

Quoi de neuf dans le diagnostic des lymphomes ?

Pierre sujobert

Hospices Civils de Lyon

Journées de l'Innovation en Biologie – 1^{er} décembre 2021



Quels sont les principaux enjeux ?

Faire un diagnostic correct et choisir le traitement adéquat

Mesurer la réponse au traitement

Accompagner les innovations thérapeutiques

Quels sont les principales techniques ?

Faire un diagnostic correct et choisir le traitement adéquat : **intelligence artificielle, génomique, transcriptomique**

Mesurer la réponse au traitement : **ctDNA**

Accompagner les innovations thérapeutiques : **cytométrie en flux, biologie moléculaire**

Quels sont les principales techniques ?

Faire un diagnostic correct et choisir le traitement adéquat : **intelligence artificielle, génomique, transcriptomique**

Mesurer la réponse au traitement : **ctDNA**

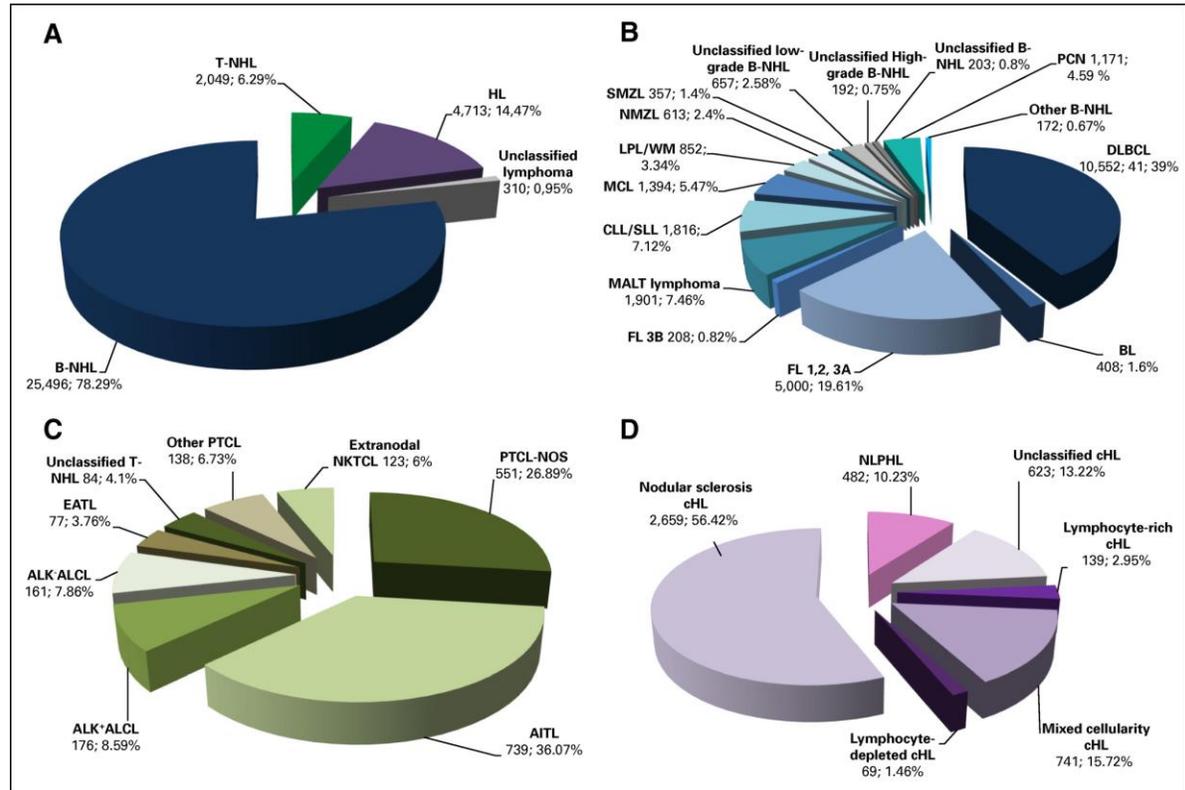
Accompagner les innovations thérapeutiques : **cytométrie en flux, biologie moléculaire**

Faire un diagnostic correct : état des lieux

Une nosologie complexe

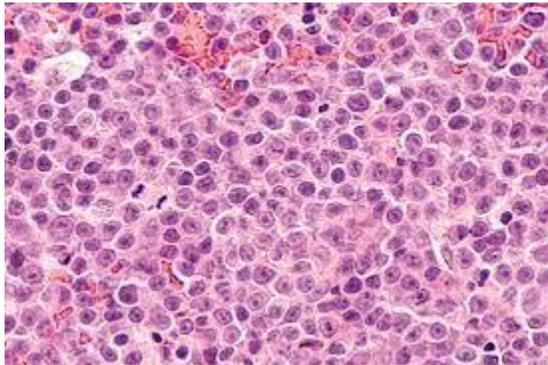
Mature B-cell neoplasms	Mature T and NK neoplasms
Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma	T-cell prolymphocytic leukemia
Monoclonal B-cell lymphocytosis*	T-cell large granular lymphocytic leukemia
B-cell prolymphocytic leukemia	Chronic lymphoproliferative disorder of NK cells
Splenic marginal zone lymphoma	Aggressive NK-cell leukemia
Hairy cell leukemia	Systemic EBV ⁺ T-cell lymphoma of childhood*
Splenic B-cell lymphoma/leukemia, unclassifiable	Hydroa vacciniforme-like lymphoproliferative disorder*
Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma	Adult T-cell leukemia/lymphoma
Hairy cell leukemia-variant	Extranodal NK-/T-cell lymphoma, nasal type
Lymphoplasmacytic lymphoma	Enteropathy-associated T-cell lymphoma
Waldenström macroglobulinemia	
Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), IgM*	
μ heavy-chain disease	
γ heavy-chain disease	
α heavy-chain disease	
Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), IgG/A*	
Plasma cell myeloma	
Solitary plasmacytoma of bone	
Extramedullary plasmacytoma	
Monoclonal immunoglobulin deposition diseases*	
Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)	
Nodal marginal zone lymphoma	
Pediatric nodal marginal zone lymphoma	
Follicular lymphoma	
In situ follicular neoplasia*	
Duodenal-type follicular lymphoma*	
Pediatric-type follicular lymphoma*	
Large B-cell lymphoma with IRF4 rearrangement	
Primary cutaneous follicle center lymphoma	
Mantle cell lymphoma	
In situ mantle cell neoplasia*	
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), NOS	
Germinal center B-cell type*	
Activated B-cell type*	
T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma	
Primary DLBCL of the central nervous system (CNS)	
Primary cutaneous DLBCL, leg type	
EBV ⁺ DLBCL, NOS*	
EBV ⁺ mucocutaneous ulcer*	
DLBCL associated with chronic inflammation	
Lymphomatoid granulomatosis	
Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma	
Intravascular large B-cell lymphoma	
ALK ⁺ large B-cell lymphoma	
Plasmablastic lymphoma	
Primary effusion lymphoma	
HHV8 ⁺ DLBCL, NOS*	
Burkitt lymphoma	
Burkitt-like lymphoma with 11q aberration*	
High-grade B-cell lymphoma, with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements*	
High-grade B-cell lymphoma, NOS*	
B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and classical Hodgkin lymphoma	
	Monomorphic epitheliotropic intestinal T-cell lymphoma*
	Indolent T-cell lymphoproliferative disorder of the GI tract*
	Hepatosplenic T-cell lymphoma
	Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma
	Mycosis fungoides
	Sézary syndrome
	Primary cutaneous CD30 ⁺ T-cell lymphoproliferative disorders
	Lymphomatoid papulosis
	Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma
	Primary cutaneous γδ T-cell lymphoma
	Primary cutaneous CD8 ⁺ aggressive epidermotropic cytotoxic T-cell lymphoma
	Primary cutaneous acral CD8 ⁺ T-cell lymphoma*
	Primary cutaneous CD4 ⁺ small/medium T-cell lymphoproliferative disorder*
	Peripheral T-cell lymphoma, NOS
	Angioimmunoblastic T-cell lymphoma
	Follicular T-cell lymphoma*
	Nodal peripheral T-cell lymphoma with TFH phenotype*
	Anaplastic large-cell lymphoma, ALK ⁺
	Anaplastic large-cell lymphoma, ALK ⁻ *
	Breast implant-associated anaplastic large-cell lymphoma*
	edgkin lymphoma
	Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma
	Classical Hodgkin lymphoma
	Nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma
	Lymphocyte-rich classical Hodgkin lymphoma
	Mixed cellularity classical Hodgkin lymphoma
	Lymphocyte-depleted classical Hodgkin lymphoma
	stromal lymphoproliferative disorders (PTLD)
	Plasmacytic hyperplasia PTLD
	infectious mononucleosis PTLD
	Florid follicular hyperplasia PTLD*
	Polymorphic PTLD
	Monomorphic PTLD (B- and T-/NK-cell types)
	Classical Hodgkin lymphoma PTLD
	stiocytic and dendritic cell neoplasms
	-histiocytic sarcoma
	Langerhans cell histiocytosis
	Langerhans cell sarcoma
	Indeterminate dendritic cell tumor
	interdigitating dendritic cell sarcoma
	Follicular dendritic cell sarcoma
	Fibroblastic reticular cell tumor
	Disseminated juvenile xanthogranuloma
	Erdheim-Chester disease*

Provisional entities are listed in italics.
*Changes from the 2008 classification.

