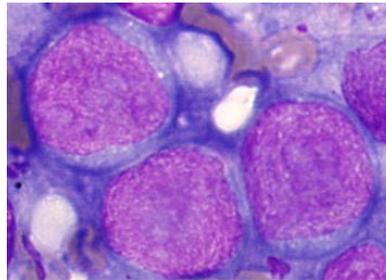


# Syndrome de Richter

## Avancées physiopathologiques

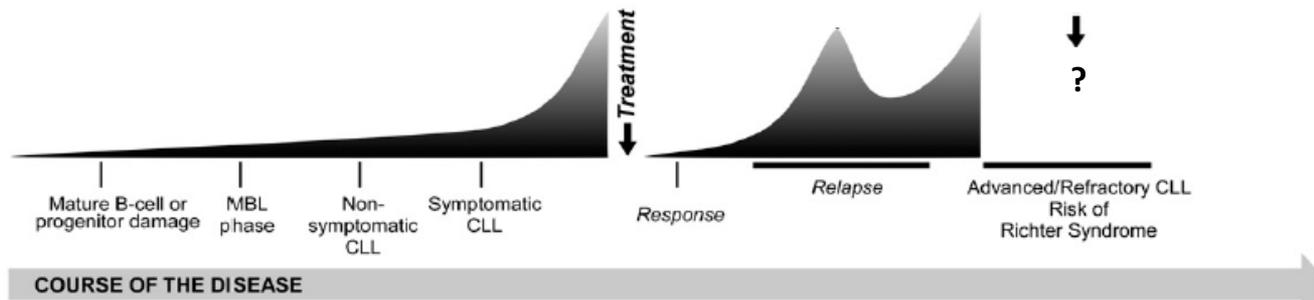


Docteur Julien BROSEUS  
*Interrégionales d'Hématologie de l'Est*  
Nancy, le 1<sup>er</sup> février 2020

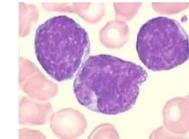
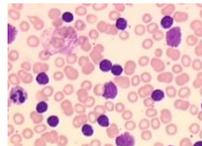
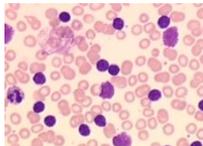


# Leucémie Lymphoïde Chronique

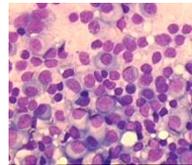
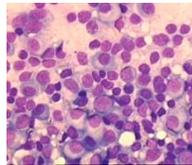
## Transformation histologique en lymphome agressif



Sang



Ganglion



# Syndrome de Richter (SR)

## Définition-Généralités

Développement d'un lymphome agressif dans un contexte de LLC.

« *Transformation to a more aggressive histology* »

Concerne 2 à 25% des LLC selon les séries.

Deux variants histopathologiques :

Lymphome de Hodgkin (5 à 10% des cas)

Lymphome B-diffus à grandes cellules (90 à 95% des cas).

Phénotype non-GC dans plus de 90% des cas

50% des transformations en SR ont lieu sur des LLC non traitées.

Incidence annuelle : 0,5 à 1% par an

Délai médian de transformation : 23 mois

Survie médiane est d'environ 1 an.

Tsimberidou et al. J Clin Oncol. 2006; 24(15):2343-51.  
Rossi et al. Br J Haematol. 2008; 142(2):202-15.  
Rossi et al. Clin Cancer Res. 2009; 15(13):4415-22.  
Rossi et al. Blood. 2011; 117(12):3391-3401.  
Rossi et al. Int J Cancer. 2012; 130(12):3006-3010.  
Parikh et al. Br J Hematol. 2013; 162(6):774-82.  
Hallek M et al. Blood. 2018; 131(25):2745-2760

