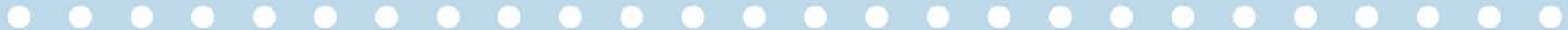




9th DHC 2015

January 21-22-23
Papendal, Arnhem

Dutch Hematology Congress



CLL: moleculaire ontwikkelingen

Moderator

Prof.dr. J.H. Veelken

1st author / speaker

Prof.dr. Eric Eldering

Co-authors

**Namen van mede-auteurs, namen van mede-auteurs,
heel veel namen van mede-auteurs**

Belangenverklaring

In overeenstemming met de regels van de Inspectie van de Gezondheidszorg (IGZ)

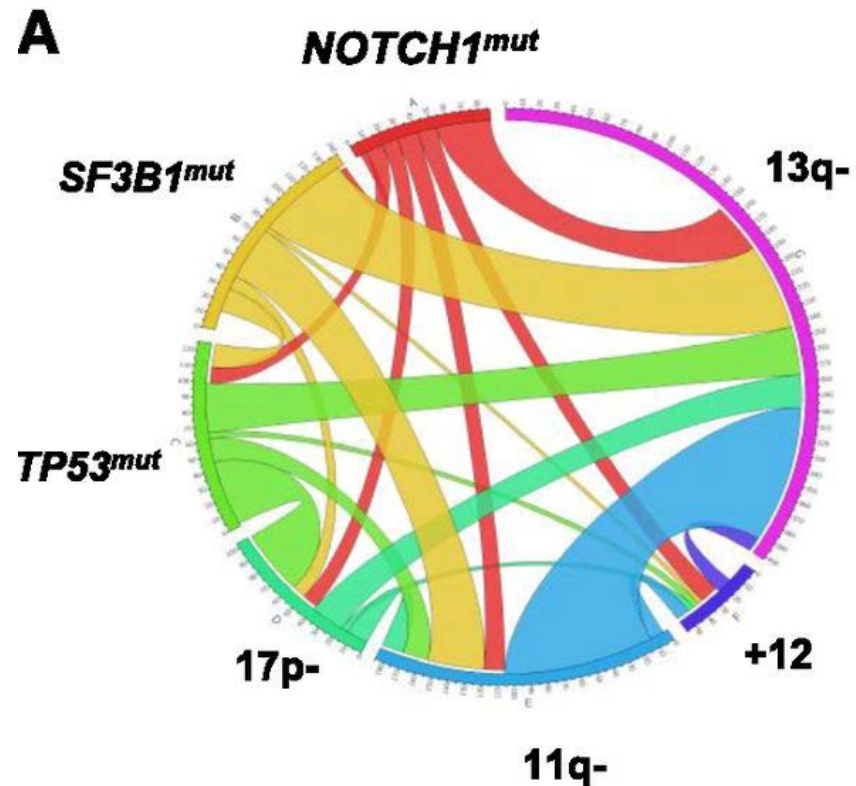
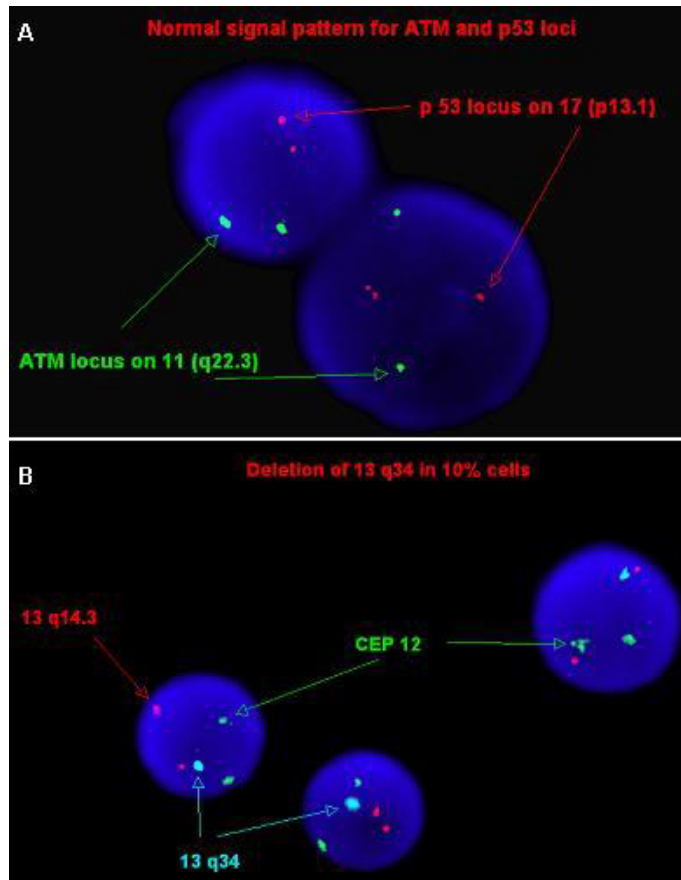
Naam: [Eric Eldering]

Organisatie: [AMC]

- ☐ Ik heb geen 'potentiële' belangenverstrengeling
- ☒ Ik heb de volgende mogelijke belangenverstrengelingen:

Type van verstrengeling / financieel belang	Naam van commercieel bedrijf
Ontvangst van subsidie(s)/research ondersteuning:	Celgene, Sanofi
Ontvangst van honoraria of adviseursfee:	
Lid van een commercieel gesponsord 'speakersbureau':	
Financiële belangen in een bedrijf (aandelen of opties):	
Andere ondersteuning (gelieve te specificeren):	
Wetenschappelijke adviesraad:	

Van microscoop naar next generation sequencing



<http://atlasgeneticsoncology.org/Reports/Images/0614AdhvaryuFig3.jpg>

Stilgenbauer et al, Wiestner A Blood 2014;123:3212-3214

CLL introduction

- Heterogeneity in the clinical course is a hallmark of CLL.
- The median survival can be <3 years for patients in high-risk subgroups and >25 years in low-risk patients.
- **Priority:** Understanding the biologic basis for this clinical variability
 - Development of prognostic markers to dissect the heterogeneity.
 - Integration in therapeutic approaches
- Established prognostic biomarkers include:
 - the mutation status of the expressed immunoglobulin gene variable region (*IGHV*)
 - chromosomal abnormalities assessed by FISH
 - expression of CD38, CD49d, and ZAP-70 by FACS

CLL introductie

- Heterogeniteit in klinisch beloop is kenmerkend voor CLL.
- Overleving kan <3 jaar zijn voor high-risk patient en >25 jaar voor low-risk patient.
- **Prioriteit:** wat is de biologische basis van deze variabiliteit
 - Ontwikkeling van prognostische markers voor heterogeneiteit
 - Integratie in therapeutische benadering
- Bekende prognostische biomarkers:
 - mutatie status van het immunoglobuline variabele regio (*IGHV*)
 - chromosomale afwijkingen vastgesteld met FISH (17p & 11q)
 - expressie van CD38, CD49d, en ZAP-70 per FACS

Vanaf 2011: CLL & de nieuwe genetica



Fabbri G, Rasi S, Rossi D, Trifonov V, Khiabanian H, Ma J, et al. **Analysis of the chronic lymphocytic leukemia coding genome: role of NOTCH1 mutational activation.** J Exp Med. 2011; 208(7): 1389-401.

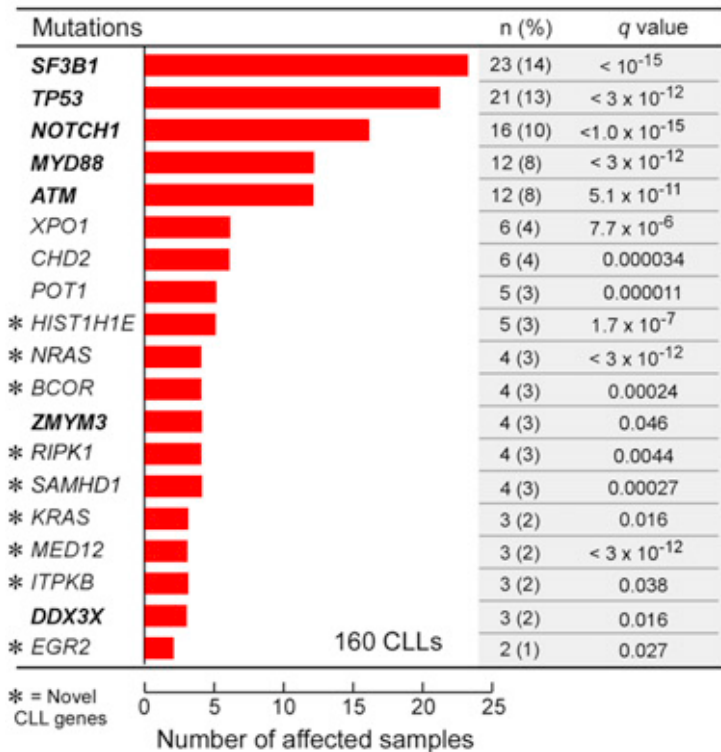
Puente XS, Pinyol M, Quesada V, Conde L, Ordonez GR, Villamor N, et al. **Whole genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia.** Nature. 2011;475(7354):101-5.