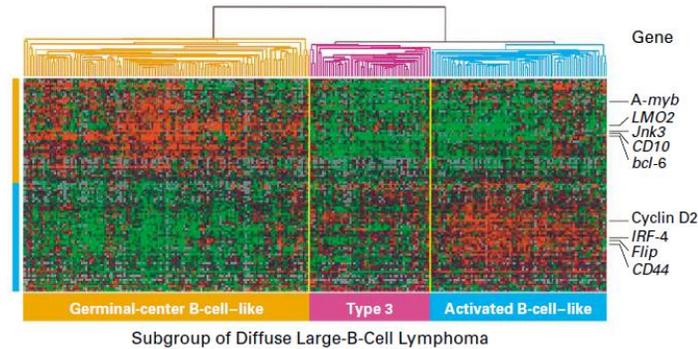


“A diagnostic change between referral and expert review occurred in 19.7% of patients, with an estimated impact on patient care for 17.4% of patients.”

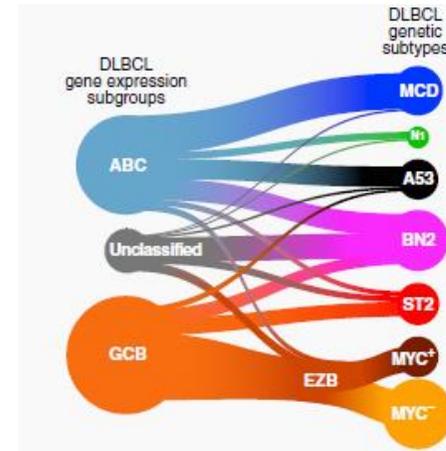
Faire un diagnostic correct : une nosologie évolutive



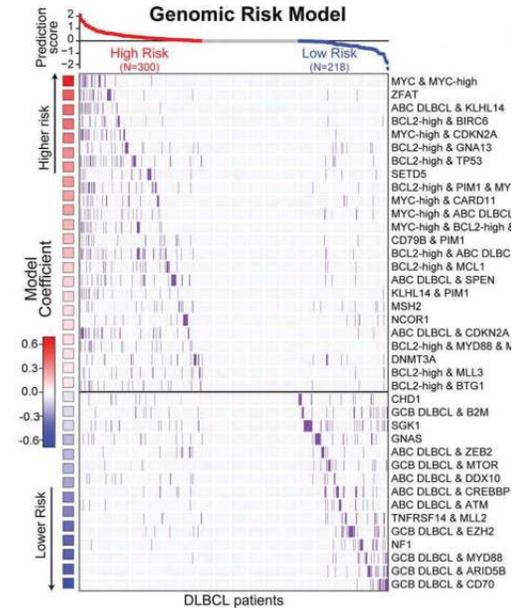
20th century
morphology



2000-2018
transcriptomics : cell of origin
Germinal center vs Activated B cell

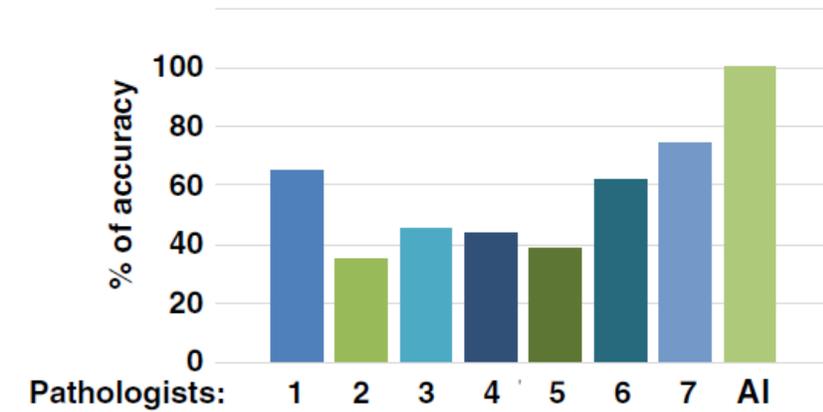
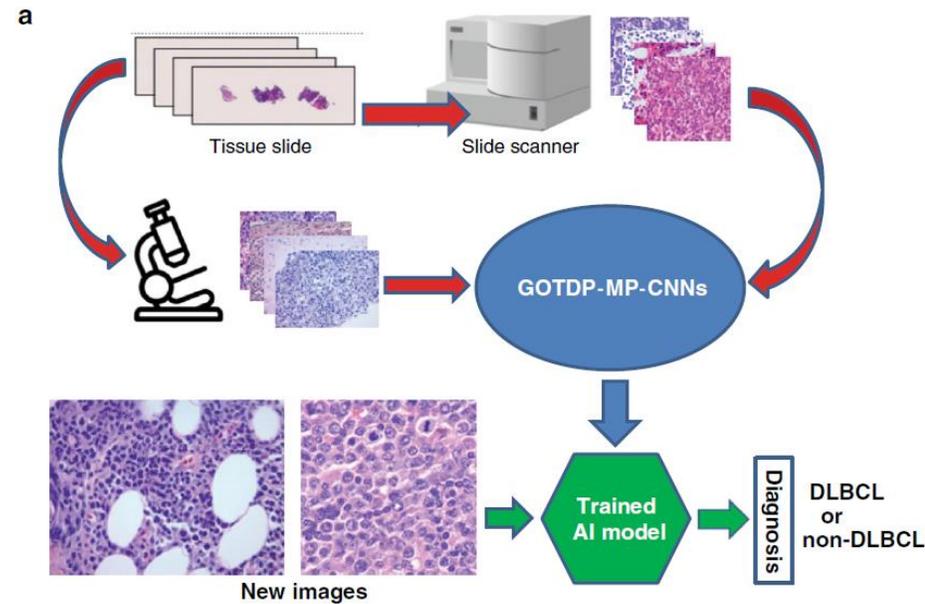
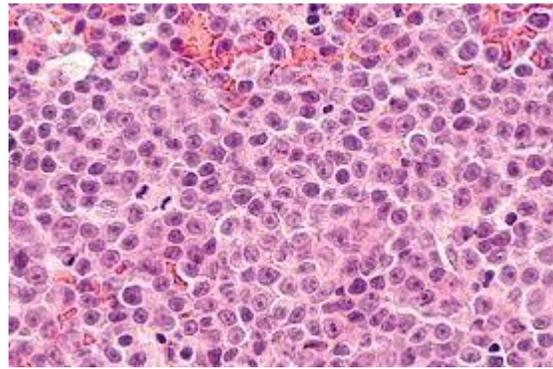


2018-...
genomics : driver mutations



Alizadeh, Nature 2000
Reddy, Cell 2017
Chapuy, Nat med 2018
Shmitz, NEJM 2018
Wright, Cancer Cell 2020

Faire un diagnostic correct : l'avènement de l'IA ?

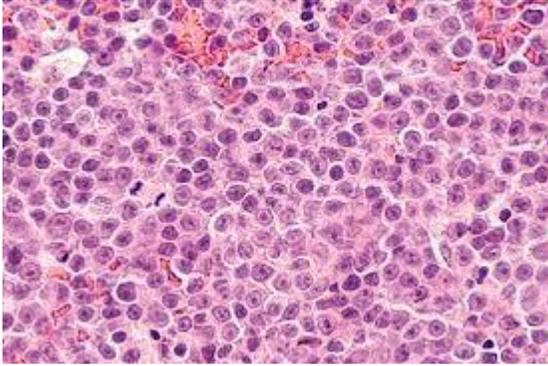


Intéressant, mais à valider sur cohortes externes...

