MaRIH

Filière de santé Maladies Rares Immuno-Hématologiques

PLACE DU NGS DANS LES SYNDROMES HYPEREOSINOPHILIQUES

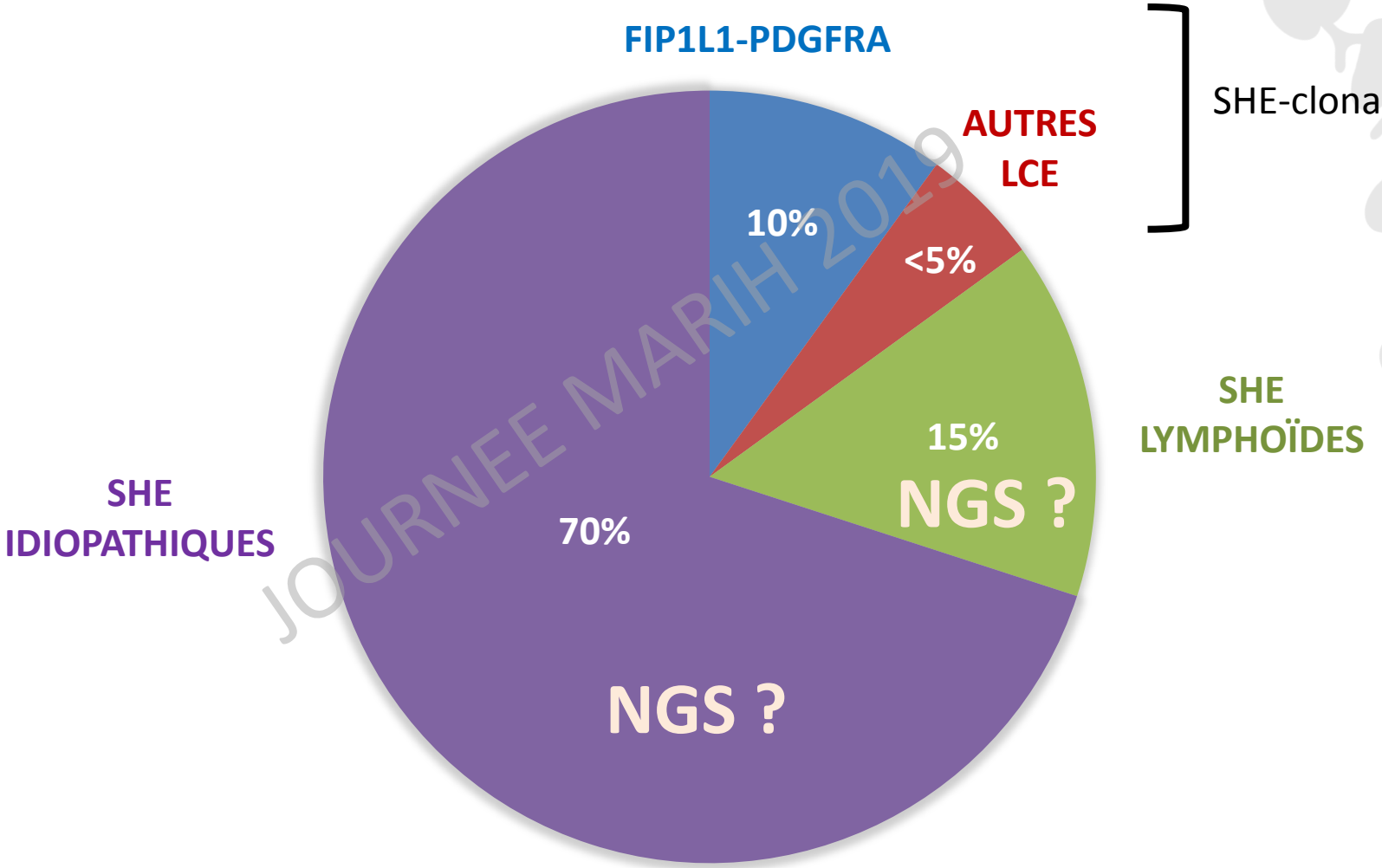
CEREO

CRMR Syndromes Hyperéosinophiliques

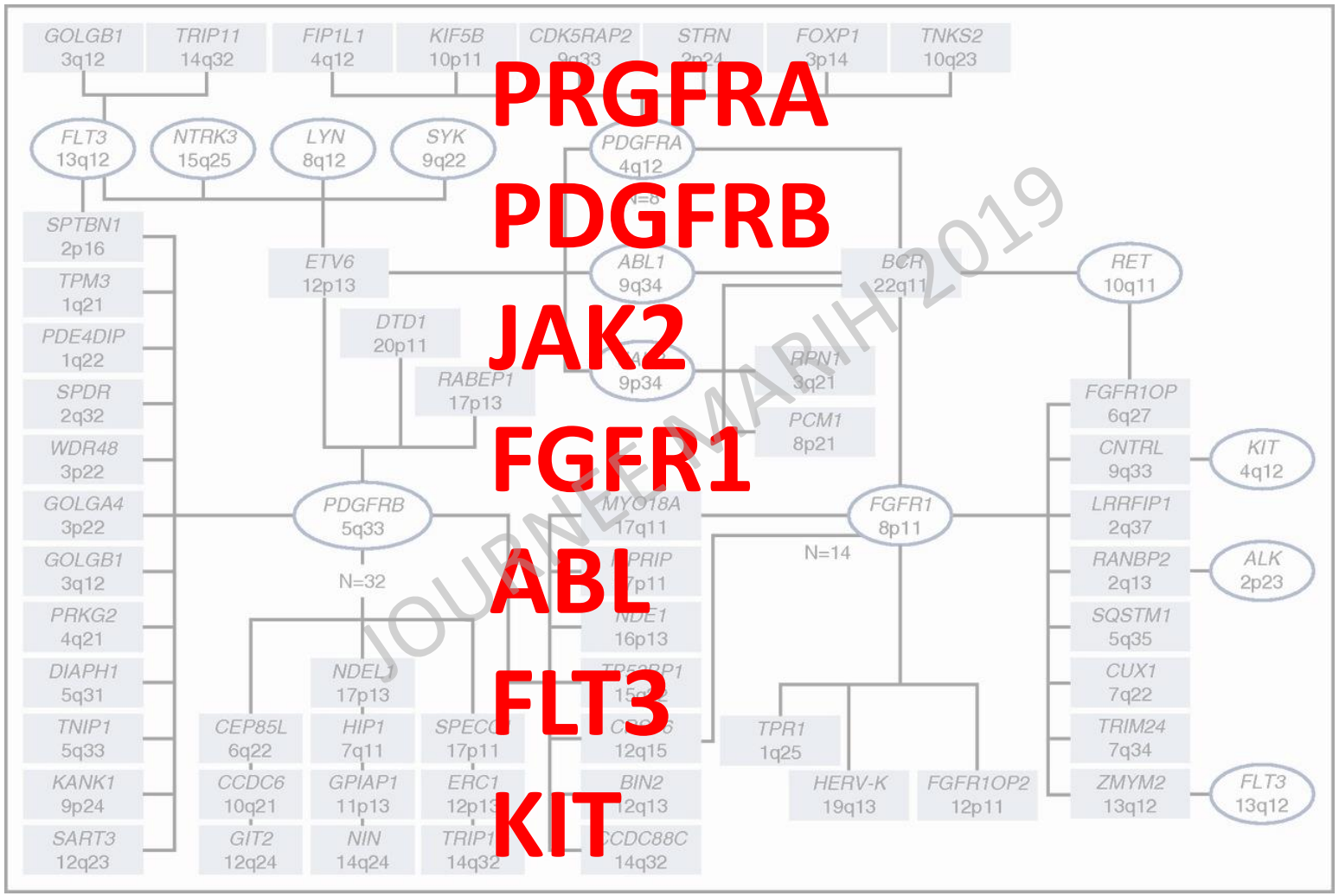
Jean Emmanuel KAHN

5ème Journée Nationale de la filière MaRIH - 20 Juin 2019

FREQUENCE DES DIFFERENTS VARIANTS DES SHE



LES EOSINOPHILIES CLONALES EN 2019

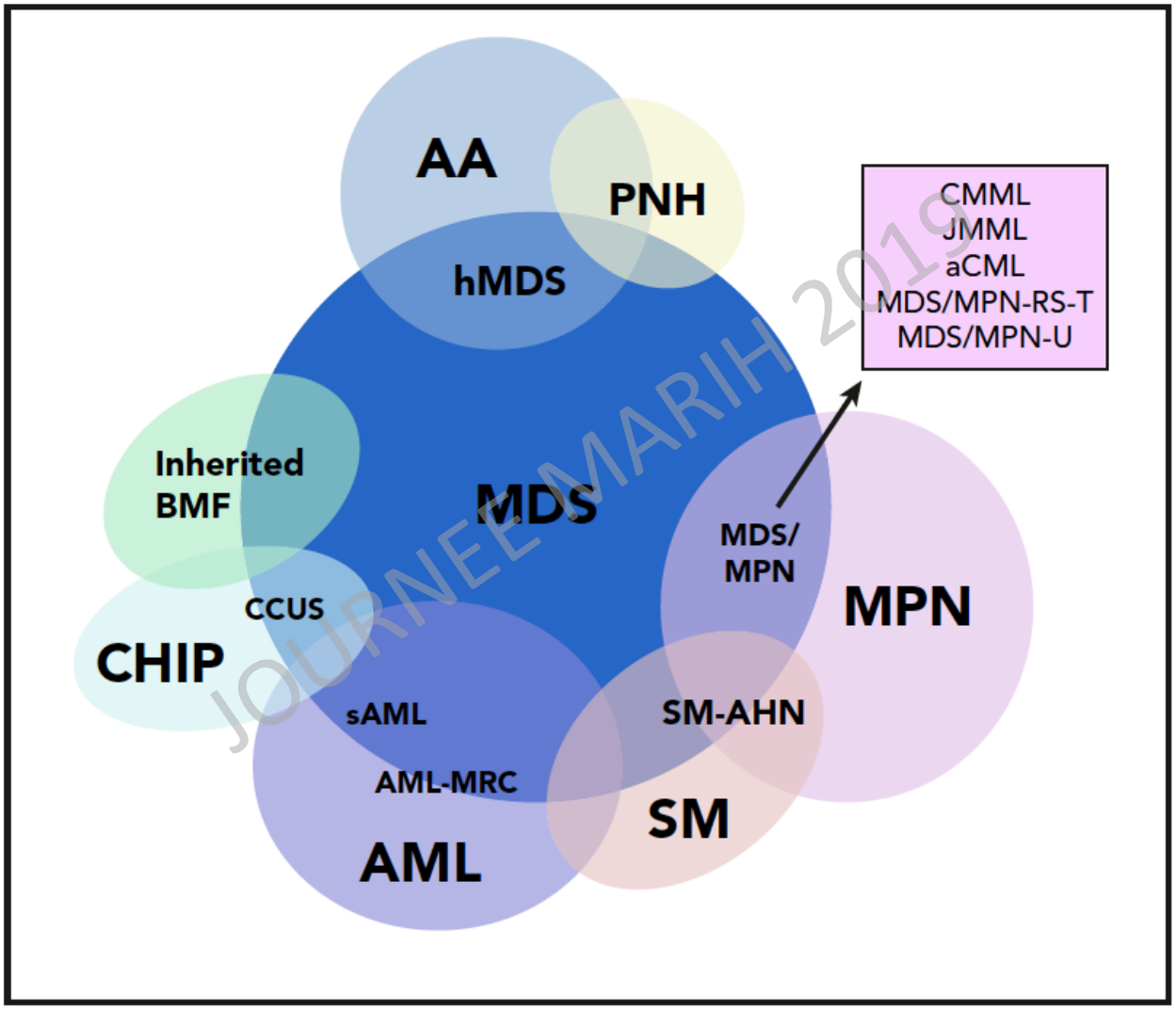


Andreas Reiter, and Jason Gotlib Blood 2017;129:704-714