# Syndrome de Richter

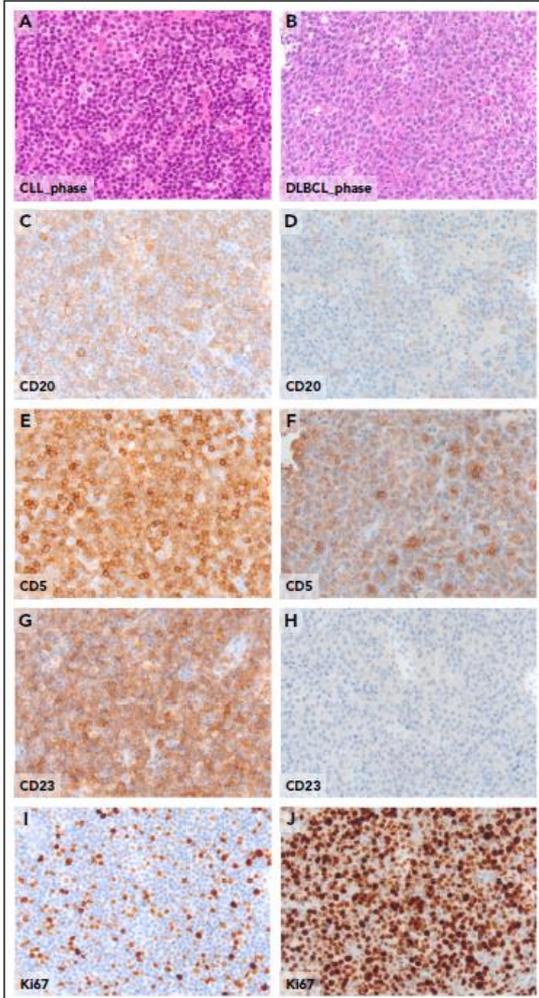
## Incidence

Study design	CLL patients included in the study	Study population	Treatment	Patients who developed RS	RS prevalence, %	RS type
Retrospective	962	Unselected	na	14	1	Any
Retrospective	1487	Unselected	na	15	1	Any
Clinical trial	391	Relapsed	Ibrutinib, ofatumumab	4	1	Any
Clinical trial	777	Progressive untreated	Clb, F, FC	13	2	Any
Retrospective	1011	Unselected	na	22	2	Any
Observational	1641	Unselected	na	37	2	DLBCL
Clinical trial	561	Untreated, 17p nondeleted	FCR, BR	13	2	Any
Clinical trial	29	Progressive untreated	Ibrutinib	1	3	Any
Clinical trial	194	Relapsed/refractory	Venetoclax-rituximab	6	3	Any
Clinical trial	195	Relapsed/refractory	Bendamustine-rituximab	5	2.5	Any
Retrospective	3986	Unselected	na	148	4	Any
Clinical trial	817	Progressive untreated	FC, FCR	33	4	Any
Clinical trial	127	Relapsed/refractory	Ibrutinib	7	5	Any
Retrospective	465	Unselected	na	24	5	Any
Retrospective	620	Unselected	na	37	6	Any
Clinical trial	51	17p deleted	Ibrutinib	3	6	Any
Clinical trial	174	Progressive untreated	F	13	7	Any
Clinical trial	521	Progressive untreated	Clb, F, Clb + F	34	7	Any
Retrospective	178	BCRi treated	Ibrutinib, idelalisib	13	7	Any
Clinical trial	85	Relapsed/refractory	Ibrutinib	7	8	Any
Clinical trial	234	Progressive untreated	FCR	21	9	Any
Retrospective	783	Unselected	na	69	9	DLBCL
Retrospective	185	Unselected	na	17	9	DLBCL
Retrospective	101	Unselected	na	12	12	Any
Clinical trial	116	Relapsed/refractory	Venetoclax	18	16	Any
Clinical trial	63	17p deleted	Heterogeneous	15	23	Any
Clinical trial	67	Relapsed/refractory, 17p del	Venetoclax	17	25	Any
Observational	3887	Unselected	na	26	0.7	HL
Retrospective	4121	Unselected	na	18	0.4	HL

Ibr: ibrutinib; BR, bendamustine plus rituximab; C, cyclophosphamide; Clb, chlorambucil; F, fludarabine; hIR, high-dose rituximab; HL, Hodgkin lymphoma; na, not available; R, rituximab.

# Syndrome de Richter

## Histologie : pas de véritable consensus



### Caractéristiques du Richter

- (i) Grandes cellules B dont le noyau est de taille au moins équivalente à celle du noyau d'un macrophage ou au moins 2 fois plus grande que celle d'un lymphocyte.
- (ii) Infiltration diffuse/étendue par des grandes cellules (pas juste quelques plages)

CD20+, CD5+ (30-75%), CD23+ (15-70%)

Phénotype non-GC (90-95%), MYC (30-40%),  
BCL2+, PD-1+ (80%), ↑ Ki67, EBV-

### Différentiel : LLC histologiquement agressive

Cellules de taille et d'activité proliférative augmentée avec une expansion des centres germinatifs (20% des diagnostics de SR)