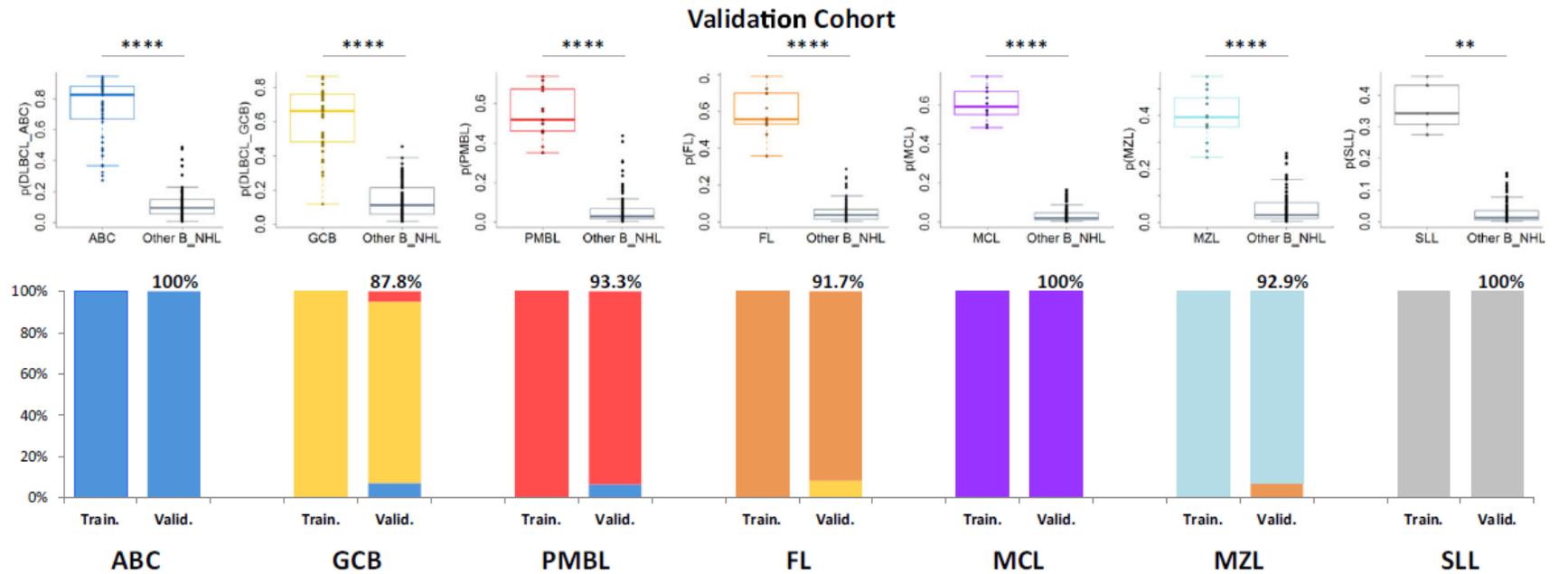
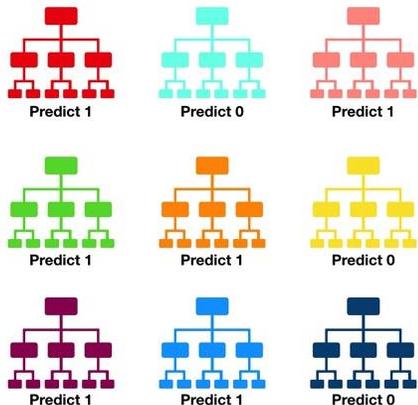
Nombreuses limites de l'IA :

- Performances en vie réelle (qualité des images, capacité à diagnostiquer les cas rarissimes)
- Evolutivité
- Aspects juridiques, éthiques, écologiques
- ...

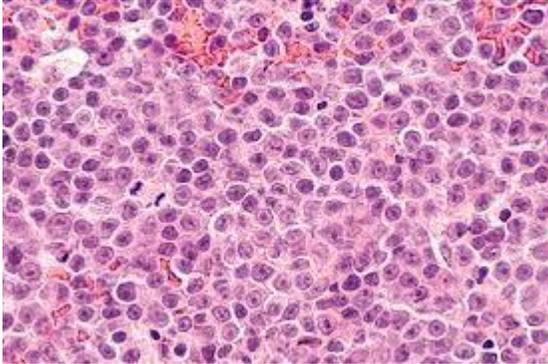
Faire un diagnostic correct : l'avènement de l'IA (2) ?



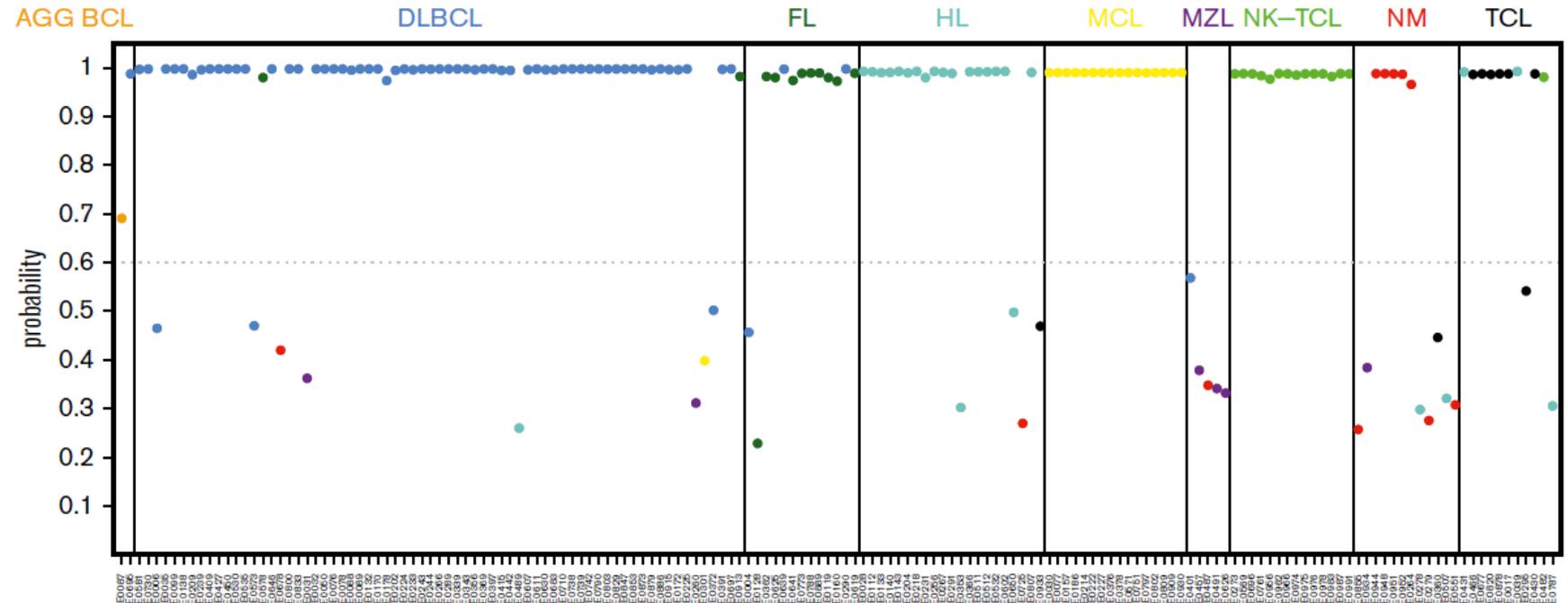
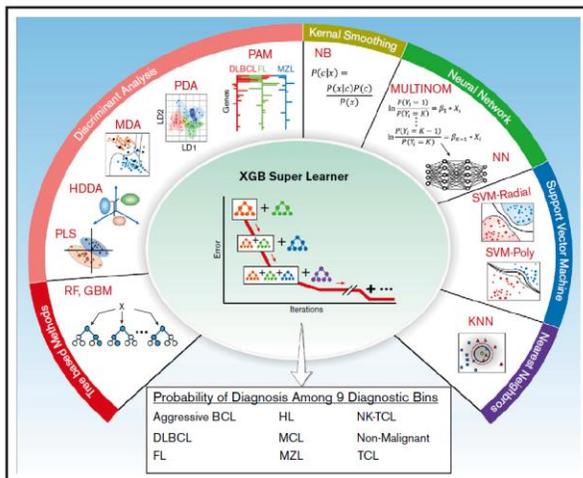
Mesure de l'expression de 130 ARNm (RT-MLPA-NGS)
Random forest



Faire un diagnostic correct : l'avènement de l'IA (3) ?

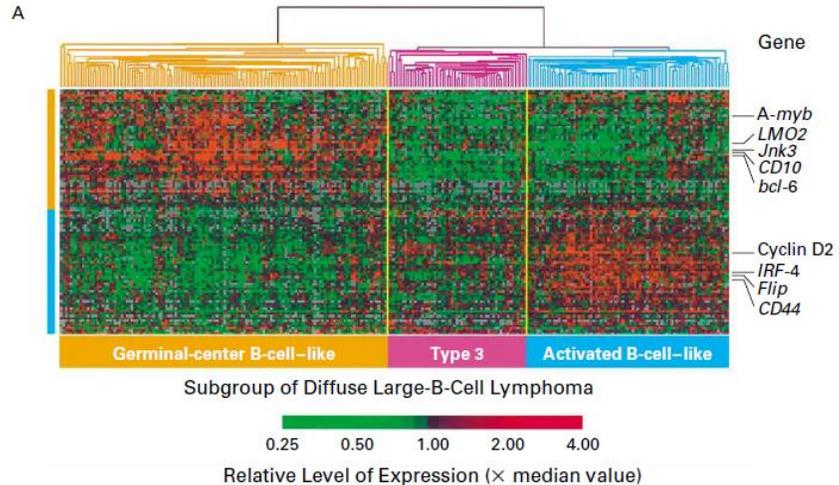


Mesure de l'expression de 37 ARNm (CLPA, ≈10\$)



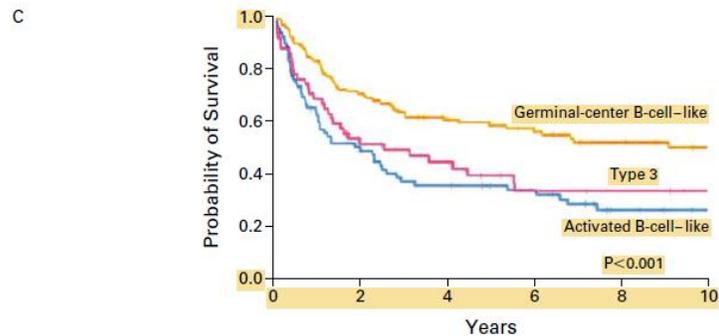
83% des patients ont un niveau de confiance supérieur à 60% :
accuracy 94%

Faire un diagnostic correct : comment déterminer la cellule d'origine ?