Wang L, Lawrence MS, Wan Y, Stojanov P, Sougnez C, Stevenson K, et al. **SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia.** N Engl J Med. 2011; 365(26):2497-506.

Quesada V, Conde L, Villamor N, Ordonez GR, Jares P, Bassaganyas L, et al. **Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia.** Nat Genet. 2012; 44(1):47-52.

Rossi D, Fangazio M, Rasi S, Vaisitti T, Monti S, Cresta S, et al. **Disruption of BIRC3 associates with fludarabine chemorefractoriness in TP53 wild-type chronic lymphocytic leukemia.** Blood. 2012;119(12):2854-62.

Wat komt aan de orde in dit verhaal

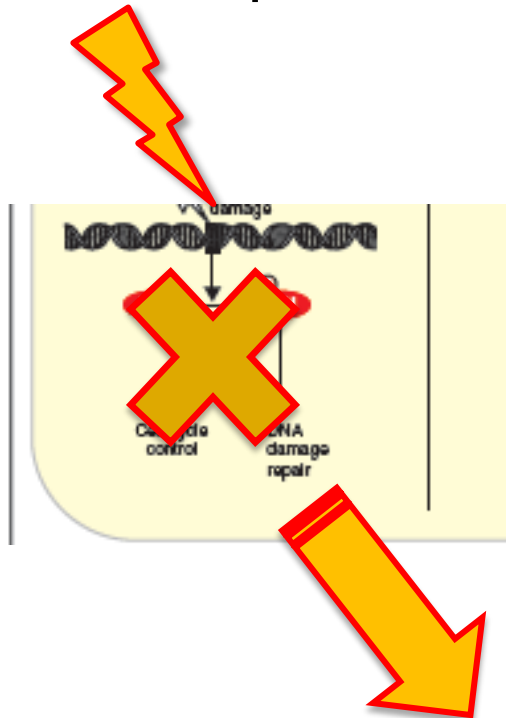


- Landschap van de nieuwe mutaties in CLL
- Verband met klinisch beloop
 - Oorzakelijk – het geval Notch & CD20
 - Diagnostiek – nieuwe indeling
- Functies van de gemuteerde genen
 - Rol voor Sf3b1 bij DNA schade respons?
- Uitgroei/selectie van (minderheids) kloons
- Het (vervagende) onderscheid tussen drivers en passengers
- Perspectief

