

Interprétation des variants somatiques en contexte d'hémopathie maligne

Séminaire Bioinfodiag – 13-15/05/2024

Pauline Bateau

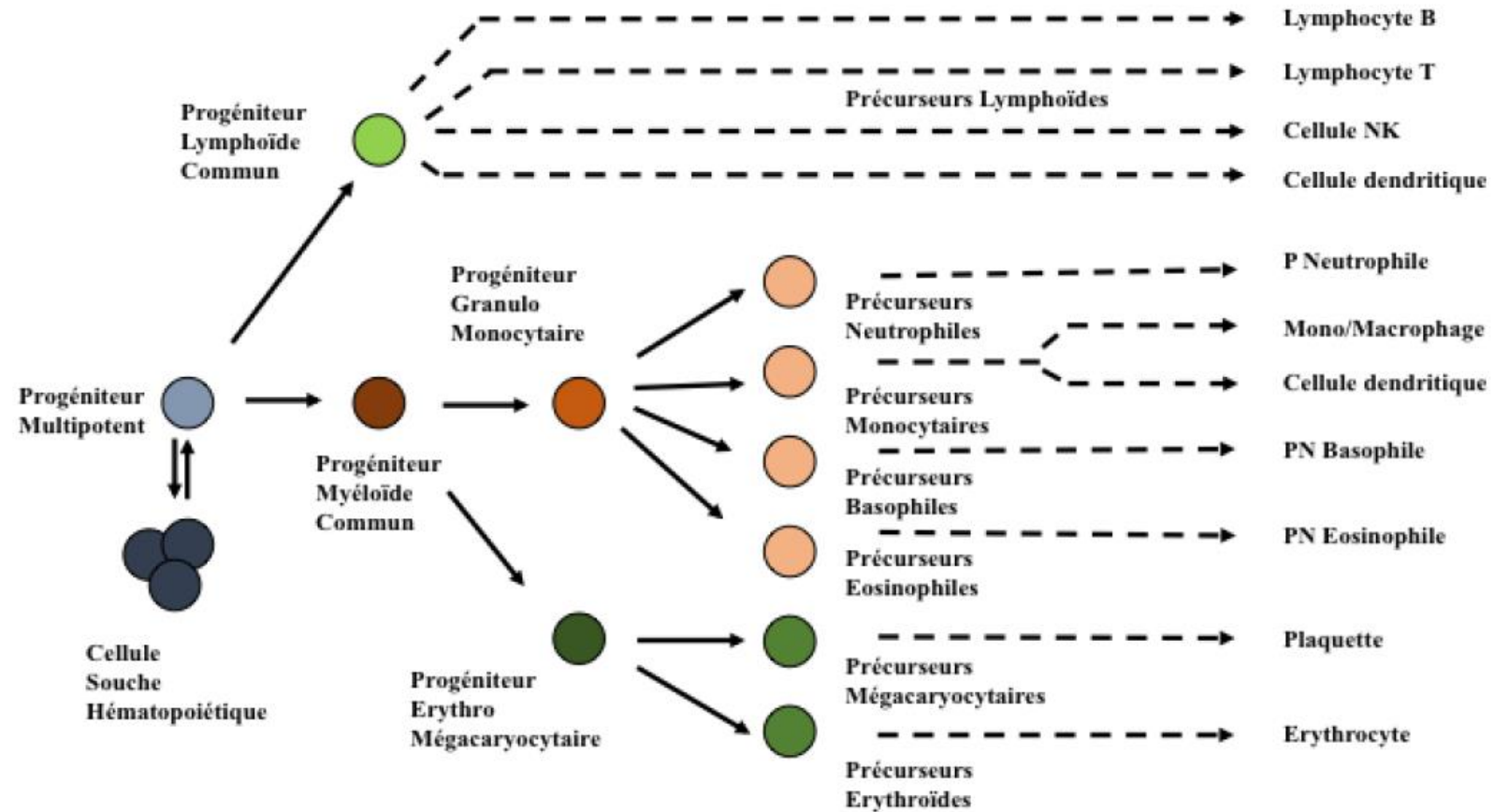
Service de Génétique Chromosomique

Hôpital Arnaud de Villeneuve

CHU Montpellier



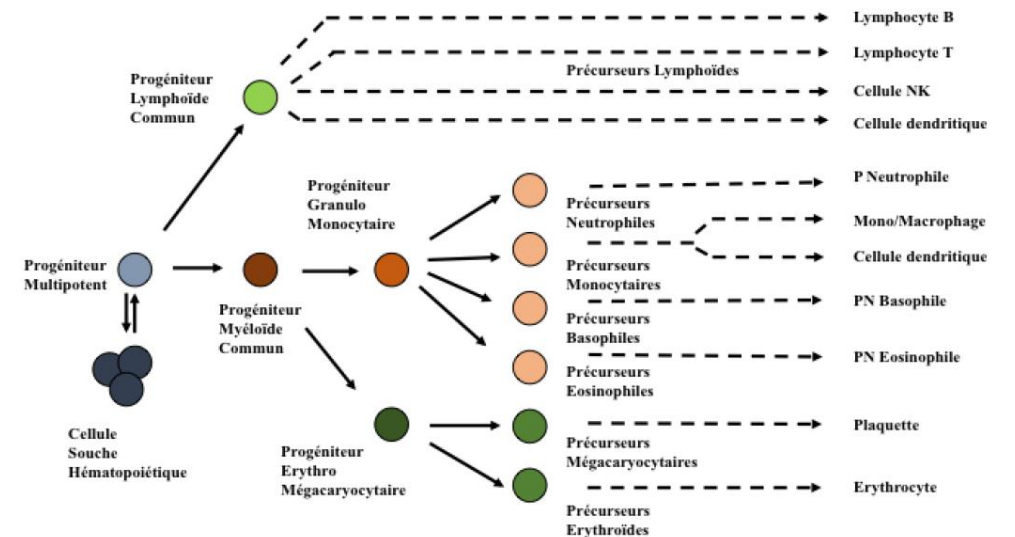
Hématopoïèse normale



Hémopathies malignes

	Hémopathies aiguës	Hémopathies chroniques
Myéloïde	LAM	Syndromes: <ul style="list-style-type: none"> • myéloprolifératifs • myélodysplasiques • frontières
Lymphoïde	LAL Lymphomes agressifs	Leucémie lymphoïde chronique Lymphomes indolents

