7-4-1*



Détection des t(14q32) à sites de cassures 14q32 très télomériques

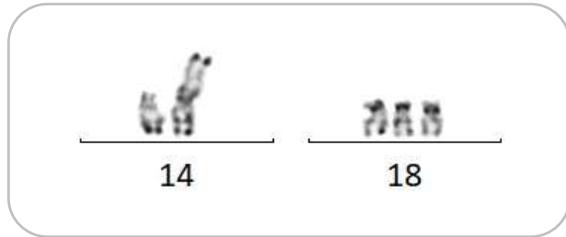
- Guided Assembly et De Novo Assembly
 - Le SV caller détecte uniquement le der(18)t(14;18) ([Map 122](#))
 - Inspection visuelle de la région 18q21.33 : 2^e carte = der(14)t(14;18)



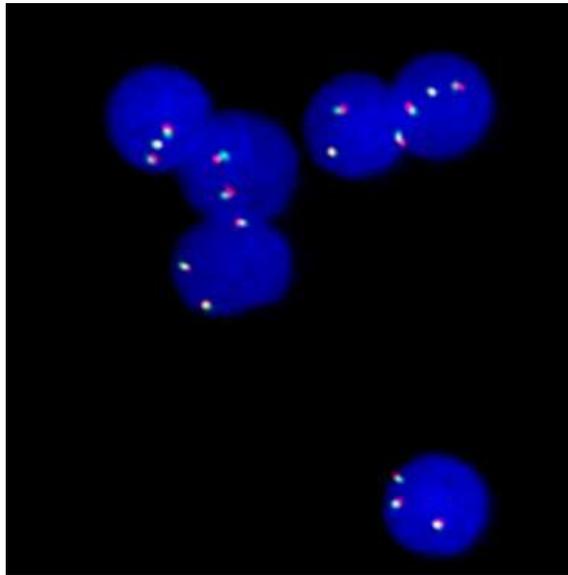
NB : 17 autres t(14;18)/IGH::*BCL2* toutes bien détectées par les 3 pipelines : cassure 14q32 en IGHJ ou IGHD

