

État des lieux de l'usage en soins courants du séquençage à haut débit (NGS) d'un panel de gènes en génétique somatique des cancers

Afin de répondre au mieux à ce questionnaire, nous vous prions d'abord de lire la lettre d'accompagnement.

Ce document concerne les actes du RIHN cités dans la lettre d'accompagnement (annexe I) et rappelés dans le tableau 1 (ci-dessous) et est organisé en deux chapitres :

- **le premier chapitre** est consacré à identifier les situations cliniques faisant actuellement l'objet d'un séquençage à haut débit d'un panel de gènes dans le cadre des soins courants. Chaque situation clinique est définie par trois composantes : **(1)** le cancer concerné, **(2)** le(s) gène(s) séquencé(s) pour ce cancer, et **(3)** la longueur totale séquencée en kilobase (kb).
- **le deuxième chapitre** est dédié à caractériser chaque situation clinique déclarée dans le premier chapitre (cancer concerné/gène(s) séquencé(s)/longueur totale séquencée). Nous vous remercions de dupliquer la totalité du deuxième chapitre en fonction du nombre de situation renseigné.

Comme indiqué dans la lettre d'accompagnement :

- merci d'argumenter et référencer au mieux vos réponses ;
- ces réponses seront incluses dans le rapport de la HAS et donc rendues publiques ;
- la date limite de réponse est le **jeudi 8 septembre 2022** à l'adresse suivante : has.seap.secretariat@has-sante.fr

Tableau 1. Volumes d'activité et nombre d'établissements prescripteurs des actes évalués.

Code acte hors nomenclatures	Liste	Libellé de l'acte	Nombre d'actes prescrits en 2019	Nombre d'établissements en 2019
N452	RIHN	Forfait séquençage haut débit (NGS) < 20 kb	184 848	504
N453	RIHN	Forfait séquençage haut débit (NGS) > 20 kb et < 100 kb	19 911	261
N454	RIHN	Forfait séquençage haut débit (NGS) > 100 kb et < 500 kb	12 570	112

Kb : kilobase ; NGS : Next Generation Sequencing ; RIHN : référentiel des actes innovants hors nomenclature.

Source : ministère de la santé.

Compte tenu de l'imprécision des libellés des actes ci-dessus (le cancer concerné et le(s) gène(s) séquencé(s)), ce questionnaire vise à connaître la pratique actuelle en France du NGS d'un panel de gènes en génétique somatique des cancers, réalisé à travers ces libellés, dans le cadre des soins courants.

La HAS remercie par avance votre structure pour le temps consacré à répondre à ce questionnaire.

Nom de la structure

Services experts sollicités par le GBMHM

CHU Rennes

Hôpital Henri-Mondor, APHP, Créteil

Nom de la personne répondant au nom de la structure

Dr PASTORET Cédric (CHU Rennes)

Pr DELFAU-LARUE Marie-Helene

Position dans la structure

Dr PASTORET Cédric : responsable de l'onco-hématologie moléculaire

Pr DELFAU-LARUE Marie-Helene ; cheffe de service

Nom et coordonnées de la personne pouvant être contactée par la HAS (possiblement plusieurs, dans ce cas, préciser leurs champs d'expertise)

Dr PASTORET Cédric pour les Hémopathies T et NK matures (cedric.pastoret@chu-rennes.fr)

Pr DELFAU-LARUE pour les Hémopathies B ou T matures (marie-helene.delfau@aphp.fr)

Pour le GBMHM, les contacts sont les membres du CA

Pr Olivier Kosmider (olivier.kosmider@aphp.fr)

Pr Pierre Sujobert (pierre.sujobert@chu-lyon.fr)

Pr Fanny Baran Marszak (fanny.baran-marszak@aphp.fr)

Dr Jean Michel Cayuela (jean-michel.cayuela@aphp.fr)

Dr Pascale Flandrin-Gresta (pascale.flandrin-gresta@chu-st-etienne.fr)

Dr Damien Luque Paz (damien.LuquePaz@chu-angers.fr)

Dr Anne Sophie Alary (ALARYA@ipc.unicancer.fr)

Chapitre 1 : Identification des situations cliniques

Dans le domaine d'activité de votre structure, quelle est la pratique actuelle de séquençage à haut débit (NGS) d'un panel de gènes en oncogénétique, dans le cadre du soin courant¹ en France ? En d'autres termes :

- Quels sont les cancers concernés ?
- Quels sont, pour chacun de ces cancers, les gènes (les séquences) ciblés ?
- Quelle longueur totale est ciblée/séquencée (en kilobase ; kb) ?