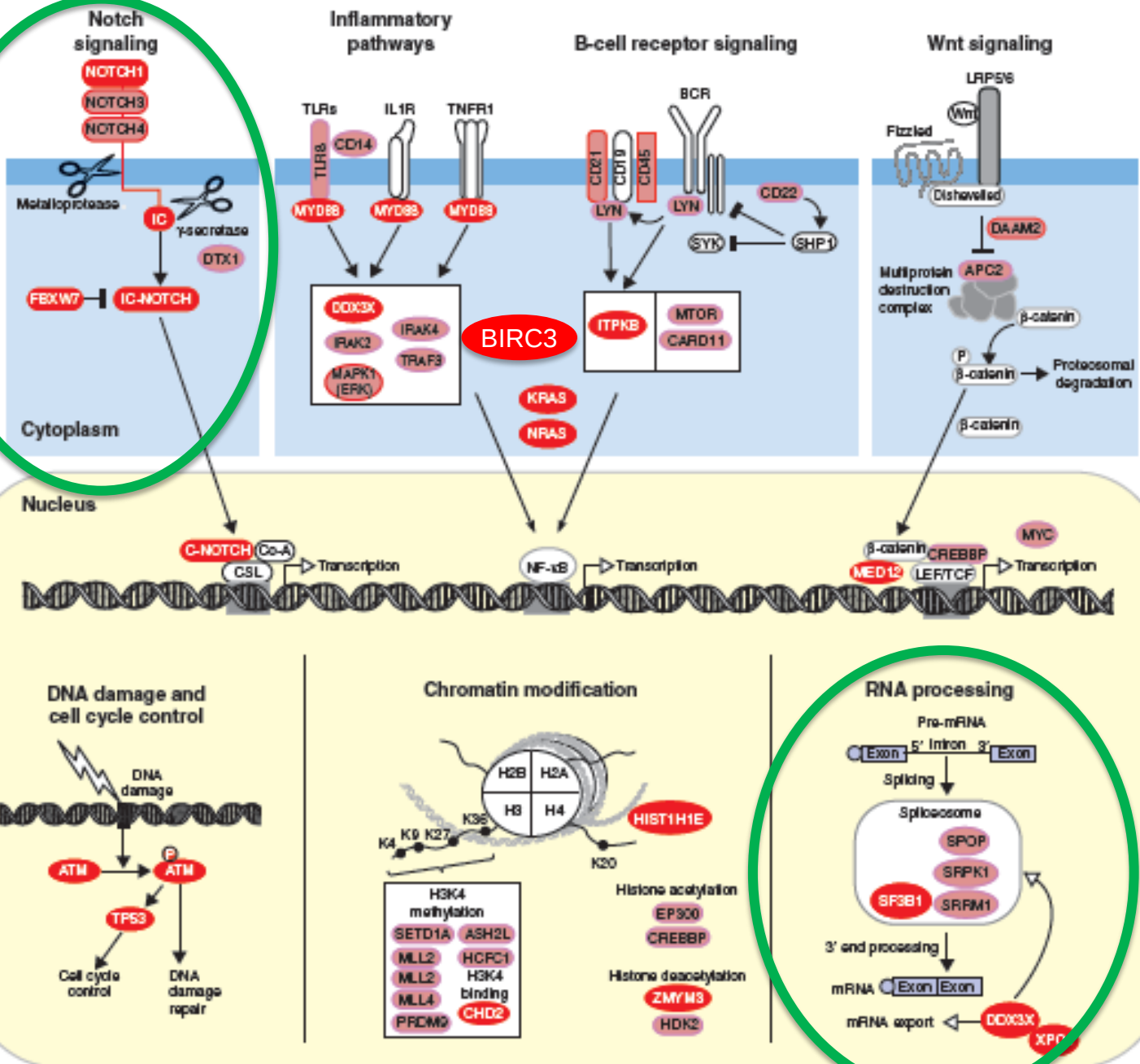
Uit Landau et al Cell 2013

Landschap van mutaties in CLL voor 2011

Chemotherapie



Chemoresistentie
slechts in ~50% verklaard
door mutatie p53 of ATM

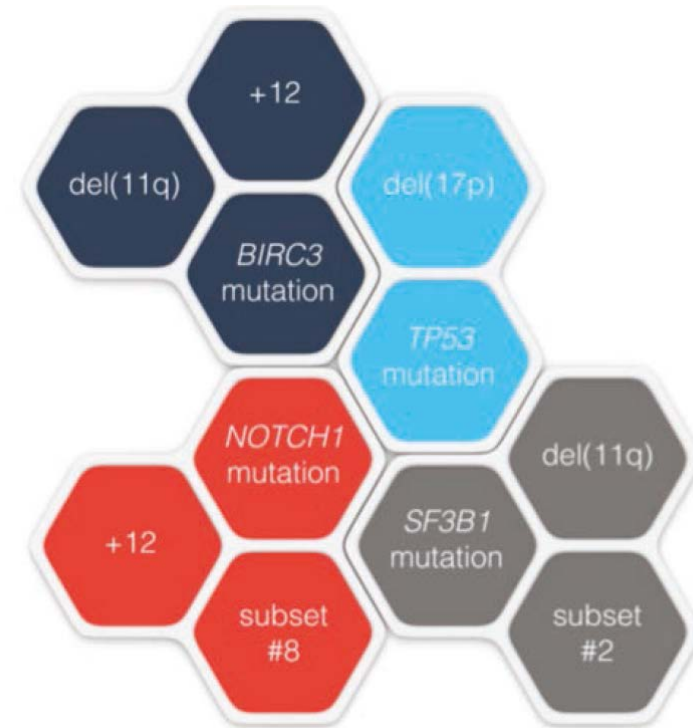


● Significantly mutated genes

● Other pathway-associated mutated genes

De meest voorkomende nieuwe mutaties zijn SF3B1, Notch1 en BIRC3/IAP2

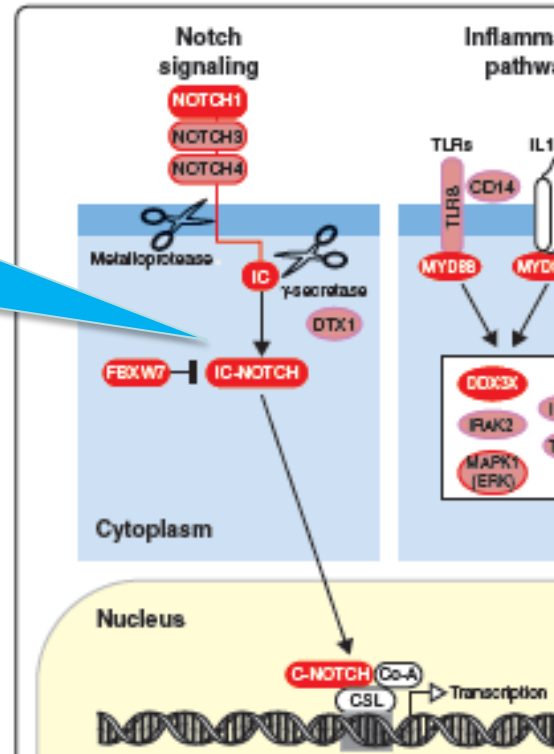
- Sommige mutaties en DNA aberraties komen vaak samen voor, andere sluiten elkaar uit
- Duidt op synergie, resp. functionele overlap



Notch1 is signalerings module

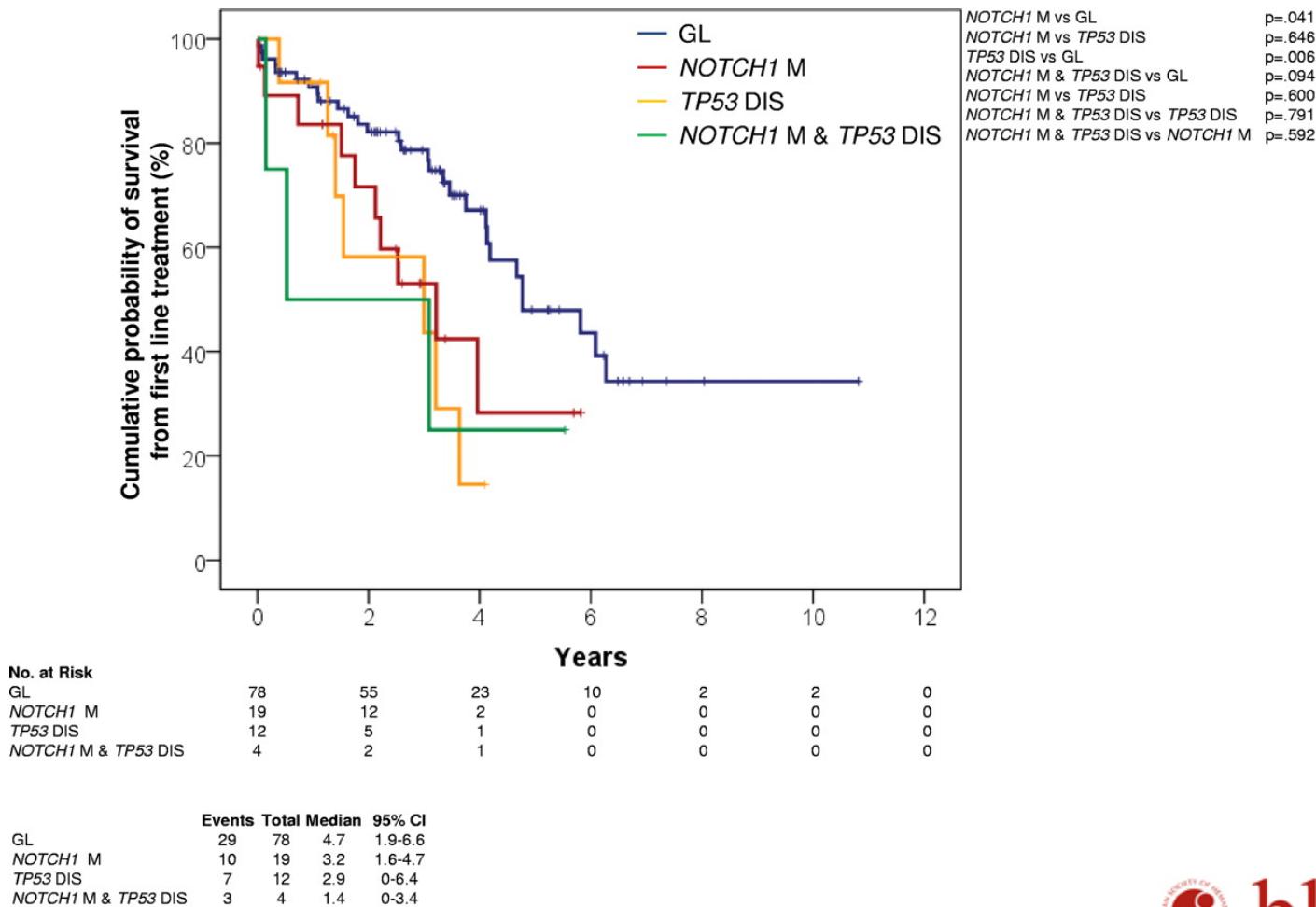
functie in ontwikkeling en differentiatie

2 bp deletie in PEST domein van Notch verlengt halfwaarde tijd & signalering

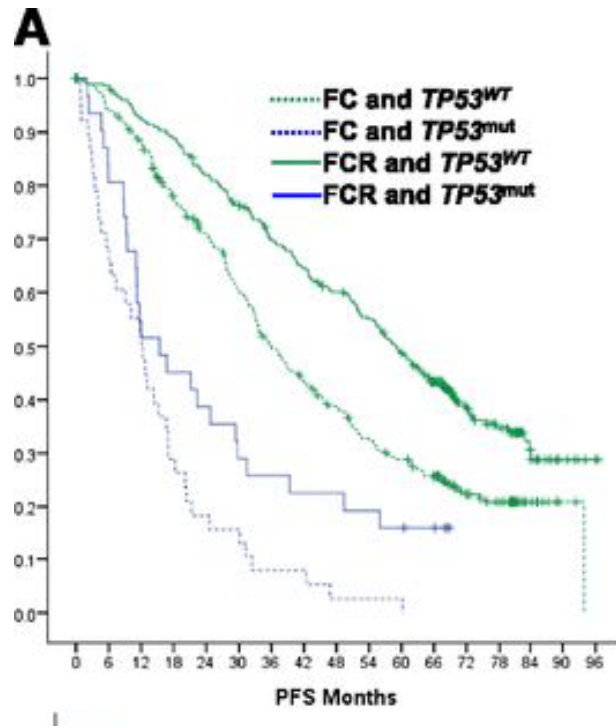


Notch1 mutatie verslechtert het klinisch verloop na eerste behandeling

Kaplan-Meier curves of OS from first-line treatment.



Het curieuze geval Notch1 en CD20 therapie



Rituximab heeft positief effect bij zowel TP53 mut als WT patient

Echter, Rituximab heeft **GEEN** effect bij **Notch1** mut patient?!

Hoe komt het dat Rituximab GEEN effect heeft bij Notch1 gemuteerde patient?

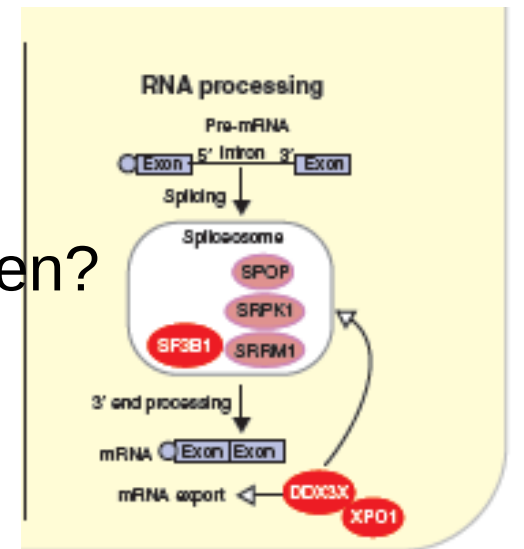
NOTCH1 Mutations Are Associated with Low CD20 Expression in Chronic Lymphocytic Leukemia: Evidences for a NOTCH1-Mediated Epigenetic Regulatory Mechanism

The low CD20 expression, at least in part due to HDAC-dependent repression mechanism(s), can be reverted by HDAC inhibitor therapy.