Réarrangements cryptiques sur faux négatifs en FISH break-apart

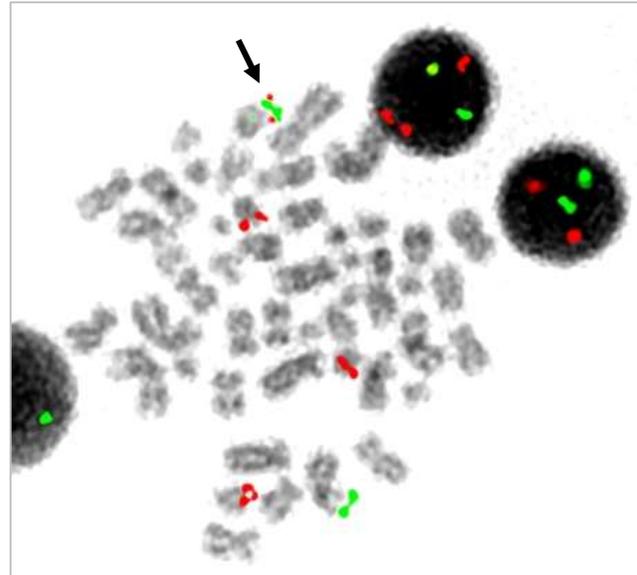
- #6820 Lymphome folliculaire



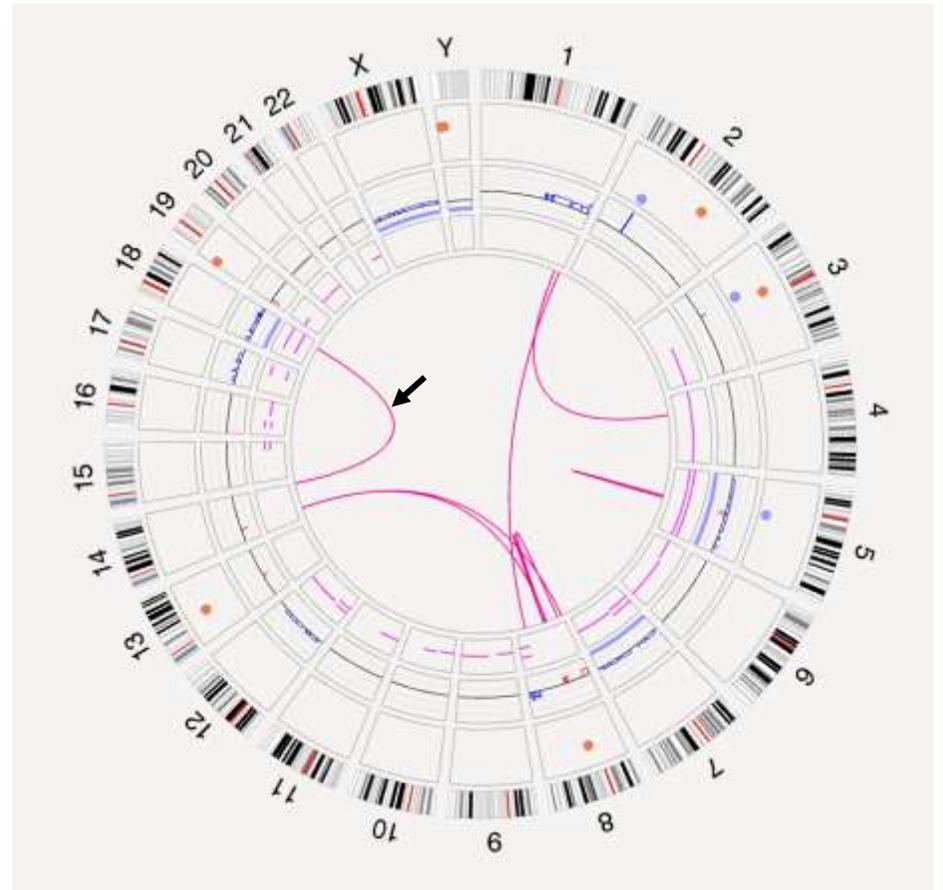
FISH BCL2 breakapart



FISH IGH/BCL2



Rare Variant Analysis

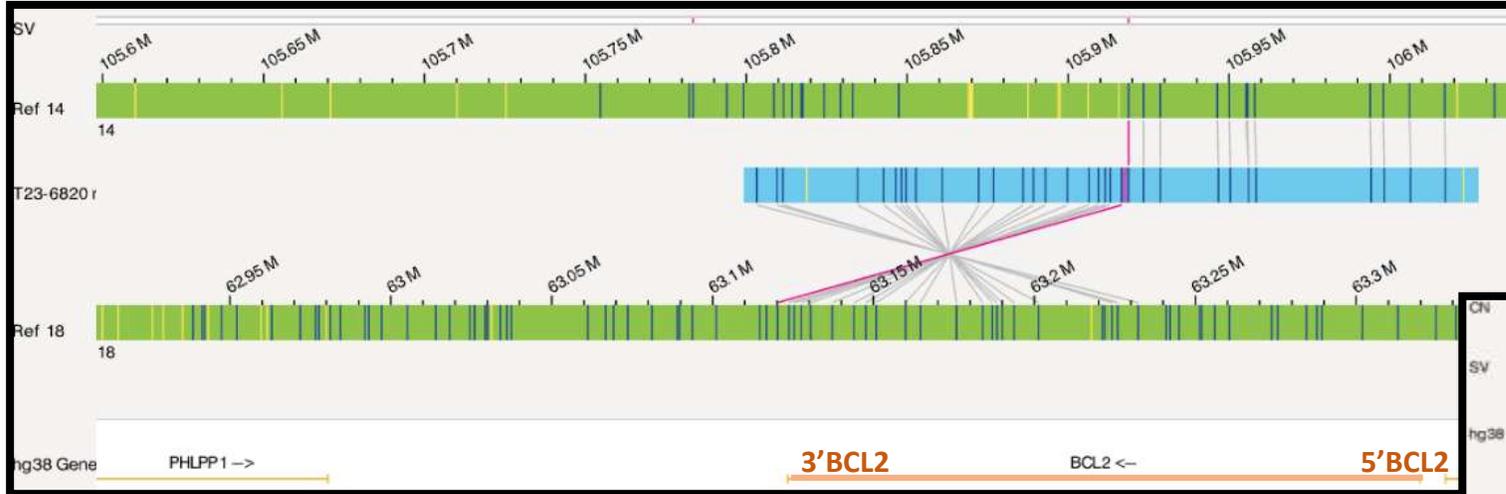


Insertion cryptique de *BCL2* dans le locus IGH en FISH