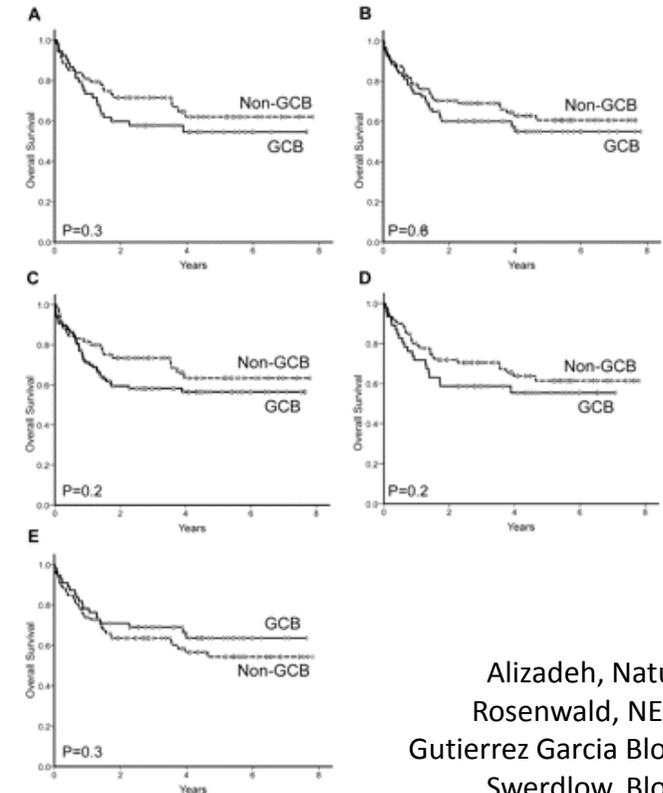
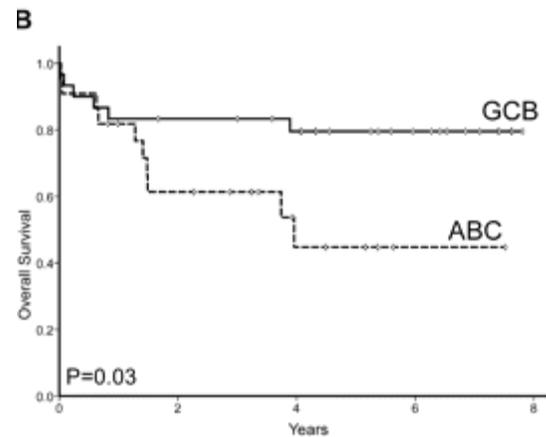
B

Oncogenic Abnormality	Germinal-center B-cell-like	Type 3	Activated B-cell-like
	no. of samples		
<i>c-rel</i> amplification	17	0	0
<i>bcl-2</i> t(14;18)	26	0	0



Il existe différents types de lymphomes B diffus à grandes cellules qui n'ont pas la même physiopathologie et pas le même pronostic.

L'immunohistochimie n'est pas suffisamment performante pour les identifier.



Alizadeh, Nature 2000
Rosenwald, NEJM 2002
Gutierrez Garcia Blood 2011
Swerdlow, Blood 2016

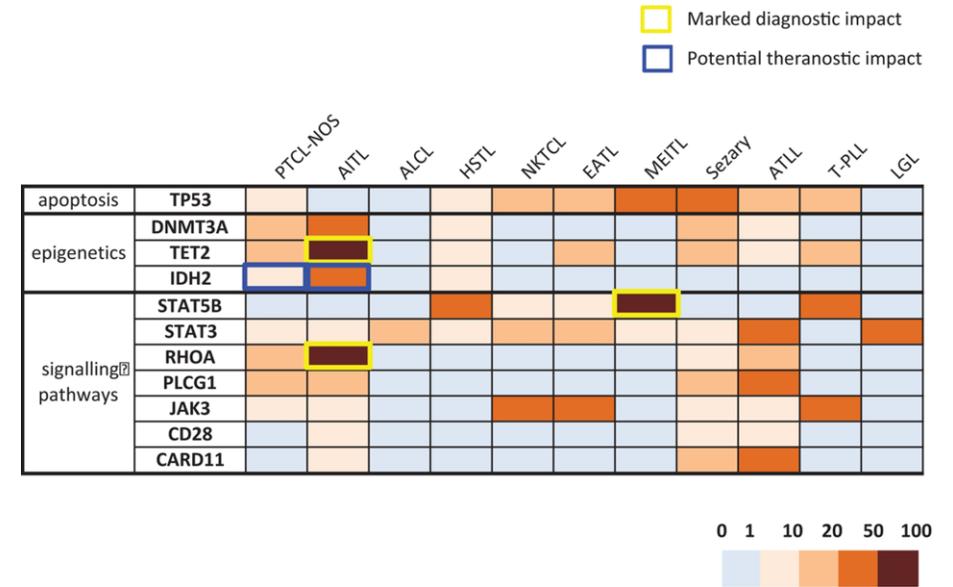
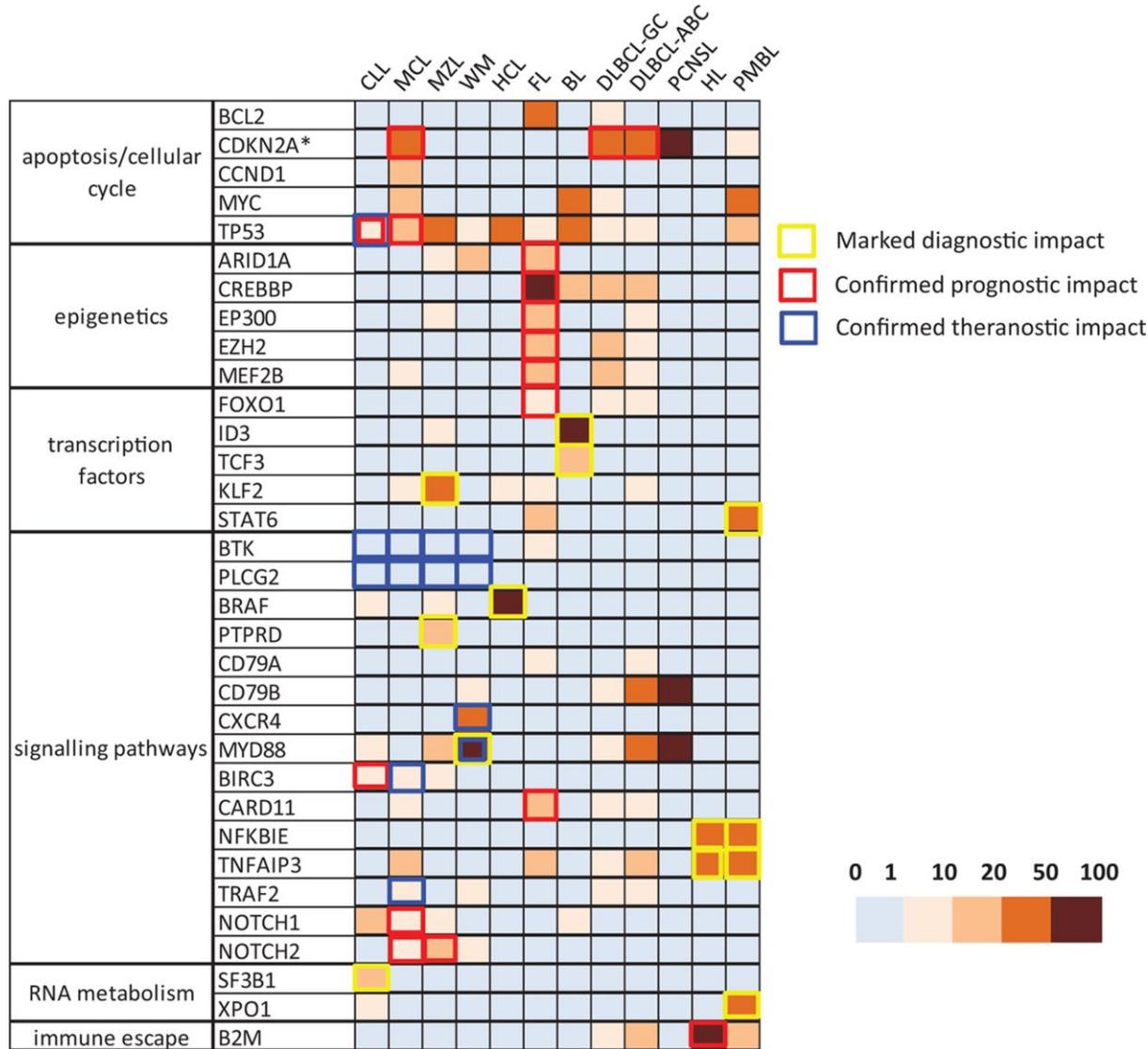
Faire un diagnostic correct : comment déterminer la cellule d'origine ?

