



# Cartographie optique du Myélome : Retour d'expérience

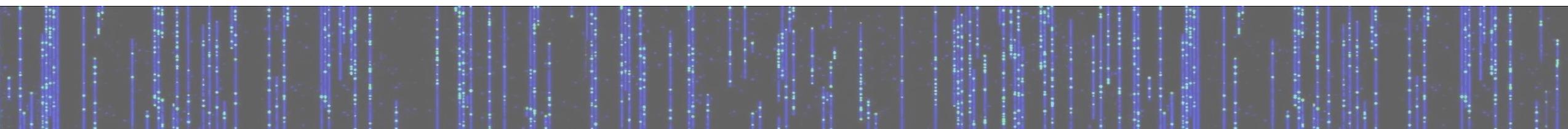
Etienne LESCROART

Julien MERLIN



# Myélome Multiple (MM)

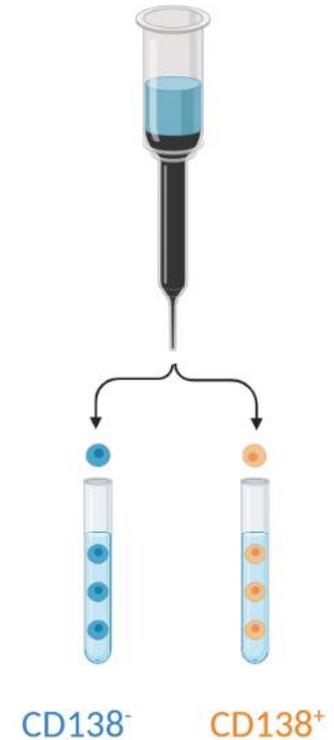
- Envahissement médullaire par des plasmocytes anormaux
- Anomalies de cytogénétiques pronostiques et théranostiques
  - Groupe hyperdiploïde (~55%)
    - Trisomie des chromosomes impairs
  - Groupe pseudodiploïde
    - $t(4;14);t(11;14);t(14;16);t(14,20),t(6;14)$  impliquant le gène *IGH*
- Puis des marqueurs plutôt secondaire :
  - $del(17p)$  avec perte *TP53*
  - Gain 1q21, perte 1p32



# Technique d'analyse

- Caryotype n'est plus la technique de choix
- Tri cellulaire des plasmocytes (CD138) puis détection des marqueurs :
  - FISH ciblée : 17p, 1p/1q, t(4;14),t(11;14)
  - Technique moléculaire (NGS, CGH, SNParray)
- Limitation des marqueurs testés par la faible richesse des cellules post-tri

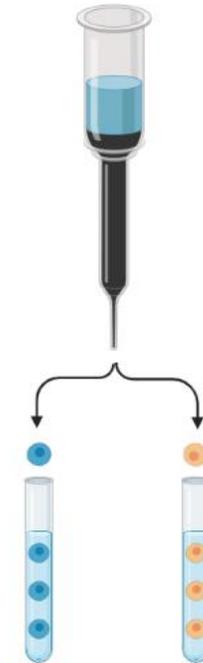
Tri magnétique  
par le CD138



# Technique d'analyse

- Caryotype n'est plus la technique de choix
- Tri cellulaire des plasmocytes (CD138) puis détection des marqueurs :
  - FISH ciblée : 17p, 1p/1q, t(4;14),t(11;14)
  - Technique moléculaire (NGS, CGH, SNParray)
- Limitation des marqueurs testés par la faible richesse des cellules post-tri

Tri magnétique  
par le CD138

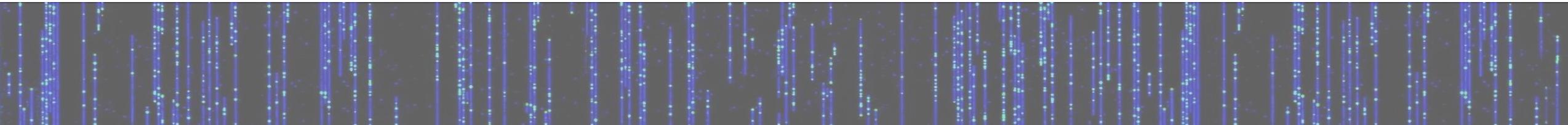
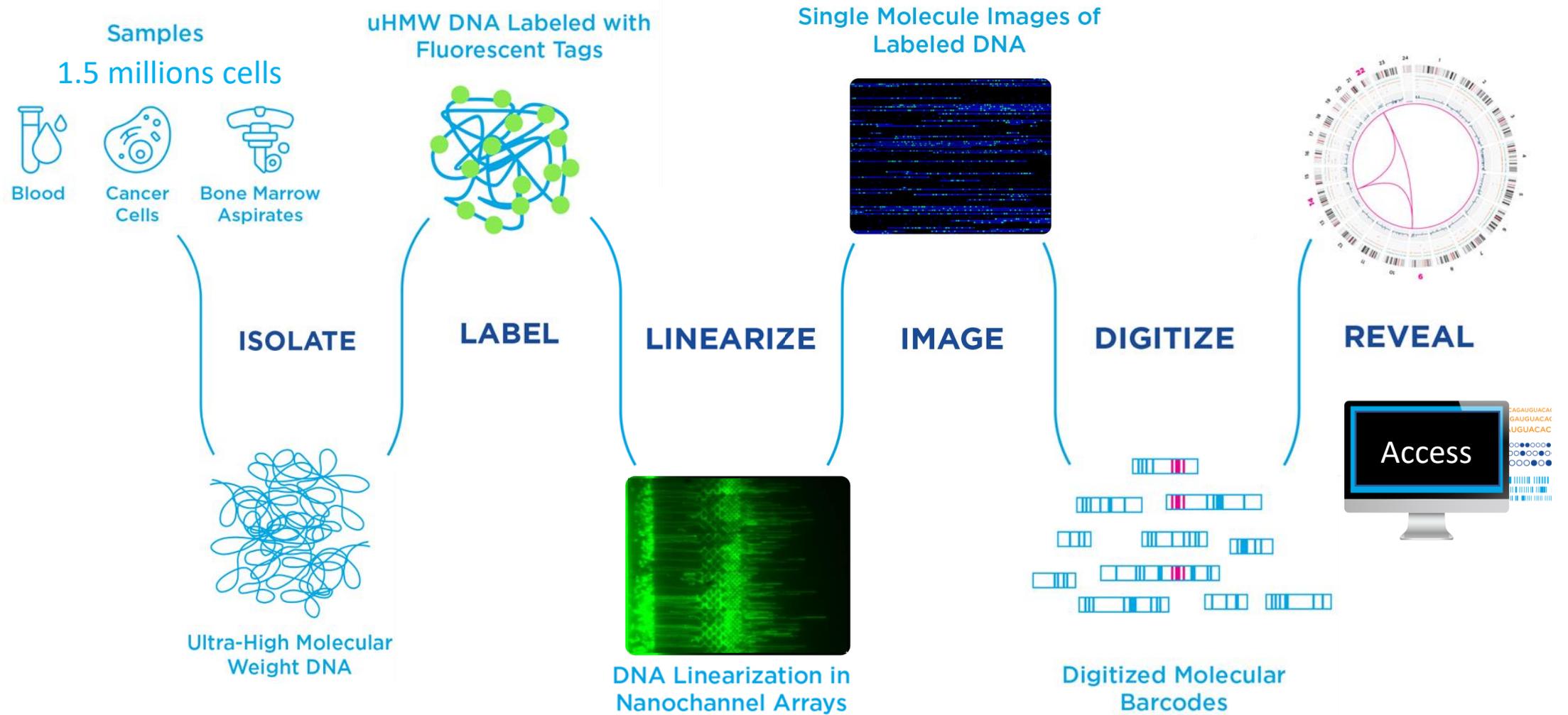


CD138<sup>-</sup>

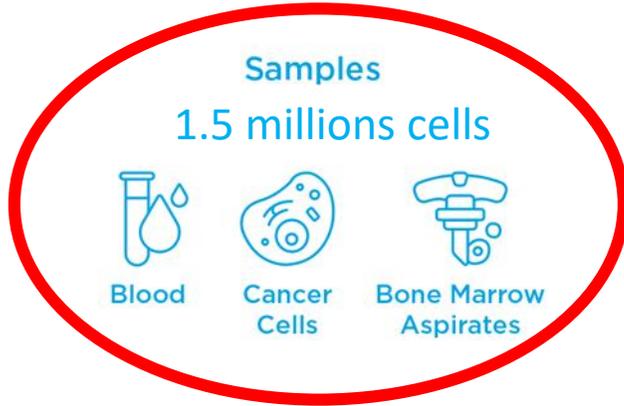
CD138<sup>+</sup>

## Place du caryotype optique ?

# COG Caryotype Optique du Génome



# COG Caryotype Optique du Génome



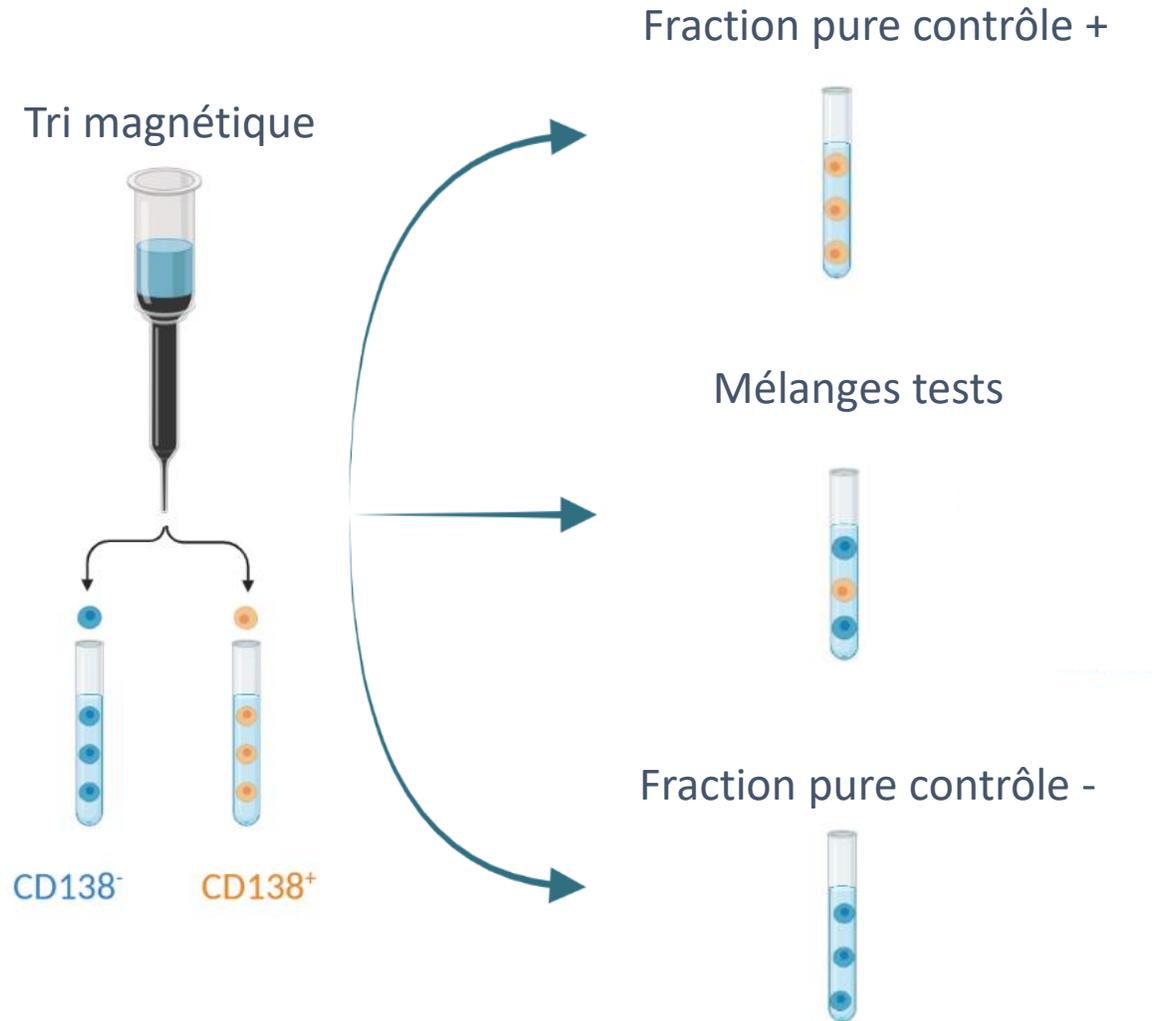
Problématique : Richesse en plasmocytes

sur 700 cas de MM triés, la médiane de plasmocytes récupérés se situe à 900 000 cellules.

Propositions :

- 1- utiliser une technique d'extraction issue des protocoles de liquides amniotiques permettant de descendre à 1M de cellules
- 2- utiliser la fraction négative du tri cellulaire pour compléter à 1M l'échantillon de plasmocytes triés

# Objectif de l'étude

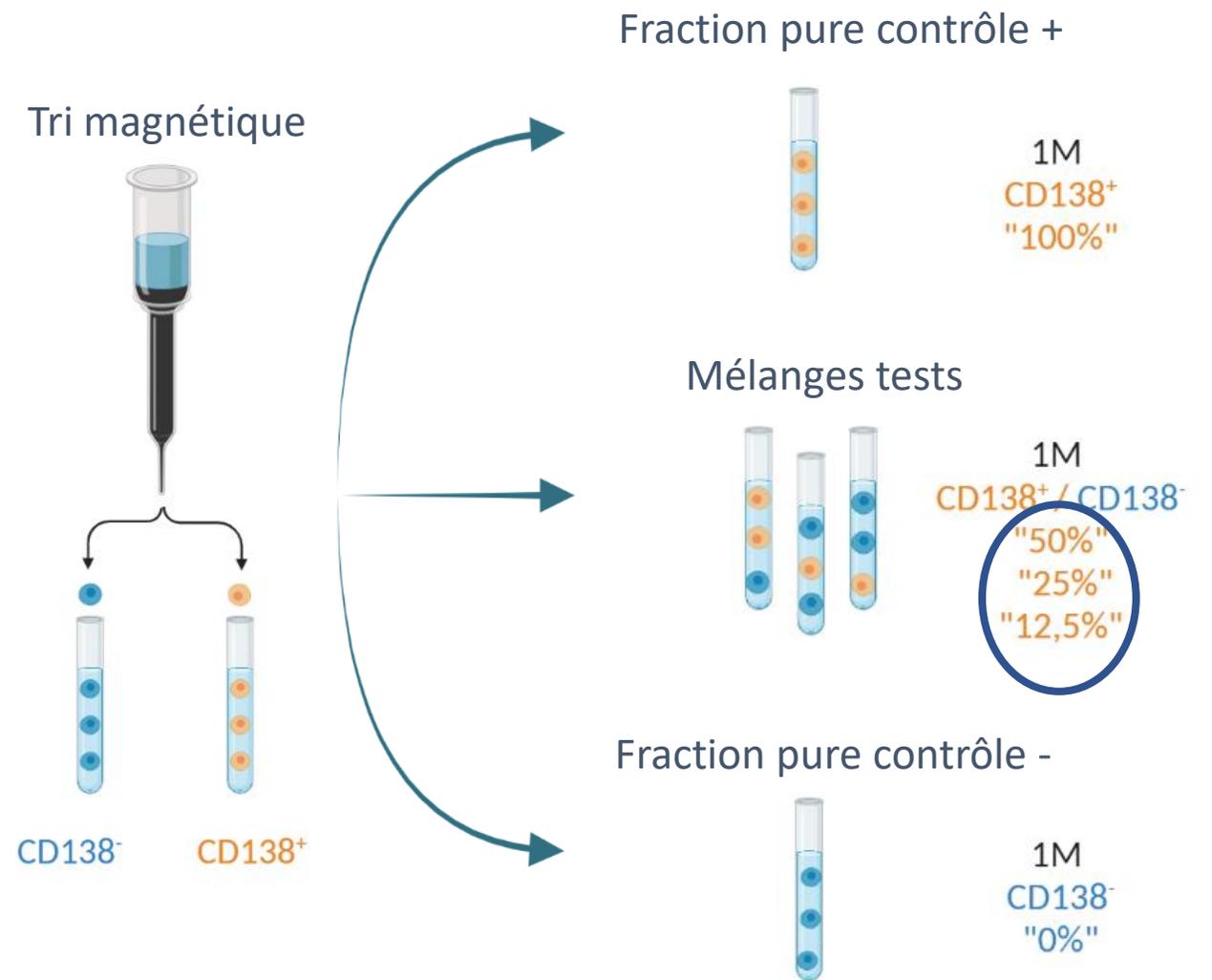


Objectif 1 : Réalisation d'une gamme de dilution pour valider la technique et choix de la dilution optimale