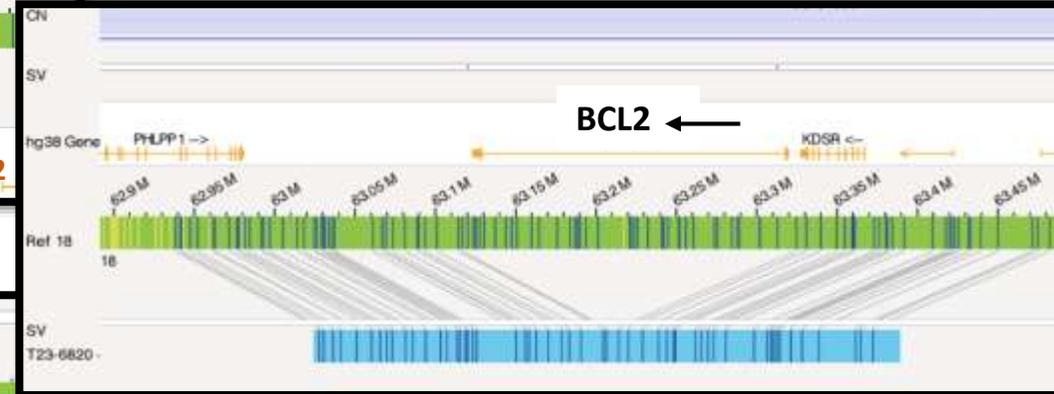
Réarrangements cryptiques sur faux négatifs en FISH break-apart

Insertion cryptique de *BCL2* dans le locus IGH en FISH

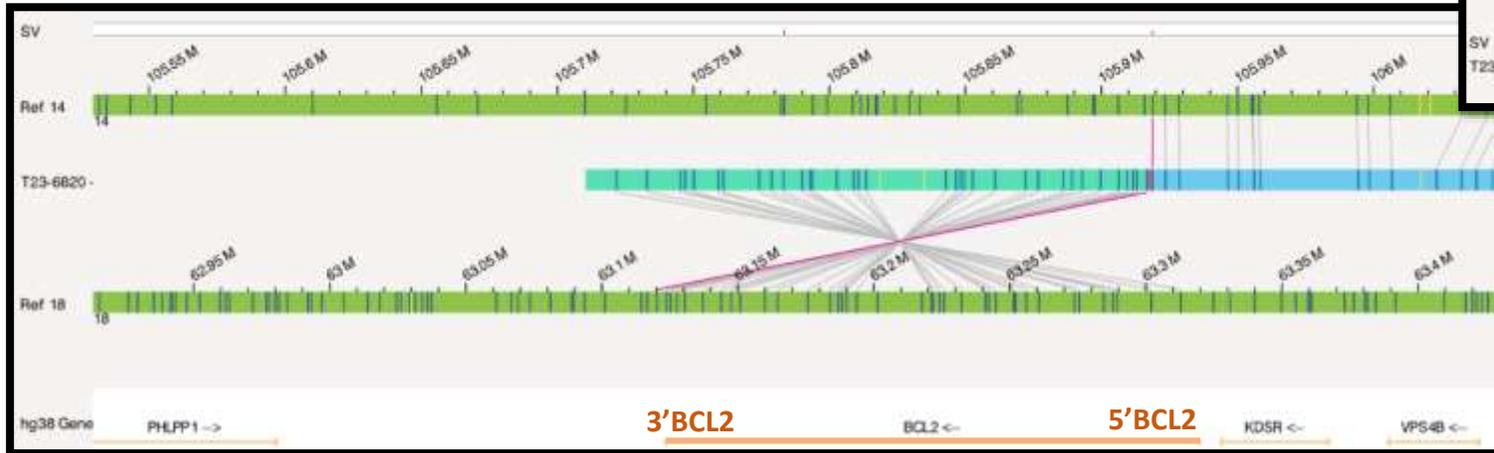
Rare Variant Analysis



Les 2 pipelines retrouvent une carte optique suggérant une « déletion » de *BCL2*



De Novo Assembly (300x)