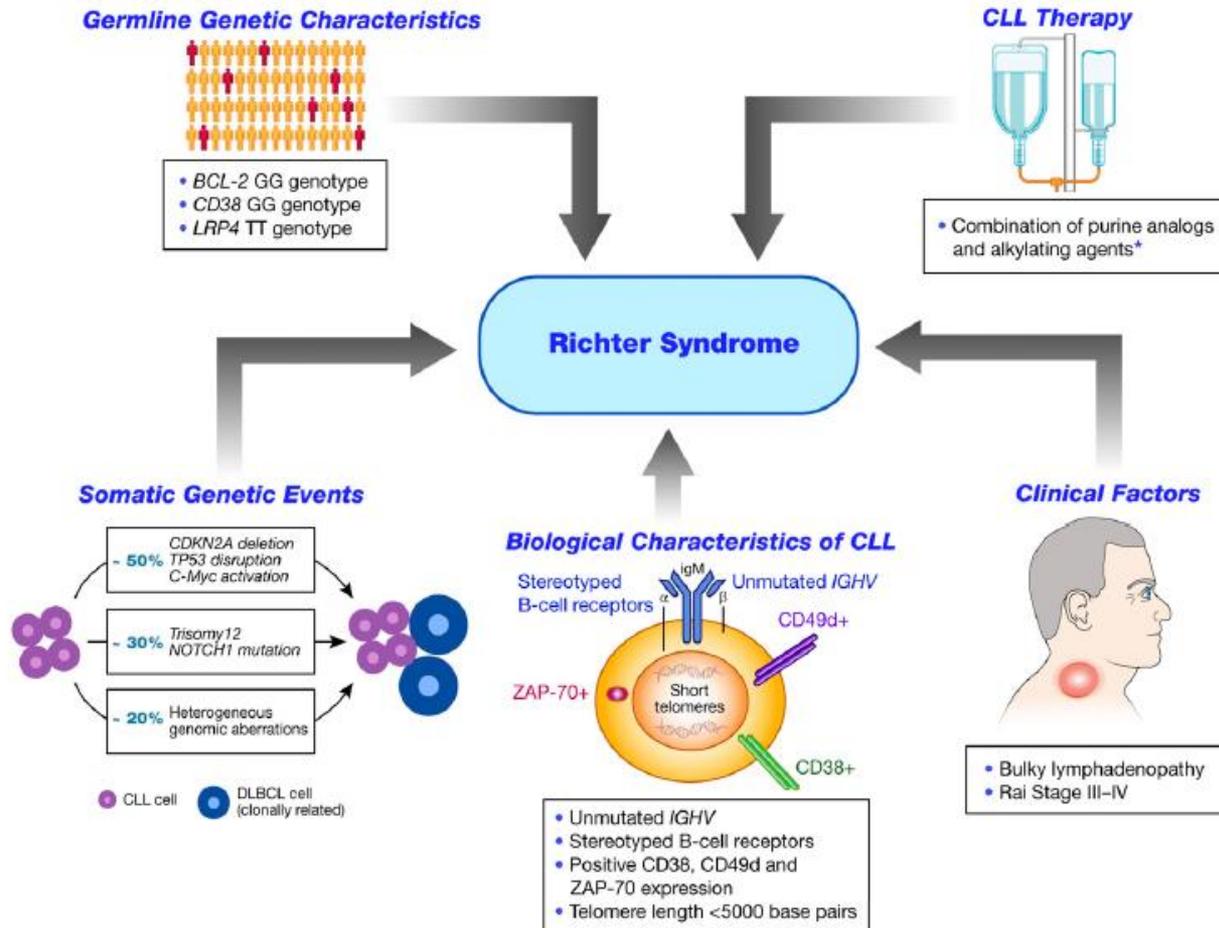
# Syndrome de Richter

## Facteurs de risque

	Facteur de risque	Citation
Cliniques	LLC de stade avancé au diagnostic Présence d'une adénopathie > 3 cm	Rossi et al. Br J Haematol. 2008; 142:202-15. Parikh et al.. Br J Hematol. 2013; 162:774-82.
Biologiques	Intensité hyperlymphocytose sanguine Taux élevé de $\beta 2$ microglobuline sérique Expression de ZAP70 Expression de CD38 Expression de CD49d	Rossi et al. Br J Haematol. 2008; 142:202-15. Rossi et al. Blood. 2011; 117:3391-3401. Parikh et al.. Br J Hematol. 2013; 162:774-82.
Moléculaires	Absence de délétion (13q14) Délétions (11q22) et (17p13) Statut non-muté du gène <i>IgHV</i> BCR stéréotypique, en particulier <i>IgHV</i> <sub>4-39</sub> Télomères courts < 5000 pb Polymorphismes de <i>CD38</i> , <i>LRP4</i> et <i>BCL2</i> Mutations de <i>NOTCH1</i> ↑ expression de miR-125a-5p ↓ expression de miR-34a-5p	Rossi et al. Br J Haematol. 2008; 142:202-15. Rossi et al. Clin Cancer Res. 2009; 15(13):4415-22. Rossi et al. Blood. 2011; 117(12):3391-3401. Parikh et al. Br J Hematol. 2013; 162:774-82. Fangazio et al. Expert Rev Anticancer Ther. 2011; 11: 433-442. Rossi et al. Leukemia. 2009; 23:1062-72. Aydin et al. Blood. 2008; 111:5646-53. Rasi et al. Br J Hematol. 2011; 152:284-94. Parikh et al. Curr Hematol Malig Rep. 2014; 9:294-9. Rossi et al. Br J Hematol. 2012; 158:426-9. Balatti et al . Blood 2018; 132:2179-2182.