D'AUTRES ANOMALIES CLONALES A TROUVER ?

- Certains patients sont totalement réfractaires aux corticoïdes
- Certains patients HES-I ont des caractéristiques « néoplasies myéloïdes »
- L'imatinib et d'autres ITK sont efficaces chez des patients FP- à caryotype normal

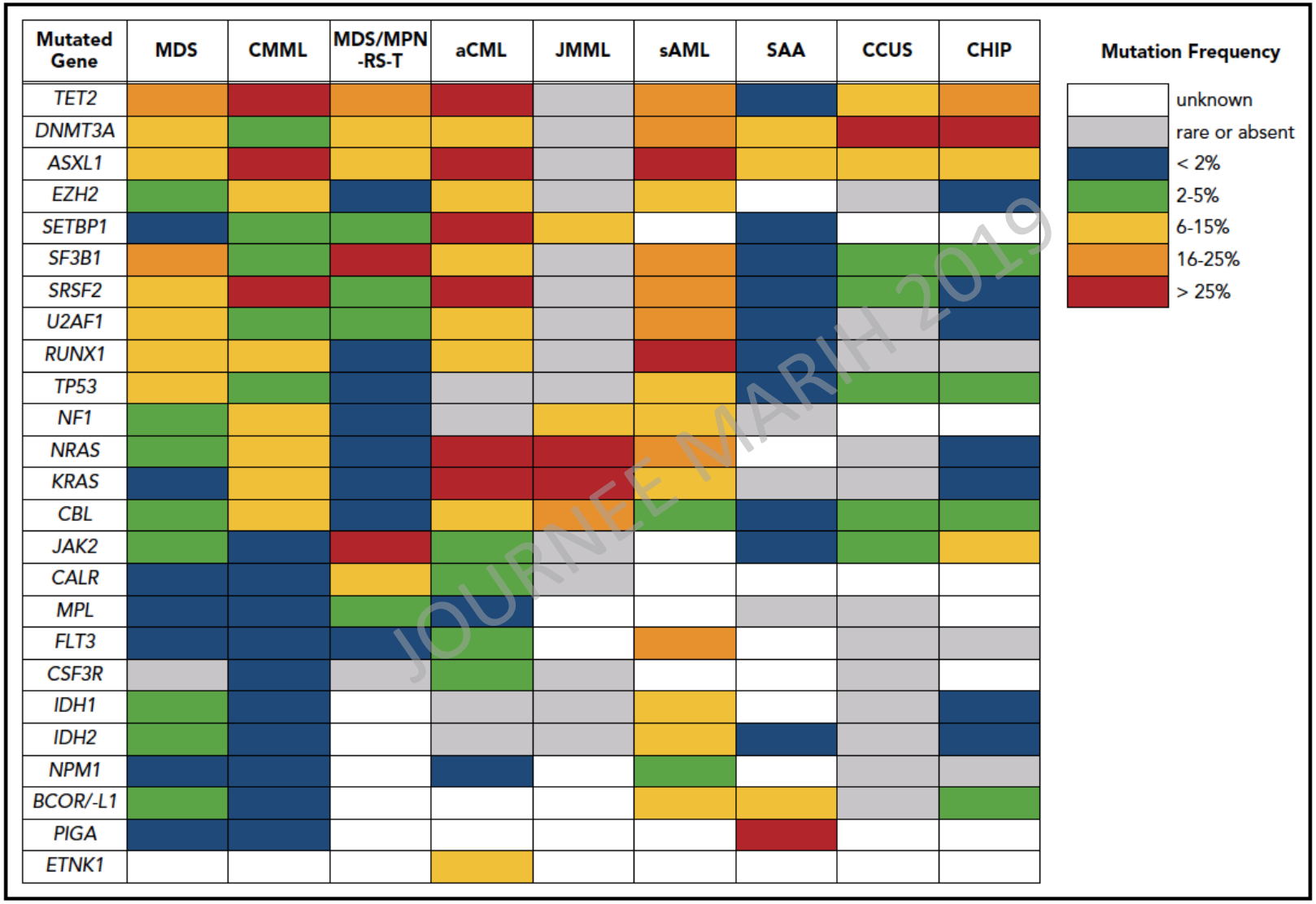
NGS dans OVERLAP SMD-SMP…



PAS DE DONNEES SUR LES SHE…..

Tanaka, Blood 2019

NGS dans OVERLAP SMD-SMP…



PAS DE DONNEES SUR LES SHE…..