↓
 PEC urgente

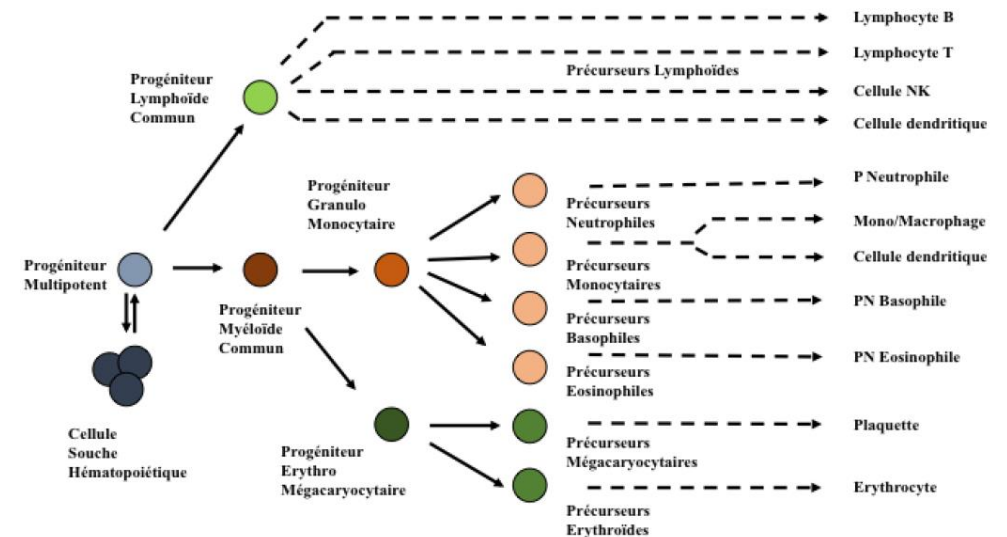


Hémopathies malignes

	Hémopathies aiguës	Hémopathies chroniques
Myéloïde	LAM	Syndromes: <ul style="list-style-type: none"> • myéloprolifératifs • myélodysplasiques • frontières
Lymphoïde	LAL Lymphomes agressifs	Leucémie lymphoïde chronique Lymphomes indolents

⚠ PEC urgente

Anomalies des lignées hématopoïétiques sans population cellulaire anormale identifiable



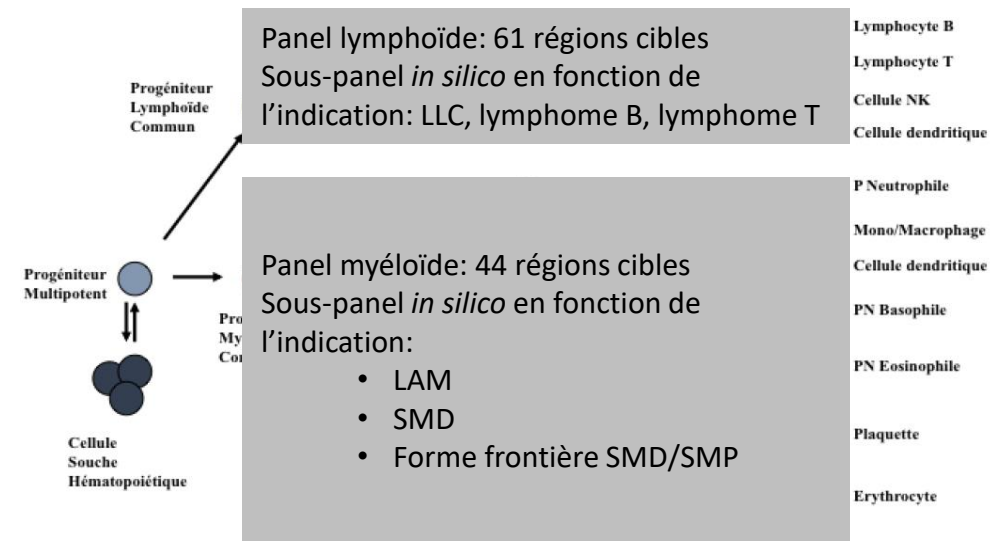
Population cellulaire anormale identifiable en cytologie et immunophénotypage

Hémopathies malignes

	Hémopathies aiguës	Hémopathies chroniques
Myéloïde	LAM	Syndromes: <ul style="list-style-type: none"> • myéloprolifératifs • myélodysplasiques • frontières
Lymphoïde	LAL Lymphomes agressifs	Leucémie lymphoïde chronique Lymphomes indolents

⚠ PEC urgente

Anomalies des lignées hématopoïétiques sans population cellulaire anormale identifiable



Population cellulaire anormale identifiable en cytologie et immunophénotypage

Classification diagnostique

The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms

Joseph D. Khoury¹, Eric Solary², Oussama Ablal³, Yasmine Akkari⁴, Rita Alaggio⁵, Emilio Berti⁶, Lambert Busque⁷, John K. C. Chan¹⁰, Weina Chen¹¹, Xueyan Chen¹², Weidong Chen¹³, Isabel Colmenero¹⁵, Sarah E. Coupland¹⁶, Nicholas C. P. Cross¹⁷, Daphne De Jong¹⁸, M. Jean-Francois Emile²¹, Judith Ferry²², Linda Fogelstrand²³, Michaela Fontenay²⁴, Ulrich G. Janssen²⁵, Torsten Haferlach²⁷, Claire Harrison²⁸, Jennelle C. Hodge²⁹, Shimin Hu¹, Joop H. Jansen³⁰, Hagop M. Kantarjian³¹, Christian P. Kratz³², Xiao-Qiu Li³³, Megan S. Lim³⁴, Keith Loeb³⁵, Soheil Meshinchi³⁶, Phillip Michaels³⁷, Kikkeri N. Naresh³⁵, Yasodha Natkunam³⁸, Reza Nazari³⁹, Keyur P. Patel¹, Nikhil Patkar⁴², Jennifer Picarsic⁴³, Uwe Platzbecker⁴⁴, Irene Roberts⁴⁵, Reiner Siebert⁴⁸, Prashant Tembhare⁴², Jeffrey Tyner⁴⁹, Srdan Verstovsek³¹, Wei Wang⁵⁰, Cecilia Yeung³⁵ and Andreas Hochhaus⁵²