Objectif 2 : Validation des résultats sur une cohorte de patients en comparaison avec la FISH

# Validation technique :

## ➤ Gamme de dilution

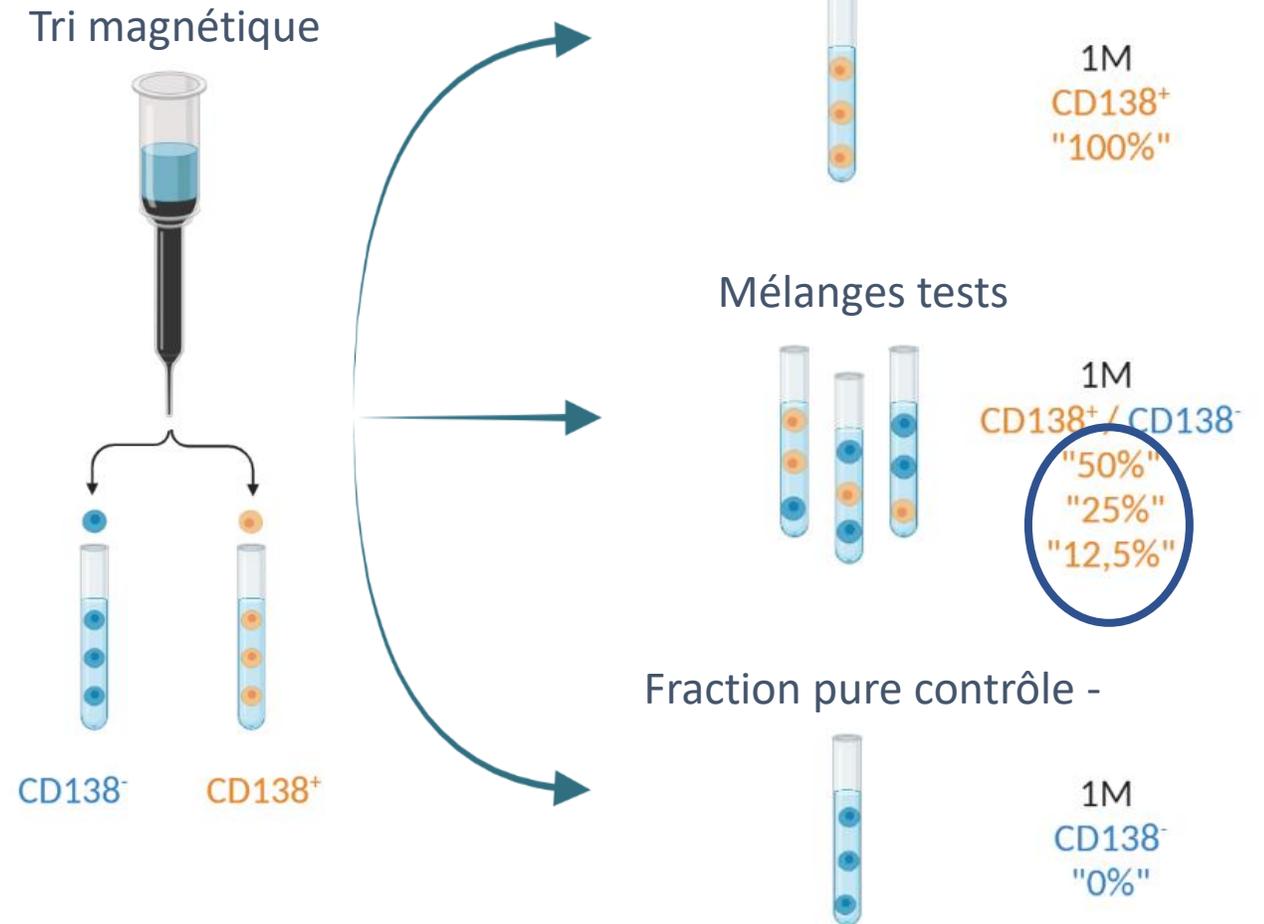


# Validation technique :

➤ Gamme de dilution

➤ Fractions pures et mélanges

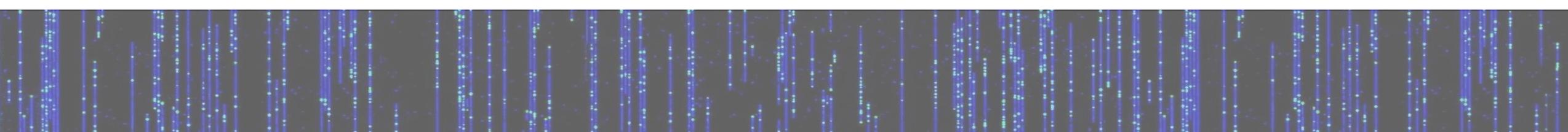
- Culot sec
- Envoi en carboglace



# Résultat FISH de la gamme :

- Tri CD138 avec un rendement de 99%
- Résultat FISH :
  - t(11;14) IGH::CCND1 dans 96% des cellules
  - Gain d'un signal CCND1 dans 96% des cellules
  - Une délétion de 17p sous clonale dans 19% des cellules
  - Pas d'anomalie 1q21 ou 1p32

nuc ish(CDKN2C,CKS1B)x2[200],(CCND1x4,IGHx3)(CCND1 con IGHx2)[192/200],  
(TP53x1,D17Z1x2)[57/300].

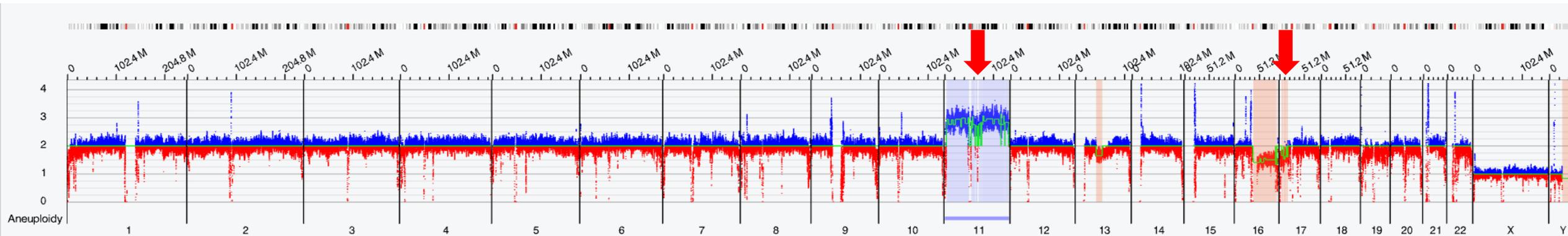
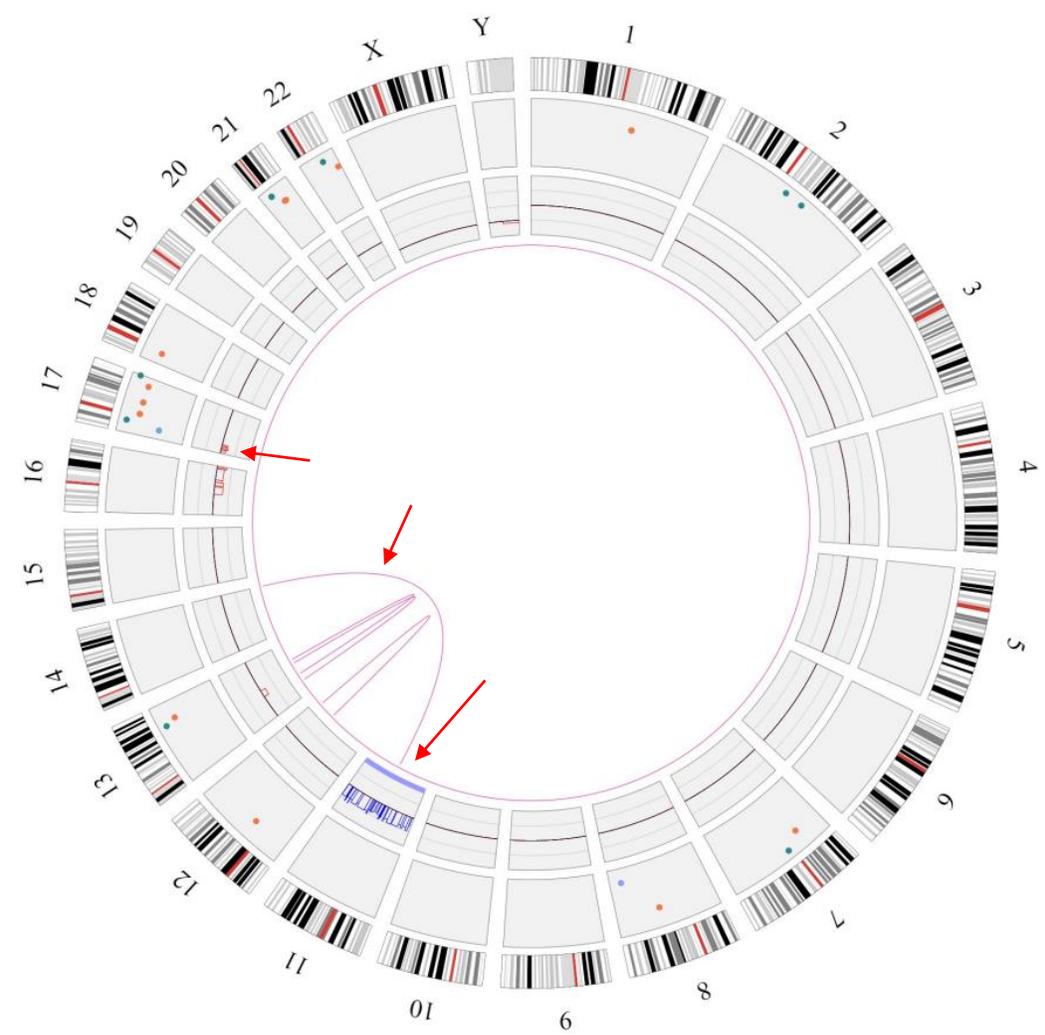




# Résultat COG fraction pure

## Résultat FISH :

- ✓ t(11;14) IGH::CCND1 dans 96% des cellules
- ✓ Gain d'un signal CCND1 dans 96% des cellules
- ✓ Une délétion de 17p sous clonale dans 19% des cellules
- ✓ Pas d'anomalie 1q21 ou 1p32



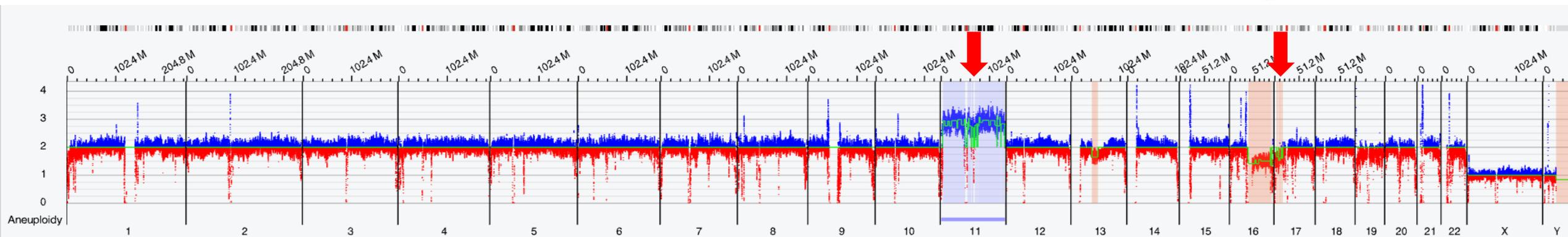
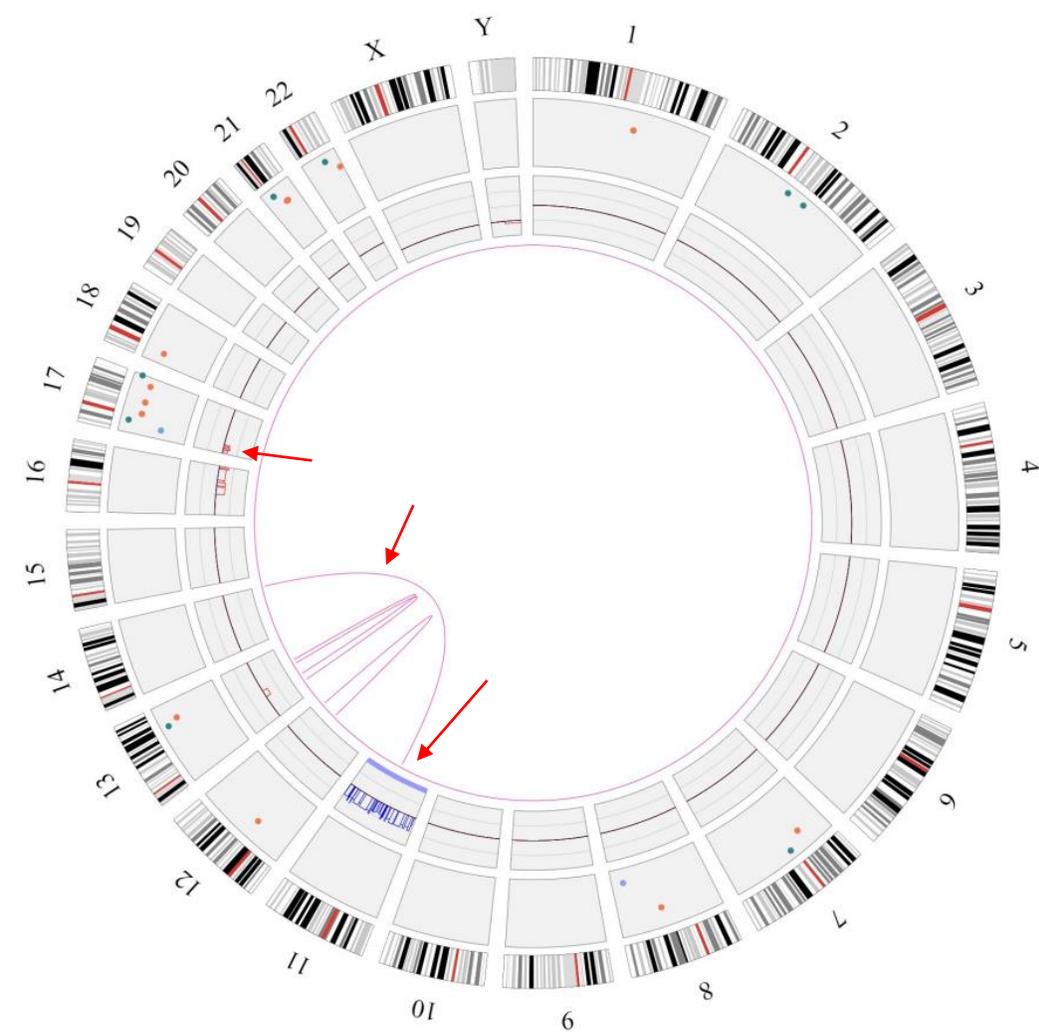
# Résultat COG fraction pure

## Résultat FISH :

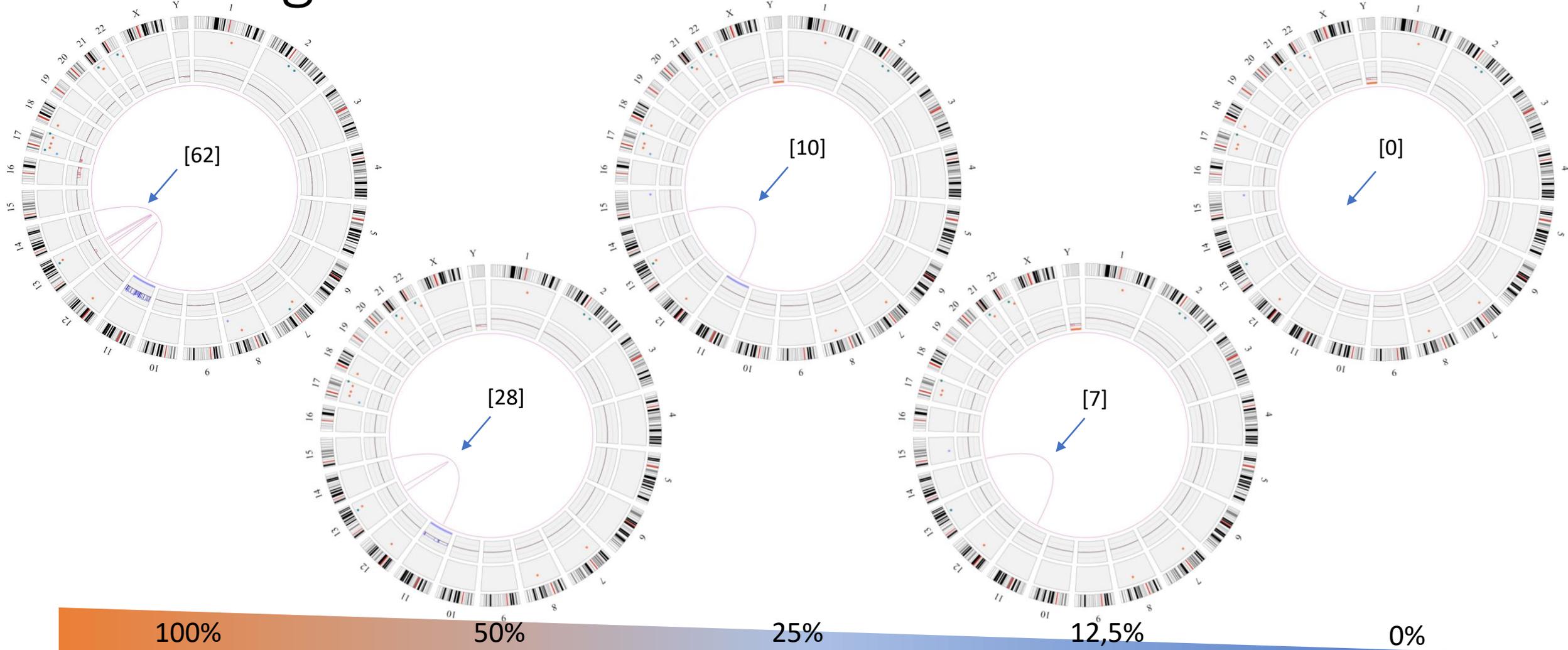
- ✓ t(11;14) IGH::CCND1 dans 96% des cellules
- ✓ Gain d'un signal CCND1 dans 96% des cellules
- ✓ Une délétion de 17p sous clonale dans 19% des cellules
- ✓ Pas d'anomalie 1q21 ou 1p32