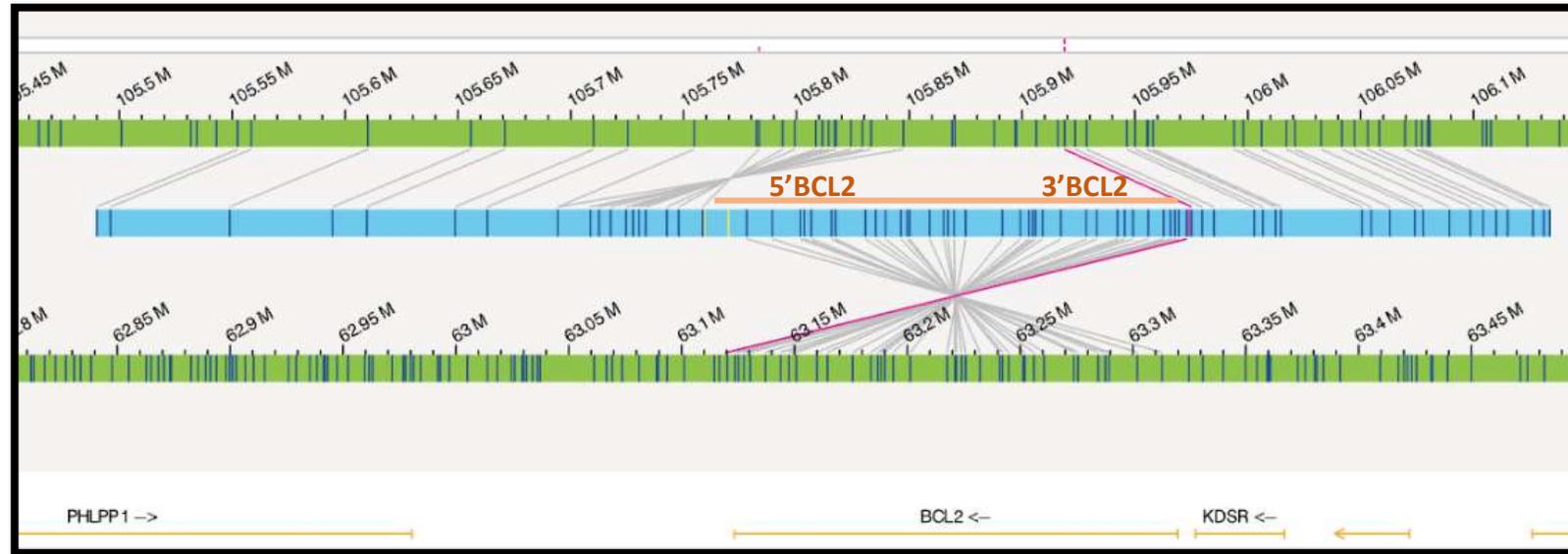


RVA et De Novo : le mécanisme d'insertion n'est pas très intuitif

Réarrangements cryptiques sur faux négatifs en FISH break-apart

Insertion cryptique de *BCL2* dans le locus IGH en FISH

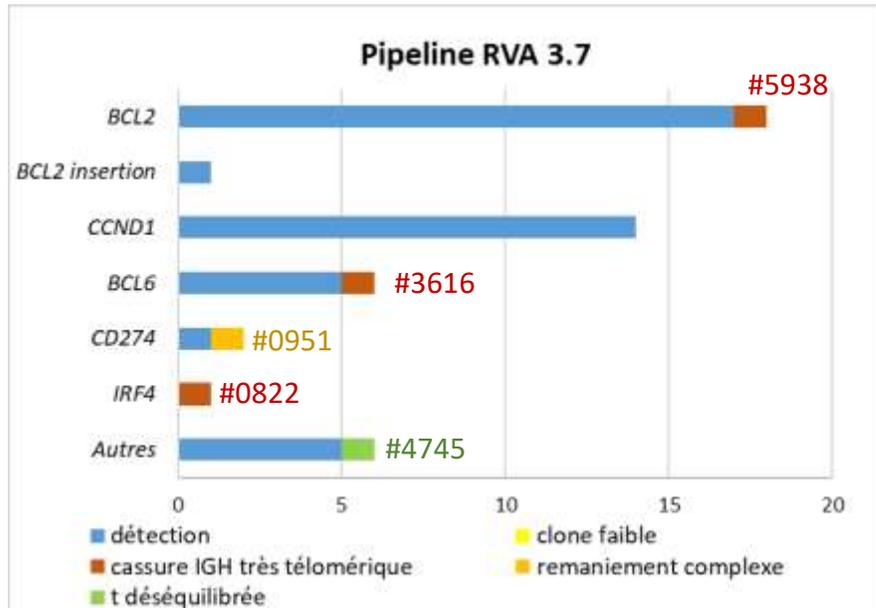
Guided Assembly



- Mécanisme d'insertion visible d'emblée
- Inversions associées bien individualisées
- Taille du segment inséré précisé
- **Facilité et rapidité d'interprétation de ce remaniement complexe**