International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data

Daniel A. Arber,¹ Attilio Orazi,² Robert P. Hasserjian,³ Michael J. Borowitz,⁴ Katherine R. Calvo,⁵ Hans-Michael Kvasnicka,⁶ Sa A. Wang,⁷ Adam Bagg,⁸ Tiziano Barbui,⁹ Susan Branford,¹⁰ Carlos E. Bueso-Ramos,⁷ Jorge E. Cortes,¹¹ Paola Dal Cin,¹² Courtney D. DiNardo,⁷ Hervé Dombret,¹³ Eric J. Duncavage,¹⁴ Benjamin L. Ebert,¹⁵ Elihu H. Estey,¹⁶ Fabio Facchetti,¹⁷ Kathryn Foucar,¹⁸ Naseema Gangat,¹⁹ Umberto Gianelli,²⁰ Lucy A. Godley,¹ Nicola Gökbüget,²¹ Jason Gotlib,²² Eva Hellström-Lindberg,²³ Gabriela S. Hobbs,³ Ronald Hoffman,²⁴ Elias J. Jabbour,⁷ Jean-Jacques Kiladjian,¹³ Richard A. Larson,¹ Michelle M. Le Beau,¹ Mignon L.-C. Loh,²⁵ Bob Löwenberg,²⁶ Elizabeth Macintyre,²⁷ Luca Malcovati,²⁸ Charles G. Mullighan,²⁹ Charlotte Niemeyer,³⁰ Olatoyosi M. Odenike,¹ Seishi Ogawa,³¹ Alberto Orfao,³² Elli Papaemmanuil,³³ Francesco Passamonti,²⁸ Kimmo Porkka,³⁴ Ching-Hon Pui,²⁹ Jerald P. Radich,³⁵ Andreas Reiter,³⁶ Maria Rozman,³⁷ Martina Rudelius,³⁸ Michael R. Savona,³⁹ Charles A. Schiffer,⁴⁰ Annette Schmitt-Graeff,⁴¹ Akiko Shimamura,^{15,42} Jorge Sierra,⁴³ Wendy A. Stock,¹ Richard M. Stone,¹⁵ Martin S. Tallman,⁴⁴ Jürgen Thiele,⁴⁵ Hwei-Fang Tien,⁴⁶ Alexandar Tzankov,⁴⁷ Alessandro M. Vannucchi,⁴⁸ Paresh Vyas,⁴⁹ Andrew H. Wei,⁵⁰ Olga K. Weinberg,⁵¹ Agnieszka Wierzbowska,⁵² Mario Cazzola,²⁸ Hartmut Döhner,⁵³ and Ayalew Tefferi¹⁹

Classification diagnostique

The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms

International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data

LAM définies par anomalies génétiques

- Gène de fusion:
 - LAM avec *RUNX1::RUNX1T1*
 - LAM avec *CBFB::MYH11*
 - LA promyélocytaire avec *PML::RARA*
 - LAM avec *DEK::NUP214*
 - LAM avec *RBM15::MRTFA*
 - LAM avec *BCR::ABL*
- Réarrangement:
 - *KMT2A*
 - *MECOM*
 - *NUP98*
- Mutations:
 - *NPM1*
 - *CEBPA*
- Autres anomalies génétiques
- Liées à une myélodysplasie

Suppression du seuil diagnostique de 20% de blastes, sauf pour *BCR::ABL* et *CEBPA*

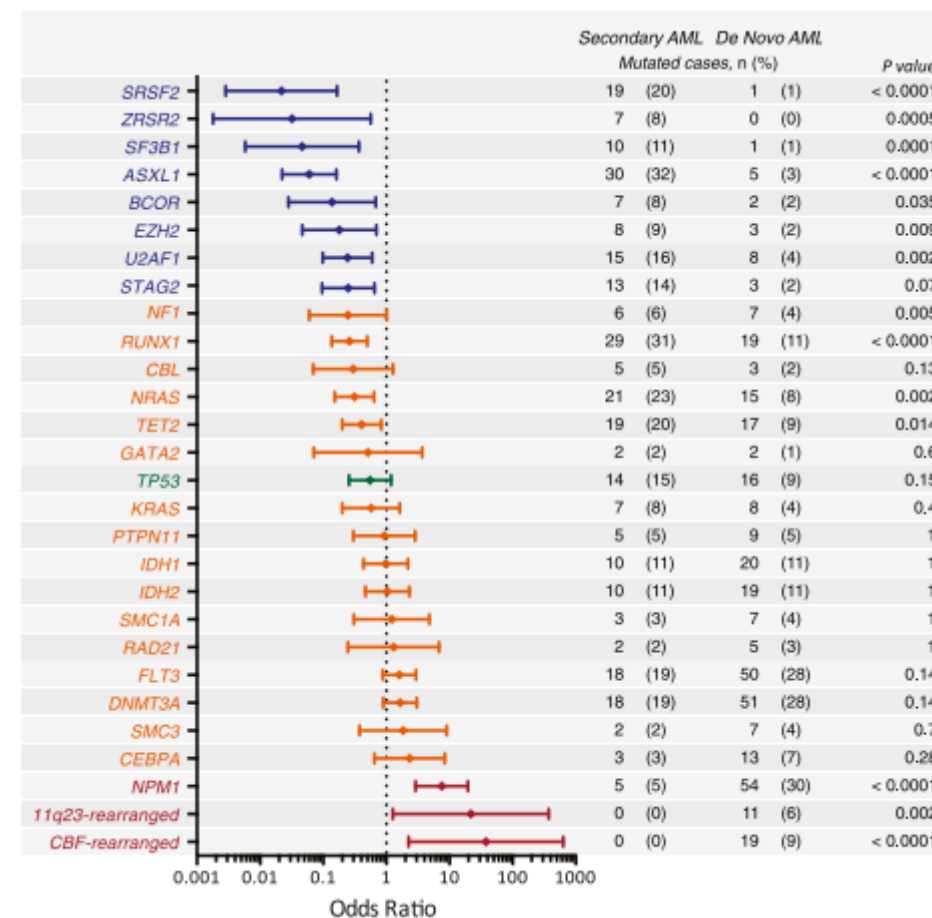
Arber,¹ Attilio Orazi,² Robert P. Hasserjian,³ Michael J. Borowitz,⁴ Katherine R. Calvo,⁵ Hans-Michael Kvasnicka,⁶ J. Adam Bagg,⁸ Tiziano Barbui,⁹ Susan Branford,¹⁰ Carlos E. Bueso-Ramos,⁷ Jorge E. Cortes,¹¹ Paola Dal Cin,¹² D. DiNardo,⁷ Hervé Dombret,¹³ Eric J. Duncavage,¹⁴ Benjamin L. Ebert,¹⁵ Elihu H. Estey,¹⁶ Fabio Facchetti,¹⁷ J. J. G. Bucoar,¹⁸ Naseema Gangat,¹⁹ Umberto Gianelli,²⁰ Lucy A. Godley,¹ Nicola Gökbüget,²¹ Jason Gotlib,²² Göran Lindberg,²³ Gabriela S. Hobbs,³ Ronald Hoffman,²⁴ Elias J. Jabbour,⁷ Jean-Jacques Kiladjian,¹³ Richard A. Larson,¹ M. Le Beau,¹ Mignon L.-C. Loh,²⁵ Bob Löwenberg,²⁶ Elizabeth Macintyre,²⁷ Luca Malcovati,²⁸ Charles G. Mullighan,²⁹ Niemeyer,³⁰ Olatoyosi M. Odenike,¹ Seishi Ogawa,³¹ Alberto Orfao,³² Elli Papaemmanuil,³³ Francesco Passamonti,²⁸ J. J. G. Bucoar,³⁴ Ching-Hon Pui,²⁹ Jerald P. Radich,³⁵ Andreas Reiter,³⁶ Maria Rozman,³⁷ Martina Rudelius,³⁸ Michael R. Savona,³⁹ Schiffer,⁴⁰ Annette Schmitt-Graeff,⁴¹ Akiko Shimamura,^{15,42} Jorge Sierra,⁴³ Wendy A. Stock,¹ Richard M. Stone,¹⁵ Tallman,⁴⁴ Jürgen Thiele,⁴⁵ Hwei-Fang Tien,⁴⁶ Alexandar Tzankov,⁴⁷ Alessandro M. Vannucchi,⁴⁸ Paresh Vyas,⁴⁹ Wei,⁵⁰ Olga K. Weinberg,⁵¹ Agnieszka Wierzbowska,⁵² Mario Cazzola,²⁸ Hartmut Döhner,⁵³ and Ayalew Tefferi¹⁹