Tanaka, Blood 2019

INTERET DU NGS DANS LES SHE - ETUDE PILOTE CEREO

HyperEo > 1500 / mm3
confirmée sur au moins 2 prélèvements

↓

NFS, Phéno (3-4+, 3+4+7-, 3+4-8-TCRab ?), Clonalité T, IgE totales
Déparasitage, Test au corticoides (ex: 20 mg/j) ?
Tryptase, B12

→ Parasitose
Cortico-sensibilité (= PNE < 500)
SHE « lymphoïde »

↓

FIP1L1-PDGFRA, JAK2, BCR-ABL +/- CALR-MPL-KIT

↓ -

HyperEo isolée (NFS, tryptase, B12 normales)
Asymptomatique

↓

Surveillance / 6 mois

	Tryptase ↑,
et/ou	B12 ↑
et/ou	autre lignée ↑ ou ↓ (GR, PNN, Pqt, mono)
et/ou	échec corticoïdes
et/ou	splénomégalie
et/ou	atteinte cardiaque spécifique

↓ -

Caryotype médullaire → NGS (myéloide-36) (sang+/- médullaire)

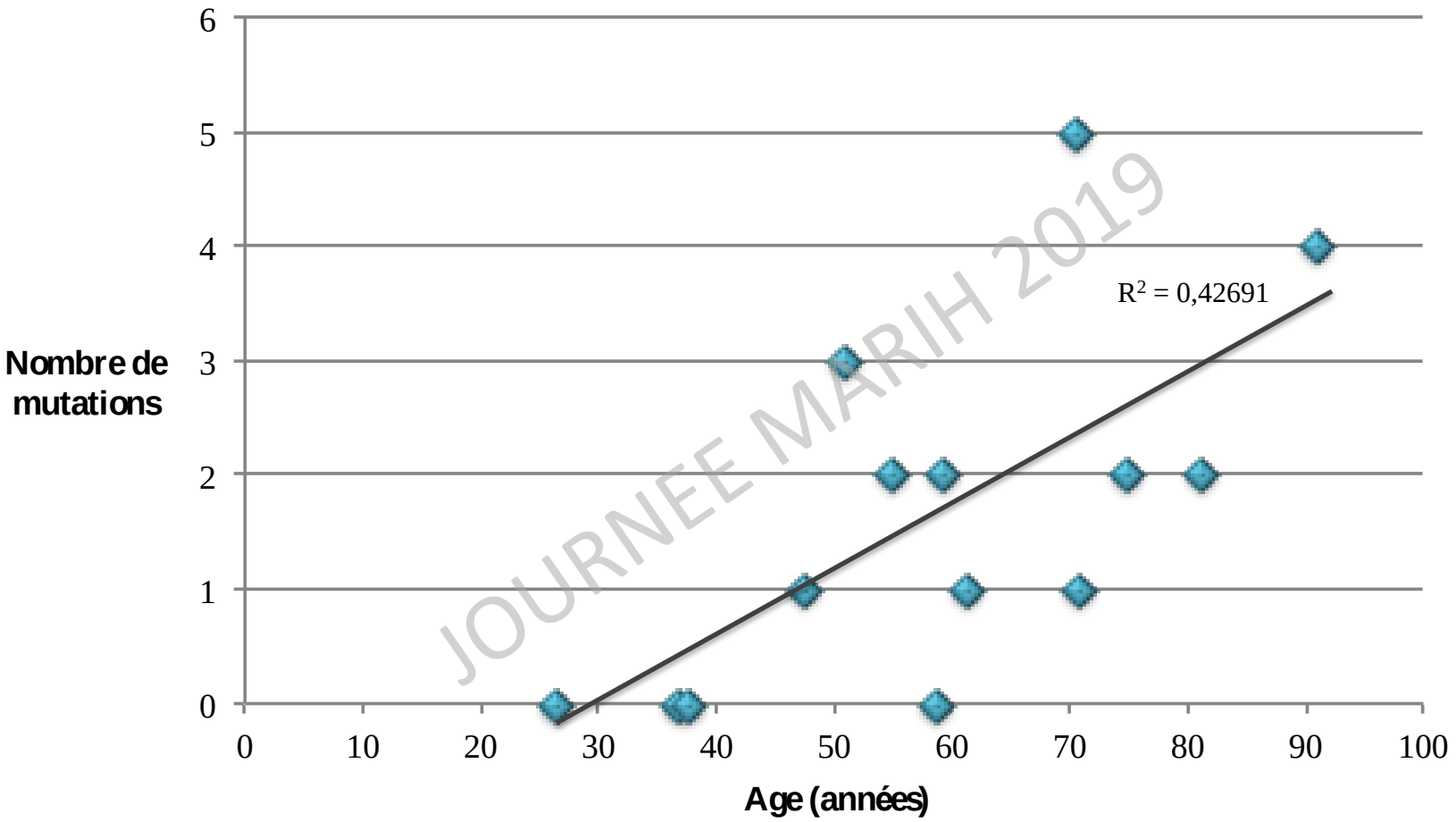
- N=29 patients

A Couteau-Chardon. SNFMI 2018

INTERET DU NGS DANS LES SHE - ETUDE PILOTE CEREO

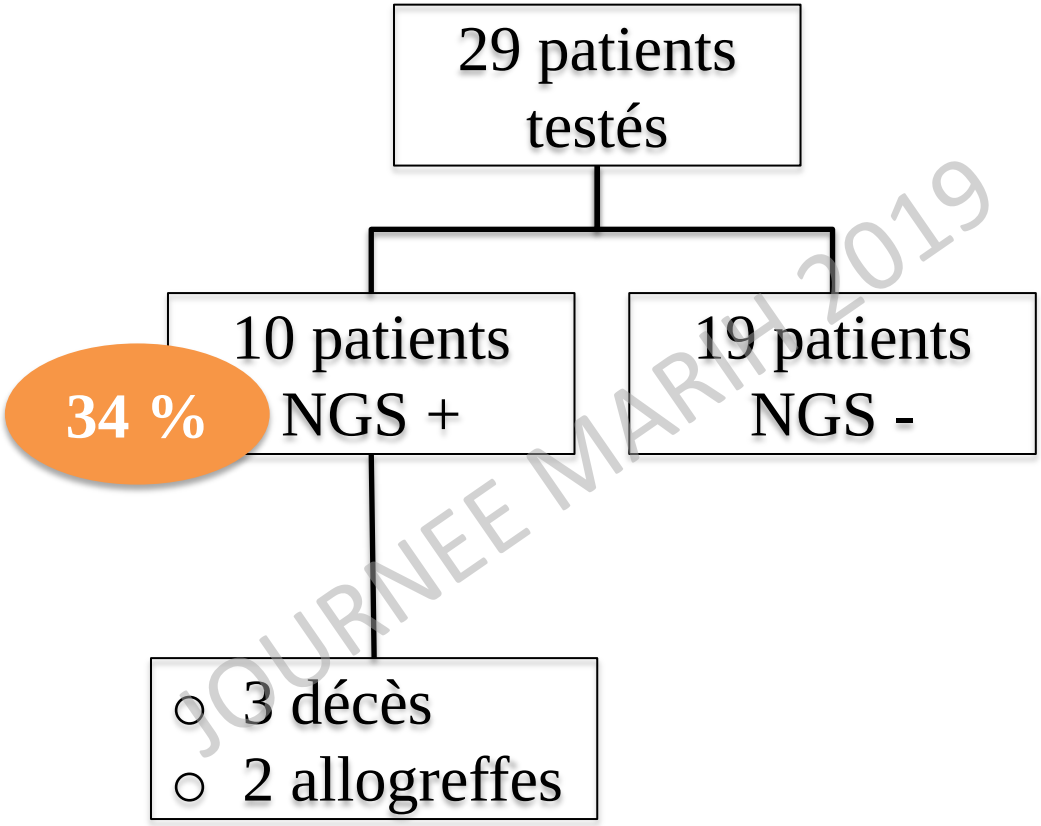
- 10 patients (34%) avec mutation(s) identifiée(s)
  - TET2 (n=5); SRSF2 (n=4); ASXL1 (n=3); cKIT et WT1 (n=2); CALR, JAK2, P53, RUNX1, SF3B1, U2AF1 (n=1)
  - ASXL1 + SFSR2 (n=3)
  - Médiane de 1,5 (0-5) mutations
- Atteintes : cutanée (n=8), cardiaque (n=3) et SPM (n=7)
- CT sensibilité: seulement 1/8 (12,5%)
- SMD: n=2

SIMPLEMENT UNE ARCH ?