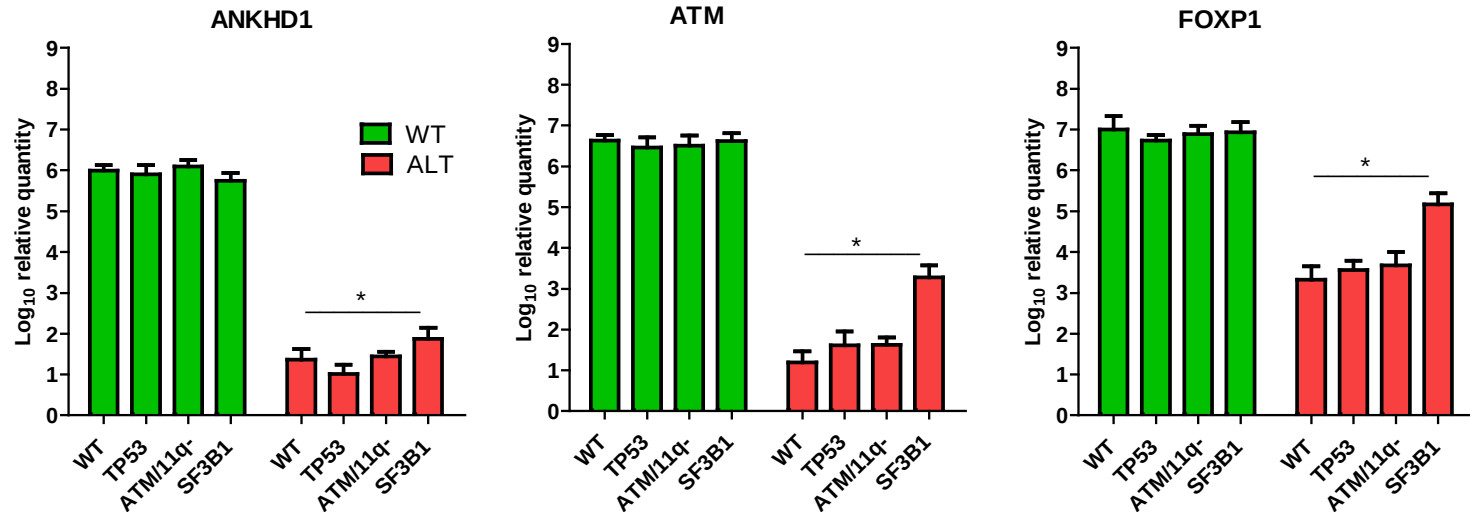
*Blood 2014 124:296; published ahead of print December 5, 2014
Federico Pozzo,et al*

Het nóg curieuzere geval SF3B1

- Hoe kan factor, betrokken bij zoiets basaals als splicing, een pathologisch voordeel bieden voor leukemie cellen?
- Aberrante splicing van alle genen?
- Aberrante splicing van BEPAALDE genen?
- Iets geheel anders?

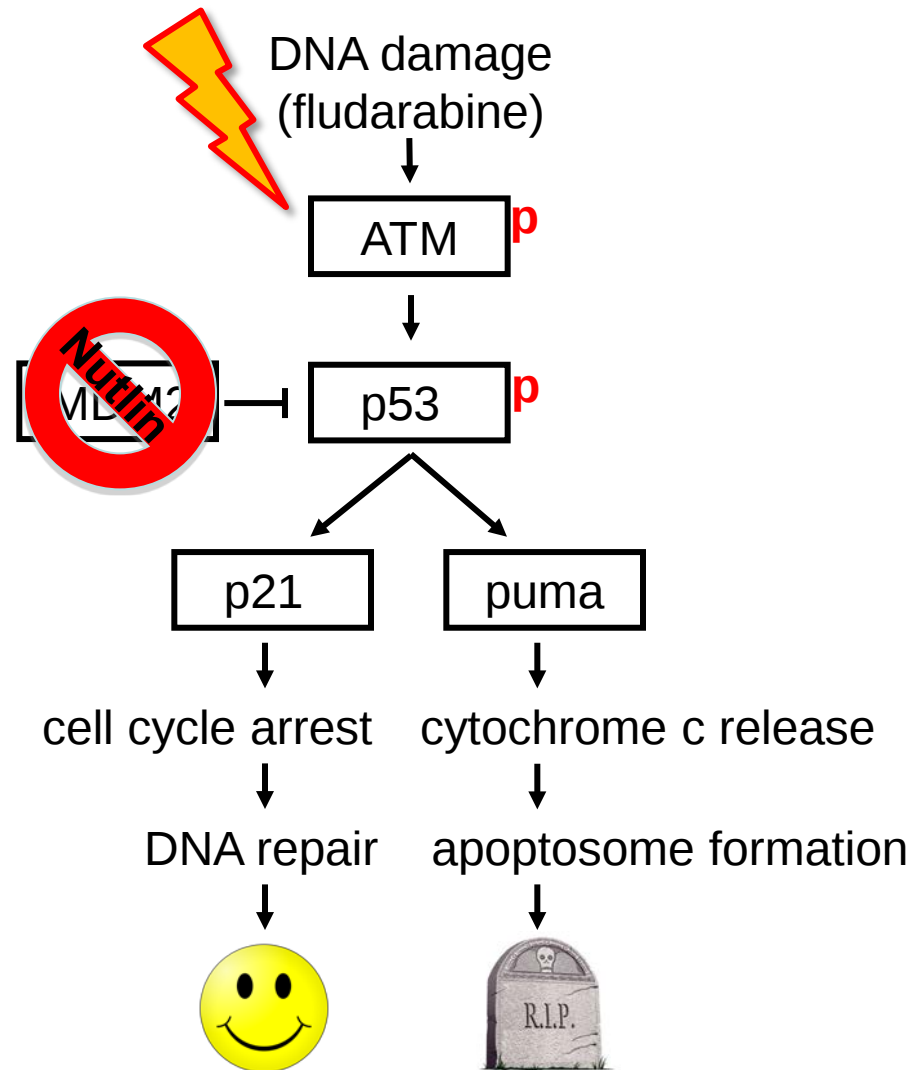


Alternatieve splice producten gemeten voor 3 genen in WT, p53, ATM, SF3B1 gemuteerd CLL



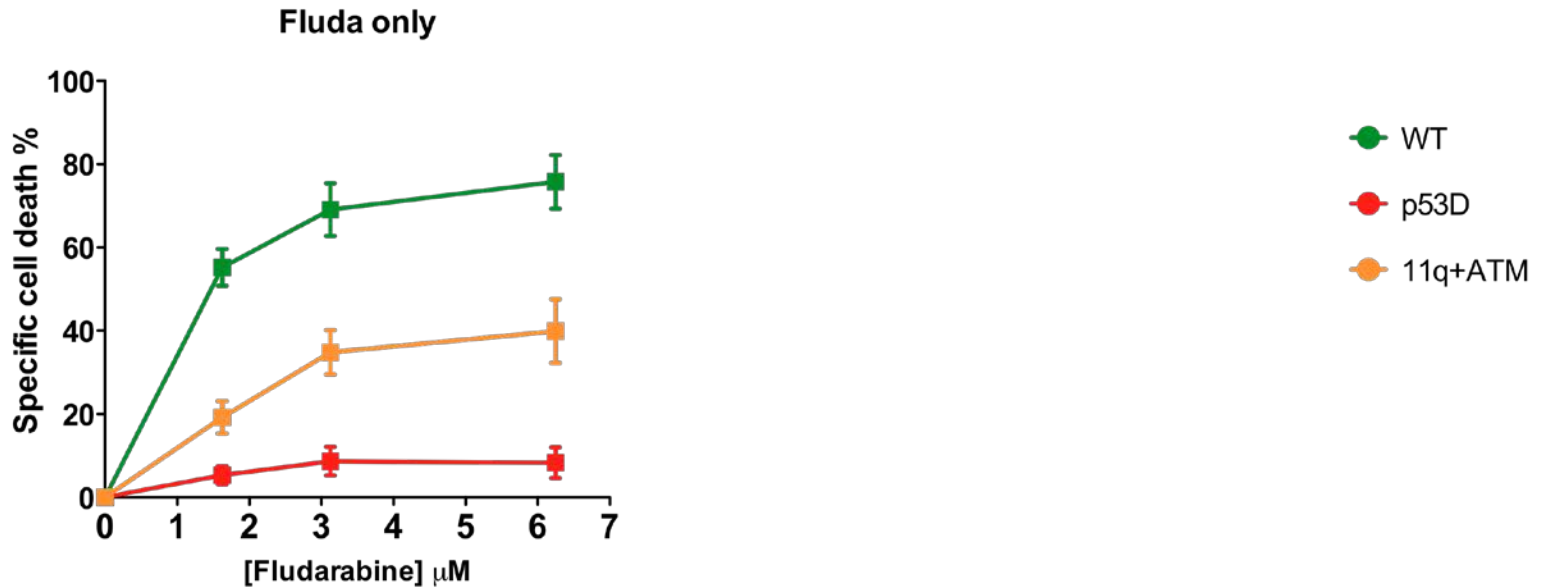
- Alternatieve splice producten verhoogd in SF3B1 mutant CLL
- Niettemin is het niveau 10-1000x lager dan WT transcripten
- Speelt dit een rol in pathogenese?