## Anomalies en plus vues grâce à la COG :

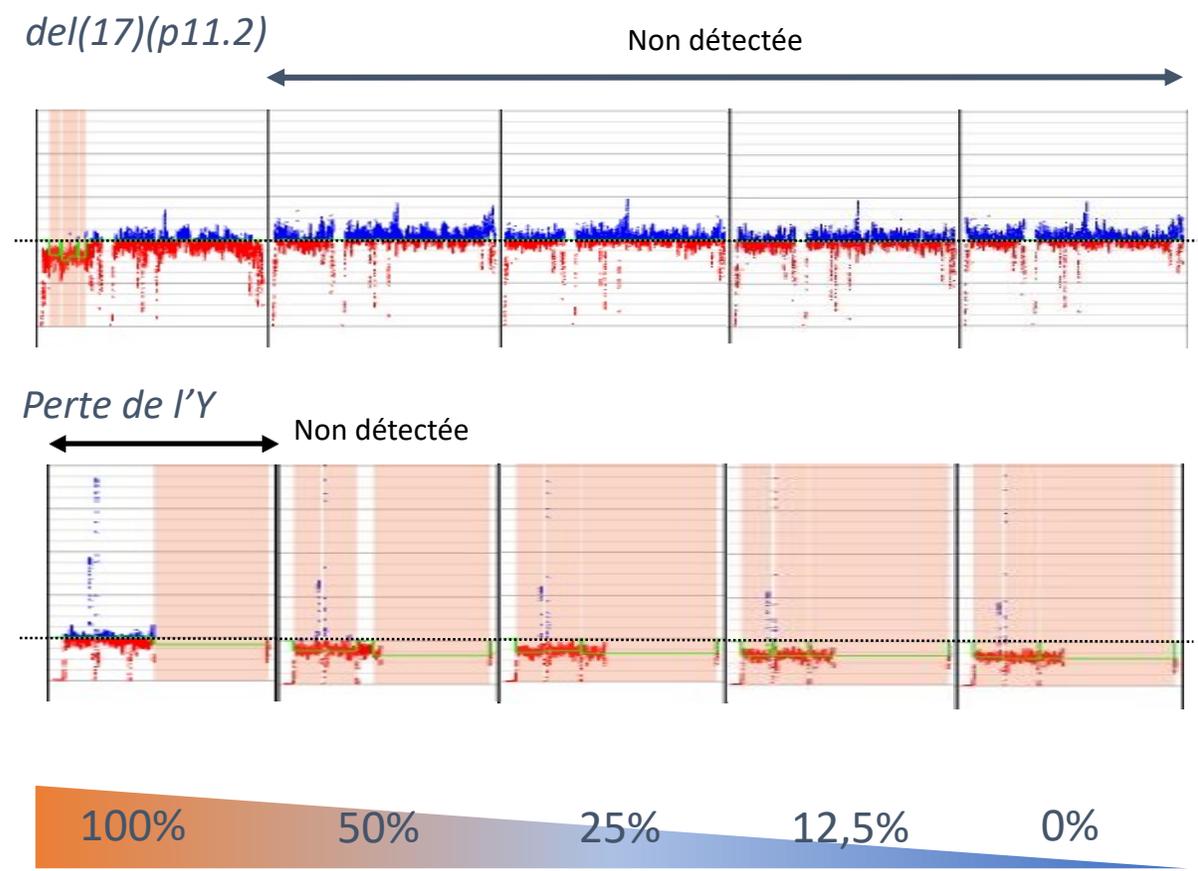
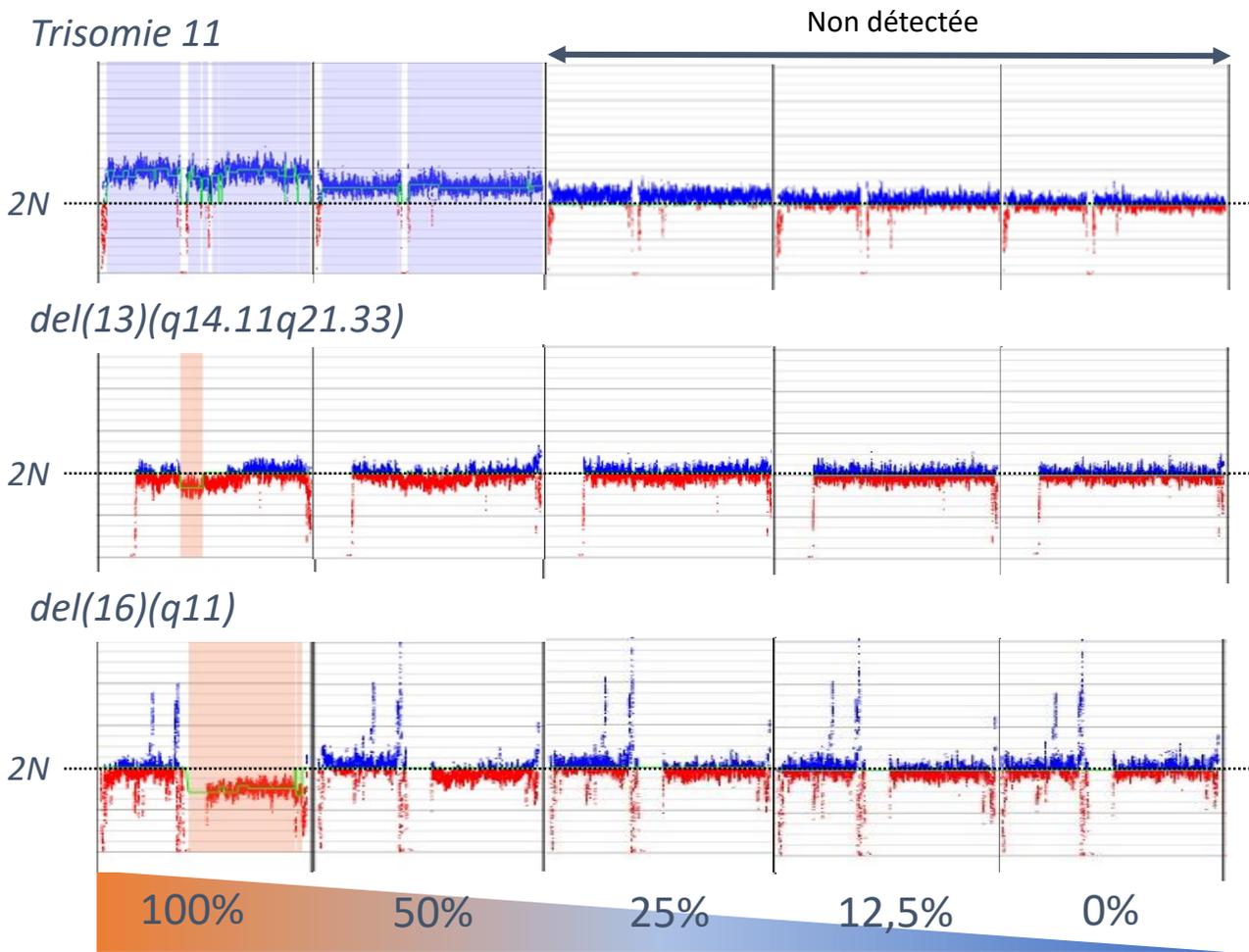
- del(13q)
- del(16q)



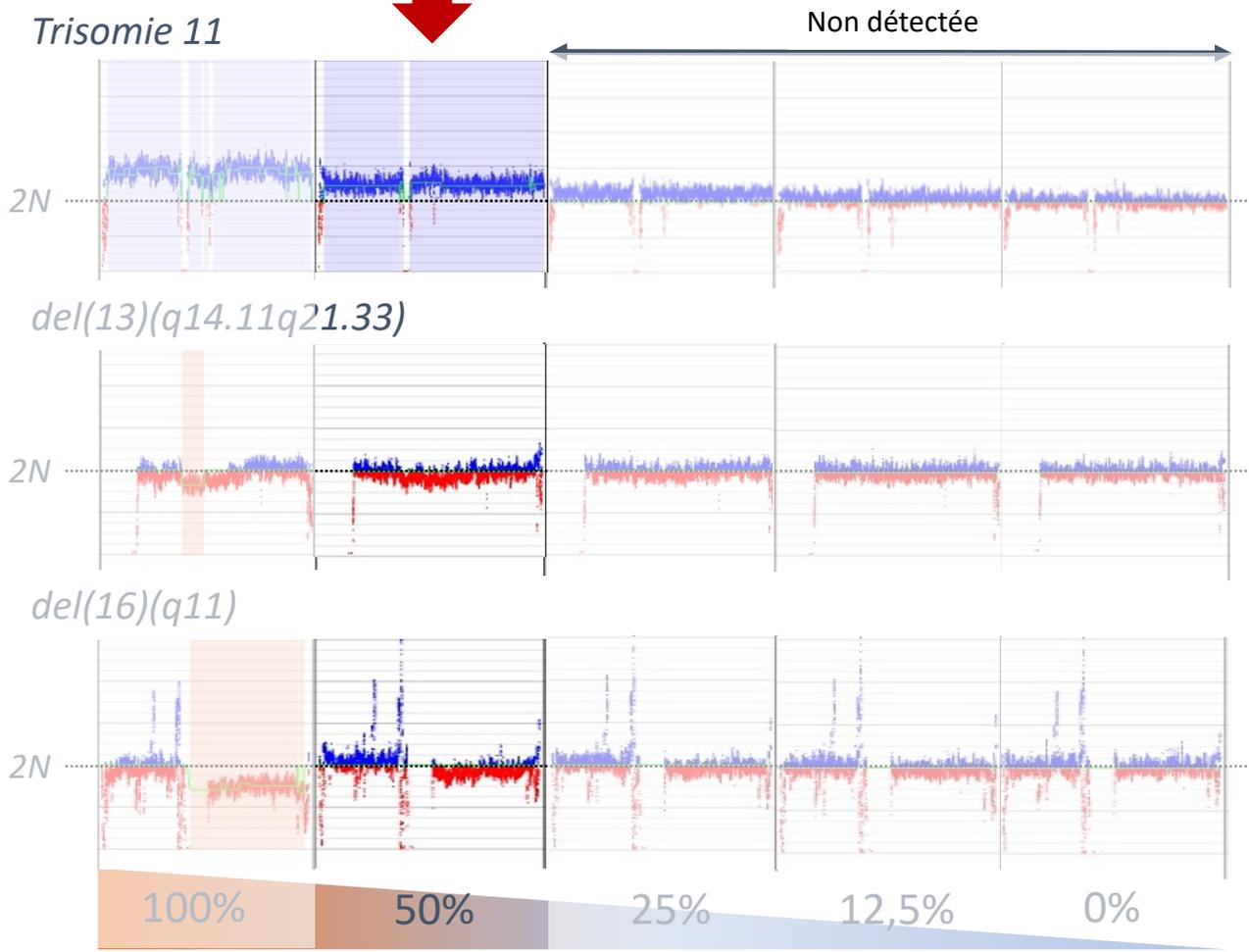
# Résultat gamme – Anomalies de structures



# Résultat gamme - CNV

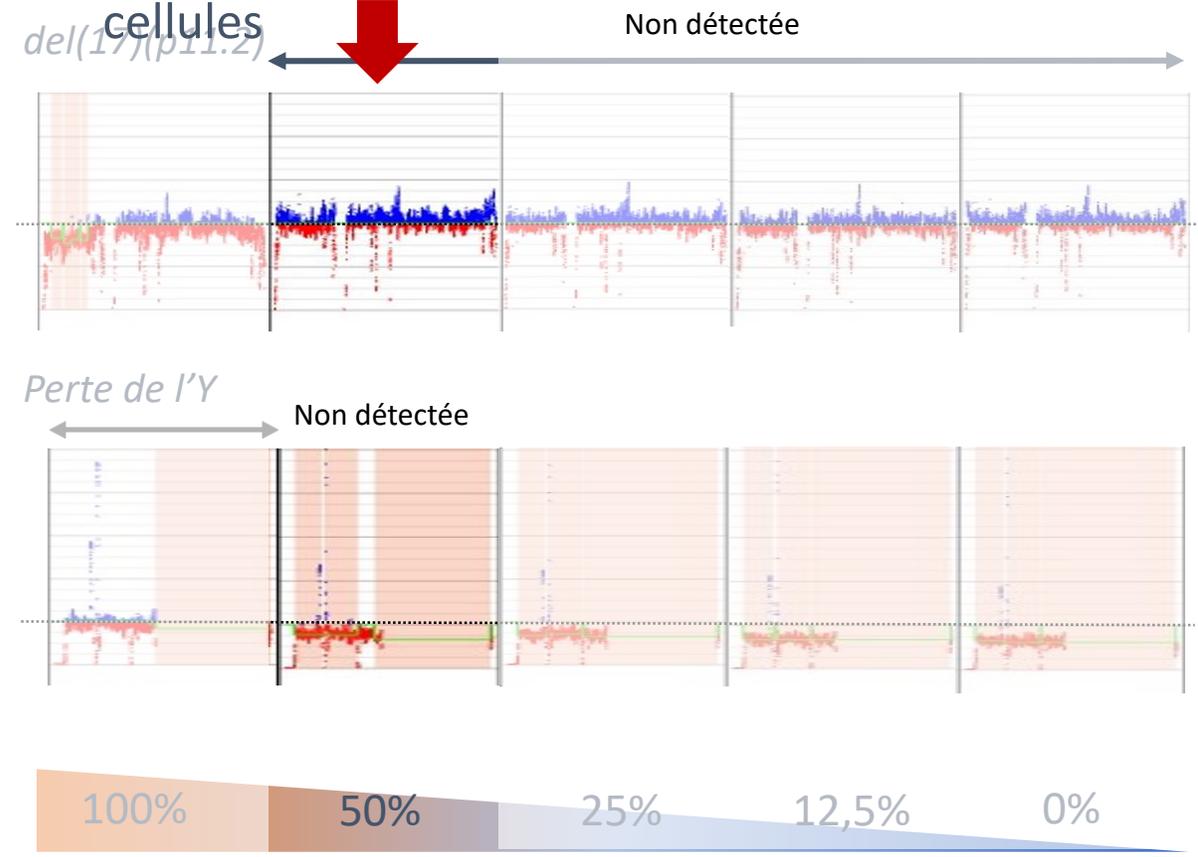


# Choix de la dilution



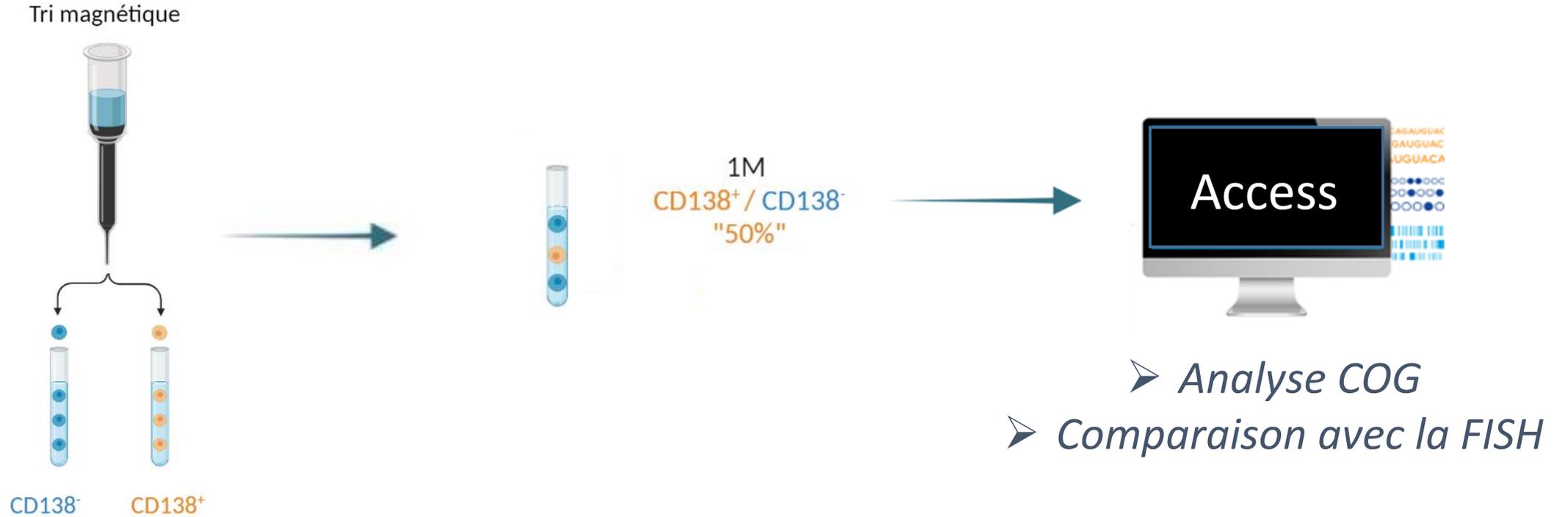
50% de CD138<sup>+</sup> :