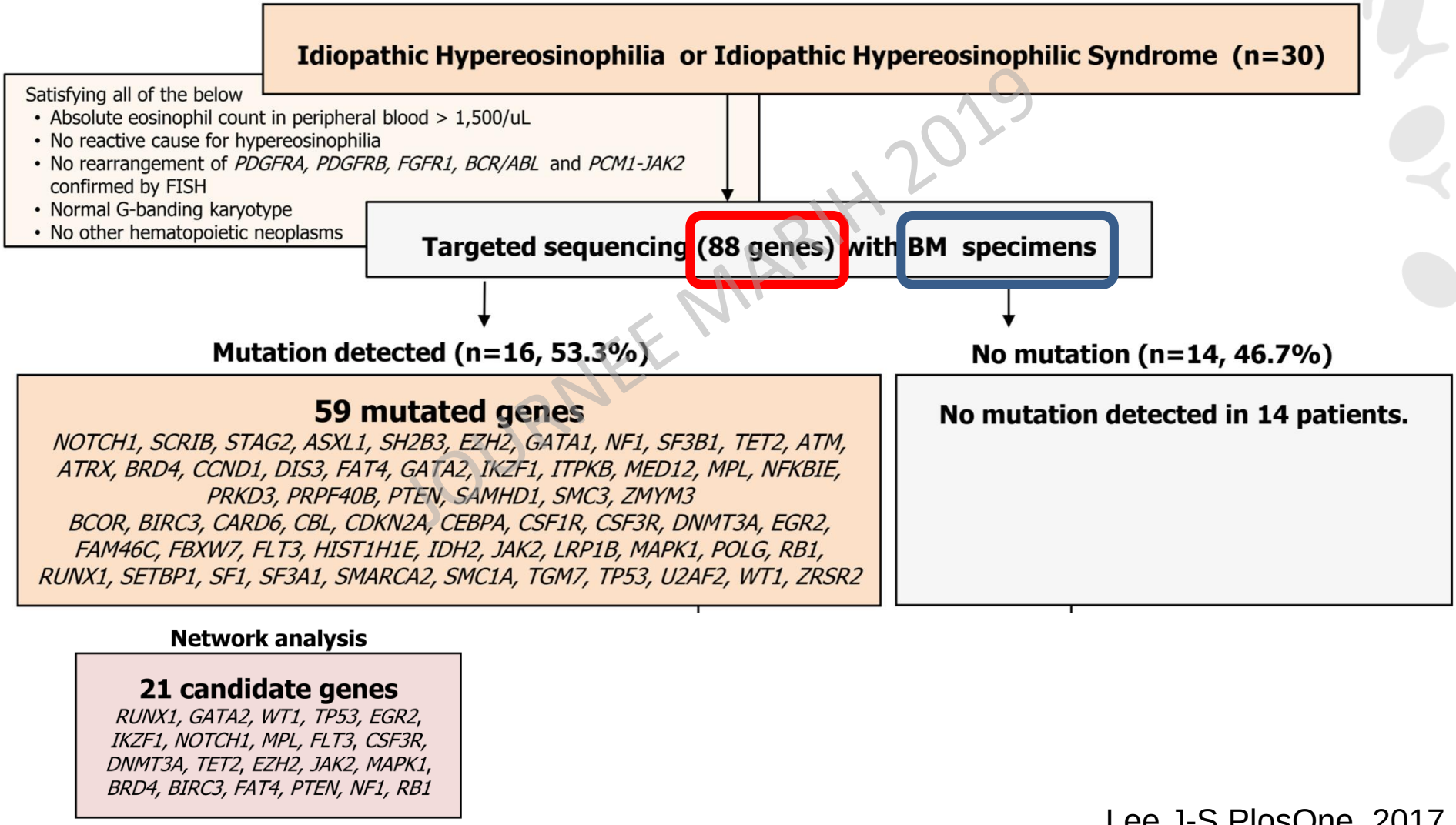
Augmentation du nombre de mutations identifiées avec l'âge des patients au diagnostic

PRONOSTIC PEJORATIF D'UN NGS + ?



NGS DANS LES SHE IDIOPATHIQUES

30 SHE IDIOPATHIQUES. Caryotype-FISH-F/P et autres Hémopathies exclues- Corée



Lee J-S PlosOne, 2017

NGS DANS LES SHE IDIOPATHIQUES

Table 1. Mutated genes in patients with eosinophilia (n = 16).

Case ID	Gene
#2	*EZH2, FLT3, IKZF1, ITPKB, NOTCH1, SAMHD1, SF3A1, STAG2, ZMYM3*
#3*	*CDKN2A, EZH2*
#6	*ATRX, DIS3, NOTCH1*
#8	*NOTCH1, STAG2*
#9	*ATRX, BRD4, CARD6, GATA2, NFKBIE, SMC1A*
#10	*ASXL1, ATM, BIRC3, CBL, CCND1, CEBPA, DIS3, FAM46C, FAT4, FBXW7, GATA1, MAPK1, MPL, NF1, NFKBIE, NOTCH1, PRKD3, PRPF40B, RUNX1, SCRIB, SF1, SF3B1, SH2B3, SMC3, STAG2, TET2, VT1*
#12	*GATA1, NOTCH1, SF3B1, SH2B3*
#13	*SCRIB, SF3B1*
#14	*NF1, NOTCH1, PTEN, SCRIB, STAG2*
#15	*SCRIB, SH2B3*
#16	*MED12, NF1*
#17	*ASXL1*
#18	*ASXL1, ATM, BCOR, BRD4, CCND1, CSF1R, CSF3R, DNMT3A, EGR2, EZH2, FAT4, GATA1, GATA2, HIST1H1E, IDH2, IKZF1, ITPKB, JAK2, LRP1B, MED12, MPL, NOTCH1, POLG, PRKD3, PRPF40B, PTEN, RB1, SAMHD1, SCRIB, SETBP1, SH2B3, SMARCA2, SMC3, STAG2, TGM7, U2AF2, ZMYM3, ZRSR2*
#20	*NOTCH1*
#21	*TP53*
#28	*TET2*

NOTCH1: 27% (8)

SCRIB: 17% (5)

STAG2: 17% (5)

SH2B3: 13% (4)

ASXL1: 10% (3)

TET2: 7% (2)

Lee J-S PlosOne, 2017

NGS DANS LES SHE IDIOPATHIQUES

Table 2. Patient clinical characteristics according to somatic mutation status.

	Patients with mutations (n = 16)	Patients without mutations (n = 14)	*P*-value
Onset age [a]	44 (26–64)	51 (29–75)	ns
Male/Female (% male)	10/6 (62.5)	7/7 (50.0)	ns
CBC findings			
Hb (g/dL) [a]	13.8 (8.2–15.4)	12.7 (8.6–15.1)	ns
WBC ($\times 10^9$/L) [a]	10.1 (4.12–50.4)	11.1 (6.0–38.1)	ns
Platelets ($\times 10^9$/L) [a]	159 (138–307)	252 (149–507)	ns
Peak AEC ($\times 10^6$/L) [a]	4,734 (851–44,463)	7,015 (2,580–24,365)	ns
Peak ALC ($\times 10^6$/L) [a]	2,071 (414–3,847)	2,122 (1,026–5,711)	ns
BM findings			
Eosinophils (%) [a]	24.7 (2.0–82.8)	38.1 (9.0–66.0)	ns
Dysplastic eosinophils (n) [a, b]	2 (0–23)	0.3 (0–5)	0.045
Erythroid dysplasia (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	ns
Granuloid dysplasia (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	ns
Megakaryocyte dysplasia (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	ns
Granuloid hyperplasia (%)	2 (12.5)	3 (27.3)	
Hypercellular marrow (%)	0 (0.0)	1 (7.1)	ns
Splenomegaly (%)	1 (6.3)	0 (0.0)	ns
End organ damage (%)	10 (62.5)	12 (85.7)	ns
Constitutional symptom(s) (%)	7 (43.8)	9 (64.3)	ns
Treatment			
Corticosteroid (%)	10 (62.5)	13 (92.9)	ns
Hydroxyurea (%)	5 (31.3)	5 (35.7)	ns
Imatinib (%)	4 (25.0)	2 (14.3)	ns
IFN-alpha (%)	0 (0.0)	1 (7.1)	ns
Observation (%)	6 (37.5)	1 (7.1)	ns

Lee J-S PlosOne. 2017

NGS DANS LES SHE IDIOPATHIQUES

- Impact pronostic du NGS non évalué
- Pas de lien avec l'âge ni avec des chevauchements SMD
- NOTCH1:
  - Impliquée dans hémopathie T
  - mais exclusif d'un rearrangement TCR dans cette étude

IMPACT CLINIQUE ET PRONOSTIC DU NGS

Targeted next-generation sequencing identifies a subset of idiopathic hypereosinophilic syndrome with features similar to chronic eosinophilic leukemia, not otherwise specified

Sa A Wang[1,11], Wayne Tam[2,11], Albert G Tsai[3], Daniel A Arber[3], Robert P Hasserjian[4], Julia T Geyer[2], Tracy I George[5], David R Czuchlewski[5], Kathryn Foucar[5], Heesun J Rogers[6], Eric D Hsi[6], B Bryan Rea[7], Adam Bagg[7], Paola Dal Cin[8], Chong Zhao[1], Todd W Kelley[9], Srdan Verstovsek[10], Carlos Bueso-Ramos[1] and Attilio Orazi[2]

MODERN PATHOLOGY (2016) 29, 854–864

- SHE-I (n=51)
- CEL-NOS (n=17) : blastes > 5%/2% et/ou autres anomalie K rare
- Rétrospectif, sur matériel médullaire
- Panel « myéloïde » 28-43-50 gènes
- Exclusion SHE-L, PDGFRA-PDGFRB, FGFR1, JAK2,KIT, LAM, SMD….