Merci de remplir le tableau ci-dessous pour répondre à ces questions².

Réponse :

Q1

	Cancer concerné	Gène(s) ou partie(s) de gène(s) séquencé(s)	Longueur totale séquencée (kb)
Situation n°1	Hémopathies T et NK matures (formes leucémiques et lymphomes)	ATM, CARD11, CCL22, CD28, DNMT3A, EZH2, IDH1, IDH2, JAK1, JAK2, JAK3, KRAS, MAP2K1, NRAS, PLCG1, RHOA, SETD2, STAT3, STAT5B, TET2, TNFAIP3, TP53 (publication en annexe)	<input type="checkbox"/> < 20 kb <input checked="" type="checkbox"/> > 20 kb et < 100 kb <input type="checkbox"/> > 100 kb et < 500 kb <input type="checkbox"/> > 500 kb ; précisez :
Situation n°2			<input type="checkbox"/> < 20 kb <input checked="" type="checkbox"/> > 20 kb et < 100 kb <input type="checkbox"/> > 100 kb et < 500 kb <input type="checkbox"/> > 500 kb ; précisez :
Situation n°3			<input type="checkbox"/> < 20 kb <input type="checkbox"/> > 20 kb et < 100 kb <input type="checkbox"/> > 100 kb et < 500 kb <input type="checkbox"/> > 500 kb ; précisez :
Situation ...			<input type="checkbox"/> < 20 kb <input type="checkbox"/> > 20 kb et < 100 kb <input type="checkbox"/> > 100 kb et < 500 kb <input type="checkbox"/> > 500 kb ; précisez :
Situation N			<input type="checkbox"/> < 20 kb <input type="checkbox"/> > 20 kb et < 100 kb <input type="checkbox"/> > 100 kb et < 500 kb <input type="checkbox"/> > 500 kb ; précisez :

¹ C'est-à-dire pour la prise en charge d'un patient, avec transmission du résultat au clinicien ; donc hors activité de recherche clinique et fondamentale.

² Ce tableau est une matrice ; vous pouvez augmenter le nombre de lignes afin d'être en mesure de pouvoir renseigner l'ensemble des situations cliniques.

Pour chaque situation clinique déclarée dans ce premier chapitre, merci de **dupliquer la totalité du deuxième chapitre** et de remplir intégralement le chapitre 2 pour chaque situation clinique.

Chapitre 2 : Caractérisation des situations cliniques

Situation clinique n° 1: Hémopathies T et NK matures (Formes leucémiques et Lymphomes)

Quelle est l'indication clinique pour laquelle ce séquençage³ est effectué ?

Q1

Réponse : Les hémopathies T et NK matures se divisent en 2 sous-types selon la dernière révision de la classification OMS 2022 (les formes leucémiques et les lymphomes T ou NK)¹.

Le séquençage haut-débit (SHD) est recommandé pour:

- le diagnostic des leucémies à grands lymphocytes à grains (LGL-T ou NK)
- le diagnostic des leucémies polylmphocytaires T (LPL-T)
- le diagnostic des lymphomes nodaux dérivés des lymphocytes T *follicular-helper* (en particulier les lymphomes TFH de type angioimmunoblastique)
- le diagnostic des lymphomes T hépatospléniques

L'apport du SHD peut être discuté pour le diagnostic des autres hémopathies T et NK matures en fonction des présentations cliniques, biologiques et histologiques du patient.

Dans le cadre des soins courants, combien de patients sont concernés par cette indication par an en France ?

Q2

Réponse : L'incidence des lymphomes T/NK matures (non cutanés) en France est estimée à 1200 nouveaux cas par an, soit 1,1/100 000 personnes-années². Les formes leucémiques représentent environ 300 nouveaux cas par an en France.