Table 1
Comparative analysis of the different techniques available to determine the cell of origin in diffuse large B-cell lymphoma

	Microarray	IHC	Lymp2Cx	DASL	RT-MLPA
FFPE compatible	No	Yes	Yes	Yes	Yes
Accuracy	Gold standard	Poor	Very high	Undetermined	Very high
Reproducibility	High	Low	High	Undetermined	Undetermined
Feasibility in daily use	No	Yes	Yes	Yes	Yes
Cost	High	Low	High	High	Medium

Abbreviations: DASL, cDNA-mediated Annealing, Selection, extension and Ligation; FFPE, formalin-fixed paraffin-embedded; IHC, immunohistochemistry; Lymp2Cx, Nanostring 20-gene signature; RT-MLPA, Reverse transcription multiplex ligation-dependent probe amplification.

Faire un diagnostic correct : quelle place pour le NGS ?



Faire un diagnostic correct : quelle place pour le WES/WGS ?



Cancers	Cancers de l'adulte	GBMHM	<u>Leucémies aiguës réfractaires ou en rechute chez l'adulte</u>
Cancers	Cancers de l'adulte	GBMHM LYSA	<u>Lymphomes B diffus à grandes cellules en rechute ou réfractaires (Page en travaux)</u>
Cancers	Cancers de l'adulte	GBMHM LYSA	<u>Lymphomes de diagnostic incertain (Page en travaux)</u>
Cancers	Cancers de l'adulte	GFCO SCOPP	<u>Cancers avancés en échec thérapeutique</u>
Cancers	Cancers de l'adulte	GFCO SCOPP	<u>Cancers de primitif inconnu</u>
Cancers	Cancers de l'adulte	GFCO SCOPP	<u>Cancers rares</u>
Cancers	Cancers pédiatriques	SFCE	<u>Cancers et leucémies pédiatriques au diagnostic</u>

Quels sont les principales techniques ?

Faire un diagnostic correct et choisir le traitement adéquat : **intelligence artificielle, génomique, transcriptomique**

Mesurer la réponse au traitement : **ctDNA**

Accompagner les innovations thérapeutiques : **cytométrie en flux, biologie moléculaire**

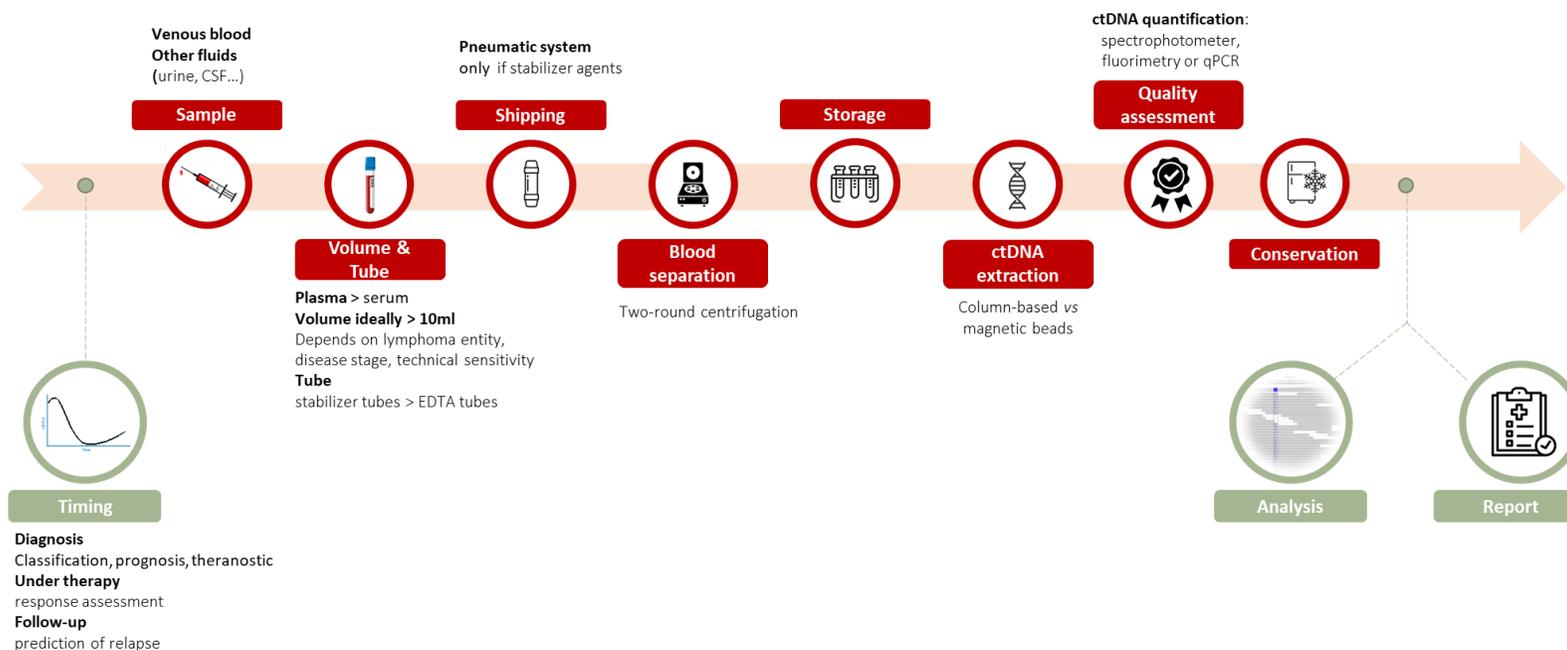
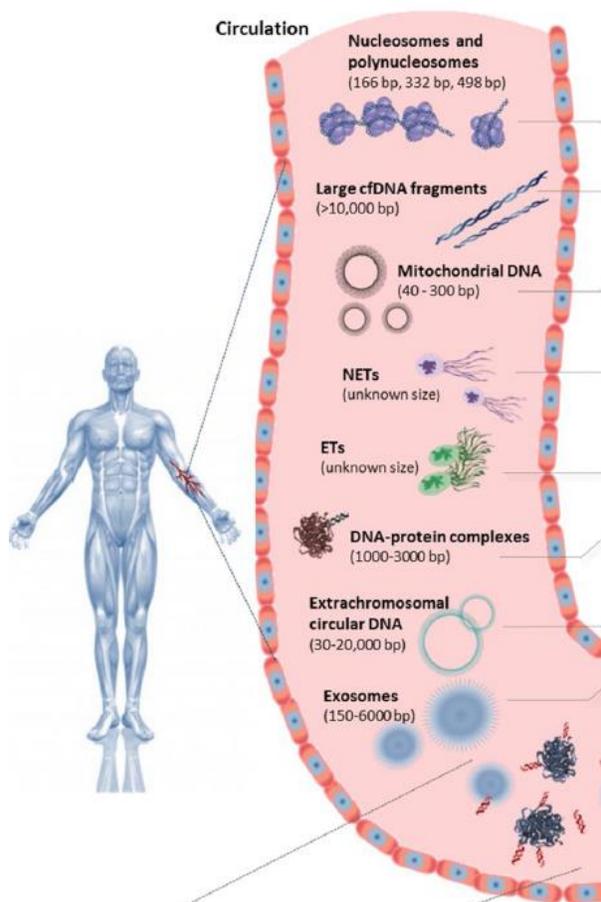
Mesurer la réponse au traitement : l'ADN tumoral circulant

Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'Homme,
par P. MANDEL et P. MÉTAIS.

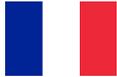
« Nous avons omis dans cette étude les cas de leucémie et de cancer dans lesquels nous avons observé des modifications importantes sur lesquelles nous reviendrons dans un prochain travail »

« Chez une femme enceinte : cas 25, nous trouvons à deux reprises un taux nettement plus élevé. Il y a là une étude à faire que nous proposons de poursuivre »

L'analyse de l'ADN tumoral circulant n'est pas un processus simple...



Quelle technique choisir : ce qui est possible

	analyse	sensibilité	applicabilité	commentaire
Ig-HTS	VDJ	10^{-4}	+++	commercial
Capp-seq	> 300 gènes	2.10^{-5}	+++	
Lymphopanel	50 gènes	10^{-3}	+++	
Low-pass WGS	génomé	10^{-2}	+++	Recherche
ddPCR	1 mutation	10^{-4}	+/-	Low cost

Quelle technique choisir : ce qui arrive ?