Wang, Modern Pathol 2016

- 14 patients NGS +
- 7 patients avec 1 mut, 5 avec 2 mut, 2 patients avec 3 mut ou +
- ASXL1 (43%), TET2 (36%), EZH2 (29%), SETBP1 (22%), CBL (14%), NOTCH1 (14%)
- DNMT3A, NRAS, JAK2 exon 13, and GATA2 (7%, n=1).

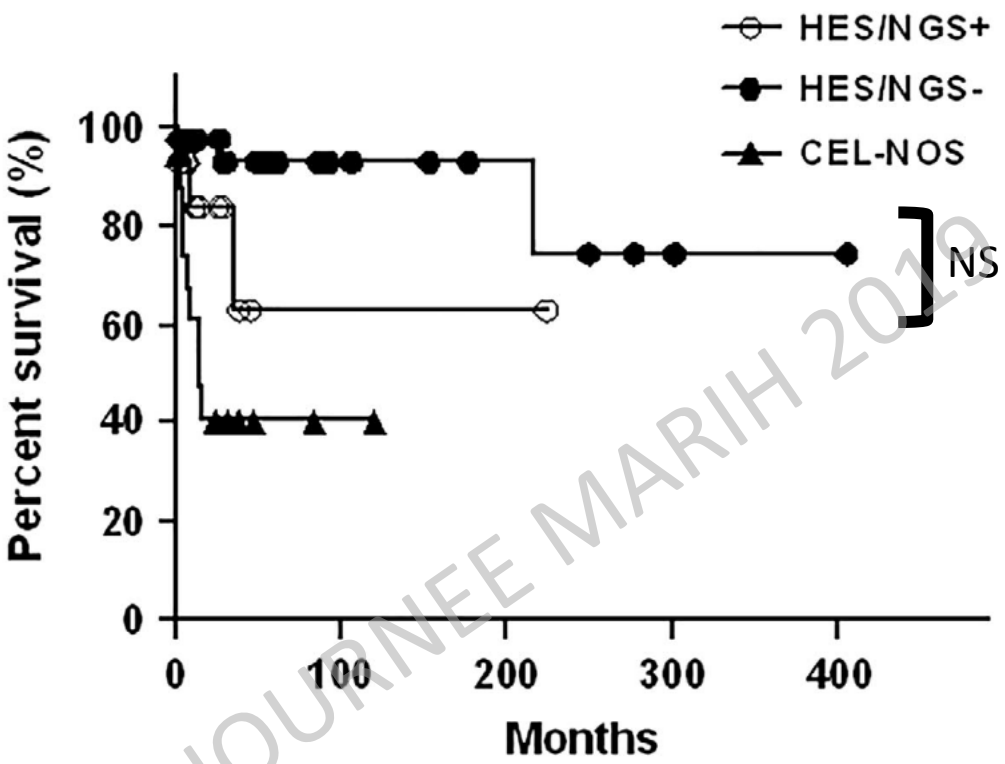
	HES NGS+ N=14	HES NGS- N=37	CEL-NOS N=17	NGS- vs NGS+	NGS + vs CEL-NOS
Age	63.8 (24-89)	41 (16-81	66.4 (28-89	<0,001	NS
Sexe M/F	7/7	22/15	11/5	NS	NS
Eosino (G/L)	7.6 (1.5-120)	3.5 (51.5-177)	8.7 (1.6-30)	NS	NS
HMG/SMG (n)	1/13	6/37	6/14	NS	NS
Infiltrat éo tissulaire (n)	9/13	24/37	3/16	NS	NS
Blast BM (%)	1 (0-2)	1 (1-3)	2 (0-16)	NS	NS
Dysmyélop.	4/14	1/36	6/17	0.017	NS
AML/décès	0/3	0/3	3/9		

Wang, Modern Pathol 2016

IMPACT CLINIQUE ET PRONOSTIC DU NGS

Patient	Age (years) /gender	Mutations/allele burden	Follow-up
1	60.9/M	*ASXL1 (34%), DNMT3A (7% EZH2 (74%), NRAS (39%), SETBP1 (6%)*	Failed all therapies including steroids, Campath, TKI, and cytarabine. Died of congestive heart failure, and pneumonia, 35.1 months
2	58.8/F	*TET2 (45.6%)*	Some response to Campath, alive, 37.9 months
3	58.1/F	*NOTCH1 (57%), JAK2 exon (25%)*	Responded to intermittent Campath, alive, 45.3 months
4	57.8/F	*TET2 (27%)*	Responded to corticosteroids and Campath, alive, 224 months
5	24.3/M	*TET2 (25%), DNMT3A+ (15*	Complete response to corticosteroids, alive 28 months
6	73.5/M	*TET2 (6%)*	Excellent response to Imatinib, lost to follow-up, 2.1 months
7	89.0/F	*ASXL1 (30%), EZH2 (52%)*	Persistent hypereosinophilia, treated with Hydroxyurea, alive 14.1 months
8	34.9/F	*NOTCH1 (56%)*	Persistent hypereosinophilia, continued corticosteroid with some response, alive, 25.7 months
9	61.6/M	*ASXL1 (47%), EZH2 (91%)*	Failed corticosteroids, Campath and tyrosine kinase inhibitor; treated with cytarabine and vincristine, alive, 13.3 months
10	79.1/F	*ASXL1 (17%)*	Limited response to corticosteroids, lost to follow-up, 5.6 months
11	70.2/M	*BCOR (50%), CBL (10%)*	Failed to respond to steroids, responded to azacitidine, alive 11.2 months
12	82.4/M	*ASXL1 (42%)*	Died of heart failure and anemia, 8.1 months
13	66.0/M	*EZH2 (52%), SETBP1 (37%), ASXL1 (48%), TET2 (46%)*	Treated with decitabine, lost follow-up, 7.1 months
14	83/F	*CBL (12.9%)*	Died of heart disease, 1 month

IMPACT CLINIQUE ET PRONOSTIC DU NGS



Profil clinique et biologique NGS + et NGS – sensiblement identique

Traitement cytoréducteurs/hypométhylants + fréquents chez NGS+

Corticoïdes plus fréquent dans NGS-

Pas d'impact du NGS sur le pronostic

Wang, Modern Pathol 2016

IMPACT CLINIQUE ET PRONOSTIC DU NGS

Predictors of survival in WHO-defined hypereosinophilic syndrome and idiopathic hypereosinophilia and the role of next-generation sequencing

Leukemia (2016) **30,** 1924–1926; doi:10.1038/leu.2016.73

- SHE-I (n=98) Prospectif, sur matériel médullaire
- Panel « myéloïde » 23 gènes
- Exclusion CEL-NOS, SHE-L, PDGFRA-PDGFRB, FGFR1, JAK2,KIT, LAM, SMD….
- Poumons=28%, Digestif=16%, Cardiaque=8%, HSM=4%

IMPACT CLINIQUE ET PRONOSTIC DU NGS

- NGS + dans 11% des cas (n=11)

- TET2: n=3
- ASXL1: n=2
- KIT: n=2
- IDH2, SF3B1, JAK2, TP53:n=1

IMPACT CLINIQUE ET PRONOSTIC DU NGS

Table 1. Clinical and laboratory characteristics of HES/IHE patients with and without mutations in myeloid-relevant genes