Cependant, le nombre de patients concernés par cette indication est supérieur du fait du nombre important de suspicions de proliférations T qui seront finalement classées comme réactionnelles (non tumorales) sur la base du bilan clinique et biologique (dont SHD).

Quel est la finalité clinique de ce séquençage ?

Q3

Réponse :

Cochez-la ou les cases correspondantes

- Diagnostique
- Pronostique
- Théranostique⁴

³ A partir de cette question, l'expression « ce séquençage » définit la combinaison : cancer concerné, gènes/parties de gènes ciblés et la longueur séquencée.

Commentaire :

Les hémopathies T et NK citées ci-dessus présentent un profil moléculaire spécifique justifiant la réalisation d'un SHD au diagnostic³.

Il n'y a actuellement pas de classification pronostique intégrant le profil moléculaire dans les hémopathies matures T ou NK.

Quel est l'impact du résultat de ce séquençage sur la prise en charge médicale du patient ?
Précisez en fonction des différents types de résultats.

Réponse :

Pour les leucémies à grands lymphocytes à grains (LGL-T ou NK), la mutation du gène *STAT3*, retrouvée dans 30-50%, est un marqueur diagnostique reconnu, en particulier des LGL-T. Pour les LGL-NK, la recherche des mutations des gènes *STAT3*, *STAT5B*, *TET2*, *TNFAIP3*, et *CCL22* permet de différencier les proliférations NK réactionnelles des authentiques leucémies LGL-NK^{4,5}.

Le lymphome TFH de type angioimmunoblastique nécessite un recours très fréquent au SHD du fait de leur profil moléculaire caractéristique (*RHOA*, *TET2*, *IDH2* et *DNMT3A*), apportant un argument diagnostique majeur en cas de doute histologique⁶.

Pour les leucémies prolymphocytaires T, la forte prévalence des mutations *ATM*, *STAT5B* et *JAK3* apporte un argument moléculaire majeur pour ce diagnostic difficile. Enfin, le diagnostic des lymphomes T hépatospléniques, un lymphome T agressif du sujet jeune peut bénéficier du SHD du fait de la fréquence très élevée de mutations des gènes *STAT5B* et *SETD2*.

Au total, le SHD associé au profil clinique, histologique et phénotypique permet de poser le diagnostic et de classer les hémopathies T et NK⁷.

Dans un avenir proche, la prescription de thérapie ciblée en fonction du profil moléculaire pourrait être discutée en particulier pour l'utilisation d'agents déméthylants (*TET2*, *DNMT3A*, *IDH1/2*), d'inhibiteurs spécifiques (*IDH1*), d'inhibiteurs de la voie JAK-STAT par exemple⁸. Ces thérapeutiques sont actuellement en cours d'évaluation dans les hémopathies T et NK⁹.

Quelles sont les références bibliographiques sur lesquelles se fonde la réalisation de ce séquençage ? *Merci de citer en priorité les recommandations de bonne pratique, les préconisations des sociétés savantes, les consensus d'experts, etc. Merci également de transmettre les publications correspondantes in extenso ou un lien Internet si la publication est en libre accès.*

Réponse :

1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1720–1748.
2. SPF. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France

⁴ Théranostic : néologisme qui dérive de la contraction des termes « thérapeutique » et « diagnostic » ; c'est l'utilisation d'un test diagnostique, identifiant un marqueur, pour orienter la thérapeutique du patient en fonction de son statut pour le marqueur (statut positif ou négatif pour un marqueur binaire).

métropolitaine entre 1990 et 2018 - Hémopathies malignes : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim.