Performance des pipelines dans la détection des t(IGH)

Réarrangements IGH/14q32.33 : bilan du pipeline RVA



#5938 : FL t(14;18)/IGH::*BCL2*, clone 75%

Pas de carte optique évocatrice ni en 14q32.33, ni en 18q21

#3616 : FL t(3;14)/IGH::*BCL6* **déséquilibrée**, clone 20%

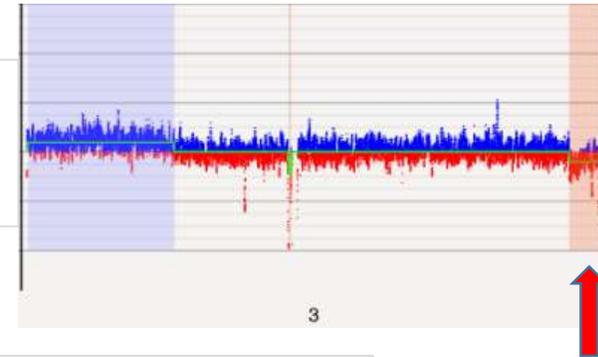
der(3)(3'BCL6+,5'BCL6-,IGH+),14q32(IGH+,5'BCL6-)

Pas de carte optique évocatrice ni en 3q27, ni en 14q32.33

#0951 : HGBL *MYC-r* t(9;14)/IGH::*CD274* secondaire à la t(8;14)/IGH::*MYC*,

sur le même der(14) : **réarrangement complexe**, sous-clone 35%

Pas de carte optique évocatrice ni en 9p24, ni en 14q32.33



#0822 : LBCL *IRF4-r* par t(6;14)/IGH::*IRF4*, clone 60%

IRF4 situé à 0,5 Mb du télomère 6pter

Pas de carte optique évocatrice ni en 6p15, ni en 14q32.33

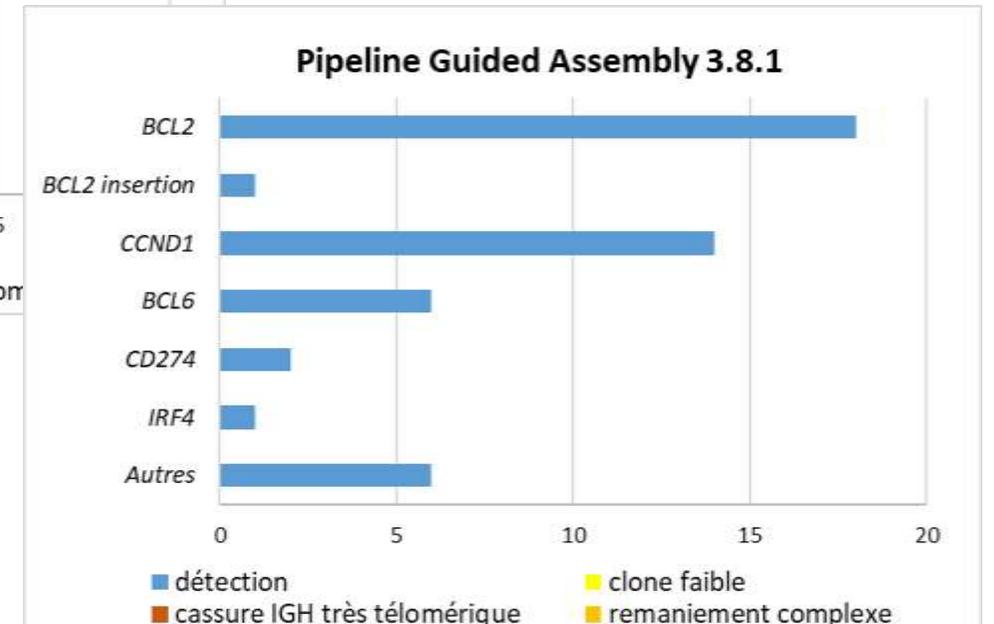
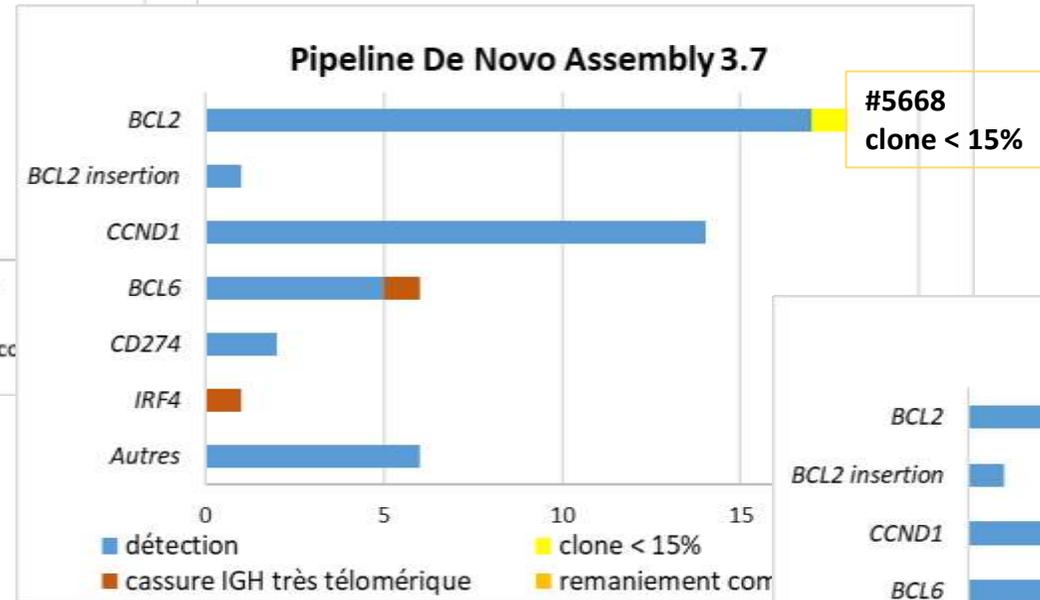
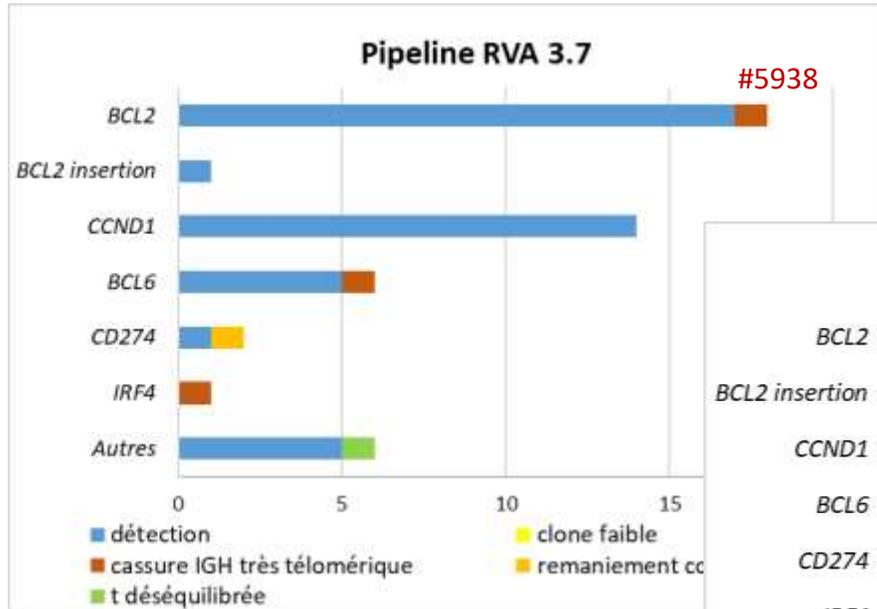
#4745 : LLC avec t(5;14) **déséquilibrée et délétion 5'IGH**

der(14)t(5;14)(q12;q32)(3'IGH+,5'IGH-), Clone 75%

Pas de carte optique évocatrice ni en 5q12, ni en 14q32.33

Performance des pipelines dans la détection des t(IGH)

Performance des 3 pipelines



Le pipeline Guided Assembly a permis d'identifier toutes les translocations IGH

Particularités des translocations IGH dans les hémopathies lymphoïdes matures :

Identification parfois incomplète : point de cassure en IGH C, J, D, V (plus facile en IGHV)

Non détection de réarrangement *IGH* avec point de cassure très télomérique (VH)

Difficultés de détection de certaines translocations IGH déséquilibrées en RVA

Importance des pipelines : RVA vs DN/Guided assembly

REMERCIEMENTS

Toute l'équipe de Cytogénétique de Lille



Toute l'équipe de Cytogénétique de Grenoble



Au groupe 3 du FrOGG



Toute l'équipe de Bionano