Characteristics	*All cases (n = 98)*	*Cases with mutations (n = 11)*	*Cases without mutations (n = 87)*	P-*value*
Males (%)	54 (55%)	7 (64%)	47 (54%)	0.7
Age (years), median (range)	53 (19–83)	61 (29–83)	52 (19–81)	0.1
No. >60 years (%)	35 (36%)	6 (55%)	29 (33%)	0.2
AEC ($x10^9$ /l), median (range)	3 (1–59)	2 (2–5)	3 (1–59)	0.4
AEC $\geqslant 3\times10^9$ /l (%)	52 (53%)	5 (45%)	47 (54%)	0.8
AEC $\geqslant 5\times10^9$ /l (%)	35 (36%)	2 (18%)	33 (38%)	0.3
No. (%) of organs involved (including skin)				
None	15 (16%)	2 (19%)	13 (14%)	0.8
One	58 (59%)	6 (54%)	52 (60%)	
Two	20 (20%)	3 (27%)	17 (19%)	
Three or more	5 (5%)	0	5 (6%)	
No. (%) of organs involved (excluding skin)				
None	44 (44%)	5 (45%)	40 (46%)	0.9
One	40 (41%)	5 (45%)	35 (40%)	
Two	10 (10%)	1 (10%)	9 (10%)	
Three or more	3 (3%)	0	3 (4%)	
Cardiac involvement (%)	8 (8%)	1 (9%)	7 (8%)	0.9
Palpable hepatosplenomegaly (%)	4 (4%)	1 (9%)	3 (3%)	0.4
Pulmonary involvement (%)[b]	27 (28%)	4 (36%)	23 (26%)	0.5
Gastrointestinal involvement (%)	16 (16%)	1 (9%)	15 (17%)	0.7
Hemoglobin (g /dl), median (range)	13.3 (7.9–16.3)	13.0 (7.9–15.8)	13.3 (8.2–16.3)	0.8
Hemoglobin < LNL (%)	39 (40%)	4 (36%)	35 (40%)	0.8
Hemoglobin < 10 g/ dl (%)	11 (11%)	2 (18%)	9 (10%)	0.6
Leukocyte count $\times 10^9$/ l, median (range)	9.4 (3.6–87)	9.0 (6.5–18)	9.4 (3.6–87)	0.9
Leukocyte count $>15\times10^9$/ l (%)	18 (18%)	2 (18%)	16 (18%)	0.9
Platelet count $\times 10^9$ /l, median (range)	276 (79–631)	299 (221–421)	273 (79–631)	0.4
Platelet count $<150\times10^9$ /l (%)	4 (4%)	0	4 (5%)	0.5
AST >UNL (%)	5 (6%) ($n=87$)	0 ($n=9$)	5 (6%) ($n=78$)	0.4
ALT >UNL (%)	6 (10%) ($n=62$)	0 ($n=6$)	6 (11%) ($n=56$)	0.4
Total bilirubin >UNL (%)	4 (7%) ($n=58$)	0 ($n=4$)	4 (7%) ($n=54$)	0.6
LDH >UNL (%)	22 (36%) ($n=61$)	2 (29%) ($n=7$)	20 (37%) ($n=54$)	0.7
Tryptase >UNL (%)[c]	14 (24%) ($n=59$)	1 (17%) ($n=6$)	13 (25%) ($n=53$)	0.7
IL-5 >UNL (%)	15 (31%) ($n=49$)	0 ($n=6$)	15 (35%) ($n=43$)	0.08
Deaths (%)	17 (17%)	5 (45%)	12 (14%)	n/a
Follow-up from referral (months), median (range)	60 (0.1–131)	67 (0.2–131)	58 (0.1–129)	n/a
Follow-up from diagnosis (months), median (range)	70 (0.3–312)	69 (0.3–312)	71 (0.5–235)	n/a

AUCUNE DIFFERENCE NGS+ vs NGS-

IMPACT CLINIQUE ET PRONOSTIC DU NGS

- Suivi 70 mois
- 17 décès (10 liés à la maladie)

- Analyse univariée sur la survie globale
  - Age > 60 ans,
  - Cœur, HSM,
  - Hb < 10g/dl, lymphopénie
  - mutation NGS (p<0,05)

- Analyse multivariée sur la survie globale
  - Age > 60ans, cœur, HSM, Hb < 10g/dl

NGS « MYELOIDE » DANS LES SHE

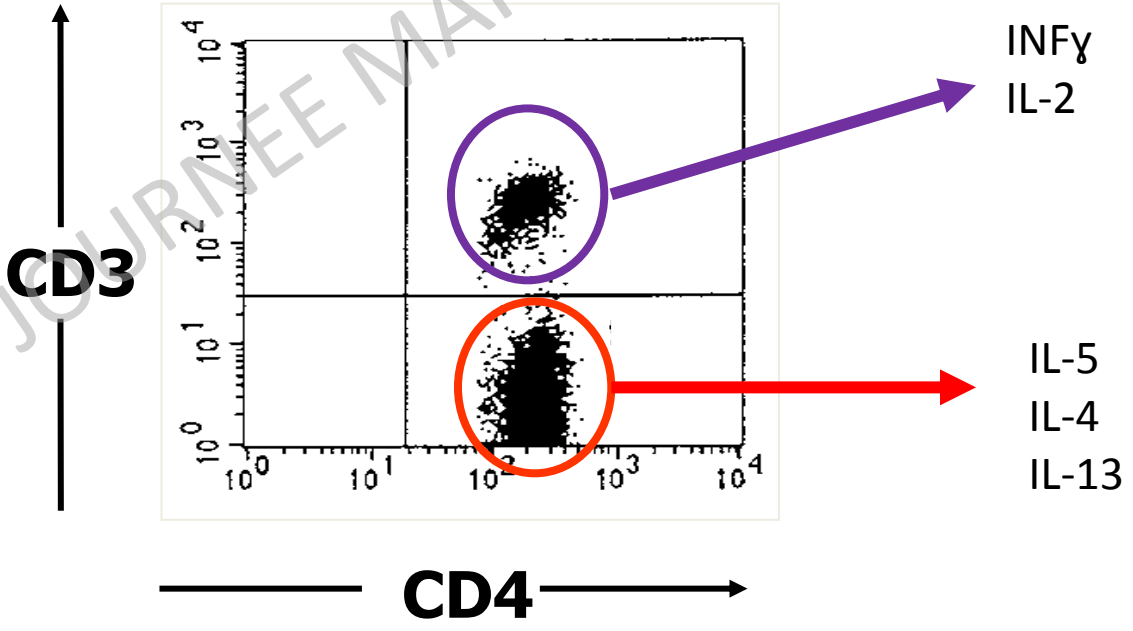
- Permet d'identifier des anomalies « clonales » (fréquence réelle ?)
- Signification ? ⇒ **clonal eosinophilia of indeterminate potential (CEIP)…**
- Intérêt d'un NGS sur Eo circulants triés ?
- Impact sur la transformation, la réponse au traitement et la survie : résultats contradictoires….
  - Agent hypométhylant ?
- Nécessité de plus grandes cohortes et d'un suivi prospectif

- Mécanisme moléculaire inconnu

- Argument en faveur d'une origine clonale
  - Population T souvent clonale
  - Infiltration tissulaire clonale multi-organe
  - Evolution en lymphome de haut grade possible (rare)

Opportunité d'un contrôle « interne »

CD3-CD4+ vs CD3+CD4+ (ou autre population circulante)

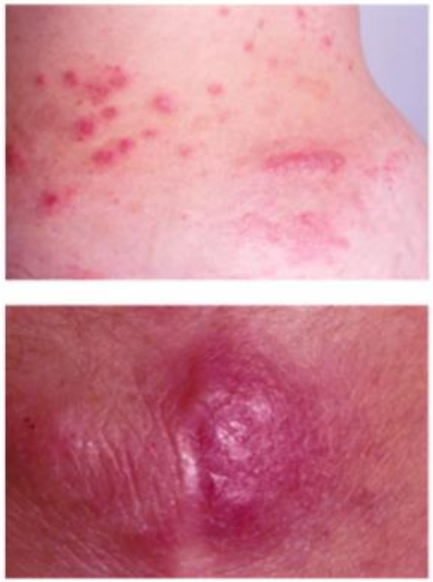


STAT3 ET SHE LYMPHOIDES

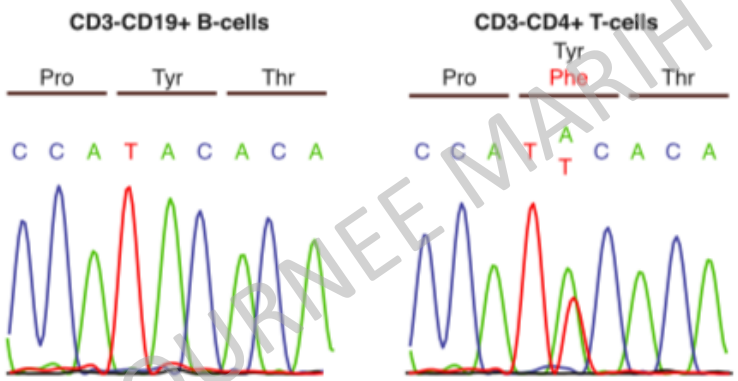
Identification of a gain-of-function *STAT3* mutation (p.Y640F) in lymphocytic variant hypereosinophilic syndrome

Sarah Walker,[1] Chen Wang,[2] Trent Walradt,[2] Bok Sil Hong,[2] Justin R. Tanner,[3] Jonathan L. Levinsohn,[2] Gerald Goh,[4] Antonio Subtil,[2] Stuart R. Lessin,[5] Warren R. Heymann,[6,7] Eric C. Vonderheid,[8] Brett A. King,[2] Richard P. Lifton,[9-11] and Jaehyuk Choi[2,3,12,13]

Blood2016

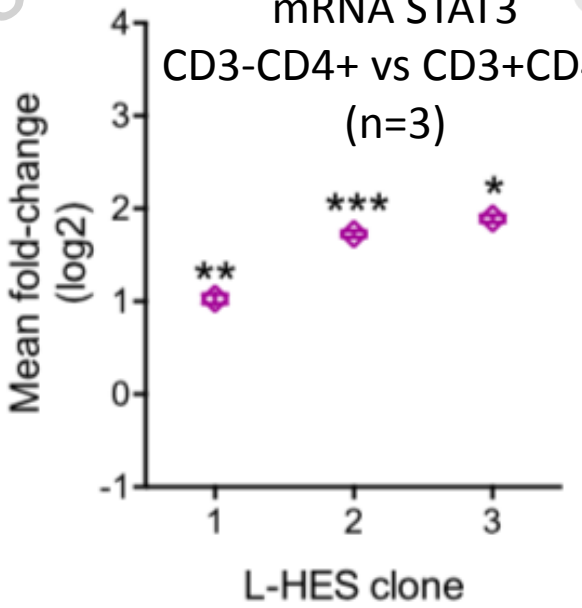


Exome+Sanger STAT3 B vs T CD3-CD4+ (n=1)