# Syndrome de Richter

## Facteurs de risque - synthèse



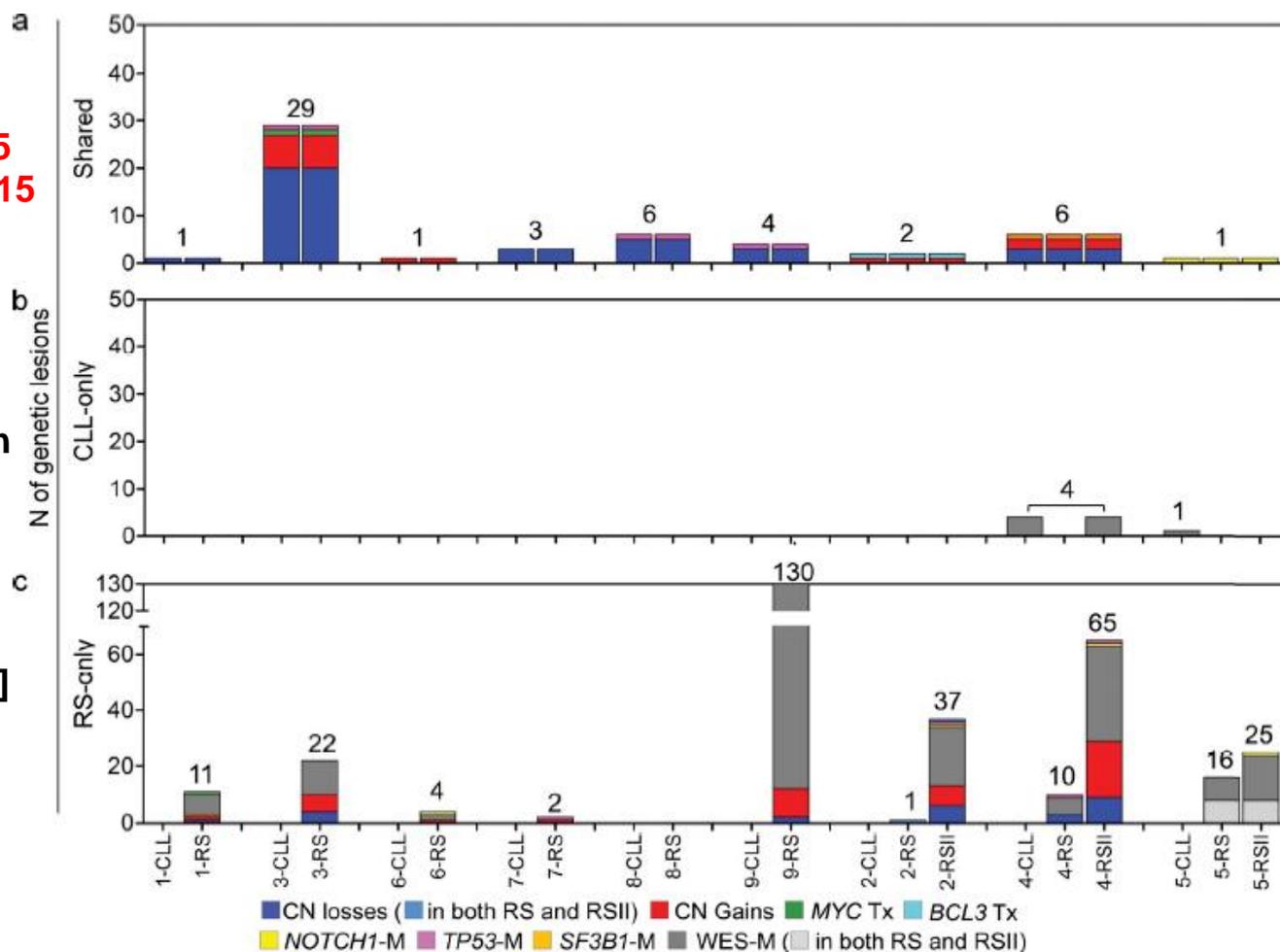
# Syndrome de Richter

## Anomalies moléculaires liées à la transformation

Evolution clonale : 12/15  
Evolution non linéaire: 3/15

Acquisition de 22  
nouvelles anomalies en  
moyenne

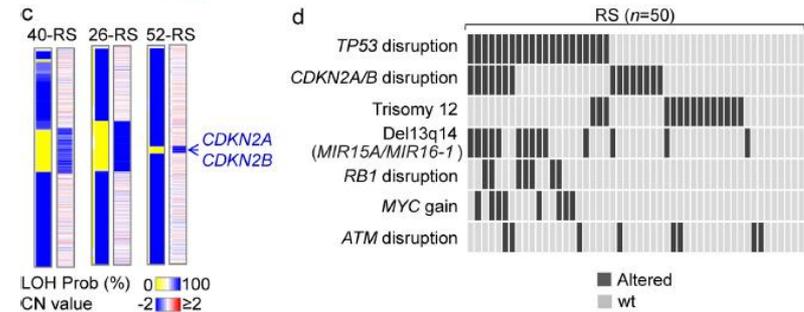
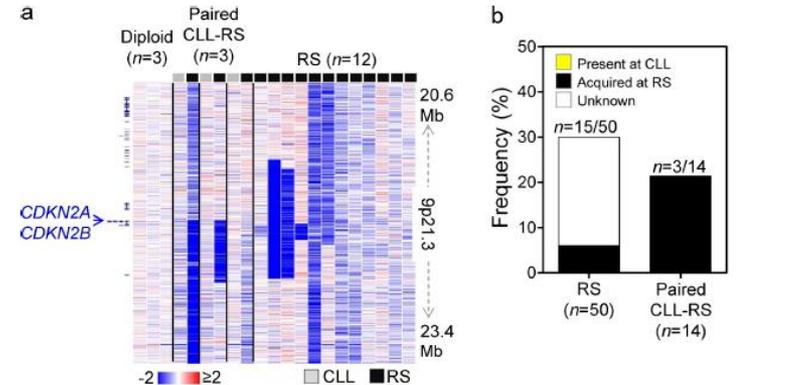
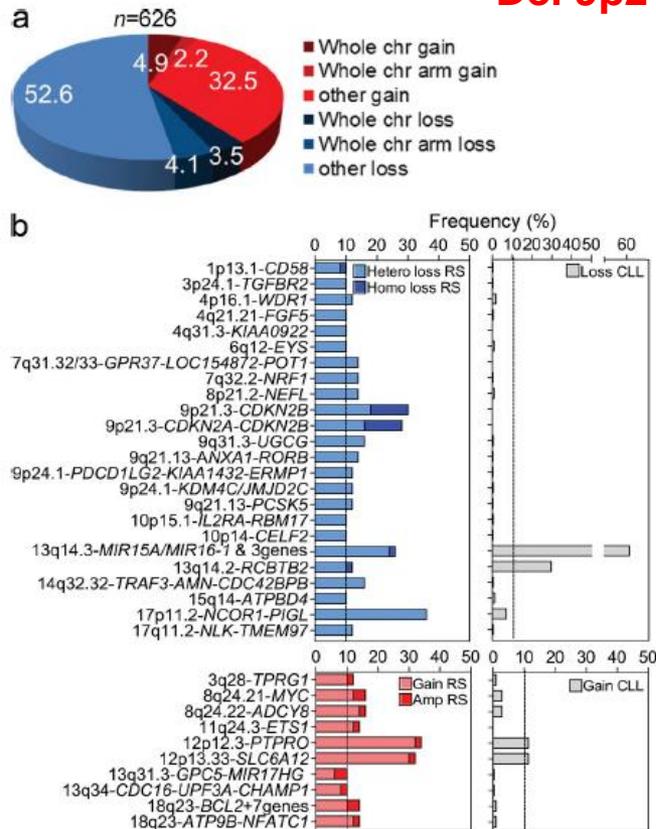
12,5 CNVs/malade [0-55]  
60% de délétions



# Syndrome de Richter

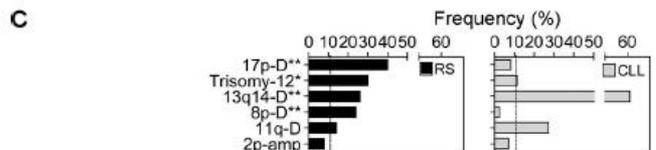
Les délétions de CDKN2A sont fréquentes (30%) à la transformation