Celdood inductie door fludarabine & nutlin

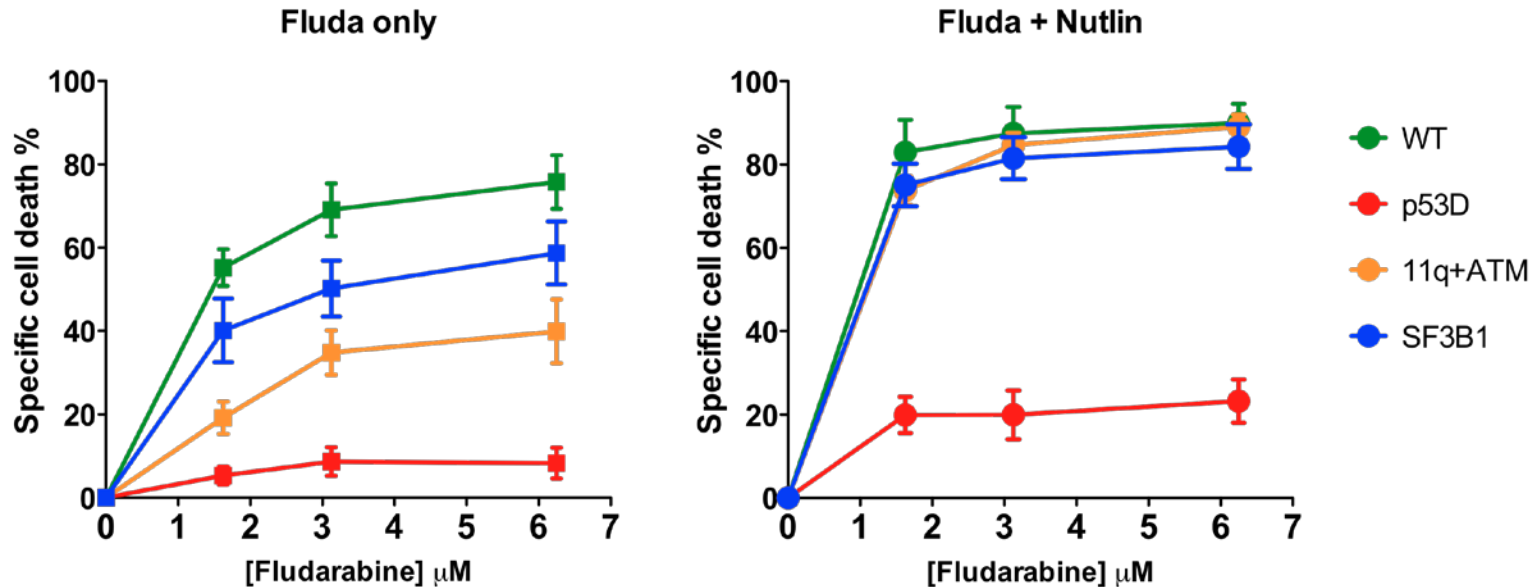


ATM gemuteerd CLL wordt gevoelig voor fludarabine door toevoegen van MDM2 inhibitor nutlin-3a

(Kojima et al Blood 2006, Best et al Leukemia 2008)



SF3B1 gemutateerd CLL lijkt ATMmut in respons op MDM2 inhibitor nutlin



Leukemia (2014), 1–10

© 2014 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 0887-6924/14

www.nature.com/leu



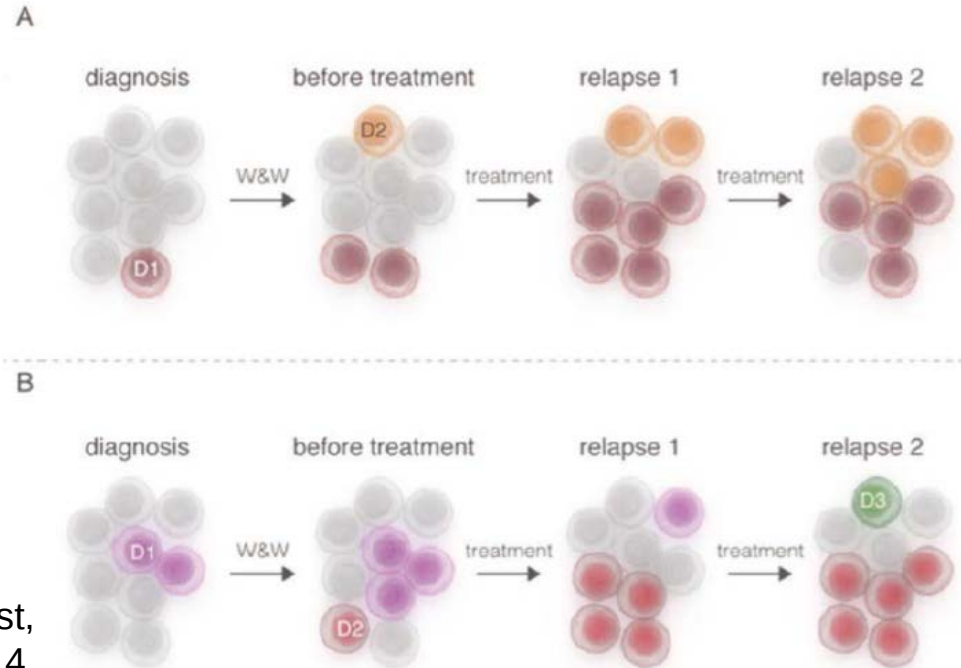
ORIGINAL ARTICLE

The impact of *SF3B1* mutations in CLL on the DNA-damage response

GD te Raa^{1,2}, IAM Derks², V Navrkalova³, A Skowronska⁴, PD Moerland⁵, J van Laar^{1,2}, C Oldreive⁴, H Monsuur², M Trbusek³, J Malcikova³, M Lodén⁶, CH Geisler⁷, J Hüllein⁸, A Jethwa⁸, T Zenz^{8,9}, S Pospisilova³, T Stankovic⁴, MHJ van Oers^{1,10}, AP Kater^{1,10} and E Eldering^{2,10}

Klonale complexiteit en selectie

- CLL *niet* gekarakteriseerd door specifieke DNA lesie(s)
- Diverse chromosomale afwijkingen + punt mutaties
 - 13q-, tri12, 17p-, 11q-,
 - p53, ATM, Notch1, SF3B1, BIRC3, MYD88,
- Diverse subkloons kunnen tegelijk voorkomen
 - Selectie door biologisch voordeel
 - Selectie door therapie



Een blik op (minieme) subkloons

Plenary Paper

LYMPHOID NEOPLASIA

Clinical impact of small *TP53* mutated subclones in chronic lymphocytic leukemia

Rossi et al Blood 2014

Key Points

- Small *TP53* mutated subclones have the same unfavorable prognostic impact as clonal *TP53* defects in chronic lymphocytic leukemia.

bjh research paper

High-throughput sequencing for the identification of *NOTCH1* mutations in early stage chronic lymphocytic leukaemia: biological and clinical implications