LAM liées à une myélodysplasie

- Anomalies moléculaires:
 - Spectre mutationnel différent entre LAM de novo et secondaire à SMD
 - Spécificité >95% pour LAM liée à SMD pour certains gènes:
 - *ASXL1*
 - *BCOR*
 - *EZH2*
 - *STAG2*
 - *SF3B1*
 - *SRSF2*
 - *U2AF1*
 - *ZRSR2*

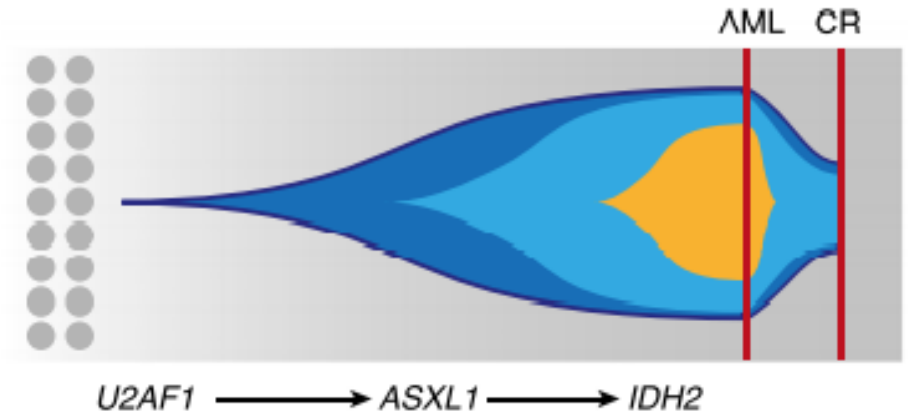
Remodelage de la chromatine

Régulation de l'épissage



LAM liées à une myélodysplasie

- Anomalies moléculaires:
 - Spectre mutationnel différent entre LAM de novo et secondaire à SMD
 - Spécificité >95% pour LAM liée à SMD pour certains gènes:
 - *ASXL1*
 - *BCOR*
 - *EZH2*
 - *STAG2*
 - *SF3B1*
 - *SRSF2*
 - *U2AF1*
 - *ZRSR2*
- Remodelage de la chromatine
- Régulation de l'épissage

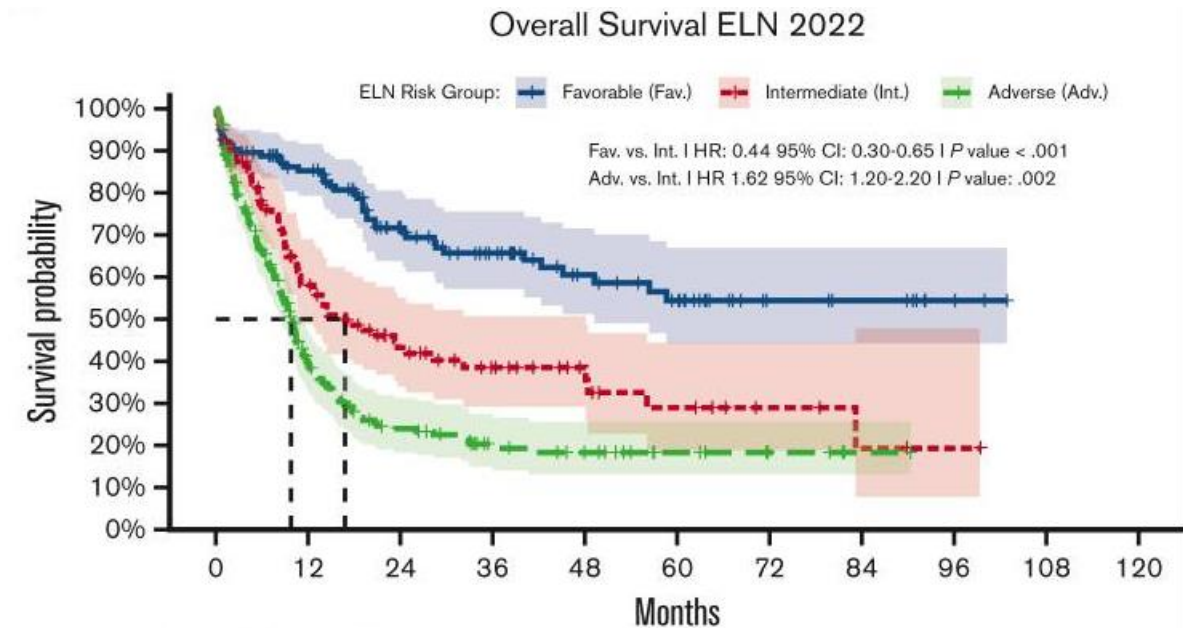


Persistance des mutations lors de la rémission: « fond myélodysplasique »

Impact pronostique dans les LAM...