Mutation somatique activatrice de STAT3 (n=1)

mRNA STAT3
CD3-CD4+ vs CD3+CD4+
(n=3)



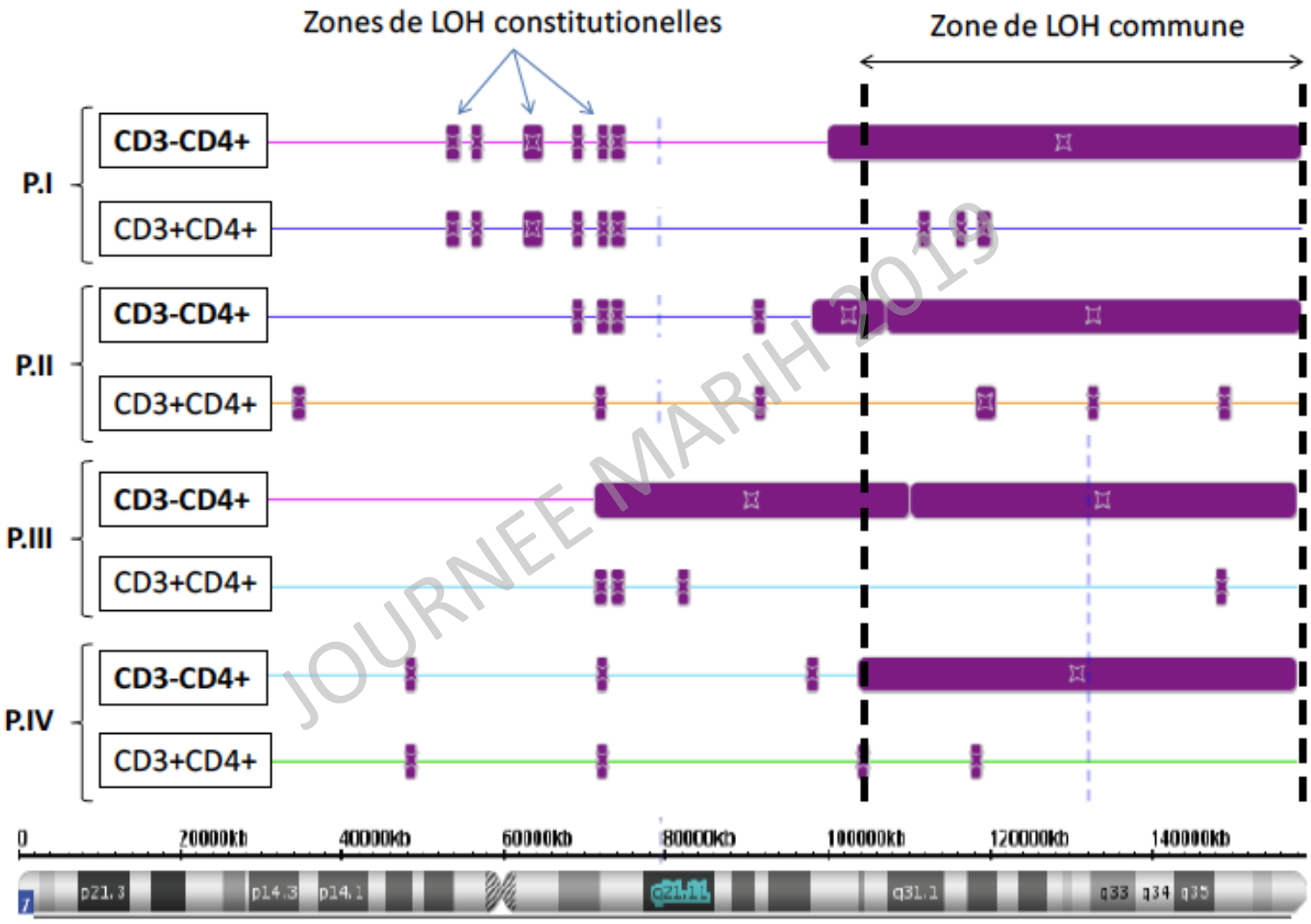
« Signature » STAT3 (n=3)

STAT3 ET SHE LYMPHOIDES - CEREO

- 20 SHE lymphoïdes CD3-CD4+
- Analyse NGS lymphoïdes 30 gènes
- 2 patients avec mutation GoF STAT3
- Sous clone, Pas de suivi longitudinal
- Pas d'analyse de signature STAT3

G Lefèvre, non publié

ANALYSE EN SNPa DES SHE LYMPHOIDES CD3-CD4+ CEREO



Mise en évidence d'une zone de LOH commune en 7q(22.3;36.3) dans les CD3- CD4+

G Lefèvre, non publié

INHIBITION JAK-STAT DANS LES SHE LYMPHOIDES

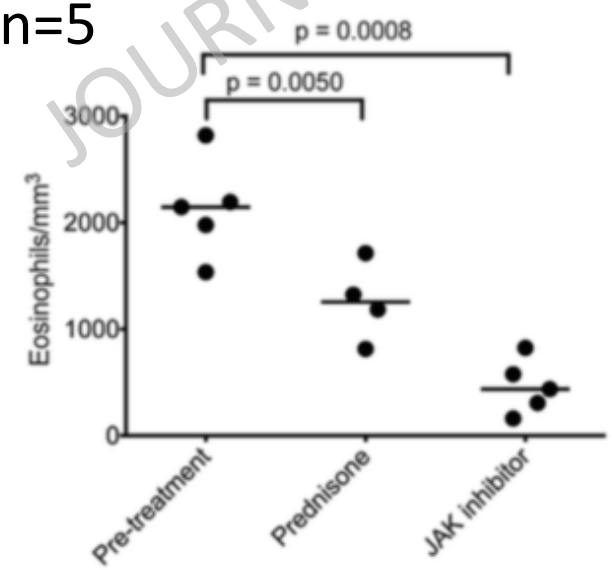
Treatment of Hypereosinophilic Syndrome with Cutaneous Involvement with the JAK Inhibitors Tofacitinib and Ruxolitinib

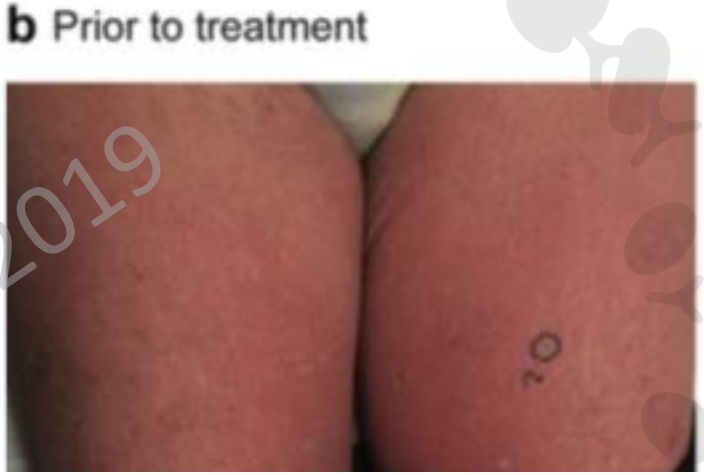
Journal of Investigative Dermatology (2017) **137**, 951–954; doi:10.1016/j.jid.2016.10.044

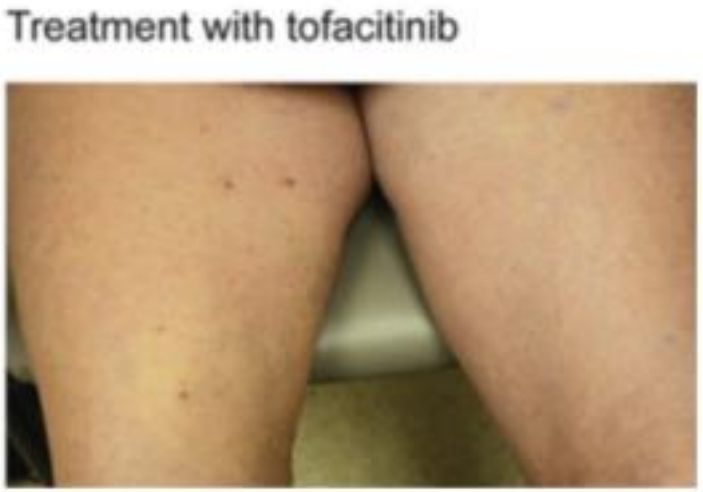
Inhibiteurs JAK-STAT: Tofacitinib (n=4) - Ruxolitinib (n=1)