- ✓ Détection des SV (faibles tailles) et CNV clonaux : t(11;14)
- ✓ Détection des CNV sous clonaux > 20% des cellules



# Cohorte de validation :

- Mélange à 50% des fractions pures
  - Culot sec en carboglace
  - n=13 (patients nouvellement diagnostiqués)



# Présentation cohorte patient

## ➤ Résultats FISH (routine)

- TP53/17cen
- 1p / 1q
- t(4;14) +/-t(11;14)

N. Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Gain(1q21)			■	■		■	■	■		■			
t(11;14)					■						■	■	
t(4;14)			■							■			
del(1p32)		■								■			
del(17p)	■				■								

Résultats FISH



# Présentation cohorte patient

		N. Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
OGM	FISH	Gain(1q21)			+	+		+	+	+		-				
		t(11;14)					+						+	-		
		t(4;14)			+								+			
		del(1p32)		+									+			
		del(17p)	+					+								

+ : correspondance FISH et COG  
- : Anomalie non retrouvée en COG

## ➤ Comparaison COG

- Gain 1q non trouvé (sous-clonal 15% FISH)



- t(11;14) avec des signaux FISH atypiques (non retrouvée en NGS également)

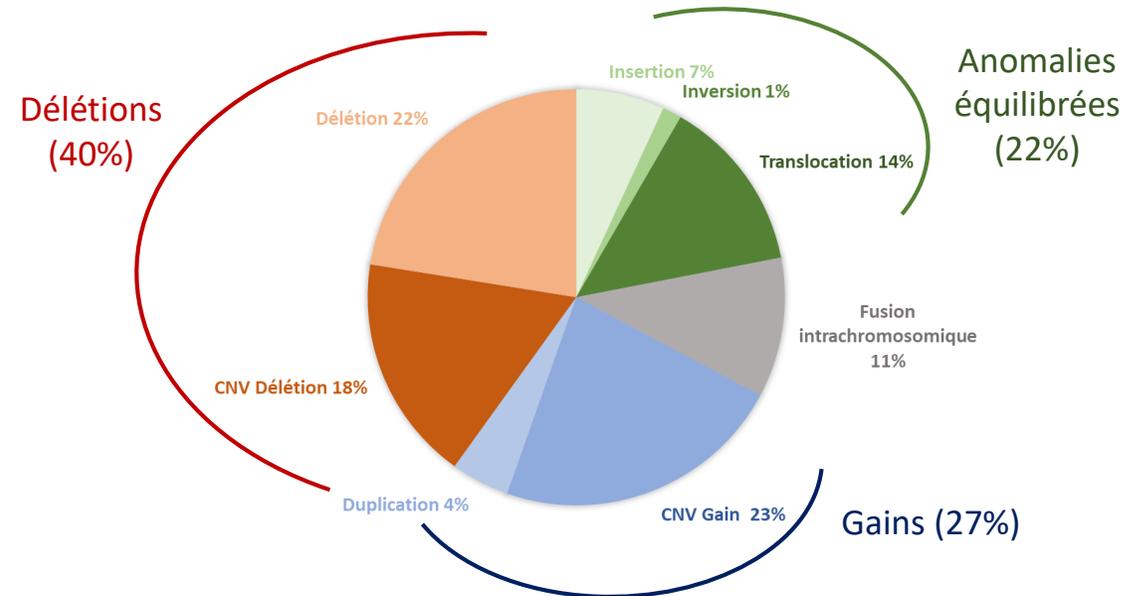
# Présentation cohorte patient

		N. Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
OGM	FISH	Gain(1q21)			+	+		+	+	+		-			
		t(11;14)					+						+	-	
		t(4;14)			+								+		
		del(1p32)		+									+		
		del(17p)	+					+							

➤ Mélange CD138+ à 50%

- n= 13 patients

➤ Moyenne de 72 évènements/patient



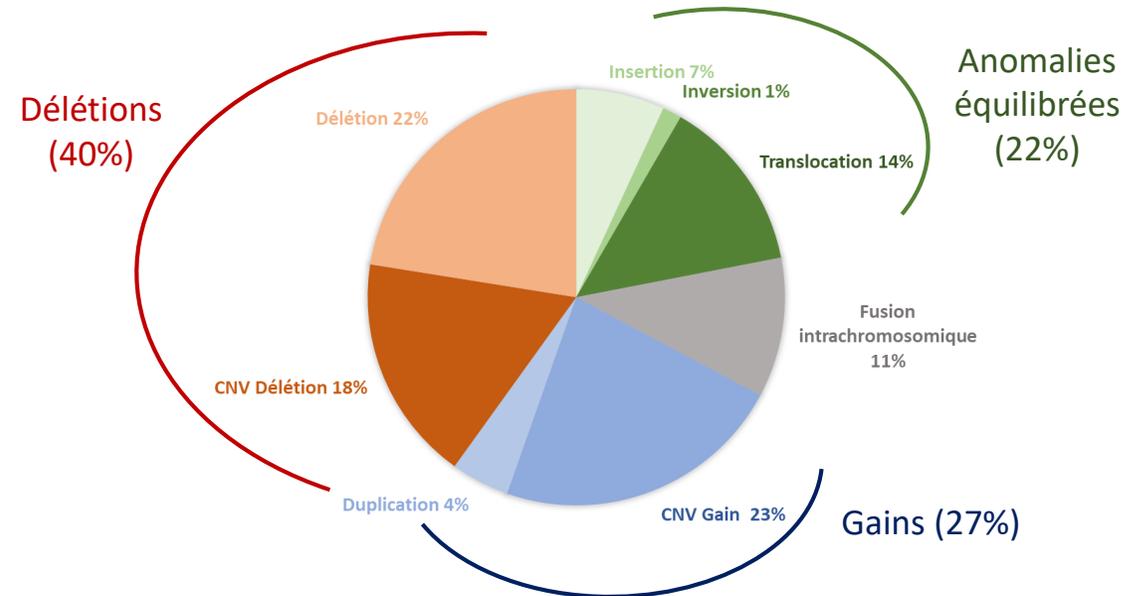
# Présentation cohorte patient

		N. Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
FISH	Gain(1q21)			+	+			+	+	+		-			
	t(11;14)						+						+	-	
	t(4;14)				+							+			
	del(1p32)			+								+			
	del(17p)		+					+							
OGM	monosomie 13			+			+		+	+		+	+		+
	del(14q23) i		+	+	+		+				+			+	
	del(16q)		+		+		+	+		+					
	Hyperdiploidie			+		+		+		+					
	CTH like		+	+	+		+								
	del(8p)		+			+		+		+					
	del(12p)				+		+					+	+		
	del(13q14)			+		+						+			
	t(14;20)									+					
	<i>IGL::MYC</i>								+						
	del(1)(p12)				+										
	<i>IGH::CCND2</i>												+		

➤ Mélange CD138+ à 50%

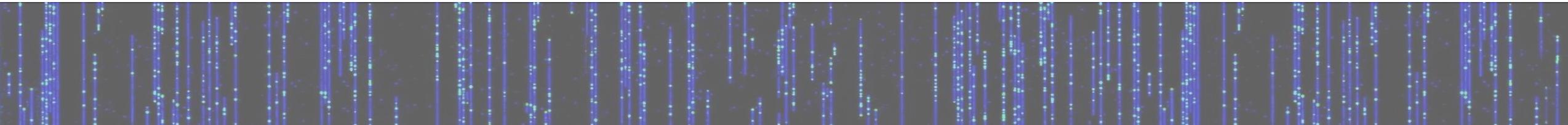
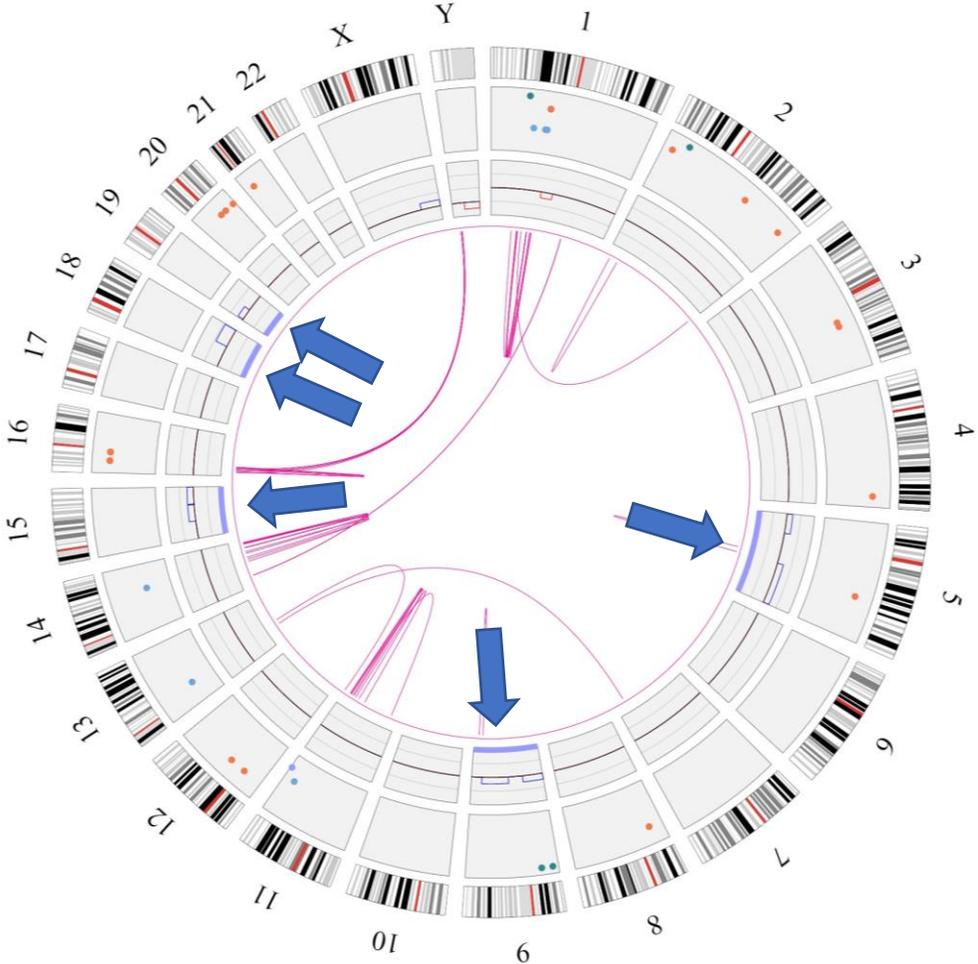
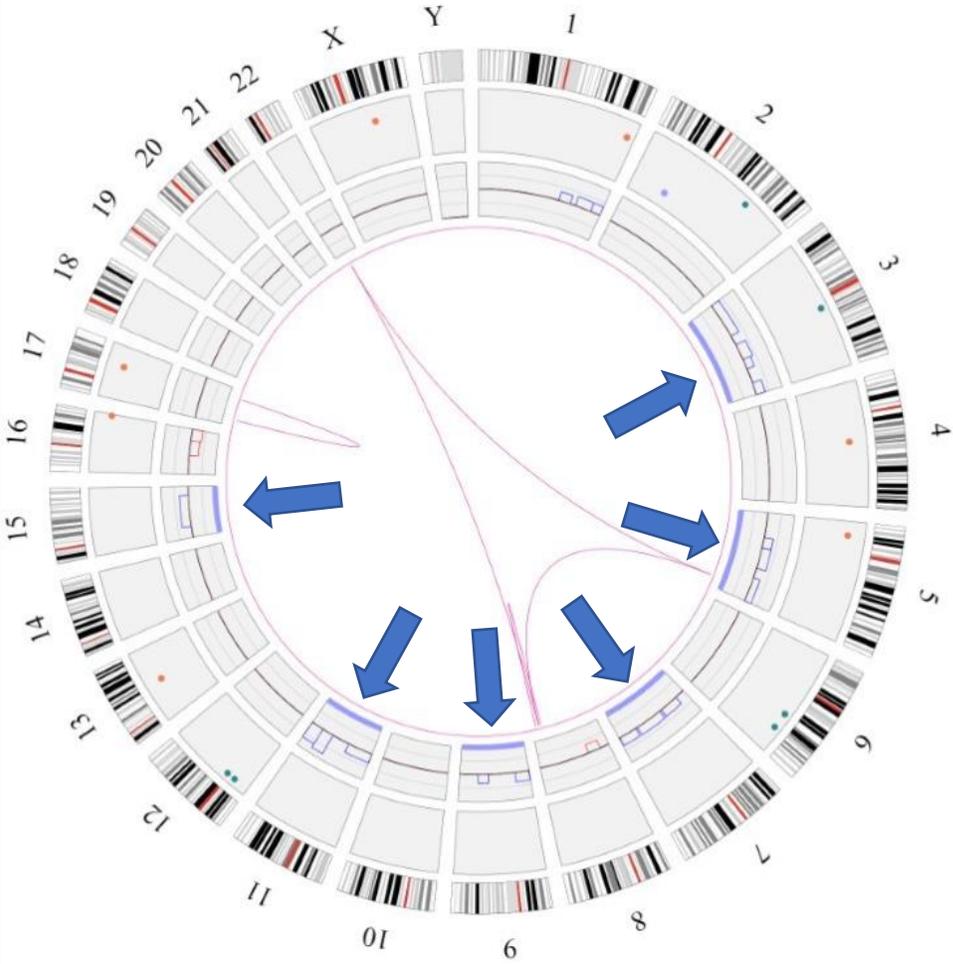
- n= 13 patients