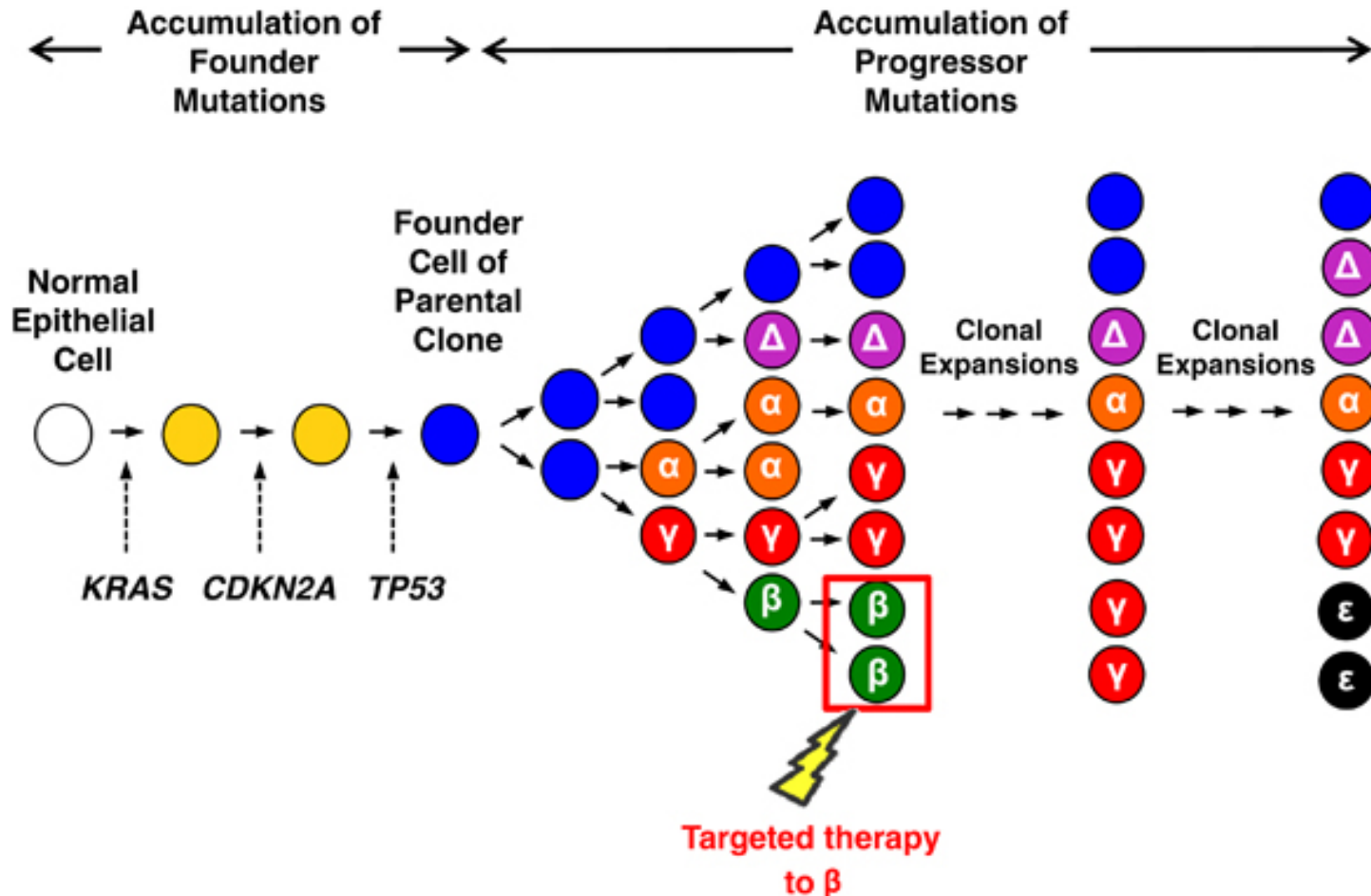
Lionetti et al BrJH 2014

Notch1 mutatie vroeg aanwezig in MBL en CLL

- Frequentie van de (sub) kloon stabiel tijdens ziekte!
 - Toch impact of PFS.

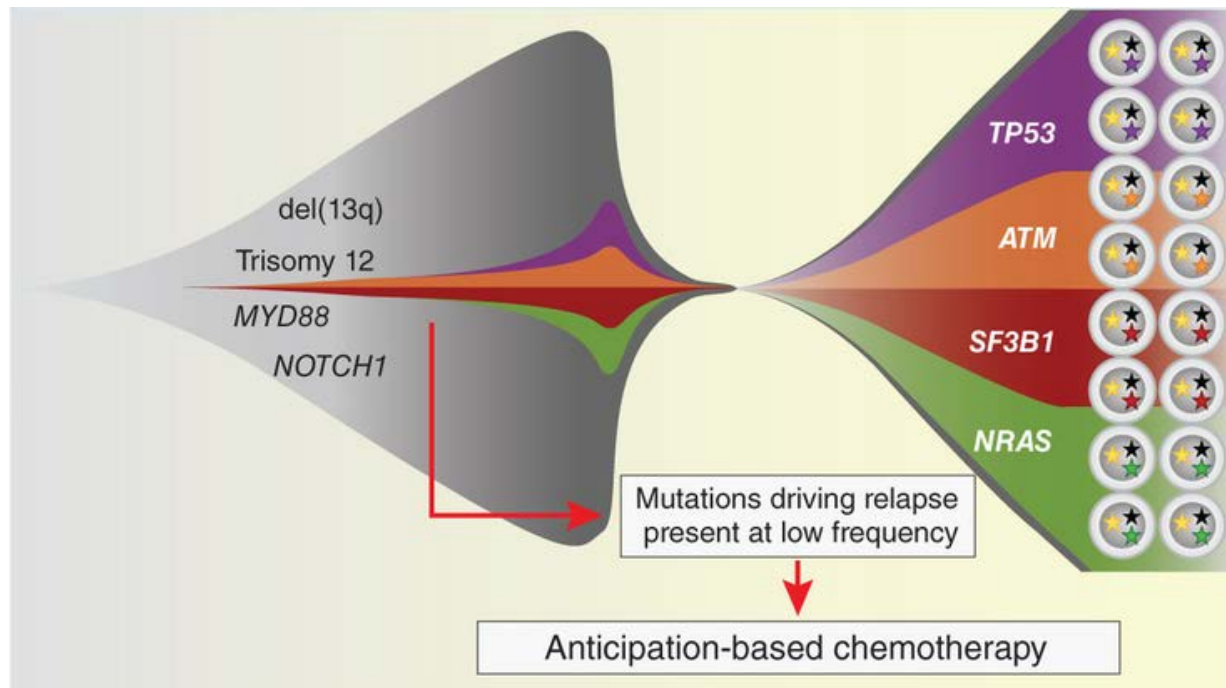
Het dogma van **drivers** & *passengers* in kanker

- Een aantal oncogene founder/driver mutaties treedt vroeg op, later accumuleren 'helper' mutaties



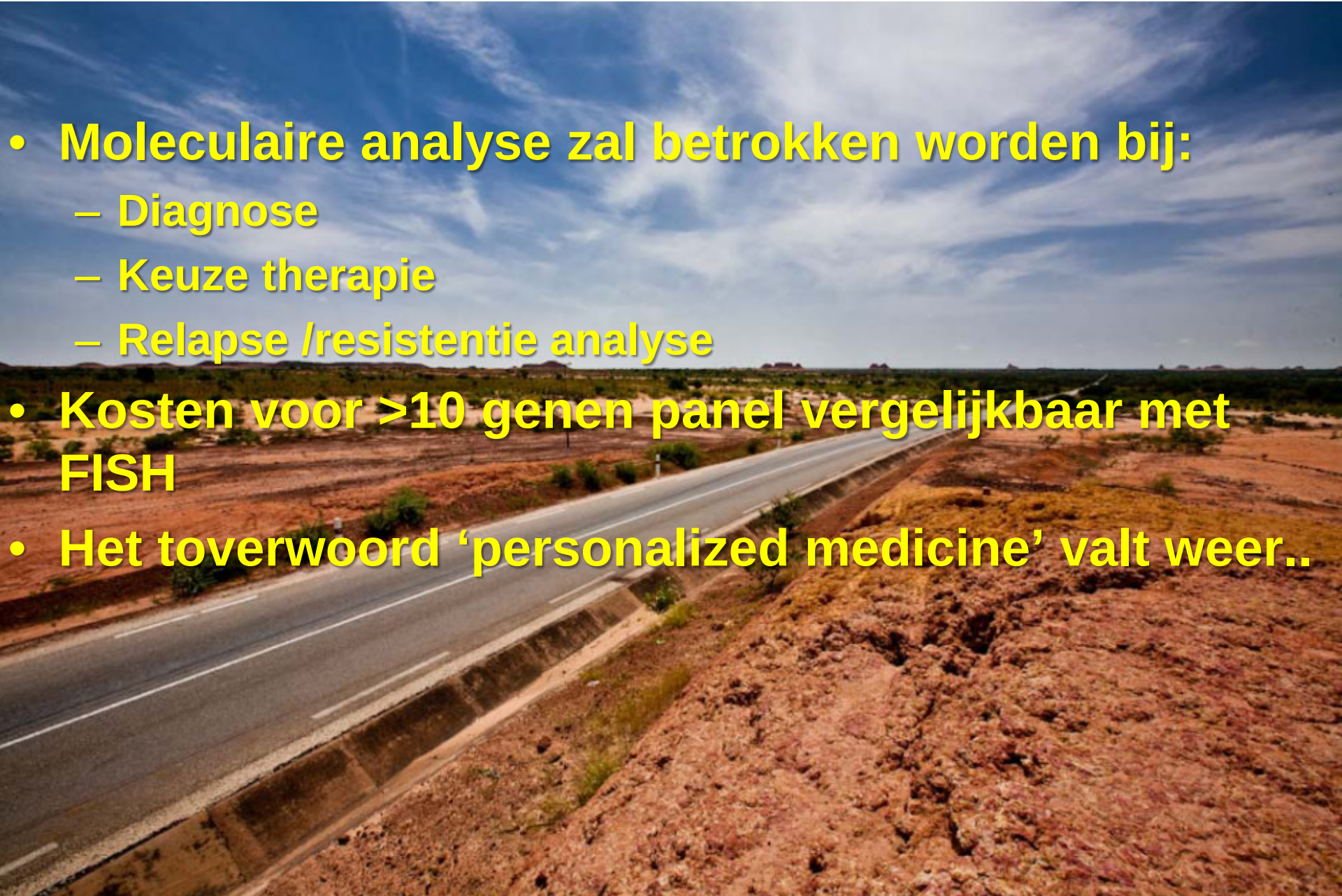
Drivers & passengers kunnen van plaats wisselen!