## Del 9p21 : délétion de CDKN2A



**e**

Association	Interaction	P value
CDKN2A/B disruption and Trisomy 12	N	1.4E-03
Trisomy 12 and Del13q14 (MIR15A/MIR16-1)	N	2.6E-02
TP53 disruption and Trisomy 12	N	3.8E-02
Trisomy 12 and MYC gain	N	4.4E-02
TP53 disruption and MYC gain	P	3.8E-04
TP53 disruption and RB1 disruption	P	1.2E-03
TP53 disruption and Del13q14 (MIR15A/MIR16-1)	P	1.5E-03
Del13q14 (MIR15A/MIR16-1) and RB1 disruption	P	1.4E-02



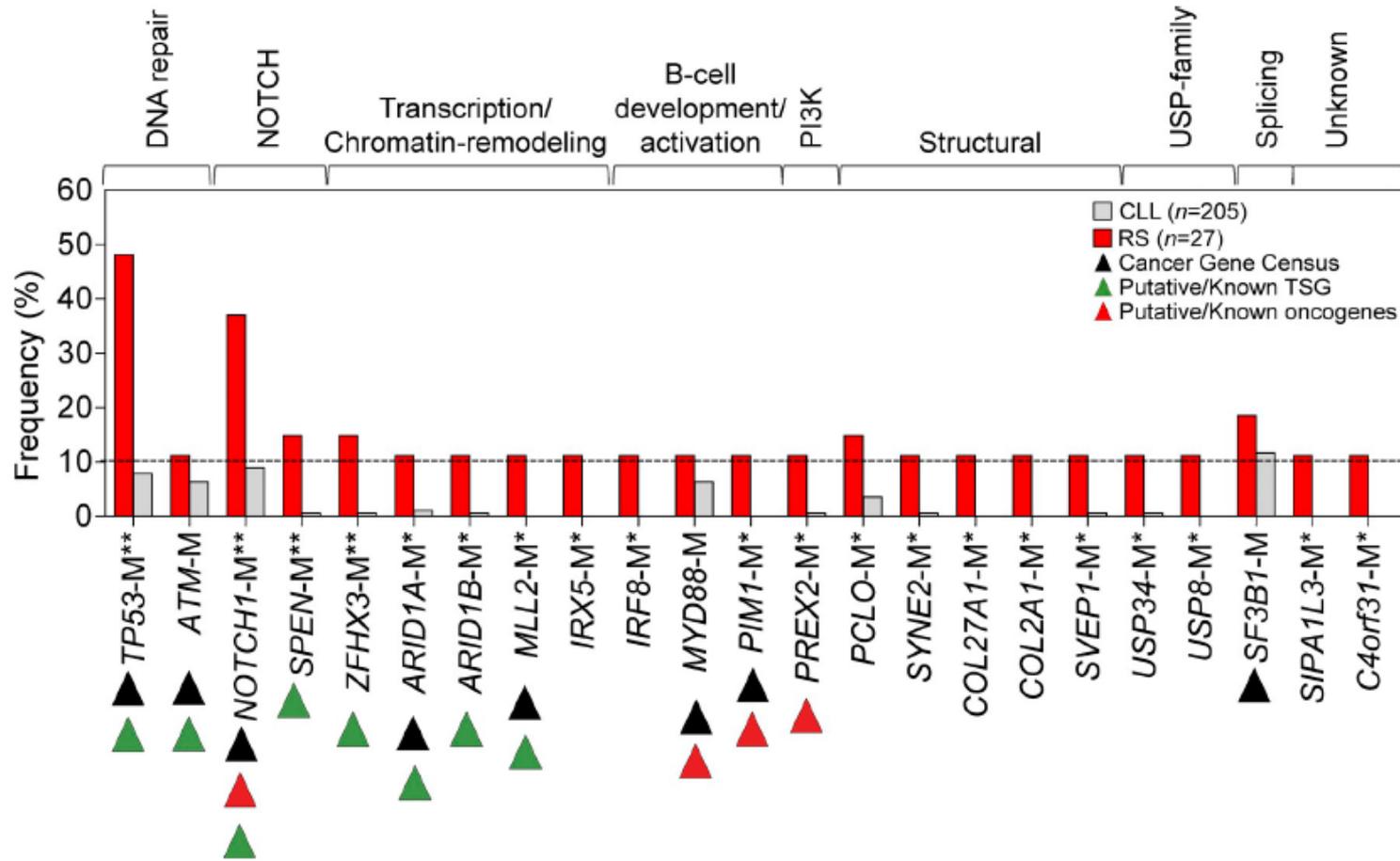
# Syndrome de Richter

## SNP et CNV par SNParrays

- Hétérogénéité des profils, ce qui suggère différents sous-types de Richter, associés à différents mécanismes de transformation
- Implication de la **voie MYC**
- A la transformation, gains de la region 13q13.3-qter qui contient MIRHG1 (**MIR-17-92**), un cluster de microRNA qui interagissent avec c-MYC
- Les gains étaient associés à des gains de *c-MYC* et des pertes de *TP53*.
- Les translocations impliquant c-MYC sont acquises à la transformation, ceci de manière exclusive avec les gains de MIRHG1.
- Très faible prevalence des délétions 6q (*PRDM1* et *TNFAIP3*) dans les Richter alors que cette anomalie est fréquente dans les LBDGC primitifs de phenotype post-GC
- Le profil génomique du SR est différent de celui des LBDGC primitifs et des autres type de LBDGC secondaires