➤ Moyenne de 72 évènements/patient



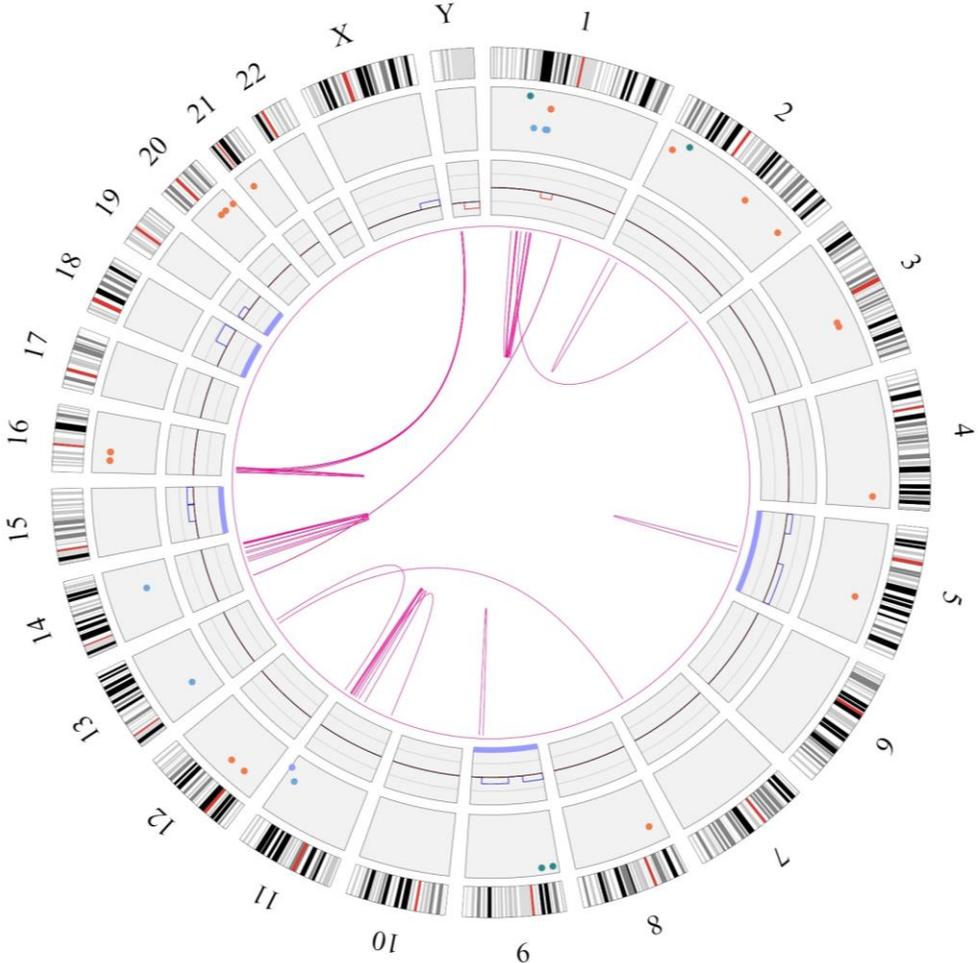
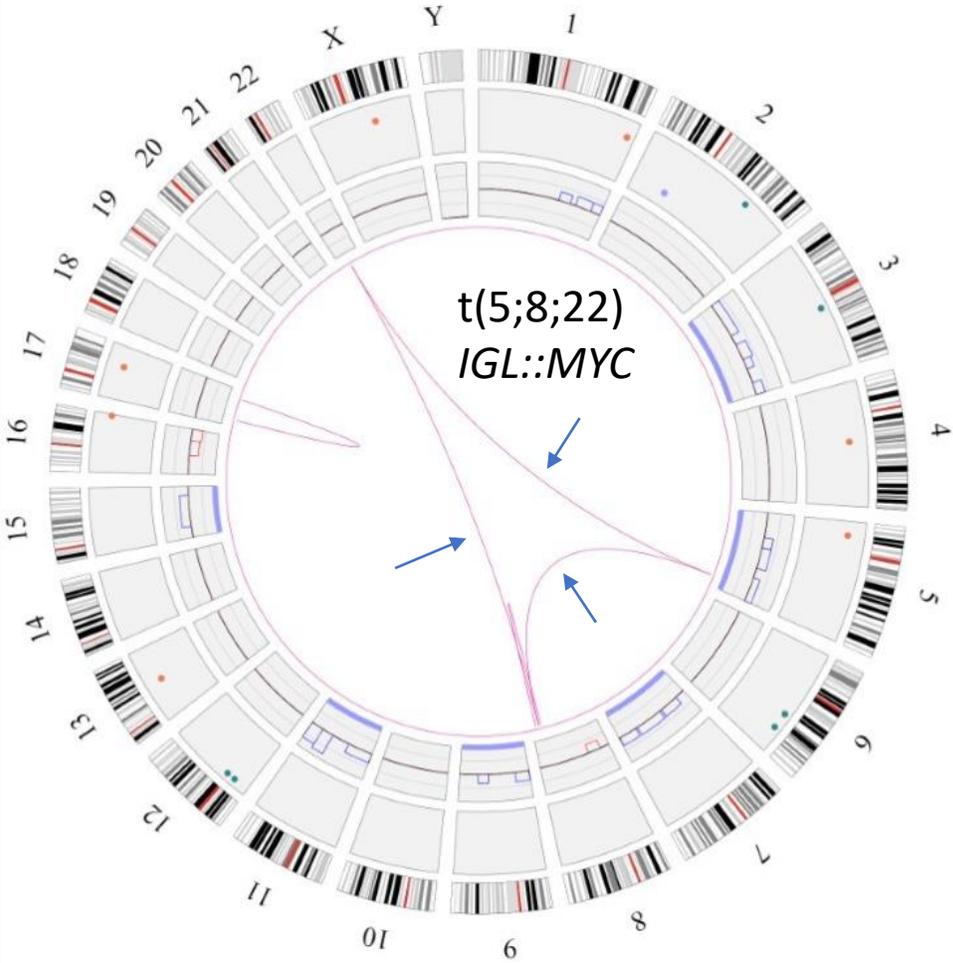
# Circos Plot - Hyperdiploidie

N. Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Hyperdiploidie		+		+		+		+					



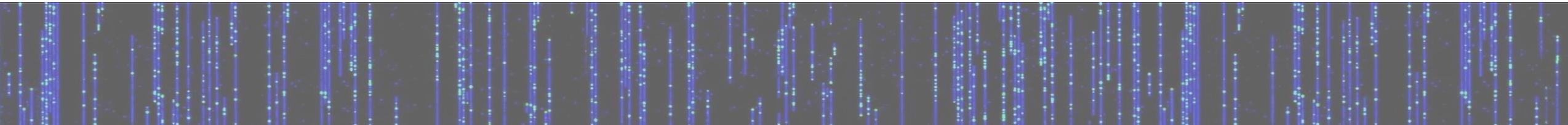
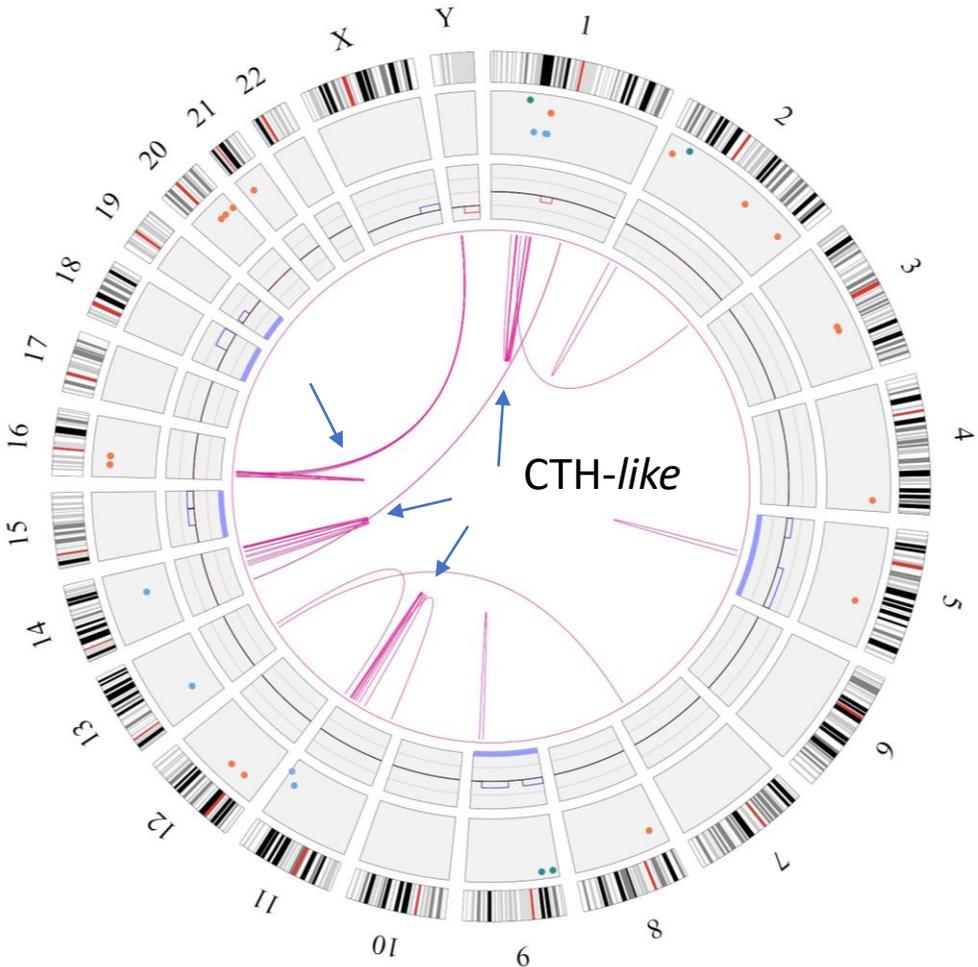
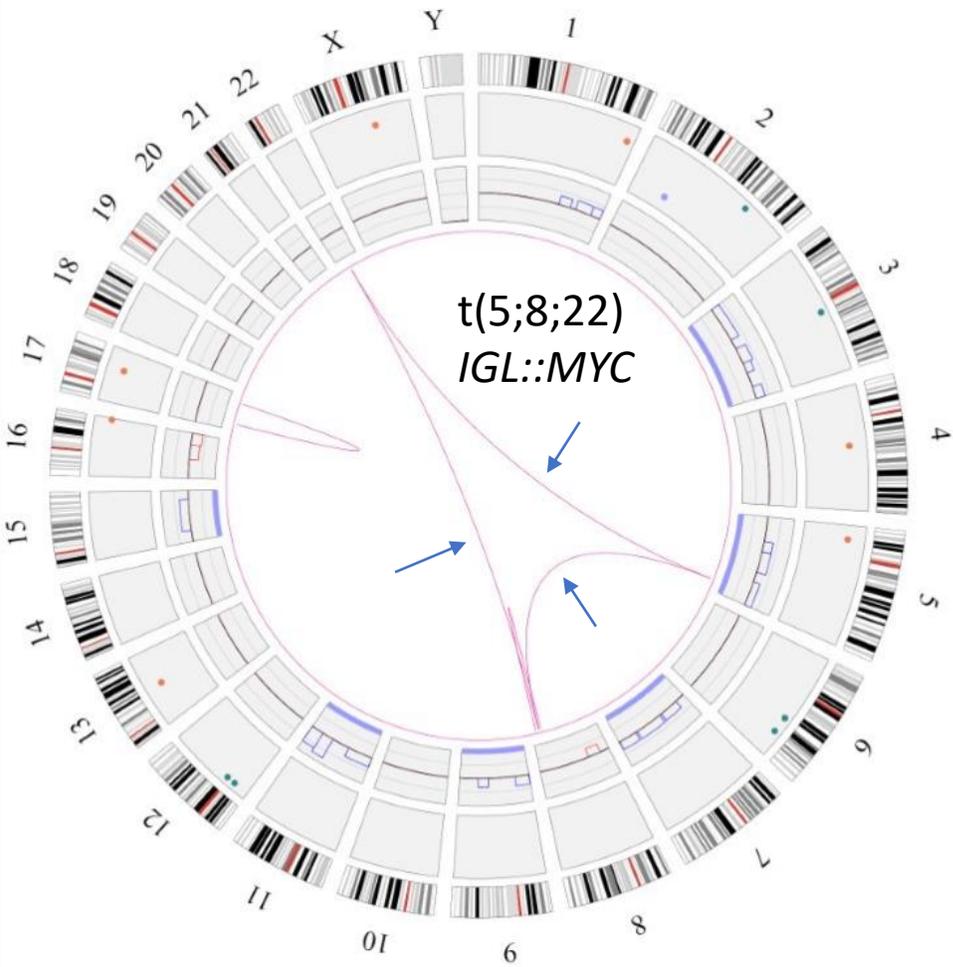
# Circos Plot - Hyperdiploidie

N. Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Hyperdiploidie		+		+		+		+					



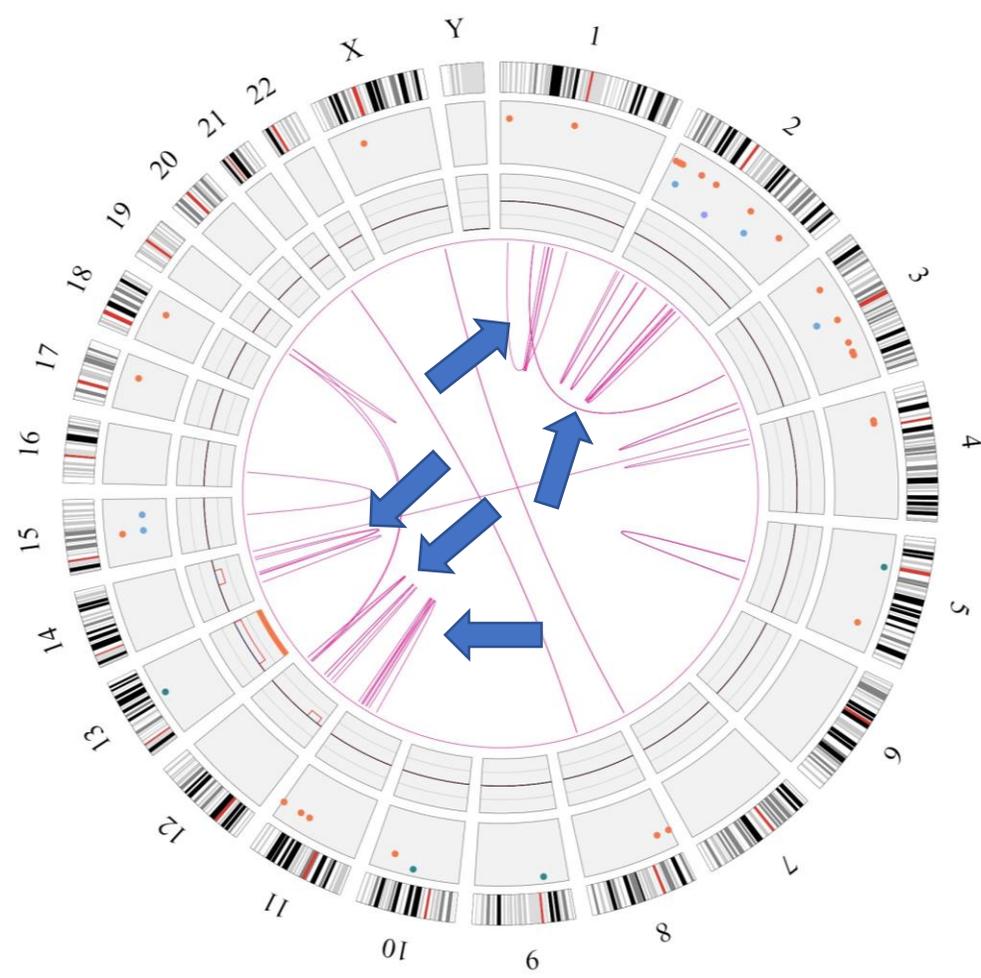
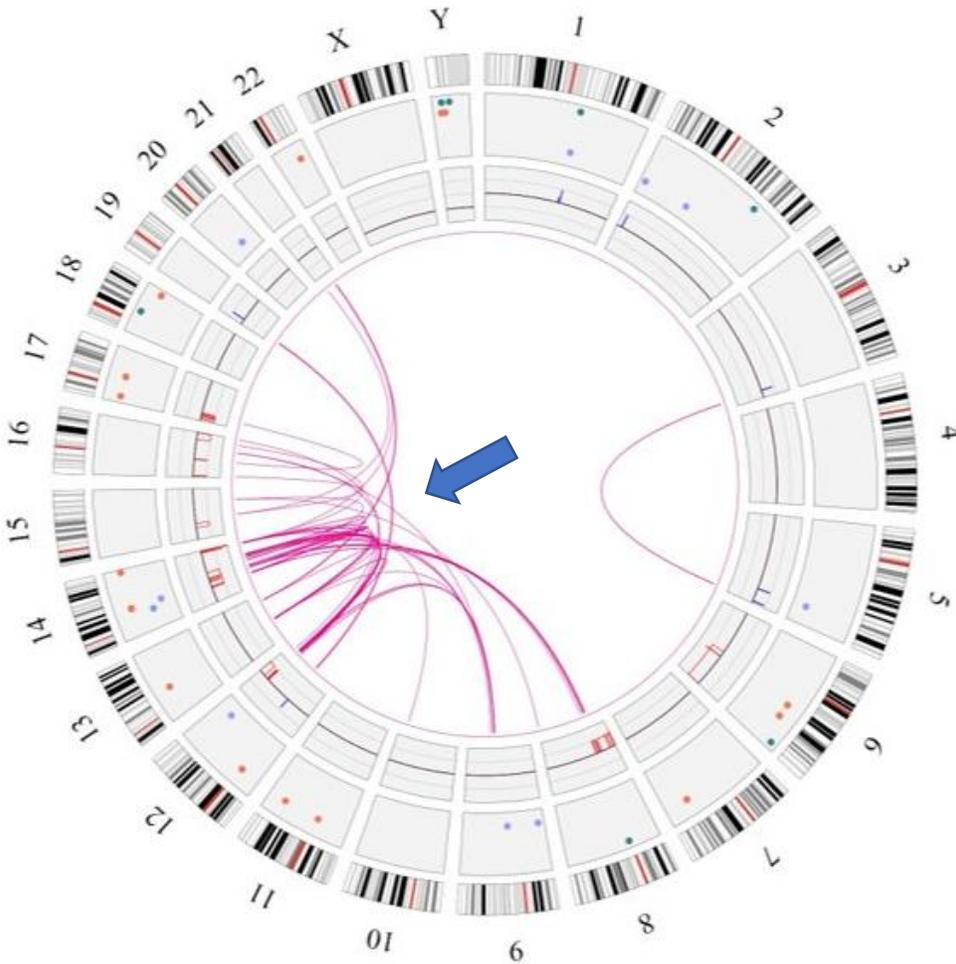
# Circos Plot - Hyperdiploidie

N. Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Hyperdiploidie		+		+		+		+					



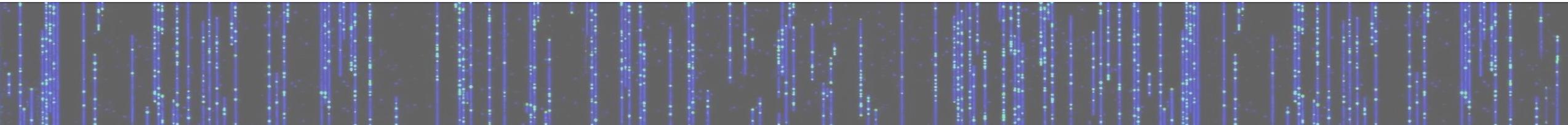
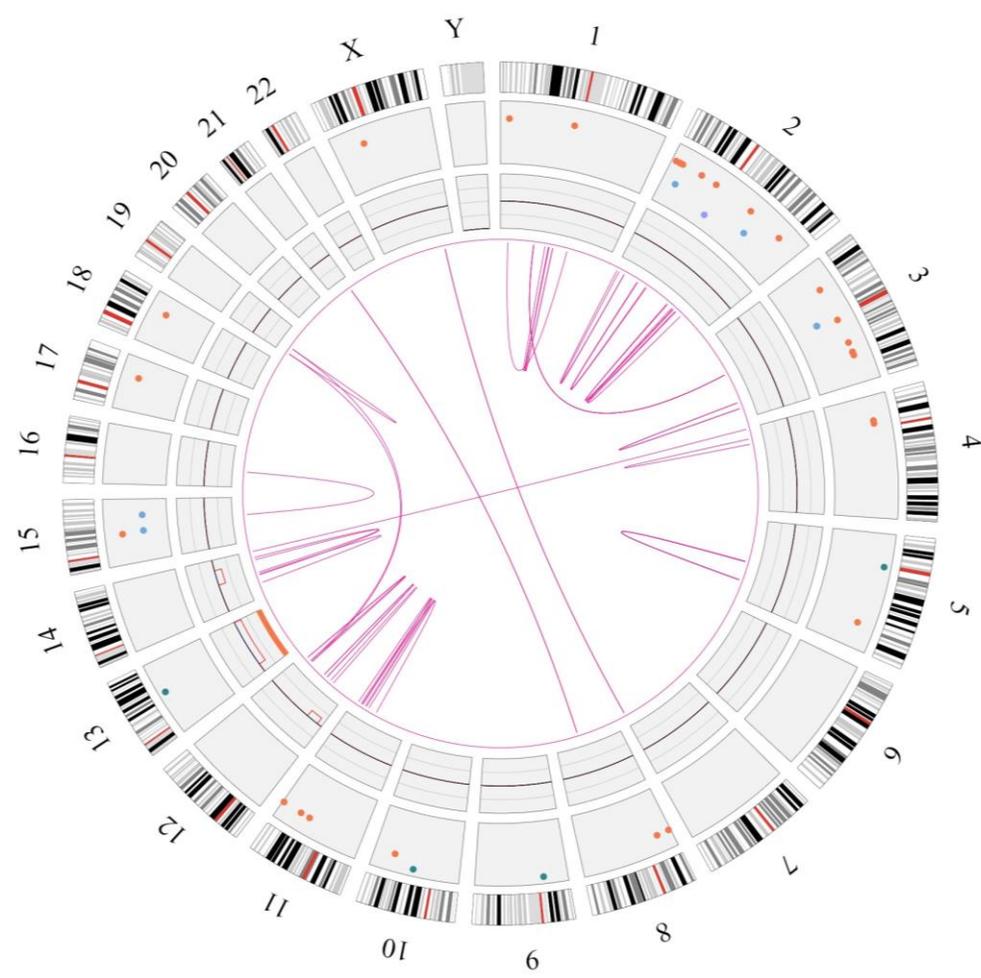
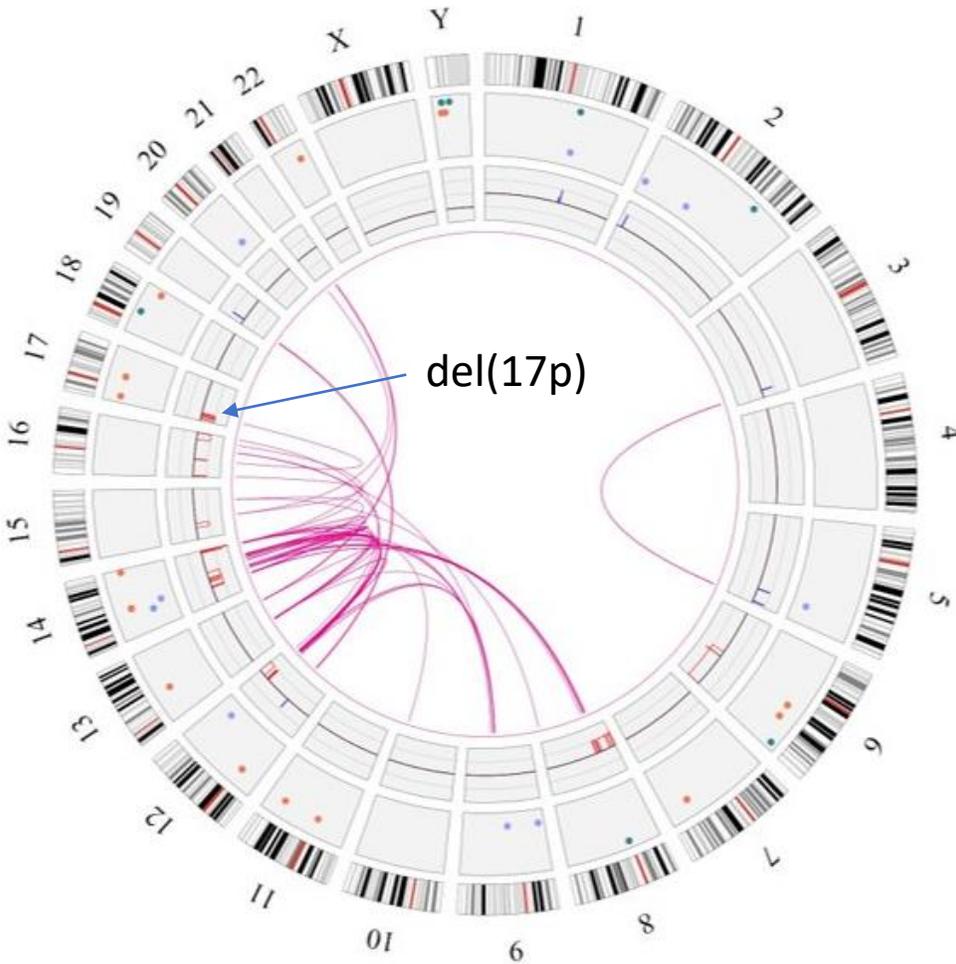
# Circos Plot - CTH-like

N. Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
CTH like	+	+	+		+								



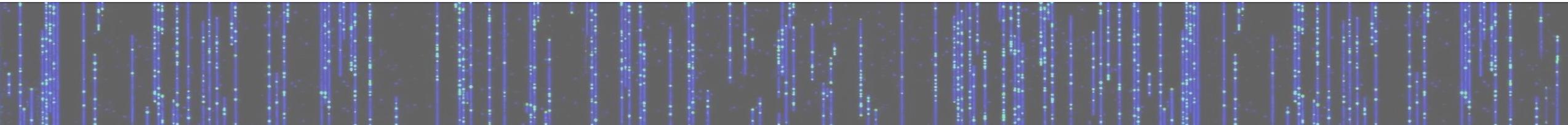
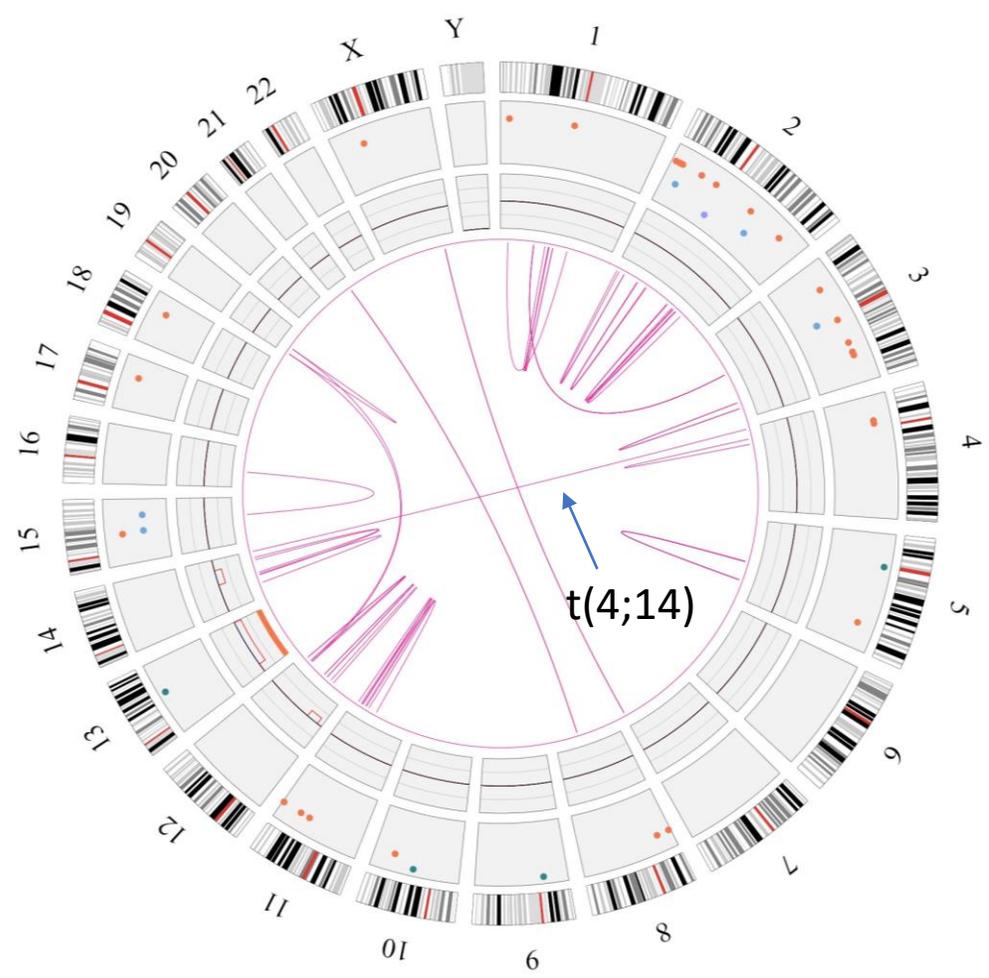
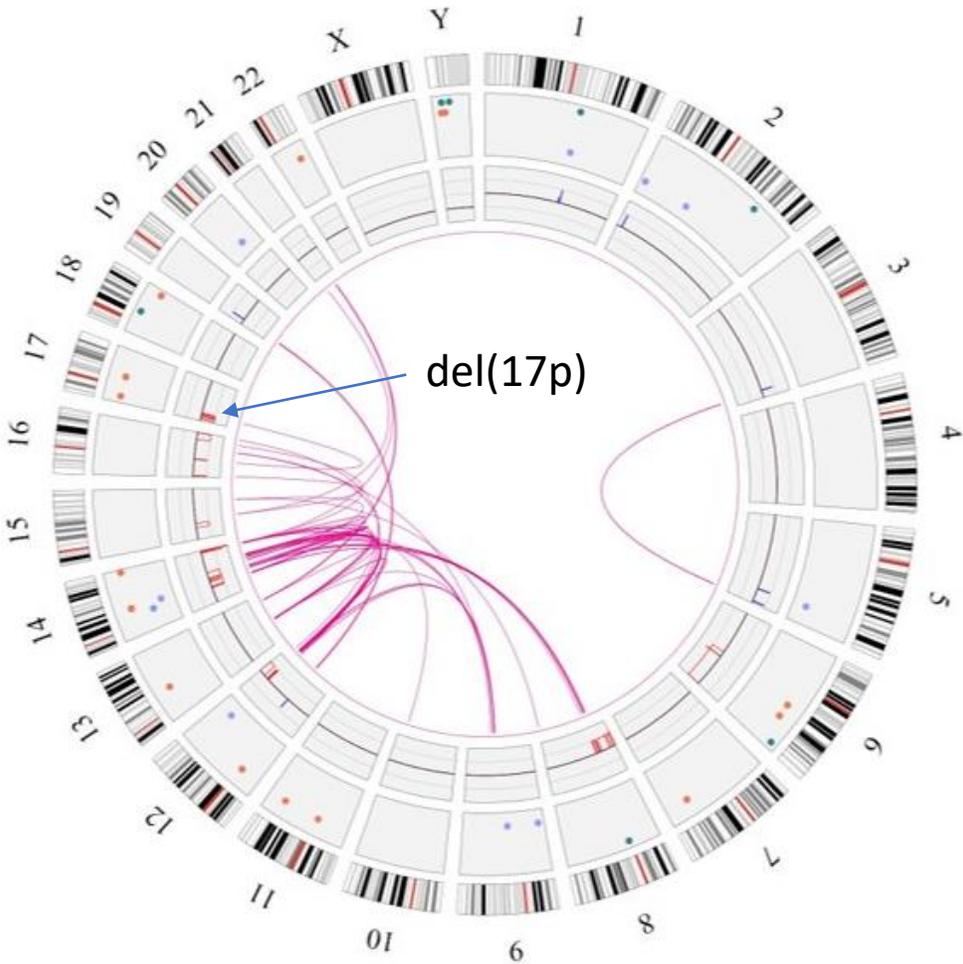
# Circos Plot - CTH-like

N. Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
CTH like	+	+	+		+								



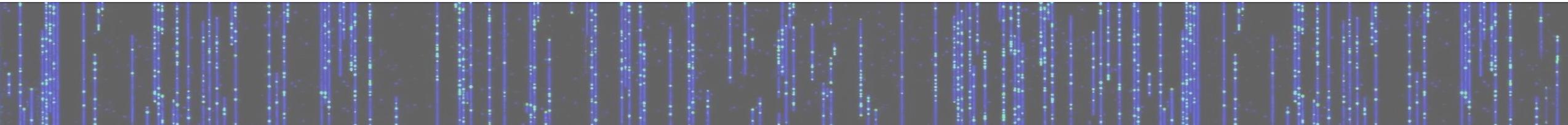
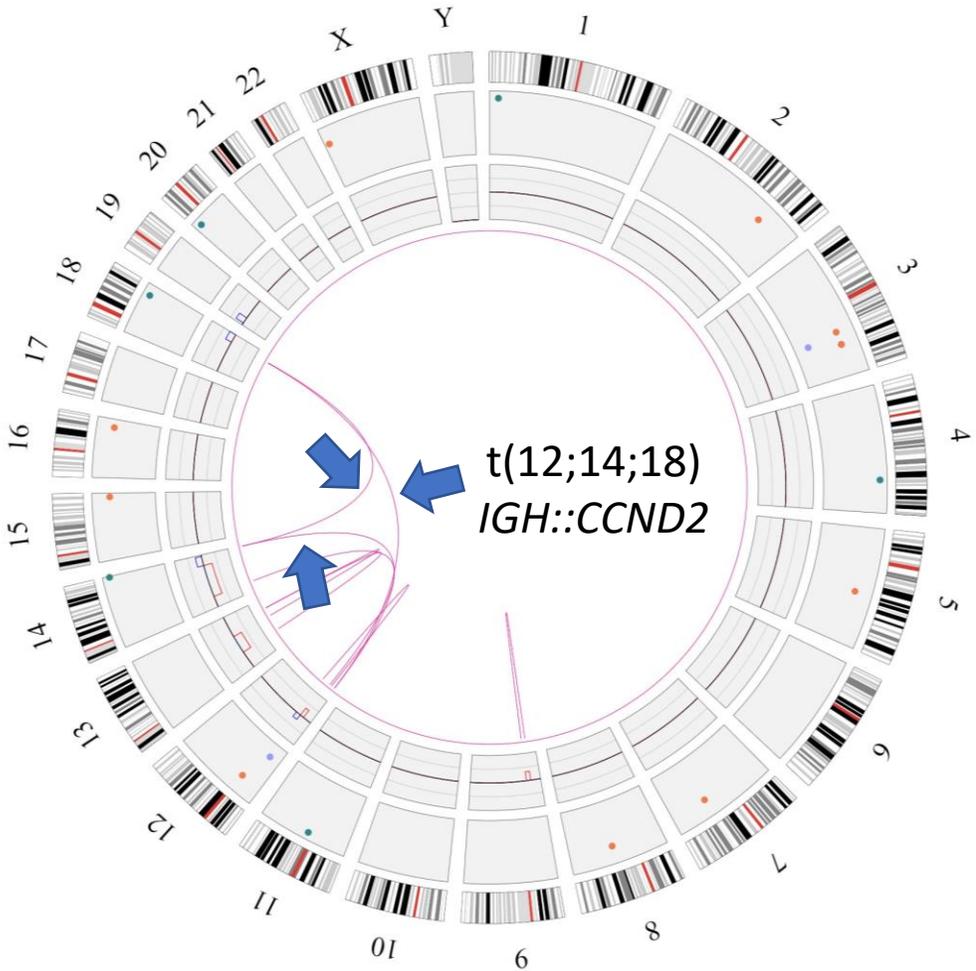
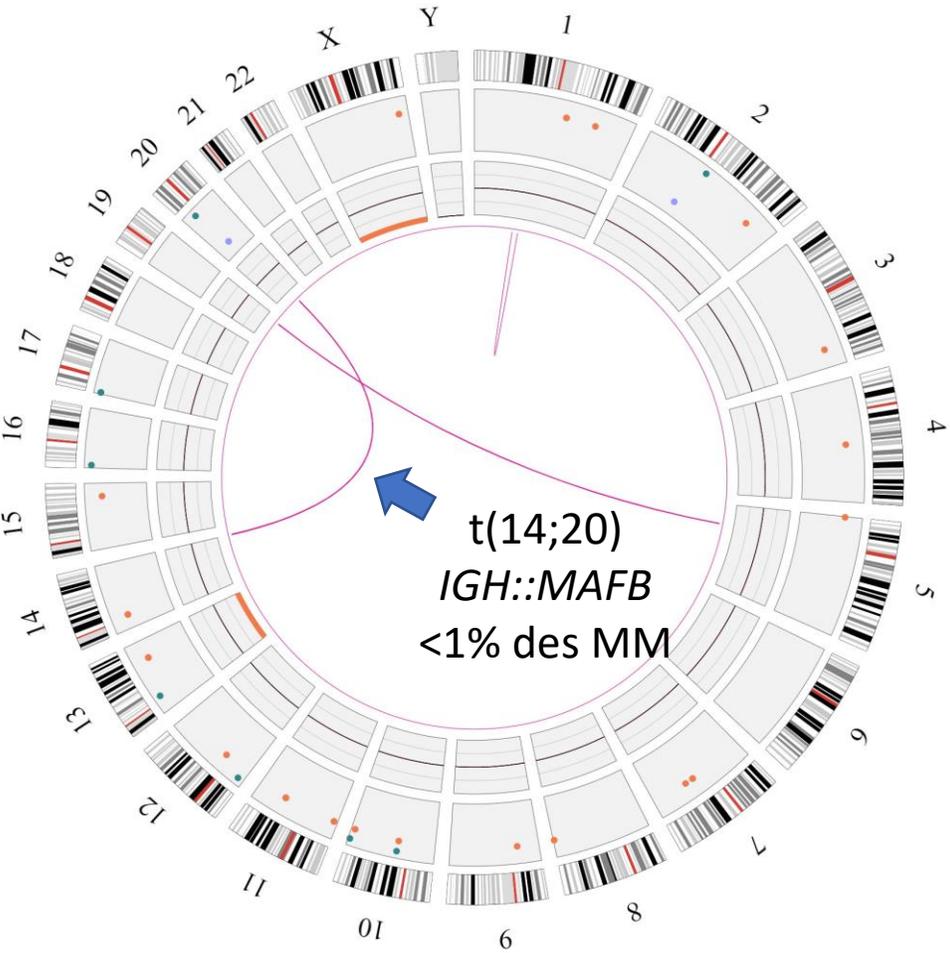
# Circos Plot - CTH-like

N. Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
CTH like	+	+	+		+								



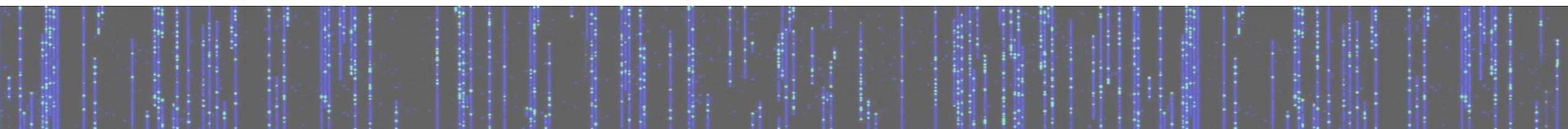
# Circos Plot – t(IGH)

N. Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
t(IGH)			+		+		+		+	+	+		



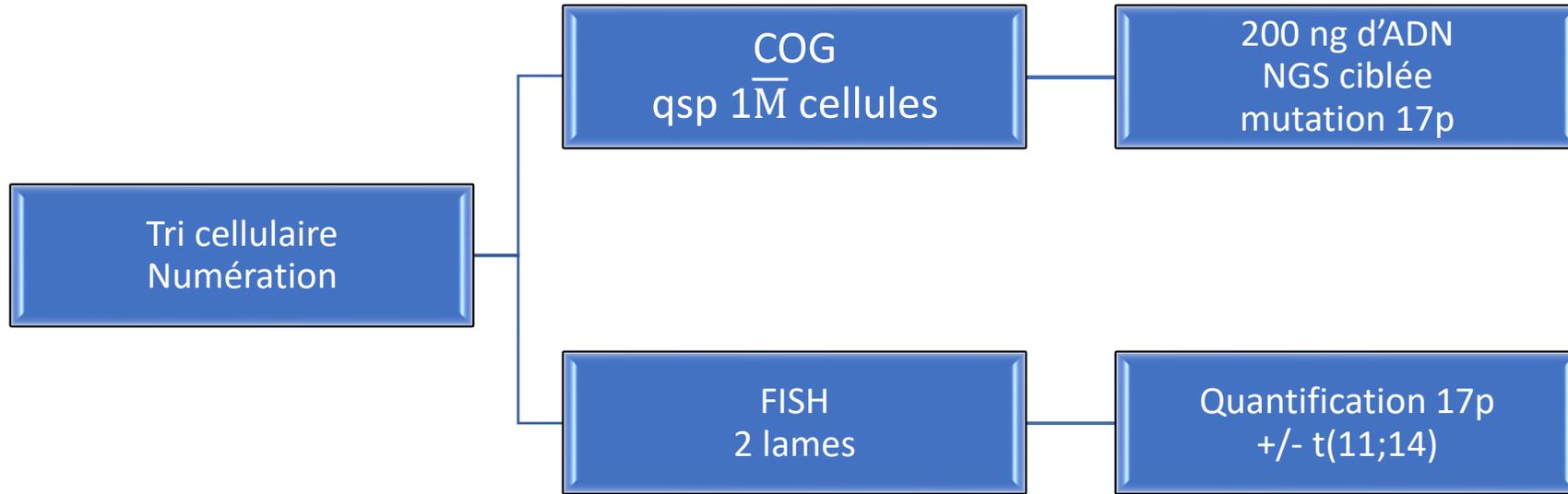
# Conclusion

- Problématique : Pauvreté du matériel d'analyse pour le Myélome Multiple
  - Validation de la technique pour  $1.10^6$  de cellules
  - Possibilité de descendre jusqu'à 50% de plasmocytes avec un seuil de détection à 20%
- Outil pangénomique additionnel
  - Détection de nombreuses autres anomalies non recherchées en FISH
    - Hyperdiploïdie
    - Autres translocations d'intérêt (ex: t(14;20), translocation *MYC*)
    - Chromothripsis-*like*
  - Nouvelles valeurs pronostiques pour les anomalies récurrentes décrites



# Conclusion

➤ Proposition d'un nouveau processus d'analyses



# Remerciements

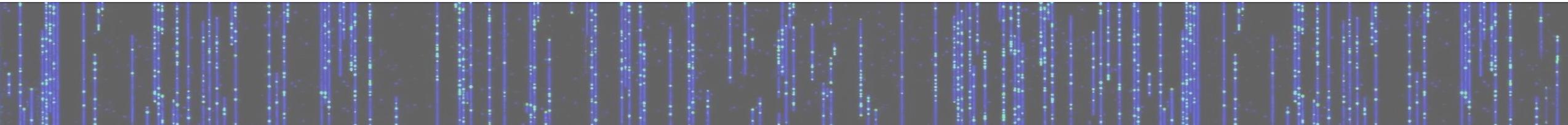
- L'équipe de l'Institut de Génétique Médicale (CHU Lille)

- Pr Roche-Lestienne
- Dr Daudignon
- Dr Guermouche-Flament
- Dr Roynard
- Et tous nos collègues du laboratoire

- Le support Bionano

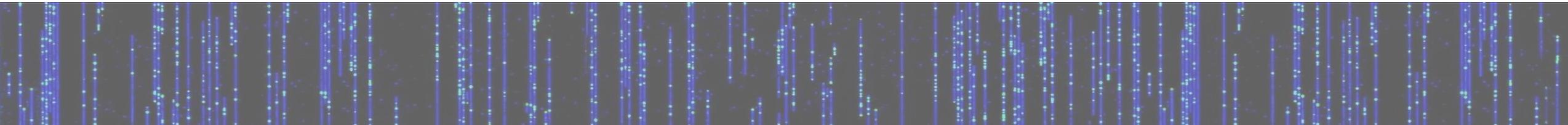
- Les laboratoires pour leurs échantillons

- Centre Henri Becquerel
  - Dr Penther
- CH de Versailles
  - Dr Terré
- Groupe Biomnis
  - Dr Quilichini
  - Dr Petit
  - Mme Roumiguieres
- Groupe Cerba
  - Dr Defasque
- CHU d'Amiens
  - Dr Lestringant