Genome-wide cell-free DNA mutational integration enables ultra-sensitive cancer monitoring

Asaf Zviran^{1,2,7}, Rafael C. Schulman^{1,2,7}, Minita Shah^{1,7}, Steven T. K. Hill^{1,2}, Sunil Deochand^{1,2}, Cole C. Khamnel^{1,2}, Dillon Maloney¹, Kristofer Patel^{1,2}, Will Liao¹, Adam J. Widman^{1,2,3}, Phillip Wong³, Margaret K. Callahan³, Gavin Ha⁴, Sarah Reed⁵, Denisse Rotem⁵, Dennie Frederick⁶, Tatyana Sharova⁶, Benchun Miao⁶, Tommy Kim⁵, Greg Gydush⁵, Justin Rhoades⁵, Kevin Y. Huang^{1,2}, Nathaniel D. Omans^{1,2}, Patrick O. Bolan², Andrew H. Lipsky², Chelston Ang^{1,2}, Murtaza Malbari², Catherine F. Spinelli², Selena Kazancioğlu¹, Alexi M. Runnels¹, Samantha Fennessey¹, Christian Stolte¹, Federico Gaiti^{1,2}, Giorgio G. Inghirami², Viktor Adalsteinsson⁵, Brian Houck-Loomis¹, Jennifer Ishii¹, Jedd D. Wolchok³, Genevieve Boland⁶, Nicolas Robine¹, Nasser K. Altorki² and Dan A. Landau^{1,2}✉

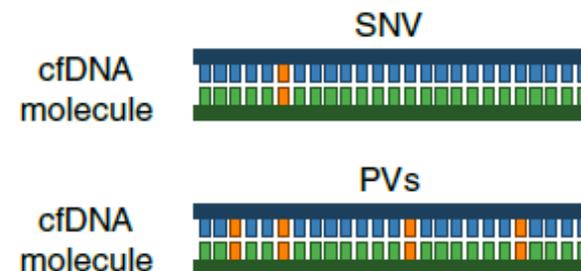
Plutôt que de séquencer un petit panel en profondeur, séquencez le génome entier de manière superficielle !



Enhanced detection of minimal residual disease by targeted sequencing of phased variants in circulating tumor DNA

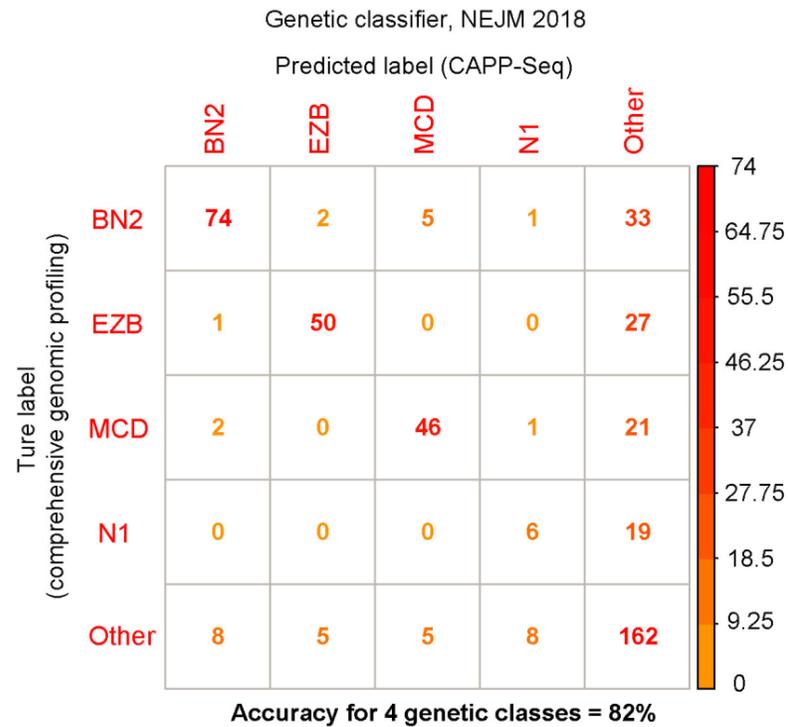
David M. Kurtz^{1,2,16}, Joanne Soo^{1,16}, Lyron Co Ting Keh¹, Stefan Alig¹, Jacob J. Chabon^{2,3,14}, Brian J. Sworder¹, Andre Schultz², Michael C. Jin¹, Florian Scherer^{1,15}, Andrea Garofalo¹, Charles W. Macaulay¹, Emily G. Hamilton⁴, Binbin Chen^{1,15}, Mari Olsen¹, Joseph G. Schroers-Martin^{1,6}, Alexander F. M. Craig¹, Everett J. Moding⁷, Mohammad S. Esfahani¹, Chih Long Liu¹, Ulrich Dührsen⁸, Andreas Hüttmann⁸, René-Olivier Casasnovas⁹, Jason R. Westin¹⁰, Mark Roschewski¹¹, Wyndham H. Wilson¹¹, Gianluca Gaidano¹², Davide Rossi¹³, Maximilian Diehn^{2,3,7}✉ and Ash A. Alizadeh^{1,2,3,6}✉

Analyse spécifique des variants de phase

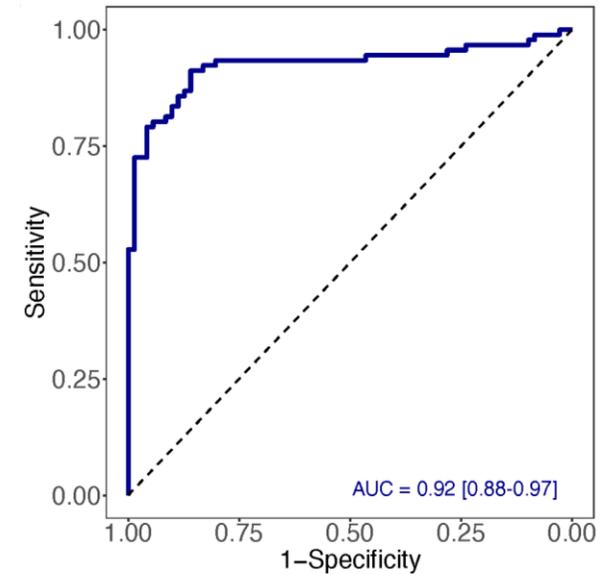


A quoi peut servir le ctDNA dans les lymphomes : à améliorer le diagnostic

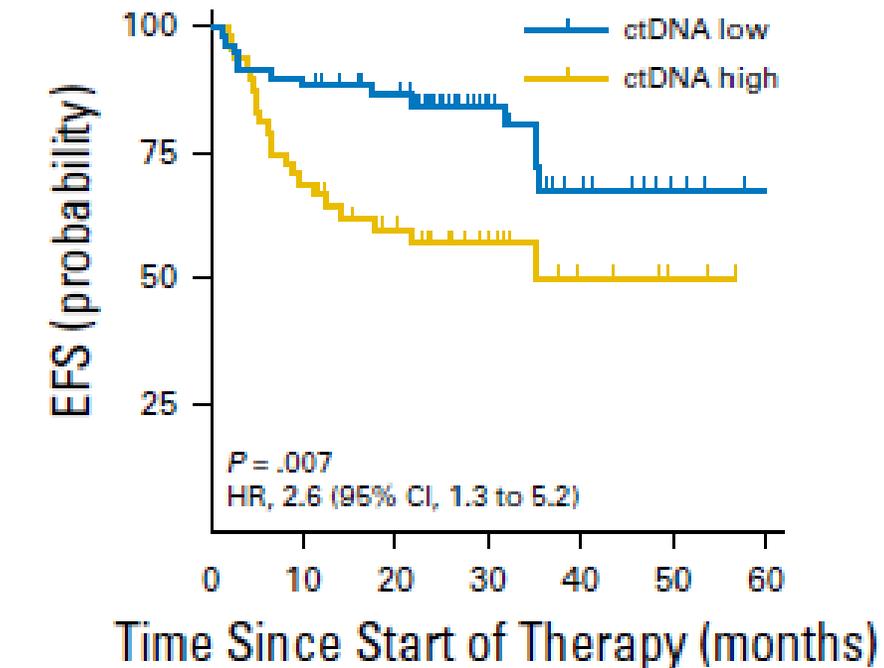
Classification à partir des mutations drivers



Classification à partir des profils d'expression inférés par l'analyse des fragments de ctDNA (EPIC-seq)



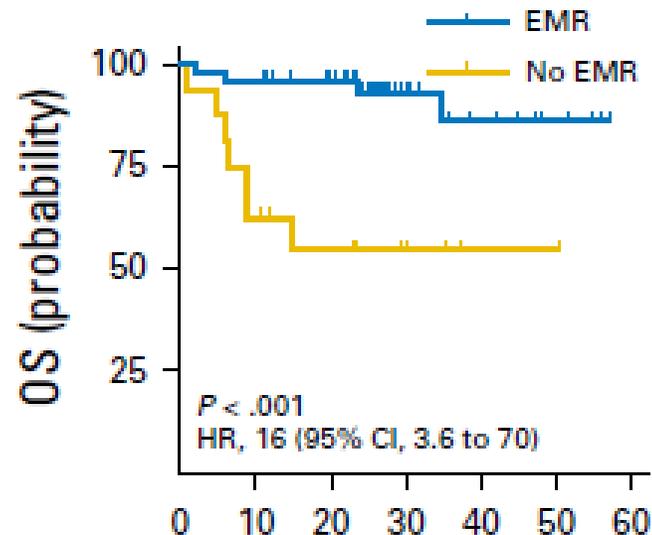
A quoi peut servir le ctDNA dans les lymphomes : à déterminer le pronostic



