

Sarcoma a cellule follicolari dendritiche (FDC-S): studio patologico e molecolare di un tumore mesenchimale raro, a patogenesi sconosciuta.

Prof Fabio Facchetti, Università degli Studi di Brescia, Dipartimento di Medicina Molecolare e Traslazionale, Sezione di Anatomia Patologica

Attuazione del progetto:

Creazione di una Rete Internazionale per lo studio di neoplasie a cellule dendritiche ed istiocitarie

In collaborazione con il reparto di oncologia della fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori di Milano abbiamo promosso e parteciperemo al coordinamento dello studio osservazionale retrospettivo "*FASHION: observational study on (Follicular) dendritic, AcceSsory, and HlstiOcytic Neoplasm*". Tale studio, ideato dalla Dr.ssa Luisa Lorenzi (Dottoranda presso il Dipartimento di Medicina Molecolare e Traslazionale dell'Università degli Studi di Brescia) e dalla Dr.ssa Anna Maria Frezza (Oncologia Medica 2, Unità Sarcomi e Tumori Mesenchimali dell'Adulto, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori), ha l'obiettivo di approfondire la storia naturale e definire le caratteristiche molecolari di queste rare malattie, e verrà condotto nel contesto di EURACAN, la European Reference Network della commissione Europea, dedicata al trattamento dei tumori rari solidi dell'adulto.

Esso intende arruolare, retrospettivamente, i pazienti affetti da neoplasie derivanti da Cellule Dendritiche ed Istiocitarie di cui ci sia un sufficiente follow-up clinico e la disponibilità di materiale istologico. Questo verrà sottoposto a revisione istologica e fenotipica, ed eventualmente molecolare, presso il nostro centro, in collaborazione con l'Anatomia Patologica dell'Ospedale di Padova (Prof. Angelo Paolo Dei Tos).

E' in corso la stesura del Protocollo da presentare ai Comitati Etici delle strutture e si sta svolgendo la raccolta di adesioni da parte di 35 Centri di Oncologia Europei.

Studio del panorama molecolare del Sarcoma a Cellule Follicolari Dendritiche (FDC-S) con tecnica di sequenziamento di nuova generazione

Nel contesto di una collaborazione internazionale già in essere, in particolare con il Senckenberg Institute of Pathology di Francoforte, sono stati selezionati 13 casi di FDC-S per l'esecuzione di Whole Exome Sequencing (WES, in 12 casi) e di Whole Genome Sequencing (WGS, in 1 caso).

I risultati ottenuti dalle analisi di WGS e WES in FDCS possono essere così riassunti:

- 1) Il caso sottoposto a WGS ha mostrato la presenza di varianti strutturali (traslocazioni, duplicazioni, delezioni ed inversioni) schematizzate in Figura 1. In particolare, numerose translocazioni (76), inversioni (33), variazioni di numero di copie (CNV) sia in meno (loss, 22) che in più (gains, 26). Questi coinvolgono i cromosomi 5 e 19 e numerose CNV-loss sono state identificate a carico dei cromosomi 9 e 13. In particolare, il caso indice ha mostrato CNV-loss della regione 9p21, che codifica per il gene *CDKN2A*. Delezione del gene è stata confermata con tecnica di ibridazione in situ a fluorescenza (FISH), ed è stata valutata in una coorte di 21 casi di FDCS e la sua delezione è stata identificata nel 40% dei casi (8/21).
- 2) Nonostante evidenza di CNV-loss nella regione 9p24 codificante per PD-L1 e PD-L2, il caso indice ha mostrato espressione intensa e diffusa per PD-L1 in immunoistochimica. La valutazione di ulteriori 31 casi di FDCS ha mostrato globale espressione di PD-L1 in quasi il 40% dei casi (12/31, 38%).

- 3) Lo studio di Piccole Varianti (SV) nei 13 casi di FDCS sequenziali hanno evidenziato alta ricorrenza di mutazioni a carico di geni deputati al rimodellamento della cromatina, organizzazione e assemblaggio dei microtubuli (Figura 2).
- 4) Undici casi di FDCS (11/13, 85%) hanno mostrato mutazioni a carico di almeno un gene oncosoppressore a bassa frequenza; in tale gruppo, solo tre geni (*CARS*, *WRN*, *RB1*) sono condivisi da tre casi.
- 5) In circa la metà dei casi di FDCS (7/13, 54%) sono state evidenziate mutazioni a carico di geni noti per essere biomarcatori di risposta a farmaci inibitori dei PARP (Poli ADP-ribosio polimerasi; *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *CHEK2*, *FANB*)
- 6) L'analisi delle piccole varianti ha evidenziato poche mutazioni a carico di geni correlati alle pathway di NF-κB e MAPK/ERK; in particolare non è stato evidenziato alcun caso con mutazione di *BRAF*. Questo dato è in parziale contrasto con la letteratura precedente e differenzia profondamente FDCS dalle altre neoplasie a cellule dendritiche ed istiocitarie.
- 7) Non sono state evidenziate correlazioni clinico-patologiche-molecolari di rilievo anche alla luce delle scarse informazioni cliniche a disposizione