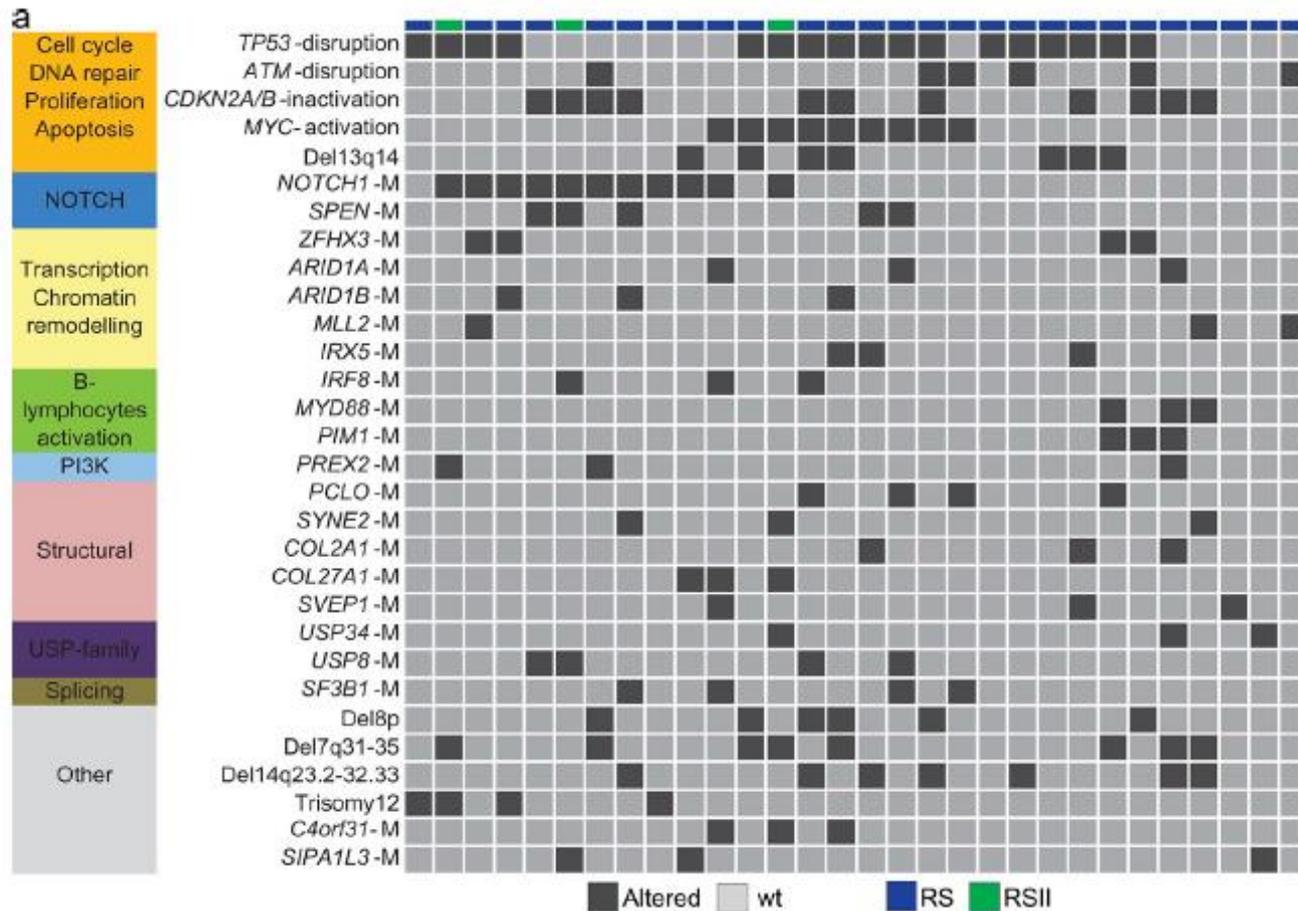
# Syndrome de Richter

## Séquençage d'exome



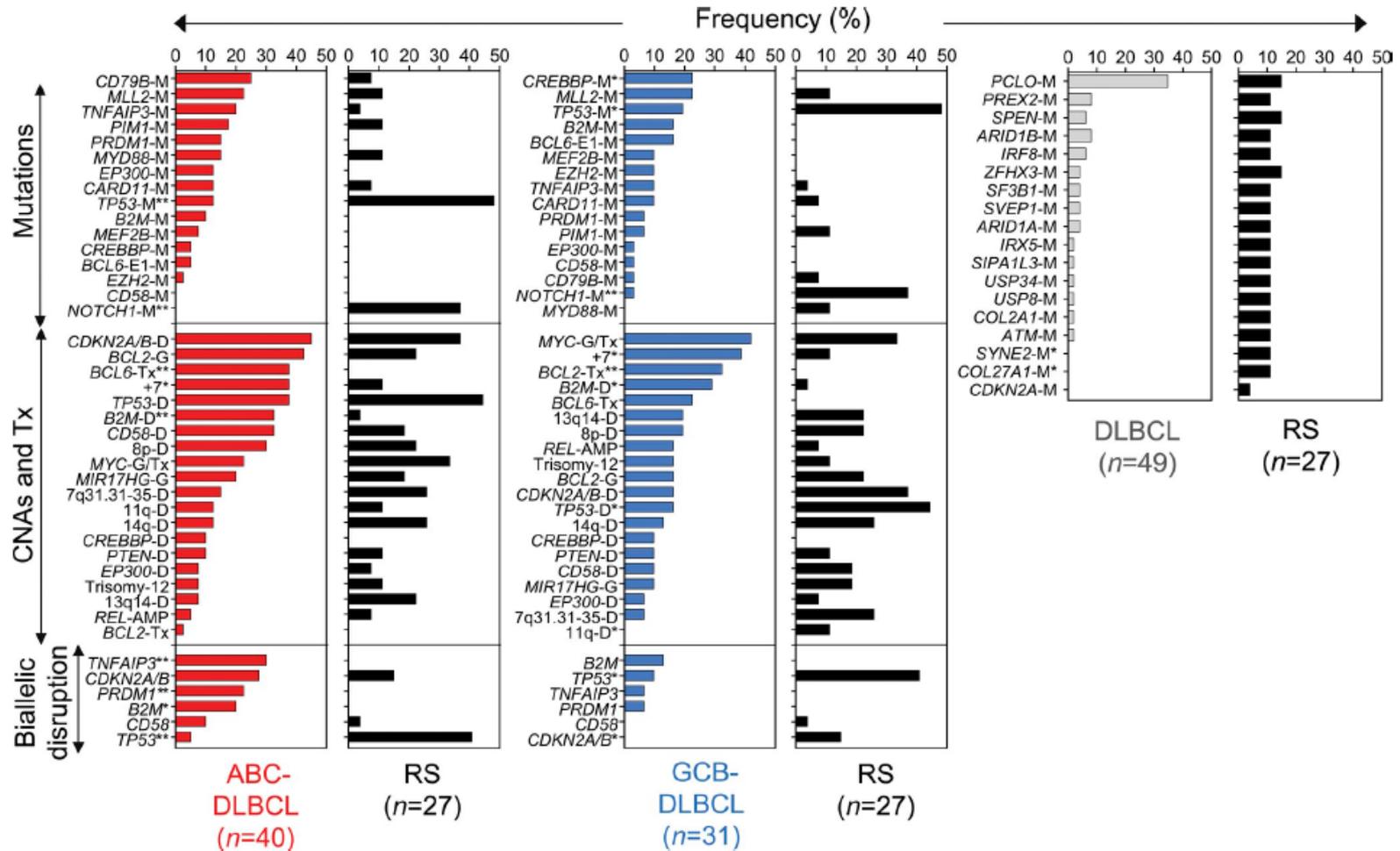
# Syndrome de Richter

## Syndrome de Richter : mutations ponctuelles acquises à la transformation



# Syndrôme de Richter

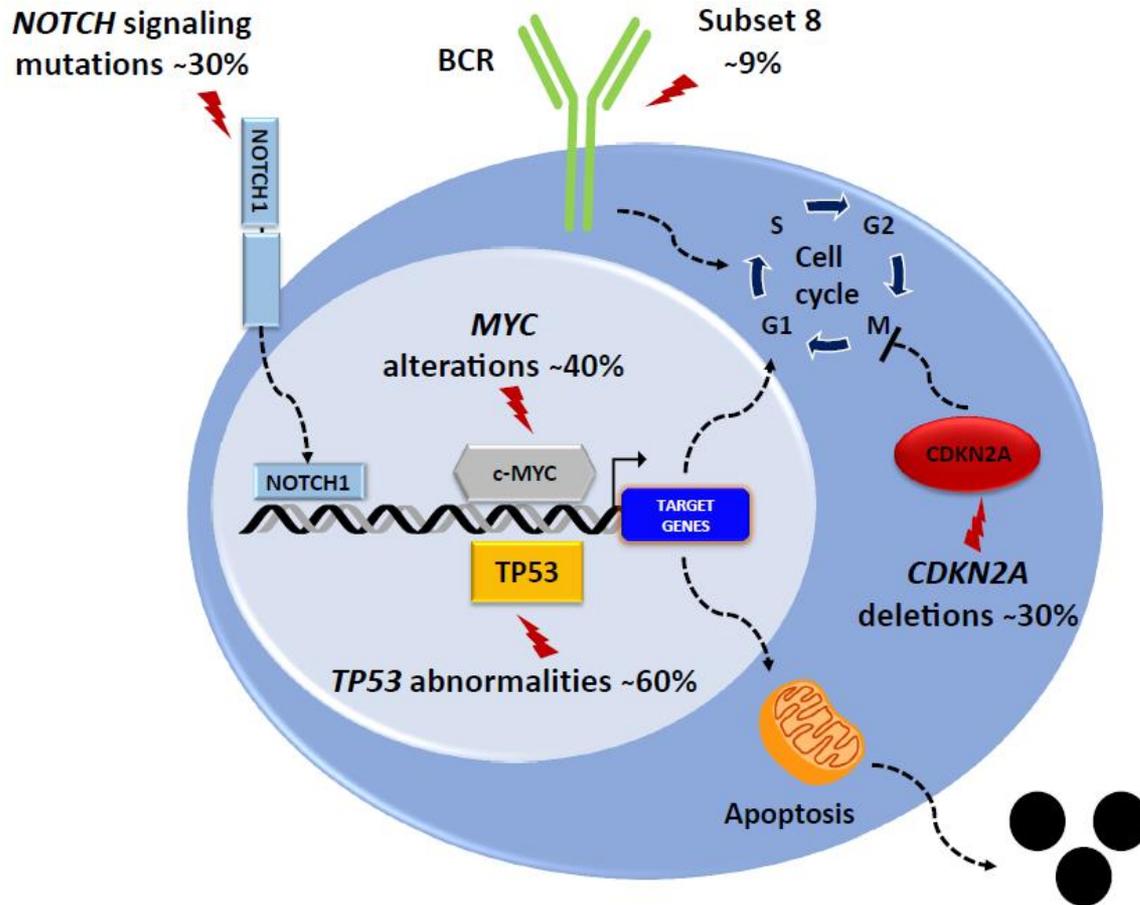
Panorama génétique très différent de celui des DLBCL *de novo*





# Syndrome de Richter

## Syndrome de Richter : profil mutationnel



# Syndrome de Richter

Le développement du RS ne peut être facilement expliqué par les anomalies de la LLC ou du DLBCL

## Événements identifiés au stade de SR

- Inactivation de TP53 (47,1% groupe complet, 55,6% si évolution linéaire).
- Activation de MYC (26,2%), les  $\frac{3}{4}$  acquises au stade de RS et 50% concomitamment avec anomalies de *TP53*).
- BCR stéréotypiques
- Mutations somatiques de *NOTCH1* (30% des cas au stade de LLC)