2022 ELN risk classification by genetics at initial diagnosis*

Risk category†	Genetic abnormality
Favorable	<ul style="list-style-type: none"> t(8;21)(q22;q22.1)/<i>RUNX1::RUNX1T1</i>†,‡ inv(16)(p13.1;q22) or t(16;16)(p13.1;q22)/ <i>CBFB::MYH11</i>†,‡ Mutated <i>NPM1</i>†,§ without <i>FLT3</i>-ITD bZIP in-frame mutated <i>CEBPA</i>
Intermediate	<ul style="list-style-type: none"> Mutated <i>NPM1</i>†,§ with <i>FLT3</i>-ITD Wild-type <i>NPM1</i> with <i>FLT3</i>-ITD (without adverse-risk genetic lesions) t(9;11)(p21.3;q23.3)/<i>MLL3::KMT2A</i>†,¶ Cytogenetic and/or molecular abnormalities not classified as favorable or adverse
Adverse	<ul style="list-style-type: none"> t(6;9)(p23.3;q34.1)/<i>DEK::NUP214</i> t(v;11q23.3)/<i>KMT2A</i>-rearranged# t(9;22)(q34.1;q11.2)/<i>BCR::ABL1</i> t(8;16)(p11.2;p13.3)/<i>KAT6A::CREBBP</i> inv(3)(q21.3;q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2)/ <i>GATA2</i>, <i>MECOM(EV11)</i> t(3q26.2;v)/<i>MECOM(EV11)</i>-rearranged -5 or del(5q); -7; -17/abn(17p) Complex karyotype,** monosomal karyotype†† Mutated <i>ASXL1</i>, <i>BCOR</i>, <i>EZH2</i>, <i>RUNX1</i>, <i>SF3B1</i>, <i>SRSF2</i>, <i>STAG2</i>, <i>U2AF1</i>, and/or <i>ZRSR2</i>‡‡ Mutated <i>TP53</i>ª

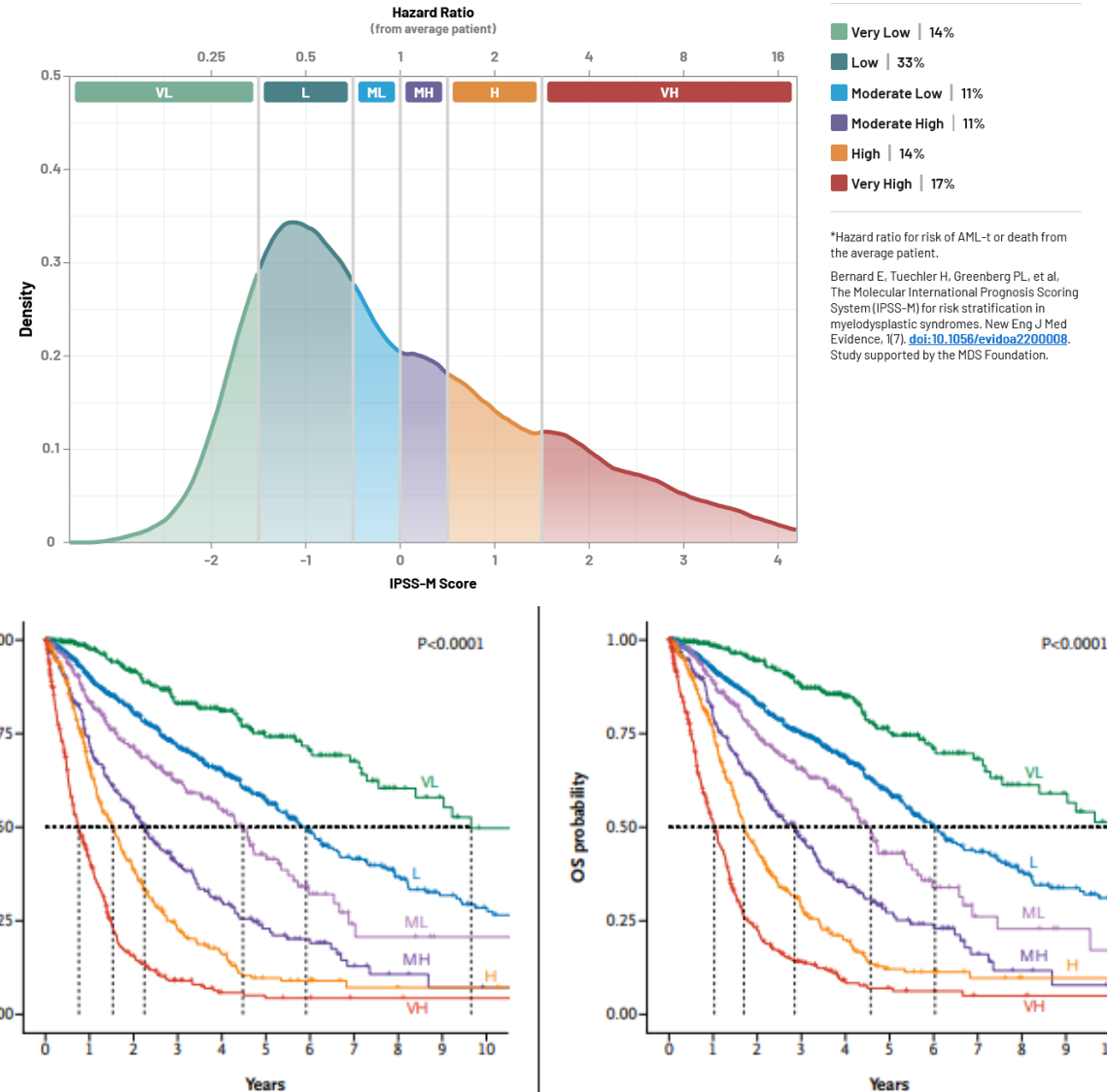


Lachowicz *et al*, Blood Adv 2023
 PMID 36441905

...et dans les SMD

Table 1. IPSS-M Risk Score Construction from an Adjusted Cox Multivariable Regression for Leukemia-Free Survival.*