Figura 1: Circos Graph (by Pedro Veiga) che rappresenta le varianti strutturali incluse le varianti di numero di copie (rossi=gain; verdi=losses). All'esterno del cerchio sono rappresentate le SNV (i.e. missense: blu; frameshift: rosso; splicing: arancione).

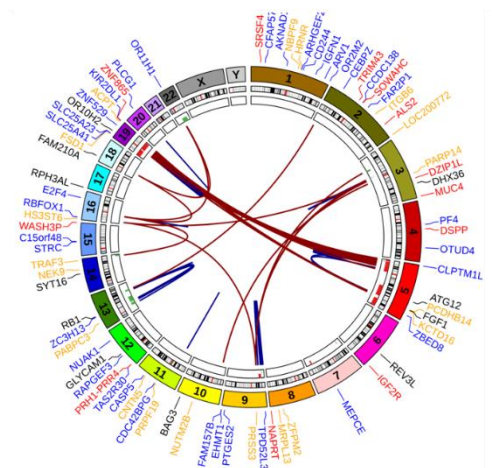


Figura 2: Mutazioni ricorrenti identificate in 13 casi di FDCS

Pathway	Gene	#1	#2	#8	#10	#15	#25	#26	#27	#28	#29	#32	#51	#66
Rimodellamento della cromatina	<i>KMT2C</i>	■	■		■	■	■	■	■		■	■	■	
	<i>ARID1B</i>	■	■		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Organizzazione ed assemblaggio dei microtuboli	<i>PDE4DIP</i>	■	■	IGV	■	■	■	■	■	■	■	■	■	IGV
	<i>PCM1</i>	■	■	IGV	■	■	■	■	■	■	■	■	■	IGV
Fattori di trascrizione	<i>ZFXH3</i>	■	■	■	■	■		■		■	■	■		
	<i>AFF1</i>		■			■	■			■		■		
	<i>FOXO3</i>	■	■	■	■			■	■	■	■	■		
Funzione sconosciuta	<i>NUTM2B</i>	■	■	IGV	■	■	■	■	■	■	■	■		■
	<i>NUTM2A</i>		■		■	■	■	■	■	■	■	■		
	<i>BCR</i>	■	■	IGV	■	■	■	■	■	■	IGV	■	■	

Missenso

Frameshift

Variazioni della regione di splicing

Stop gained

Delezioni inframe

Inserzioni inframe

Il progetto “Sarcoma a cellule follicolari dendritiche (FDC-S): studio patologico e molecolare di un tumore mesenchimale raro, a patogenesi sconosciuta” è stato:

- presentato al Genomics day @Unibs il 21 giugno 2017,
- sottomesso il David Mason Award a Ottobre 2018, presso l’European Association of Haematopathology dalla Dr.ssa Lorenzi.
- oggetto di Tesi di Laurea del Dott. Simbeni Matteo, laureatosi in Medicina e Chirurgia il 10 Ottobre 2019
- oggetto della Tesi di Dottorato in Scienze Biomediche e Medicina Traslazionale della Dr.ssa Lorenzi Luisa.
-

I risultati del progetto verranno sottoposti per pubblicazione nei prossimi mesi, il finanziamento della Fondazione Golgi è stato nel frattempo citato nelle seguenti pubblicazioni:

- **Histiocytic and dendritic cell neoplasms: what have we learnt by studying 67 cases.** Facchetti Fabio, Pileri Stefano Aldo, Lorenzi Luisa, Tabanelli Valentina, Rimsza Liza, Pittaluga Stefania, Dirnhofer Stephan, Copie-Bergman Christiane, de Leval Laurence, Rosenwald Andreas, Wotherspoon Andrew, Fend Falko. Virchows Archive. 2017 Jul 10. doi: 10.1007/s00428-017-2176-1.
- **Updates in histiocytic and dendritic cell proliferations and neoplasms.** Facchetti Fabio, Lonardi Silvia, Vermi William, Lorenzi Luisa. Diagnostic Histopathology, 2019. doi:10.1016/j.mpdhp.2019.04.001