No. at risk:

ctDNA low	60	53	47	23	10	4	1
ctDNA high	48	33	25	13	5	2	0

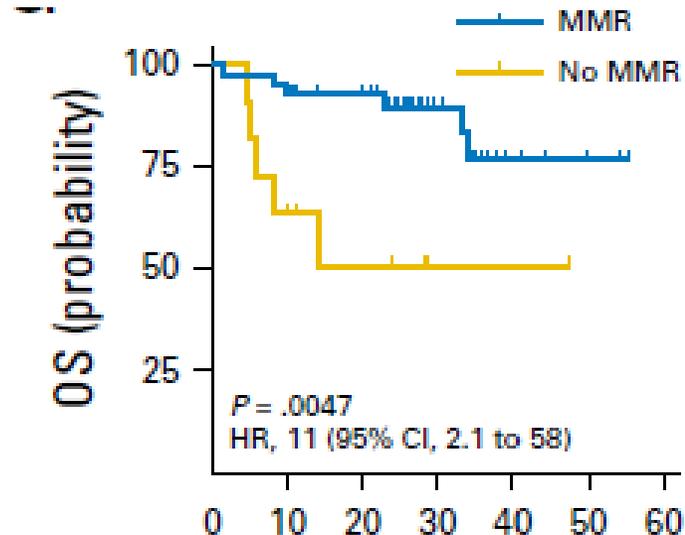
A quoi peut servir le ctDNA dans les lymphomes : à suivre la réponse thérapeutique



Time Since EMR Assessment
(months)

No. at risk:

EMR	51	49	41	17	8	4	0
No EMR	16	10	7	4	1	1	0



Time Since MMR Assessment
(months)

No. at risk:

MMR	41	38	33	15	5	2	0
No MMR	11	7	4	1	1	0	0

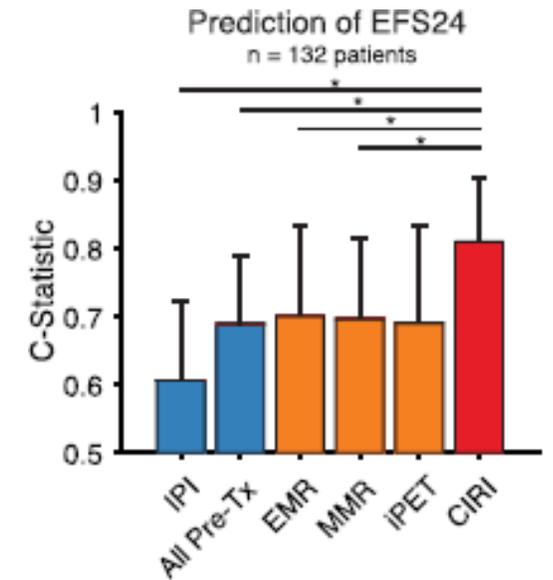
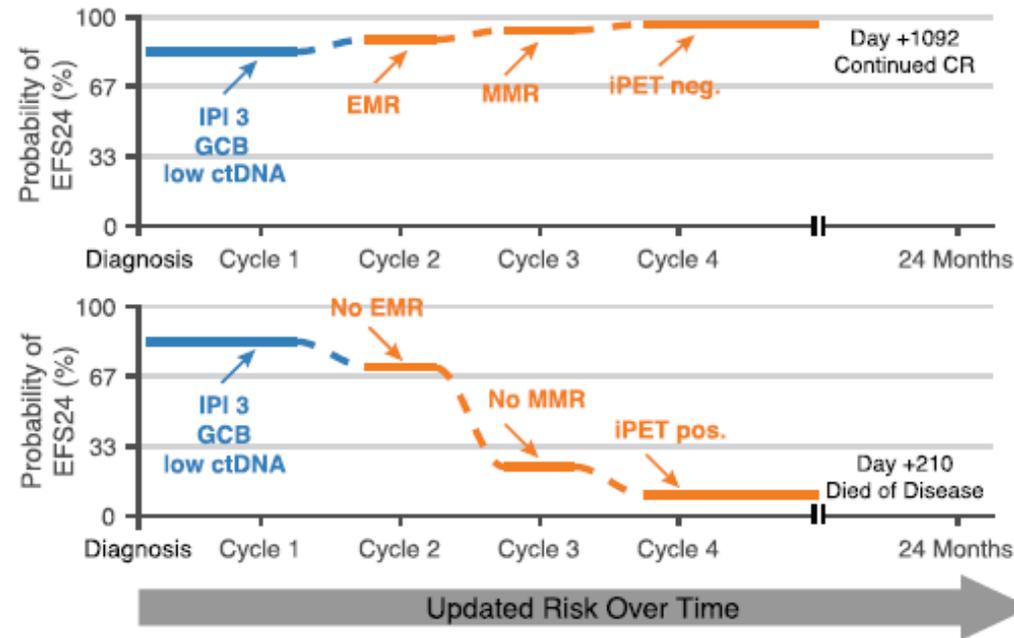
A quoi peut servir le ctDNA dans les lymphomes : continuous individualized risk index



Patient A



Patient B



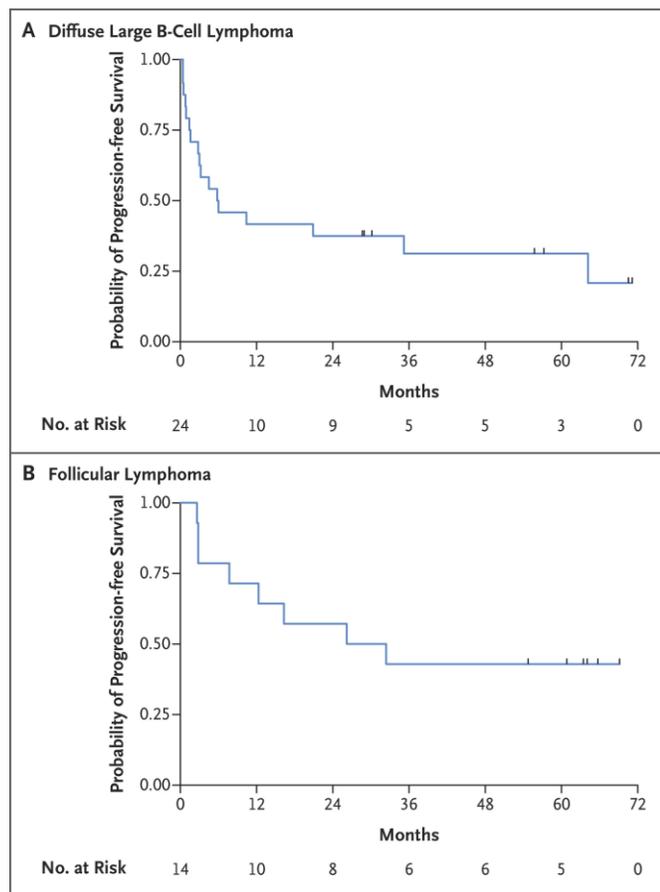
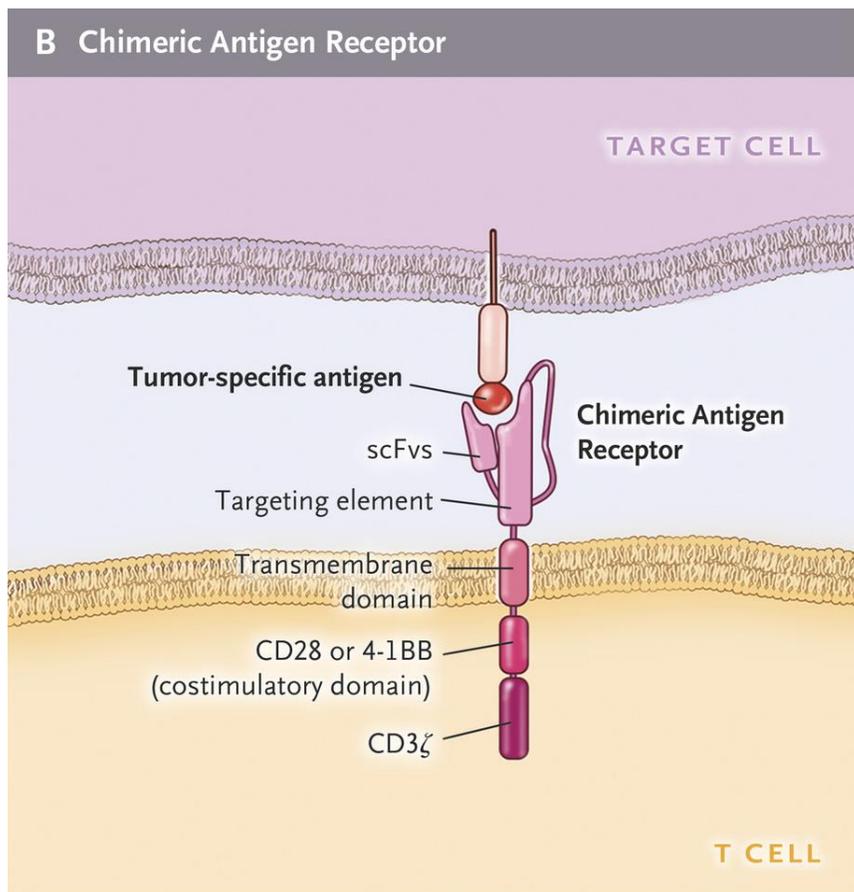
Quels sont les principales techniques ?