Category and Variable	Adjusted Hazard Ratio (95% CI)†	Model Weight‡
Clinical		
Bone marrow blasts — %	1.07 (1.05–1.09)	0.0704
min(Platelets,250) — $\times 10^9/l$	0.998 (0.997–0.999)	-0.00222
Hemoglobin — g/dl	0.84 (0.81–0.88)	-0.171
Cytogenetic		
IPSS-R cytogenetic category§	1.33 (1.21–1.47)	0.287
Gene main effects (17 variables, 16 genes)¶		
<i>TP53</i> ^{mut/ht}	3.27 (2.38–4.48)	1.18
<i>MLL</i> ^{PTD}	2.22 (1.49–3.32)	0.798
<i>FLT3</i> ^{ITD+TKD}	2.22 (1.11–4.45)	0.798
<i>SF3B1</i> ^Q	1.66 (1.03–2.66)	0.504
<i>NPM1</i>	1.54 (0.78–3.02)	0.430
<i>RUNX1</i>	1.53 (1.23–1.89)	0.423
<i>NRAS</i>	1.52 (1.05–2.20)	0.417
<i>ETV6</i>	1.48 (0.98–2.23)	0.391
<i>IDH2</i>	1.46 (1.05–2.02)	0.379
<i>CBL</i>	1.34 (0.99–1.82)	0.295
<i>EZH2</i>	1.31 (0.98–1.75)	0.270
<i>UZAF1</i>	1.28 (1.01–1.61)	0.247
<i>SRSF2</i>	1.27 (1.03–1.56)	0.239
<i>DNMT3A</i>	1.25 (1.02–1.53)	0.221
<i>ASXL1</i>	1.24 (1.02–1.51)	0.213
<i>KRAS</i>	1.22 (0.84–1.77)	0.202
<i>SF3B1</i> ^R	0.92 (0.74–1.16)	-0.0794
Gene residuals (1 variable, 15 genes; possible values of 0, 1, or 2) 		
min(Nres,2)	1.26 (1.12–1.42)	0.231



Critères d'interprétation

ACMG Standards and Guidelines

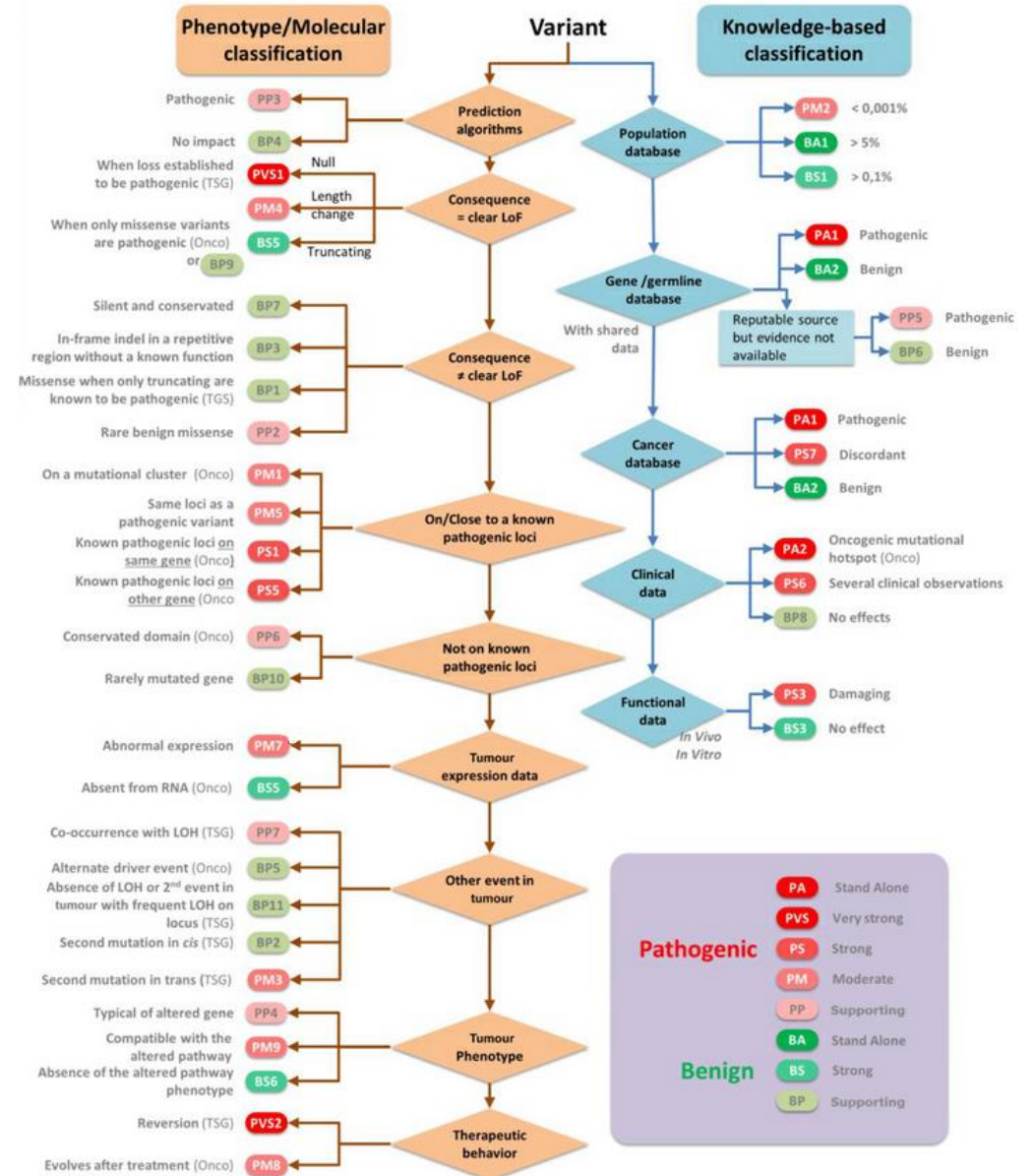
Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology

Sue Richards PhD¹, Nazneen Aziz PhD^{2,16}, Sherri Bale PhD³, David Bick MD⁴, Soma Das PhD⁵, Julie Gastier-Foster PhD^{6,7,8}, Wayne W. Grody MD, PhD^{9,10,11}, Madhuri Hegde PhD¹², Elaine Lyon PhD¹³, Elaine Spector PhD¹⁴, Karl Voelkerding MD¹³, Heidi L. Rehm PhD¹⁵, on behalf of the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee

Original Research

Standardisation of pathogenicity classification for somatic alterations in solid tumours and haematologic malignancies