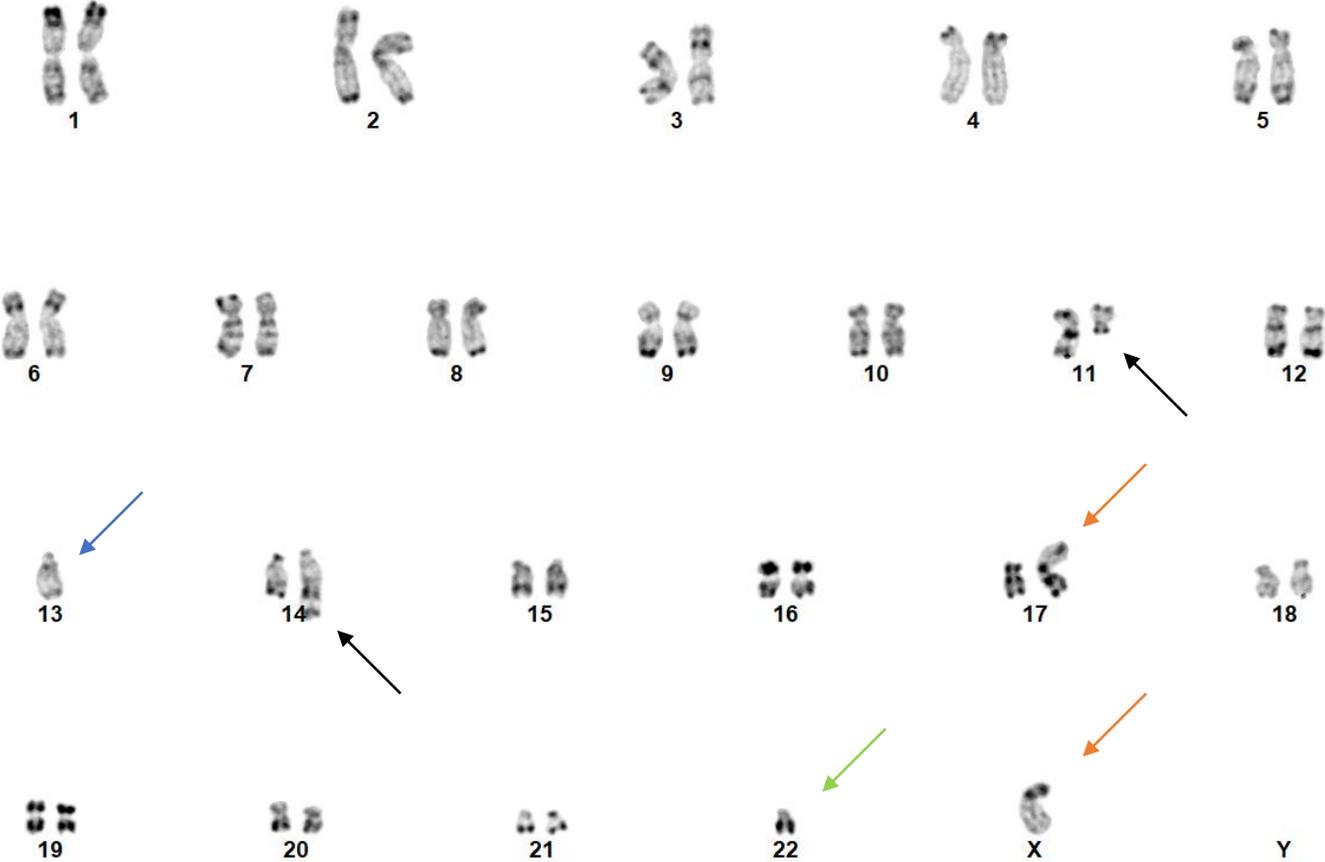




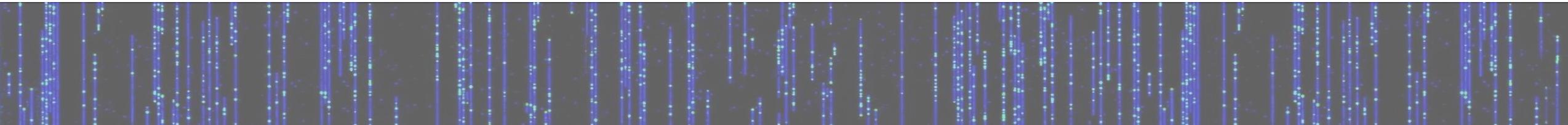
Cas particulier  $t(11;14)$



# Cas particulier t(11;14)

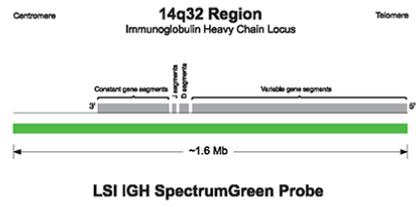
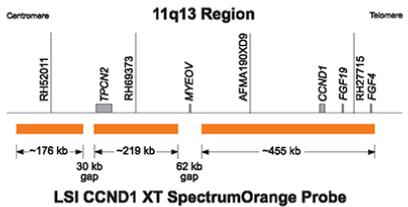
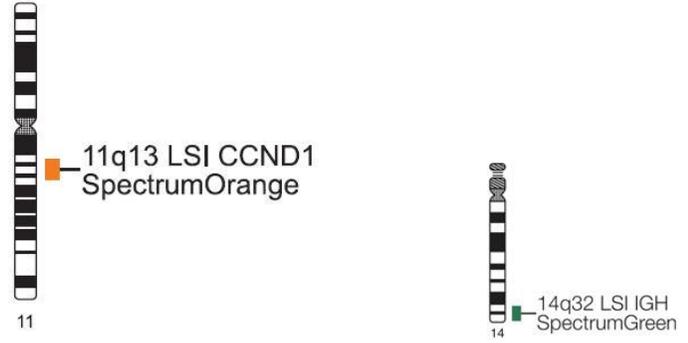
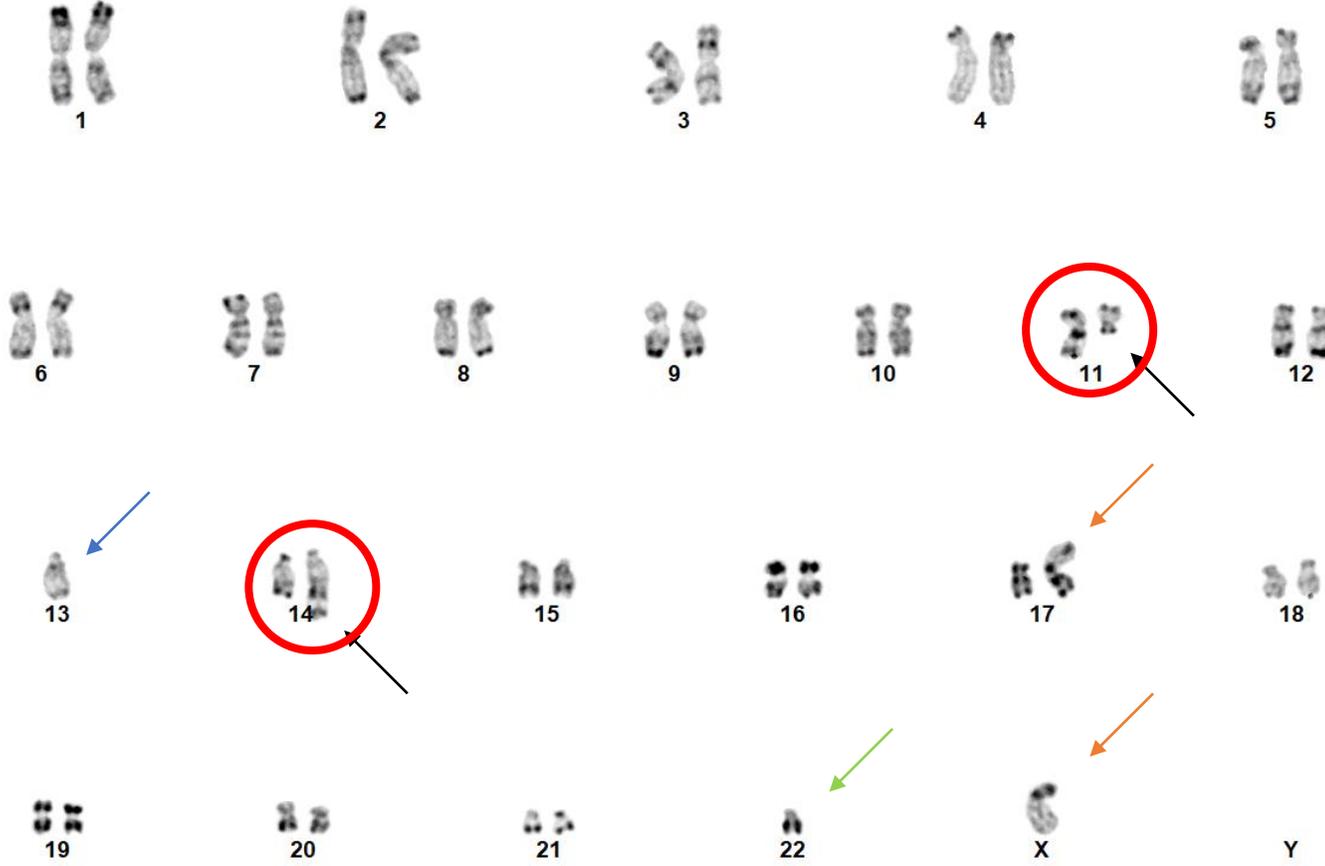


43,X,-X,t(11;14)(q13;q32),-13,add(17)(p1?)-22[5] / 46,XX[15]

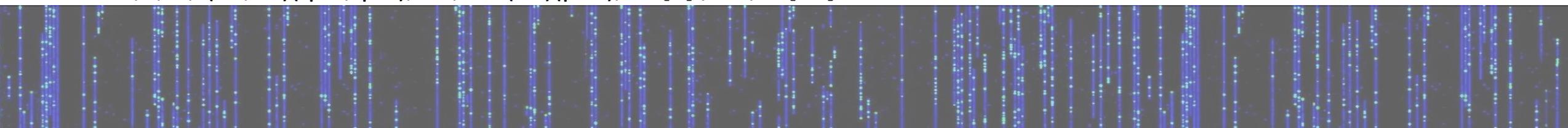


# Cas particulier t(11;14)

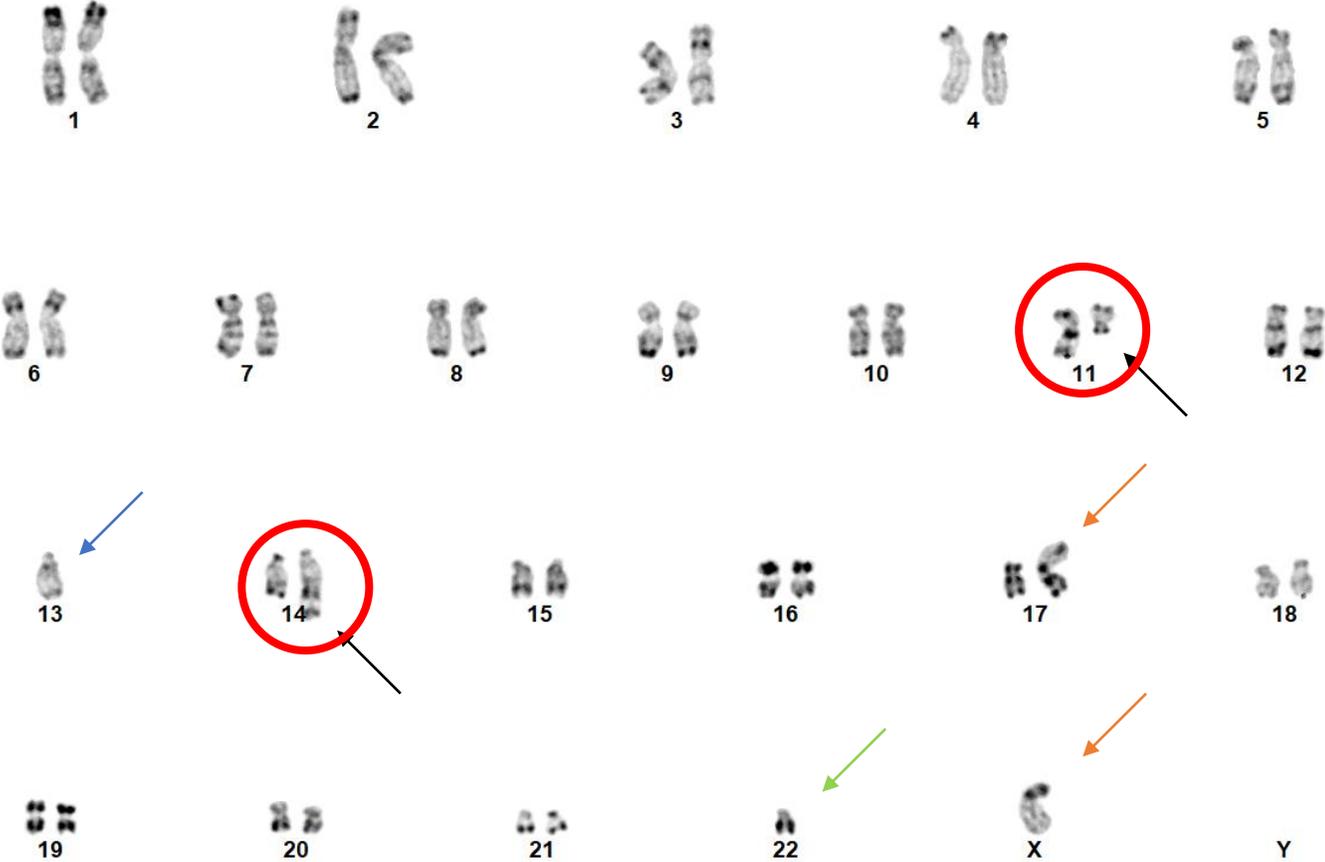
Sonde IGH/CCND1  
translocation double couleur  
Vysis-Abbott



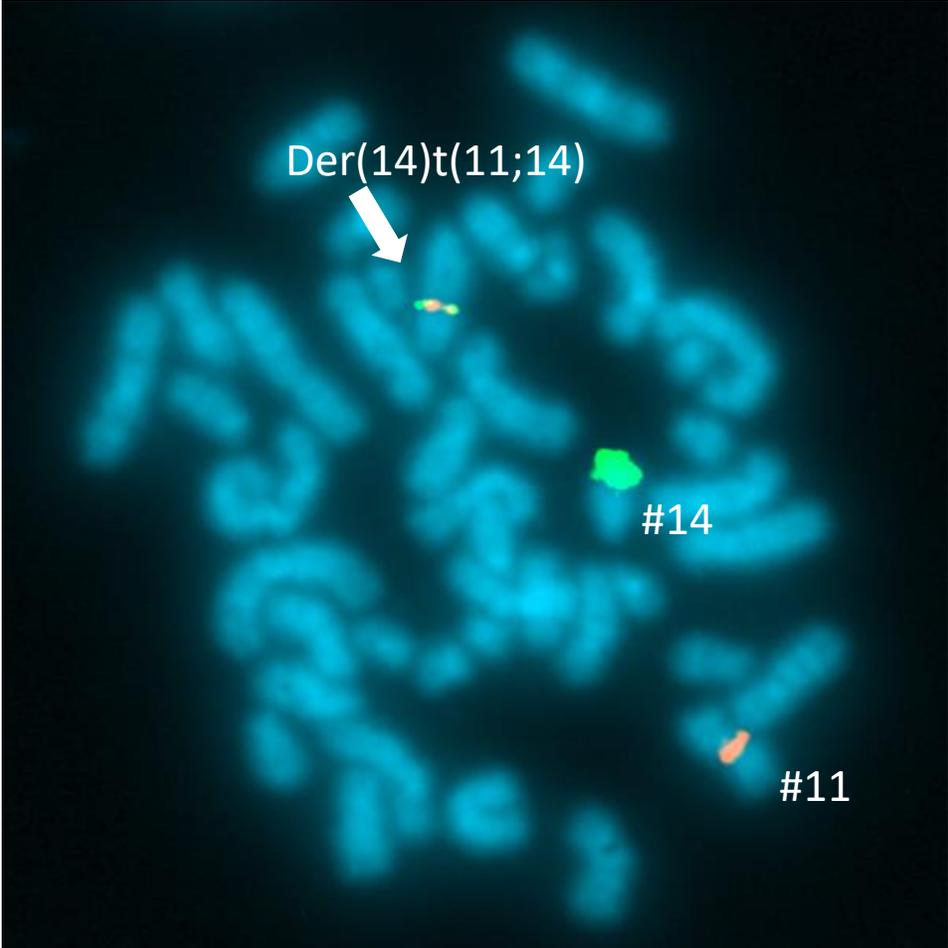
43,X,-X,t(11;14)(q13;q32),-13,add(17)(p1?),-22[5] / 46,XX[15]



# Cas particulier t(11;14)



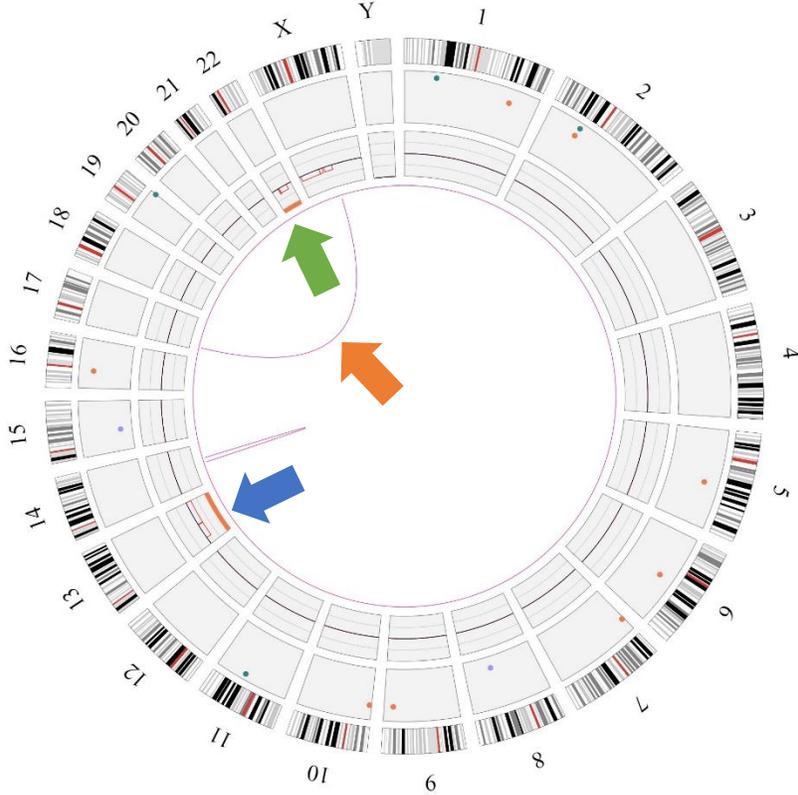
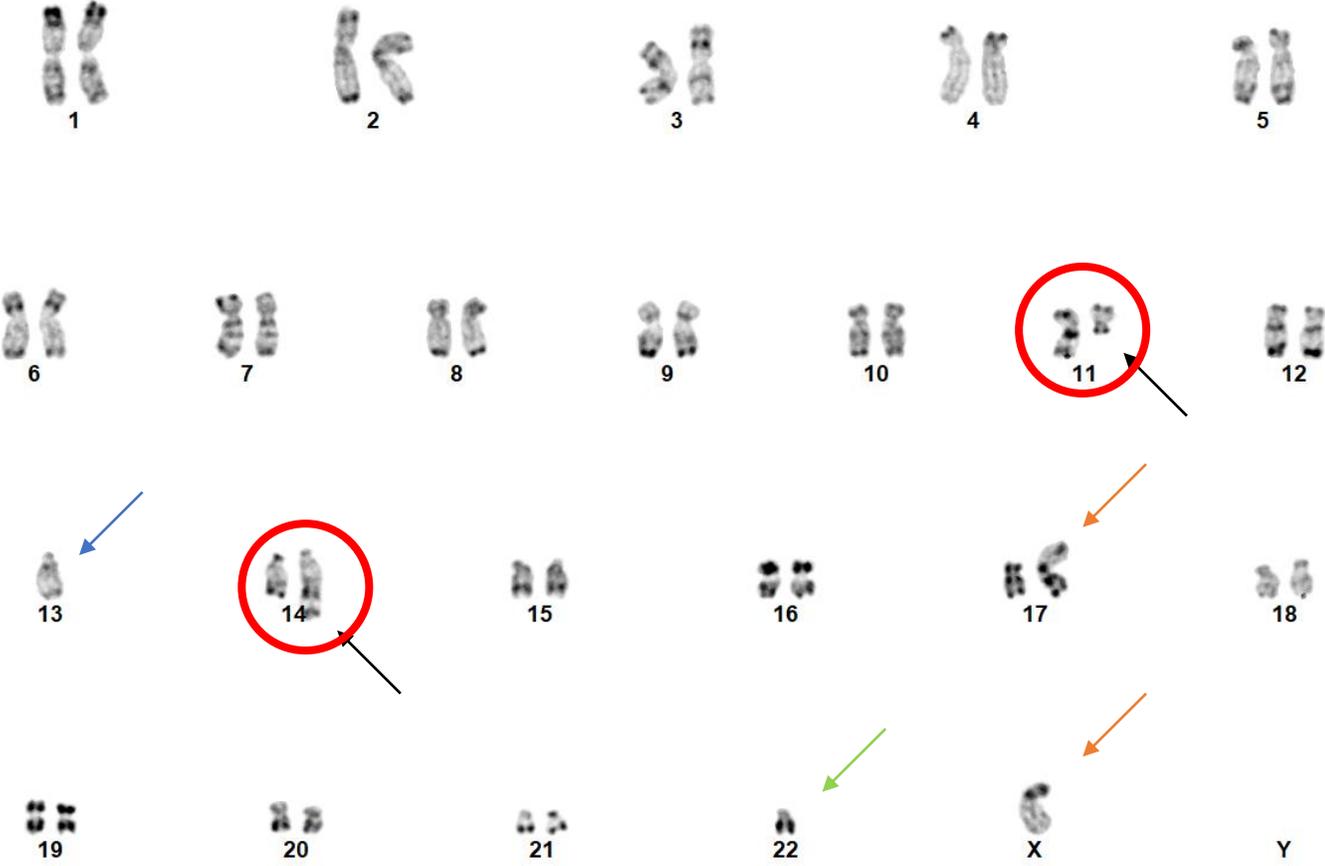
Sonde IGH/CCND1  
translocation double couleur  
Vysis-Abbott



43,X,-X,t(11;14)(q13;q32),-13,add(17)(p1?)-,22[5] / 46,XX[15]



# Cas particulier t(11;14)



43,X,-X,t(11;14)(q13;q32),-13,add(17)(p1?)-22[5] / 46,XX[15]