## SR Vs LBDGC (non-GC) primitifs

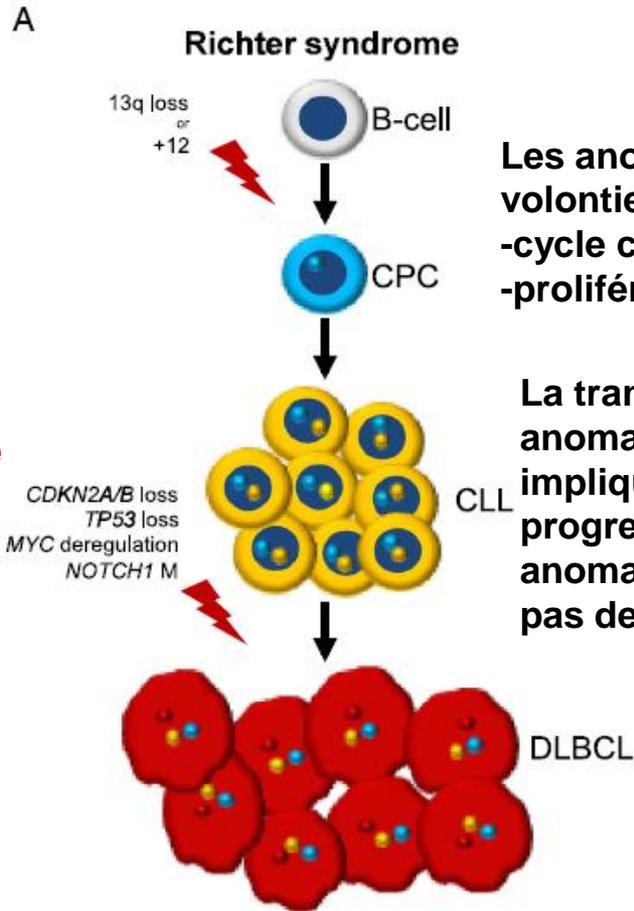
- RS présente peu des anomalies habituelles des les DLBCL *de novo*
- Pas d'altération de la voie NFkB (seulement *CARD11* muté 5% stade RS)
- Pas d'altérations de BCL2, BCL6, PRDM1, EZH2, TNFAIP3, CD79a/b
- Absence d'hypermutations somatiques de *IgVH* ni d'hypermutation somatique aberrante des proto-oncogènes *MYC*, *RhoH-TTF*, *PAX5* et *PIM1*.

# Syndrome de Richter

## Sur le plan moléculaire

90% des RS proviennent du clone LLC

L'inactivation de TP53 et de CDKN2A sont les deux mécanismes principaux de la transformation en RS



Les anomalies retrouvées affectent volontiers les « régulateurs généraux » :

- cycle cellulaire : TP53 et/ou CDKN2A/B
- prolifération cellulaire : NOTCH1 ou MYC

La transformation en RS implique des anomalies différentes de celles impliquées dans la progression/l'accélération de la LLC: les anomalies de *SF3B1* et *BIRC3* ne jouent pas de rôle dans la transformation en RS.

CPC : Common Progenitor Cell  
CLL : Chronic Lymphocytic Leukemia  
FL : Follicular Lymphoma  
DLBCL : Diffuse Large B-Cell Lymphoma



# Syndrome de Richter

## Profils de méthylation

**Principale conclusion :**  
**Différences ++ entre Richter et DLBCL *de novo***

DLBCL *primitifs* non-GCB Vs. SR

443 sondes  
hyperméthylées dans  
le SR

2687 sondes  
hyperméthylées dans les  
LBDGC primitifs

-Promoteurs de gènes  
impliqués dans la régulation  
du cycle cellulaire  
-Promoteurs de gènes  
régulés par TP53 et RB1

Promoteurs présentant la marque  
 $H_3K_{27}me_3$   
Promoteurs des gènes-cibles du  
complexe Polycomb et de SUZ 12

# Syndrome de Richter

## Profils de méthylation

**Dans le SR : hyperméthylation de promoteurs de gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire, en particulier *TP53*, *RB1* et *CDKN2A*.**

### SR Vs. LLC appariées

Analyse globale

73 sondes hyperméthylées dans le SR

100 sondes hyperméthylées dans les LLC appariées

Promoteurs présentant la marque  $H_3K_{27}me_3$   
Gènes régulés par WT1

*OSM* (gène régulant les cellules souches)  
*S1PR4* (migration cellulaire)

### Richter Syndrome Vs. paired CLL

Analyse par groupes d'échantillons appariés

25 sondes hyperméthylées après transformation

*CDKN2A*  
*WT1*

# Syndrome de Richter

## Synthèse

- 2 à 10% des LLC
- 2 formes histologiques, la plus fréquente est le LBDGC
- Survie médiane de 5 à 23 mois selon les séries
- Notion de clonalité LLC-Richter
- Hétérogénéité biologique au stade Richter
- Rôle de TP53 ++
- Traitement de référence = R-CHOP
- Nombreux essais thérapeutiques avec des protocoles de chimiothérapie génotoxique + intenses
- Essais avec les nouveaux traitements ciblés

# Projet CGPSR : Caractérisation Génomique et Protéomique du Syndrome de Richter



**Génomique de la Leucémie Lymphoïde Chronique et du Syndrome de Richter**

**Projet CGPSR  
Investigateurs principaux:  
Julien BROSÉUS  
Pierre FEUGIER**

<b>Recherche clinique</b>	Thèse d'exercice C. MOULIN 2019-2021 M2. C. MOULIN 2019-2020
<b>Exome</b>	M2 : C. MANENQ 2016-2017
<b>Méthylome</b>	SIR. L. SCHENONE 2018-2019
<b>Transcriptome</b>	M2. H. AUGÉ 2019-2020
<b>Protéome</b>	Thèse d'exercice R. MORIZOT 2018-2020 M2. R. PIUCCO 2019-2020 M2. R. MORIZOT 2018-2019
<b>ADN tumoral circulant</b>	