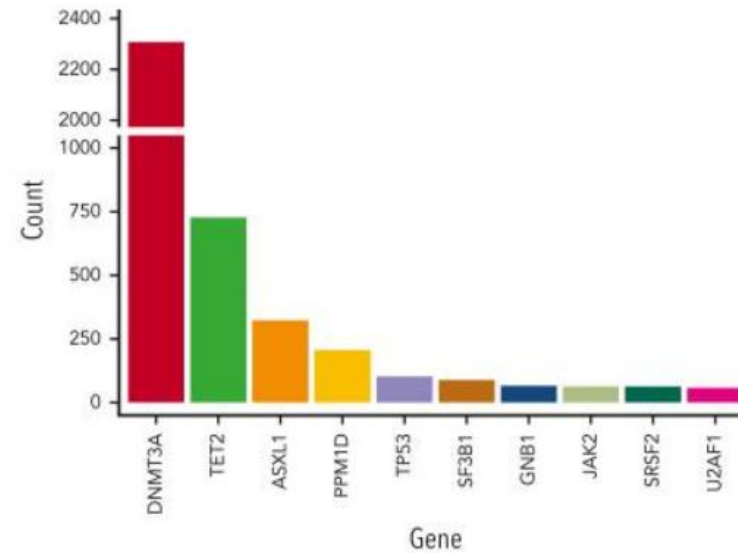
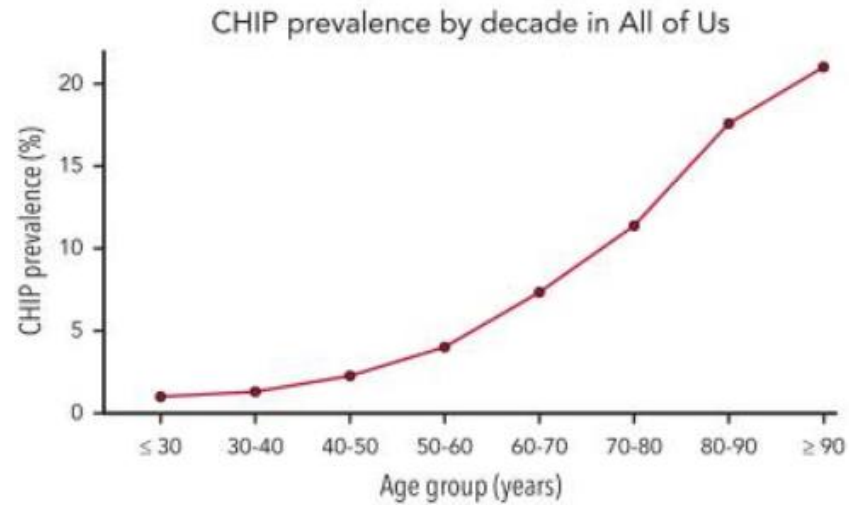
Florence Koeppel^a, Etienne Muller^{b,c}, Alexandre Harlé^d, Céline Guien^e, Pierre Sujobert^{f,g}, Olfa Trabelsi Grati^h, Olivier Kosmiderⁱ, Laurent Miguet^j, Laurent Mauvieux^j, Anne Cayre^k, David Salgado^e, Claude Preudhomme^l, Lucie Karayan-Tapon^m, Gaëlle Tachon^m, Florence Couletⁿ, Alexandra Lespagnol^o, Christophe Beroud^{e,p}, Karen Leroy^{q,1}, Etienne Rouleau^{r,1}, Isabelle Soubeyran^{s,1}



Bases de données

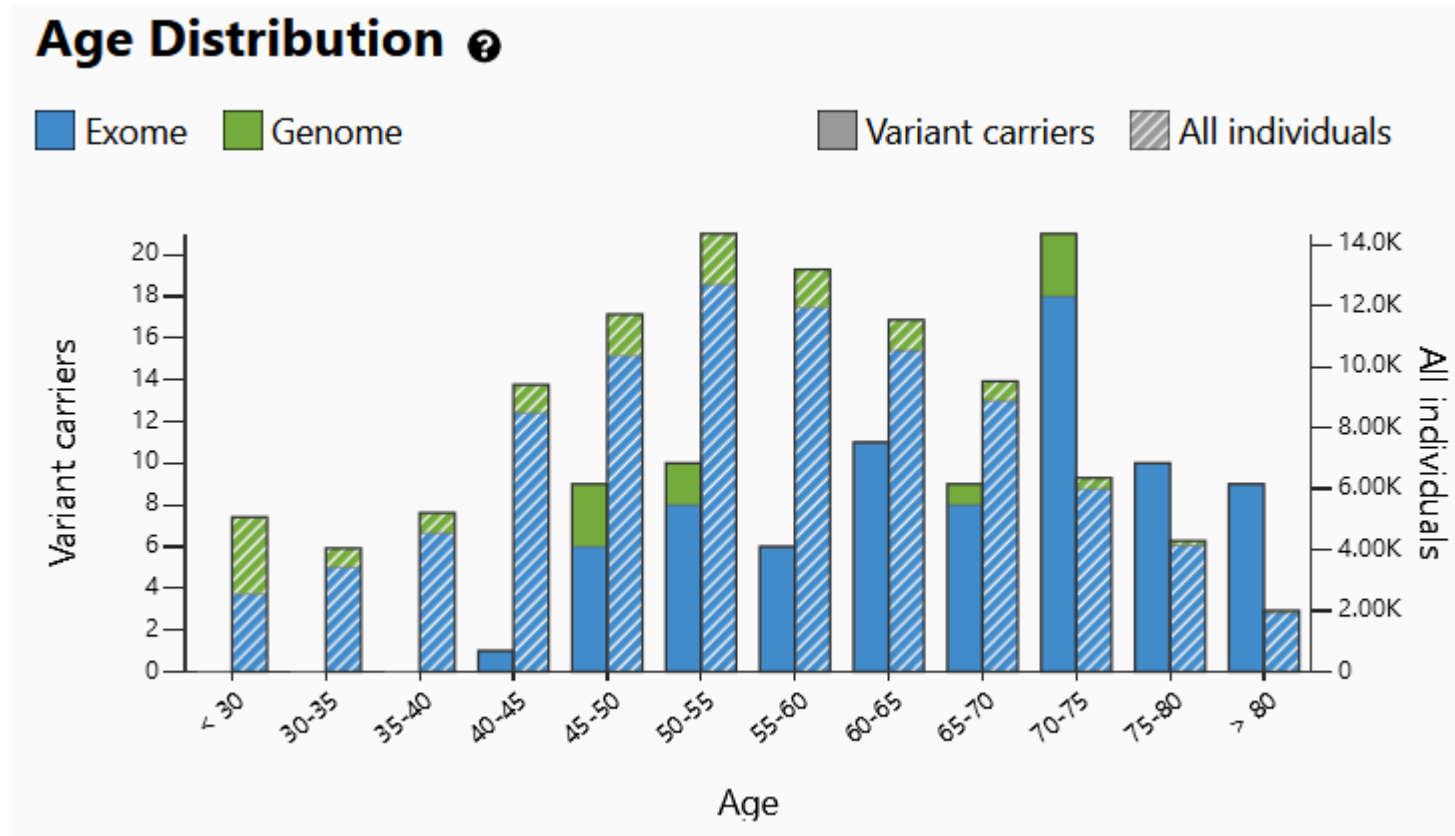
		Bénignité		Pathogénicité	
Population	GnomAD	BS1	> 0,1%	PM2	Absent ou < 0,01%
		BA1	> 5%		

Hématopoïèse clonale de potentiel indéterminé



Vlasschaert et al, Blood 2023

Hématopoïèse clonale de potentiel indéterminé



2023

Bases de données

		Bénignité		Pathogénicité	
Population	GnomAD	BS1	> 0,1%	PM2	Absent ou < 0,01%
		BA1	> 5%		
Constitutionnelle	Clinvar	BP6	Rapporté bénin	PP5	Rapporté patho
		BA2	Classé bénin par groupe expert	PA1	Classé patho par groupe expert
Somatique	Cosmic JAX CKB, oncoKB...				