3. Sujobert P, Le Bris Y, de Leval L, et al. The Need for a Consensus Next-generation Sequencing Panel for Mature Lymphoid Malignancies. *HemaSphere*. 2019;3(1):e169.
4. Lamy T, Moignet A, Loughran TP. LGL leukemia: from pathogenesis to treatment. *Blood*. 2017;129(9):1082–1094.
5. Pastoret C, Desmots F, Drillet G, et al. Linking the KIR phenotype with STAT3 and TET2 mutations to identify chronic lymphoproliferative disorders of NK cells. *Blood*. 2021;137(23):3237–3250.
6. Chiba S, Sakata-Yanagimoto M. Advances in understanding of angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Leukemia*. 2020;34(10):2592–2606.
7. Hathuc V, Kreisel F. Genetic Landscape of Peripheral T-Cell Lymphoma. *Life*. 2022;12(3):410.
8. Zhang Y, Lee D, Brimer T, Hussaini M, Sokol L. Genomics of Peripheral T-Cell Lymphoma and Its Implications for Personalized Medicine. *Front. Oncol*. 2020;10:898.
9. Lemonnier F, Dupuis J, Sujobert P, et al. Treatment with 5-azacytidine induces a sustained response in patients with angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Blood*. 2018;132(21):2305–2309.

Depuis quelle année approximativement, la réalisation de ce séquençage fait-elle partie de la pratique courante en France ?

Q6

Réponse : 2016

Actuellement, à combien estimez-vous le volume annuel de réalisation de ce séquençage en France ?

Q7

Réponse : Environ 1500 par an

À combien estimez-vous le nombre actuel de laboratoires réalisant ce séquençage en France ? *Précisez le type de laboratoires.*

Q8

Réponse : Moins de 10, correspondant aux CHU labellisés Laboratoires de Référence pour les différentes hémopathies T/NK matures

Existe-il un ou des matériels commercialisés (automates et consommables) et dotés d'un marquage CE pour réaliser ce séquençage ?

Si oui, veuillez préciser pour chaque dispositif son nom commercial, son fabricant, son marquage CE (date, indication).

Q9

Réponse : Non

Selon vous, ces matériels commercialisés sont-ils utilisés en France pour le séquençage d'un panel de gènes en génétique somatique des cancers ?

Q10

Réponse :

- Oui, exclusivement
- Non, pas du tout
- Mixte, avec parallèlement un recours à des séquençage « maison »

Avant l'utilisation du séquençage par panel de gènes, quelle était la pratique antérieure (technique(s) utilisée(s) antérieurement) pour la même finalité clinique ?

Q11

Réponse :

- Séquençage Sanger
- PCR allèle spécifique gel ou PCR digitale pour les mutations « hot-spot » (*STAT3*, *RHOA*, *IDH1*, *IDH2*)

Ce séquençage de panel de gènes se substitue-t-il entièrement à la ou aux techniques antérieures pratiquées ? (Cf. question 11).

Q12

Réponse :

- Oui
- Non

Justification : Le séquençage du panel de gènes proposé permet de répondre aux problématiques cliniques concernant les hémopathies T ou NK matures avec un taux de positivité de 70-90% selon les indications.

Le séquençage Sanger n'a plus de place dans cette indication au vu de son manque de sensibilité (infiltration >20% requise) et de la taille du panel trop importante.

Seule la PCR allèle spécifique (dont PCR digitale) de *RHOA* G17V peut être une alternative à un panel complet dans l'indication précise des lymphomes TFH angioimmunoblastiques.

Quels sont les avantages et les limites de ce séquençage par rapport à la ou aux techniques antérieures pratiquées ? (Cf. question 11).

Q13

Réponse :

Avantages	Limites
Sensibilité (Fréquence allélique 2%) : bien meilleure que le séquençage Sanger (15%), comparable aux techniques allèle-spécifiques	Délai de rendu (2-3 semaines) plus important par rapport aux techniques ciblées plus rapides mais moins contributive en terme de taux de positivité
Analyse quantitative : (fréquence allélique)	Cout supérieur aux techniques allèle-

permettant de discuter la hiérarchie clonale (notion sous clones), et permettant le suivi de l'hémopathie.
Le séquençage Sanger, les PCR + gel sont des analyses qualitatives

Exhaustivité : taux de positivité 70%-90%
Supérieur aux stratégies allèle-spécifiques

Flux de travail : prise en charge des échantillons identique quel que soit l'indication (absence d'attitude séquentielle ou de multiplication des analyses unitaires)

spécifiques plus contributive.

Avez-vous une ou des précision(s), information(s), remarque(s) qui n'aurai(en)t pas été traitée(s) par ces questions sur l'utilisation actuelle de ce séquençage dans le cadre des soins courants ?

Q14

Réponse : Non