- Elke 'driver' wordt ook als subkloon gevonden
- Passengers zijn al aanwezig voor drivers
- Is elke subkloon al aanwezig vóór therapie?!
 - Voor Ibrutinib resistent Btk C481S: Nee! (Rossi et al Blood 2014)



Perspectief op de toekomst

- Moleculaire analyse zal betrokken worden bij:
 - Diagnose
 - Keuze therapie
 - Relapse /resistentie analyse
- Kosten voor >10 genen panel vergelijkbaar met FISH
- Het toverwoord 'personalized medicine' valt weer..



Dank voor uw aandacht



Ingrid Derks, Victor Peperzak, Marie José Kersten, Rachel Thijssen, Eric Eldering, Erik Slinger, Martijn van Attekum, Sanne Tonino, Dieuwertje Luijks, Rien van Oers, Arnon Kater, Doreen te Raaij



LYMMCARE

LYMPHOMA AND MYELOMA CENTER
AMSTERDAM

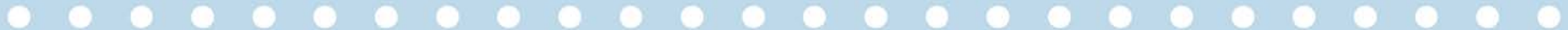
<http://www.lymmcare.nl/>