Type de variant

→ LOF VS non LOF

→ effet en fonction du type de gène : oncogène VS suppresseur de tumeur

		Oncogène	Suppresseur de tumeur
Perte de fonction avérée	Variant tronquant	BS5	PVS1
Autre que perte de fonction avérée	Variant faux sens	PP2	BP1

Prédiction in silico

→ Variant faux sens +++

Comparison of Pathogenicity Prediction Tools on Somatic Variants

Voreak Suybeng,^{*} Florence Koeppl,[†] Alexandre Harlé,[‡] and Etienne Rouleau^{*}
 The Journal of Molecular Diagnostics, Vol. 22, No. 12, December 2020

		Bénignité		Pathogénicité	
Autre que perte de fonction avérée	Variant faux sens	BP4	REVEL < 0,15	PP3	REVEL > 0,75

Variants synonymes

→ Interprétation peut sembler simple si VAF ~ 50%


⚠ Ne pas conclure trop vite à un polymorphisme

Bénignité	
BP7	Nucléotide non conservé et pas d'altération de l'épissage

Gene	Chr	Transcript	NA Mutation	AA Mutation	Databases	Exon	Sa VAF
ATM	11	NM_000051.4	c.2250G>A	p.K750=	<input type="checkbox"/> dbsnp <input checked="" type="checkbox"/> clinvar <input type="checkbox"/> omim <input type="checkbox"/> lovd	14/63	47.7%

Importance du tableau clinico-biologique

- Exemple d'un variant du gène *SF3B1* identifié chez un patient avec suspicion de SMD

Gene	Chr	Transcript	NA Mutation	AA Mutation	AMP <small>RUO</small>	Impact	Effect	Databases	GnomAD		Exon	VAF
									AF	AC		
SF3B1	2	NM_012433.4	c.2342A>G	p.D781G	N/A	Moderate	● missense	● dbsnp  omim ● cosmic	N/A	N/A	16/25	43.9%

Importance du tableau clinico-biologique

- Exemple d'un variant du gène *SF3B1* identifié chez un patient avec suspicion de SMD

Gene	Chr	Transcript	NA Mutation	AA Mutation	AMP <small>RUO</small>	Impact	Effect	Databases	GnomAD		Exon	VAF
									AF	AC		
SF3B1	2	NM_012433.4	c.2342A>G	p.D781G	N/A	Moderate	● missense	● dbsnp ● omim ● cosmic	N/A	N/A	16/25	43.9%

PM2

Importance du tableau clinico-biologique

- Exemple d'un variant du gène *SF3B1* identifié chez un patient avec suspicion de SMD

Gene	Chr	Transcript	NA Mutation	AA Mutation	AMP <small>RUO</small>	Impact	Effect	Databases	GnomAD		Exon	VAF
									AF	AC		
SF3B1	2	NM_012433.4	c.2342A>G	p.D781G	N/A	Moderate	missense	<small>●</small> dbsnp <small>🚩</small> omim <small>●</small> cosmic	N/A	N/A	16/25	43.9%

PM2

Absent ClinVar
Présent COSMIC mais <10 occurrences
Absent autres BDD somatiques mais variant p.D781E patho connu

PM5

Importance du tableau clinico-biologique

- Exemple d'un variant du gène *SF3B1* identifié chez un patient avec suspicion de SMD

Gene	Chr	Transcript	NA Mutation	AA Mutation	AMP <small>RUO</small>	Impact	Effect	Databases	GnomAD		Exon	VAF
									AF	AC		
SF3B1	2	NM_012433.4	c.2342A>G	p.D781G	N/A	Moderate	missense	dbsnp omim cosmic	N/A	N/A	16/25	43.9%

PM2

PP2

SF3B1 → oncogène
REVEL : 0,71

Absent ClinVar
Présent COSMIC mais <10 occurrences
Absent autres BDD somatiques mais variant p.D781E patho connu

PM5

- Arguments de pathogénicité insuffisants → VSI

Importance du tableau clinico-biologique

- Exemple d'un variant du gène *SF3B1* identifié chez un patient avec suspicion de SMD

Gene	Chr	Transcript	NA Mutation	AA Mutation	AMP <small>RUO</small>	Impact	Effect	Databases	GnomAD		Exon	VAF
									AF	AC		
SF3B1	2	NM_012433.4	c.2342A>G	p.D781G	N/A	Moderate	missense	<input type="checkbox"/> dbsnp <input type="checkbox"/> omim <input type="checkbox"/> cosmic	N/A	N/A	16/25	43.9%

SF3B1 → oncogène
REVEL : 0,71

Absent ClinVar
Présent COSMIC mais <10 occurrences
Absent autres BDD somatiques mais variant p.D781E patho connu

- Arguments de pathogénicité insuffisants → VSI
- Rajout d'une recherche cytologique de sidéroblastes en couronne → positive, cohérent avec SMD *SF3B1* muté
- Classification finale IV : probablement pathogène

PM2

PP2

PM5

PM9

Equipe de génétique chromosomique

Biologistes : Anouck Schneider, Benjamin Ganne, Franck Pellestor, Jean-Baptiste Gaillard, Pauline Blateau & Vincent Gatinois

Cadres : Catherine Hertogh & Michel Pitot

Ingénieurs : Elise Gueret, Magali Tournaire & Thomas Guignard

Secrétaire : Marie-Laure Grespan

Techniciennes : Alexandra Macé, Camille Malatray, Dolores Platero, Elodie Guagliardo, Florence Lorre, Géraldine Chauchard, Julie Cruel, Laura De Oliveira, Lénaïg Gouil, Marie-Claude Guérin, Patricia Bonnieu, Pauline Bouret, Sara Mourgues, Séverine Wantier, Stéphanie Faure & Valérie Sylla

Merci de votre attention