Faire un diagnostic correct et choisir le traitement adéquat : **intelligence artificielle, génomique, transcriptomique**

Mesurer la réponse au traitement : **ctDNA**

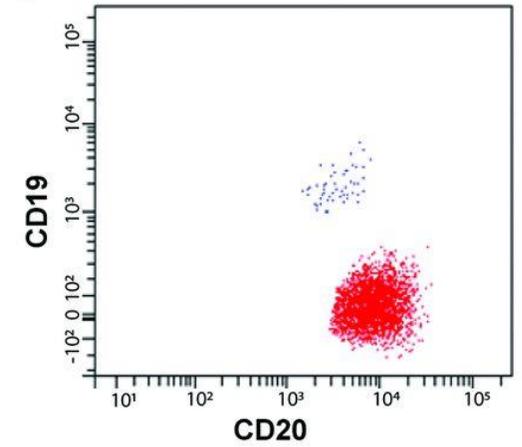
Accompagner les innovations thérapeutiques : **cytométrie en flux, biologie moléculaire**

Une nouvelle arme dans les lymphomes B : les CAR-T cells



A quoi peut servir la biologie pour les CAR-T cells ?

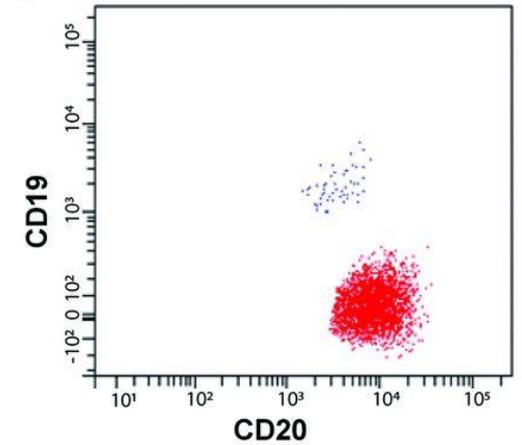
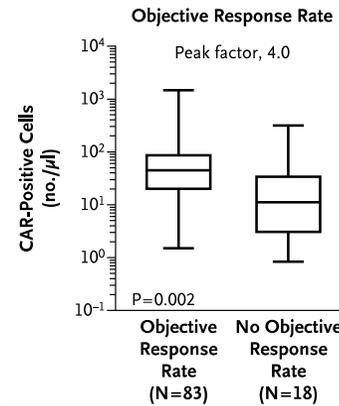
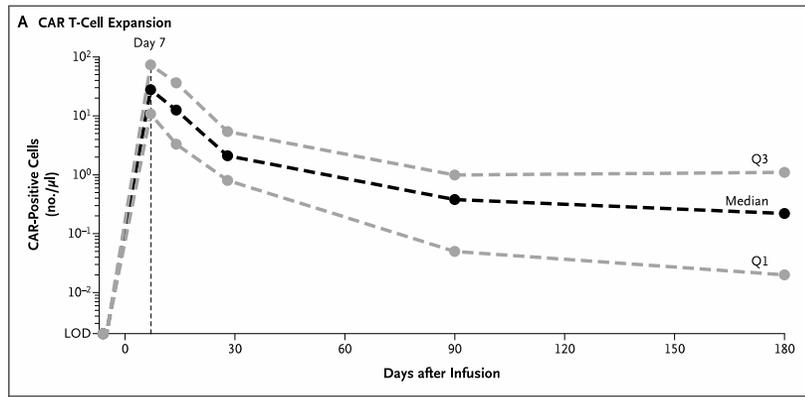
A identifier de rares patients qui n'expriment pas la cible (Delage, haematologica 2019)



A quoi peut servir la biologie pour les CAR-T cells ?

A identifier de rares patients qui n'expriment pas la cible (Delage, haematologica 2019)

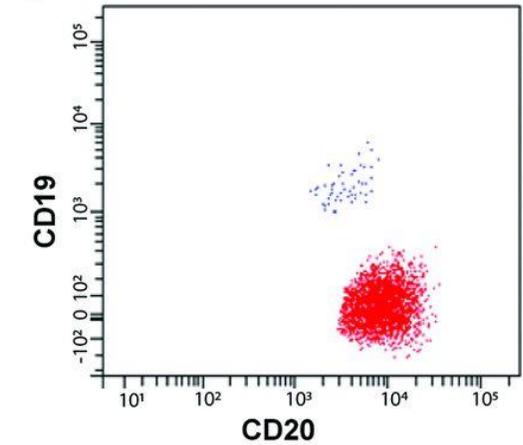
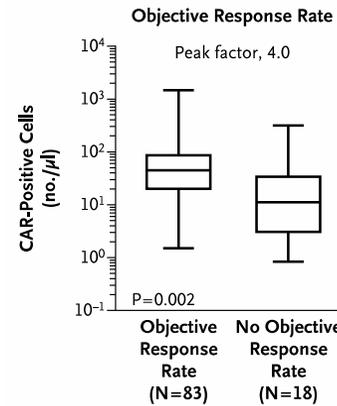
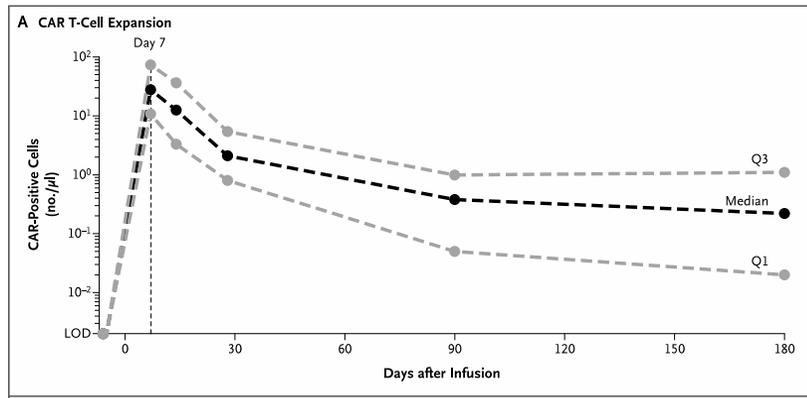
A monitorer l'expansion des CAR-T,
ce qui a un intérêt avec les CAR CD28 (Neelapu, NEJM 2017) mais pas 41BB (Schuster, NEJM 2019)



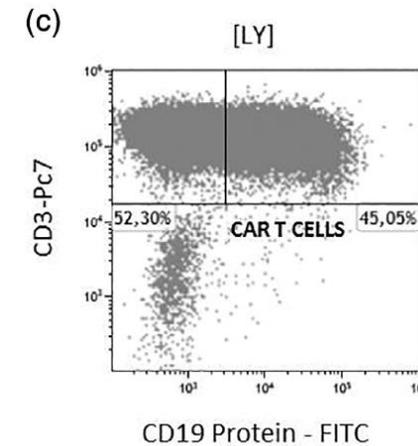
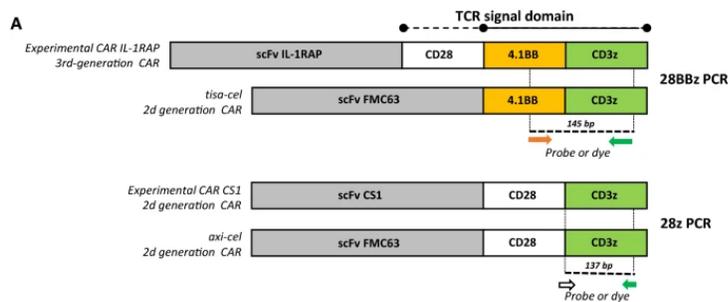
A quoi peut servir la biologie pour les CAR-T cells ?

A identifier de rares patients qui n'expriment pas la cible (Delage, haematologica 2019)

A monitorer l'expansion des CAR-T, ce qui a un intérêt avec les CAR CD28 (Neelapu, NEJM 2017) mais pas 41BB (Schuster, NEJM 2019)



Par qPCR (Haderbache, J transl med 2021) ou cytométrie en flux (Demaret, Cytometry part B 2021)



Conclusion

Place croissante de la biologie dans le diagnostic et le suivi des lymphomes

Nécessité d'approches intégratives (clinique, imagerie, anatomopathologie, biologie moléculaire) et de suivi longitudinal

Nombreux défis pour que les innovations diagnostiques bénéficient à tous les patients :

- organisation centralisée ou locale ?
- faisabilité de la démarche d'accréditation ?
- modèle de financement ?
- quelle validation clinique ?



<http://oncngs.eu/>

The consortium



OncNGS is a strong consortium composed of 8 buyers from 5 member states

- Sciensano (Belgium)
- Institut Jules Bordet (Belgium)
- Institut Curie (France)
- Hospices Civils de Lyon (France)
- Charite Universitaetsmedizin (Germany)
- Ludwig Maximilians Universitaet Muenchen (Germany)
- Alleanza Contro il Cancro (Italy)
- Institut Catala d'Oncologia (Spain)