Réponse hématologique n=5

Réponse clinique: n=5







STAT5b ET SHE-I NEONATAL

- 2 enfants de 2 et 3 ans
- Urticaire, érythème annulaire, angioedème, dermatite atopique, nodules
- Diarrhée-douleur, retard de croissance
- Bronchiolite
- PNE max 8 G/L (IgE Nl) et 77 G/L (IgE = 6000kUI)
- Infiltrat Eosino cutané, digestif
- Pas de réponse aux corticoïdes
- 1 décès

Ma, Blood 2017

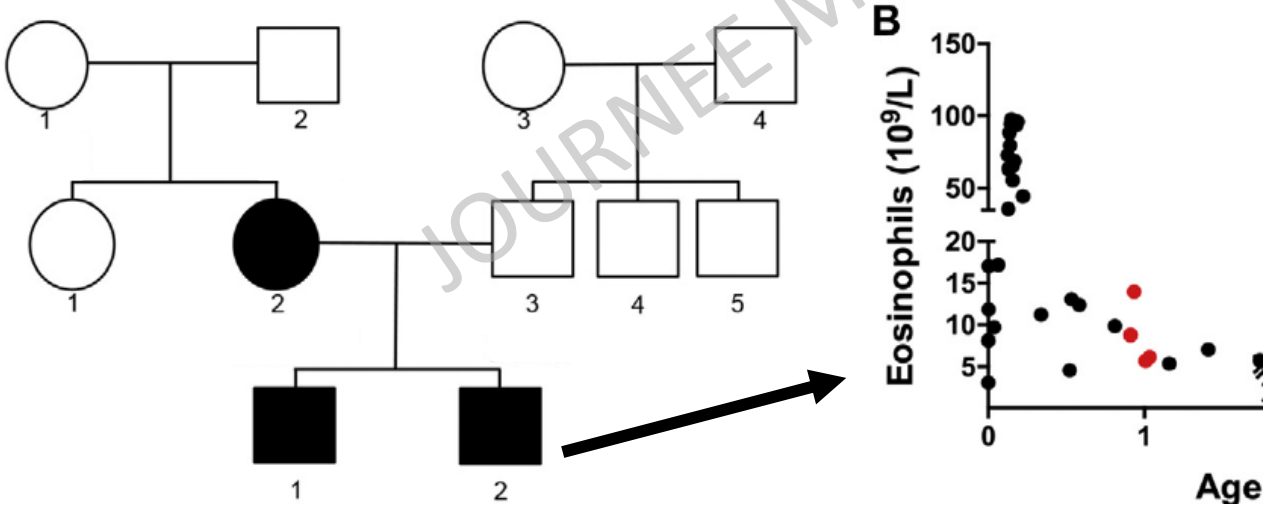
- NGS 300 gènes sur PBMC
- **Mutation somatique hématopoiétique STAT5b N642H GoF**

Cell type	STAT5B N642H %alt allele	
	Patient A	Patient B
CD3	45.8	46.1
CD11c	13.4	20.6
CD19	10.4	11
Eosinophils	N.D.	43.3

Ma, Blood 2017

JAK1 ET SHE-I

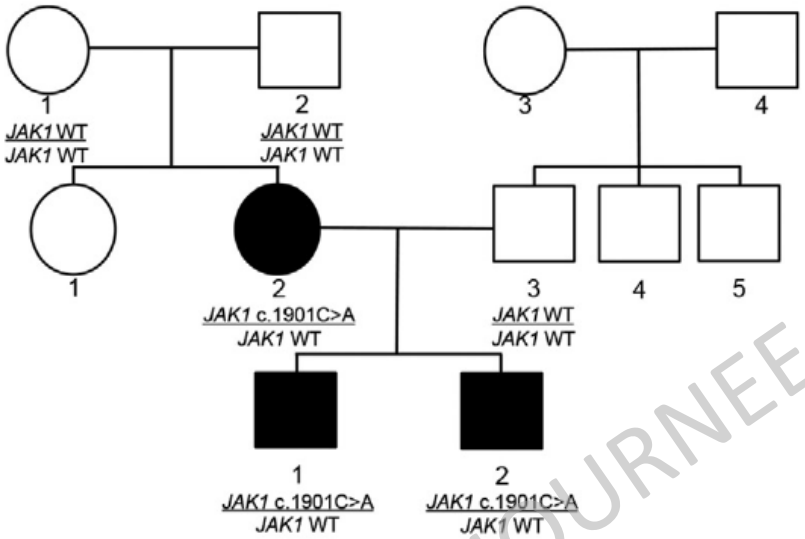
- Kystes hépatiques néo-natal
- Dermatite atopique sévère, thyroidite auto-immune
- PNEmax 2 G/L à 100 G/L
- Infiltration éosinophilique hépatique, splénique (HSM), digestive
- Bilan étiologique négatif, IL-3, IL-3, IgE normales
- Pas de réponse aux corticoïdes

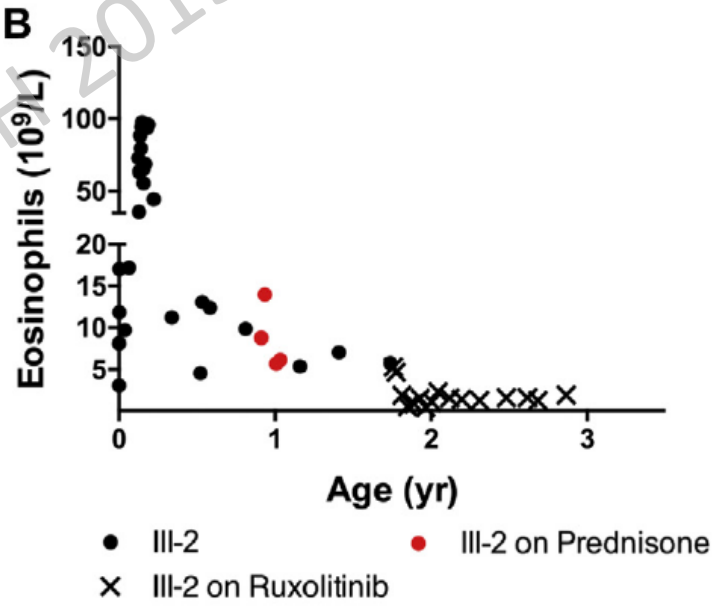


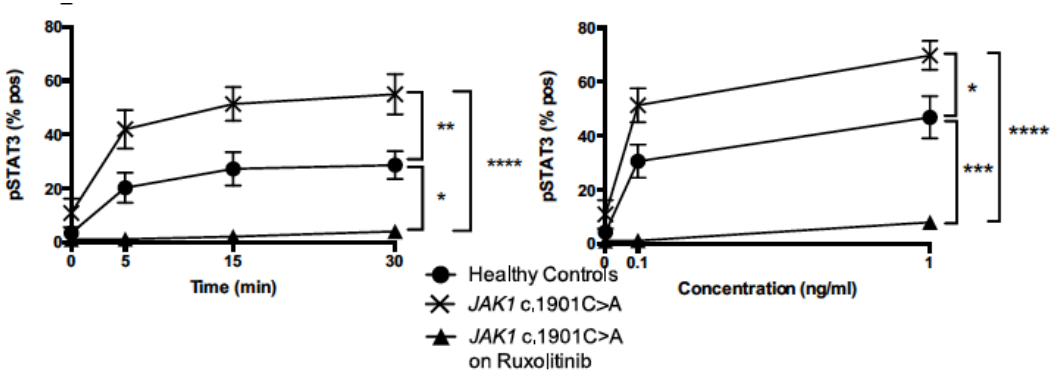
Del Bel, JACI 2017

JAK1 ET SHE-I

Whole exome sequencing: **mutation germinale JAK1 A643D, activatrice, AD, de novo, impliquant STAT3**







Rémission complète clinique et biologique sous ruxolitinib

Del Bel, JACI 2017

CONCLUSION: « PREHISTOIRE » DU NGS DANS LES SHE

- Aucune avancée majeure dans les SHE clonaux
  - Pronostic
  - Ciblage thérapeutique
  - **Pas d'indication en routine** hors étude et hors contexte (SDM associé, LAM…)
- Quelques découvertes ponctuelles dans les SHE-lymphoïdes ou idiopathiques
  - JAK1, STAT3, STAT5b
  - Impact thérapeutique fort
- Panel dédié éosinophile ++++ (IL5-R, EPO, ALOX15, CRTH2, voie Th2…….)