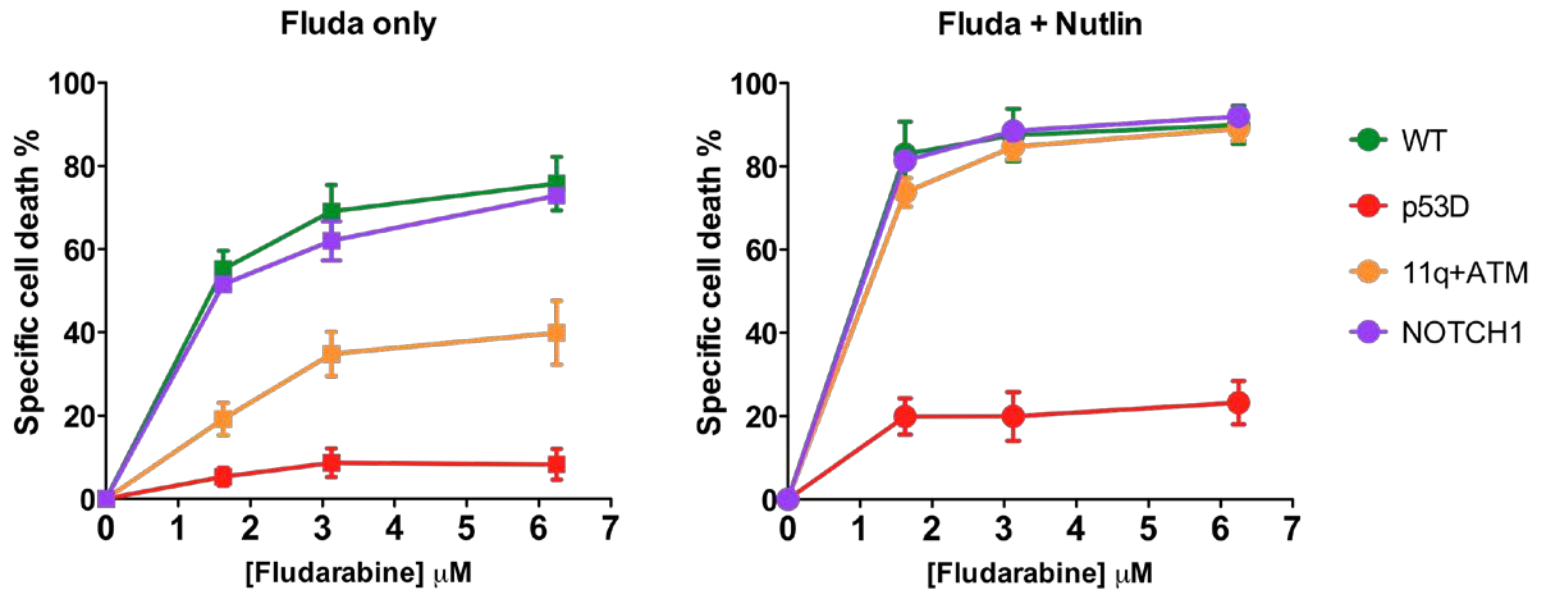
9th DHC 2015

January 21-22-23
Papendal, Arnhem

Dutch Hematology Congress

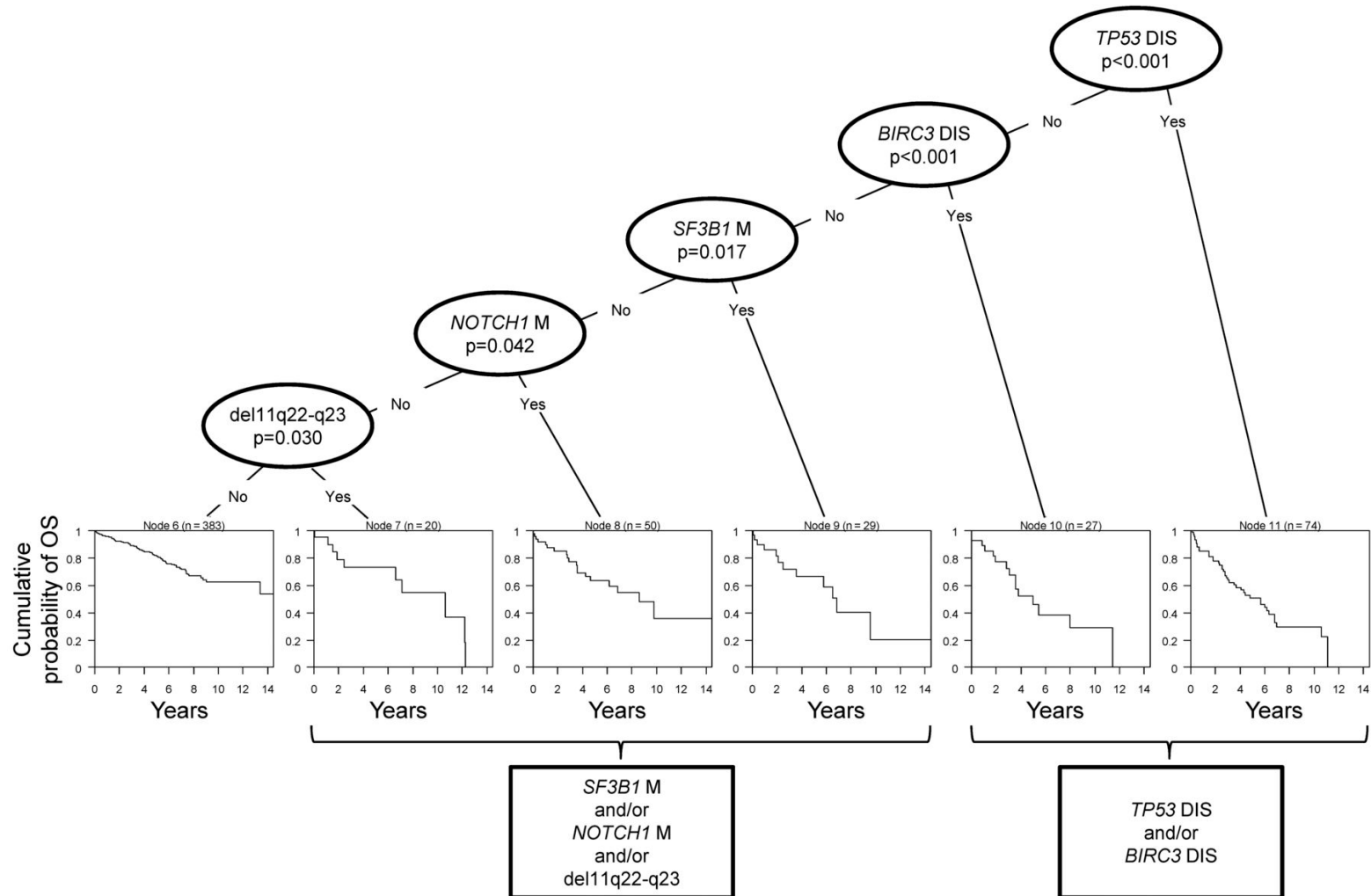


Notch mutated CLL resemble WT in response to fluda & nutlin

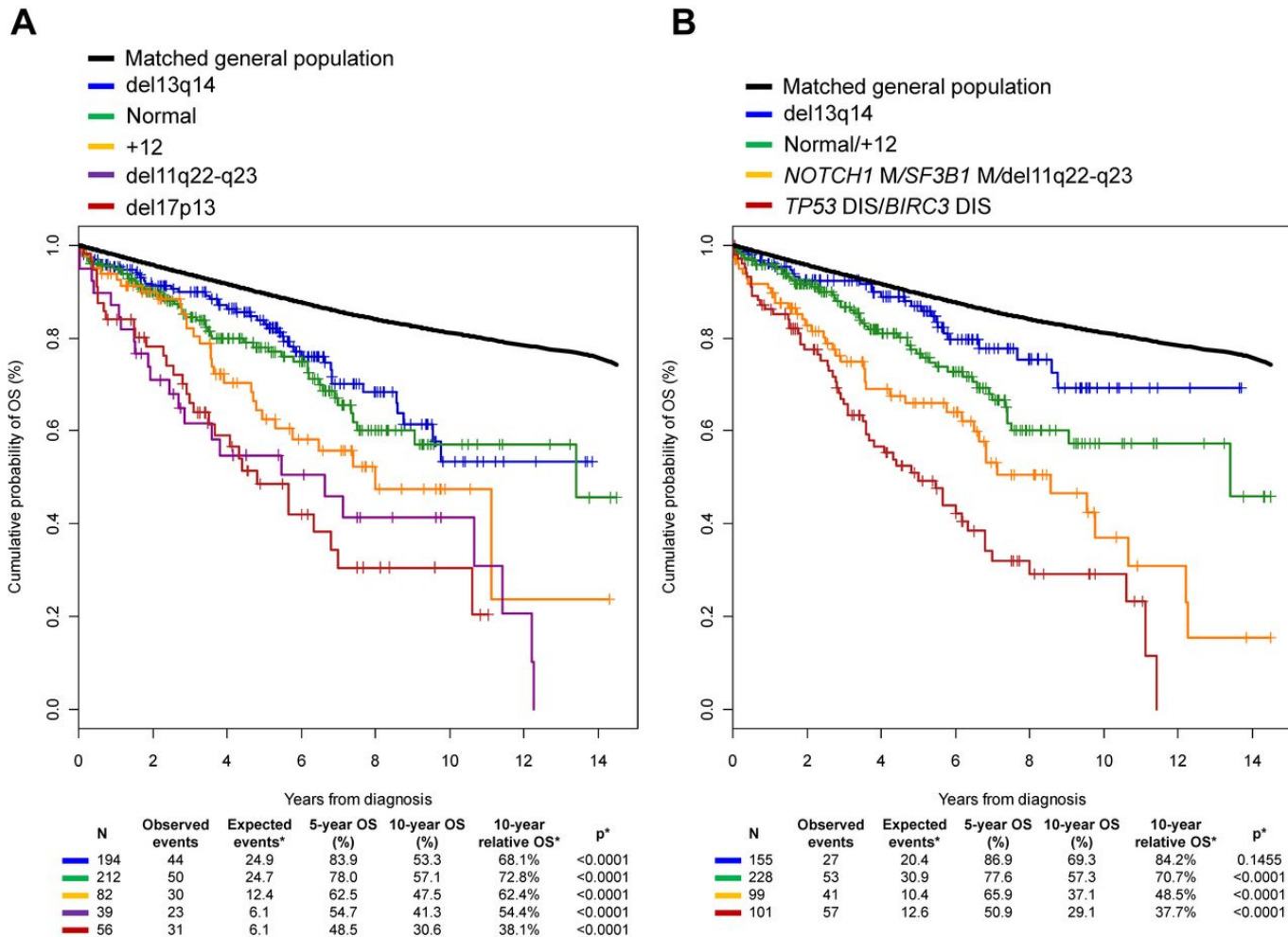


Nieuwe diagnostische indeling

Decision tree resulting from recursive partitioning analysis and amalgamation in the training series.

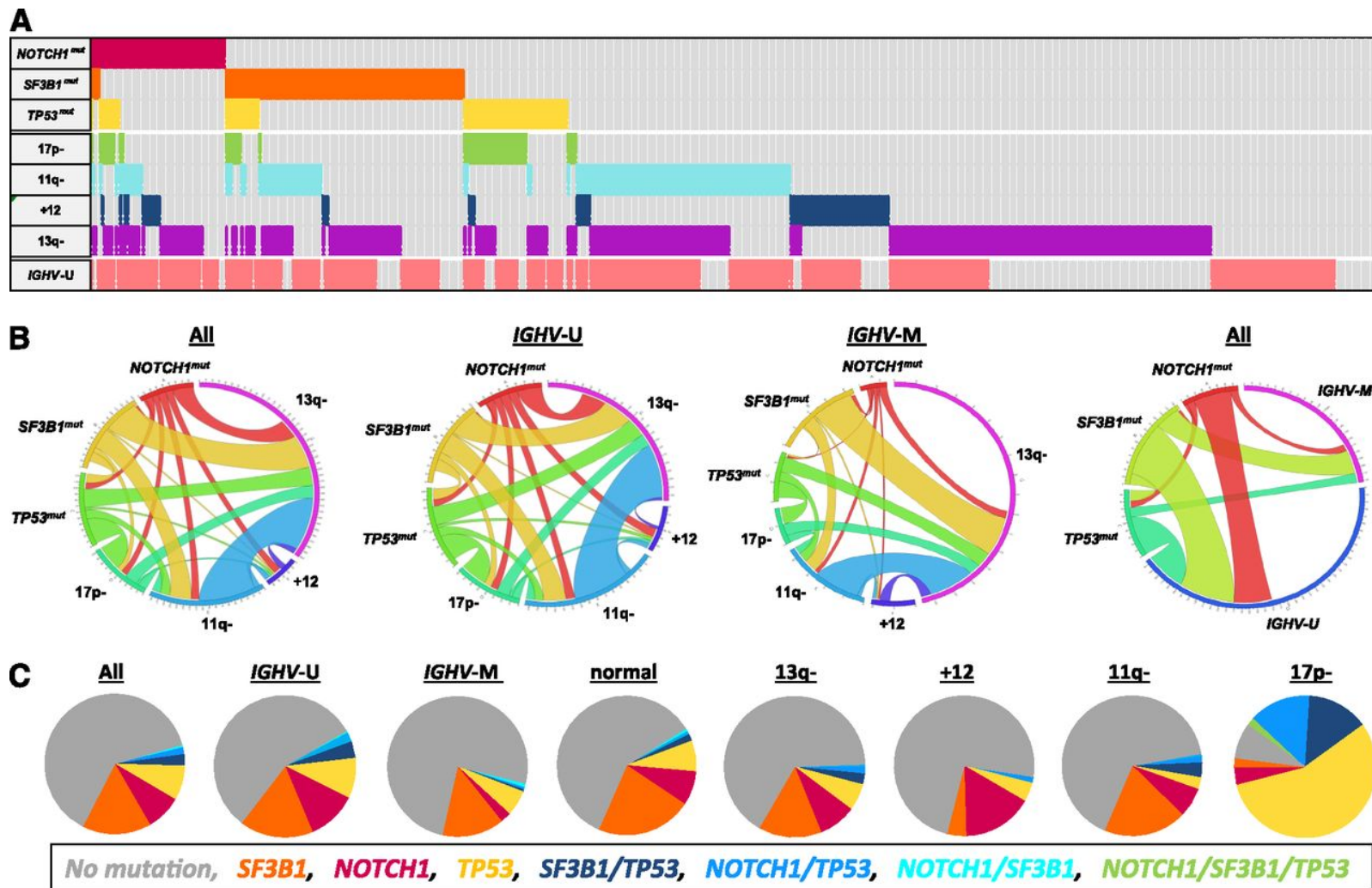


Observed OS in patients from the training series compared with the expected OS in the matched general population.



*Compared to the matched general population

Incidence and distribution of gene mutations, genomic aberrations, and IGHV status for the patients with all markers available (n = 573).



Stilgenbauer S et al. Blood 2014;123:3247-3254