



Recherche de type 2 à risque et contrainte minimale
ID RCB : 2019-A01814-53
Date de l'avis favorable CPP : 06/02/2020

HISTIO target (2020 – 2030)
Biomarqueurs et analyses moléculaires dans les histiocytoses

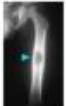
Investigateur coordonnateur : Dr Sébastien Héritier et Dr Jean Donadieu

Moniteur de recherche clinique : Mohamed Barkaoui

Volet adulte : Pr Fleur Cohen-Aubart, Pr Julien Haroche, Pr Abdelatif Tazi

1. Rationnel

Histiocytoses : accumulation anormale des cellules du système des **phagocytes mononucléés** :
cellules dendritique, monocytes, macrophages

	Pathologie	Atteintes	Immuno - histochimie	
Non malignes	L	Histiocytose langerhansienne	Surtout enfants Tous les organes (os > peau > hypophyse)	  Marqueurs langerhansiens CD1a + CD207 +
		Erdheim Chester	Plutôt adultes âgés Tous les organes (rétropéritoine > cœur > os)	 Pas de marqueurs langerhansiens
	C	Xanthogranulome juvénile	Enfants Peau	 Pas de marqueurs langerhansiens
	R	Rosai Dorfman	Tous âges, pop migrante Adénomégalie	 Empéripolèse 
Malignes	M	Sarcome histiocytaire : caractéristiques cytologiques de malignité , prolifération ++		
	H	Lympho-histiocytose familiale / syndromes d'activation macrophagique		

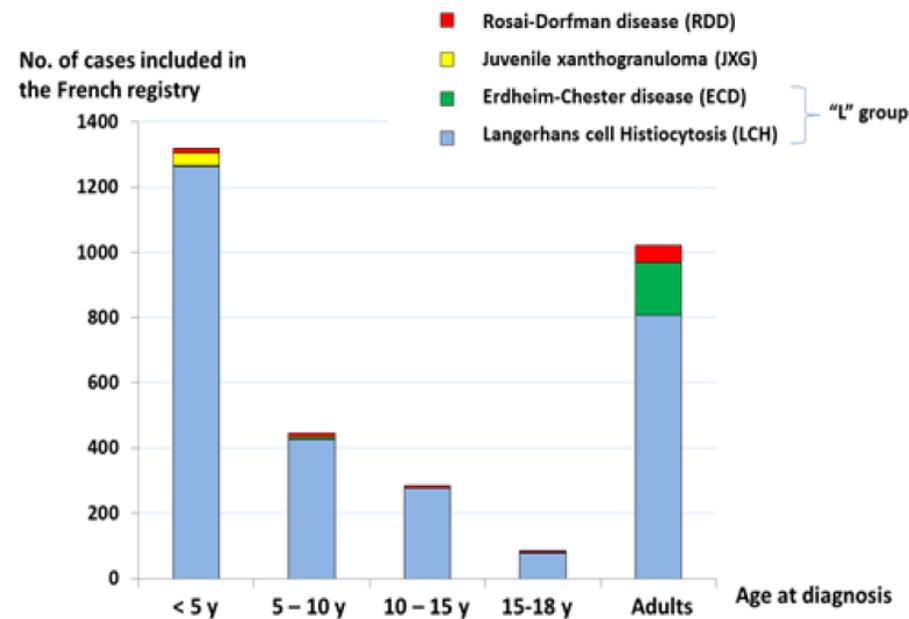


Figure 1. Representativity of main the histiocytic disorders among the French registry of histiocytosis.

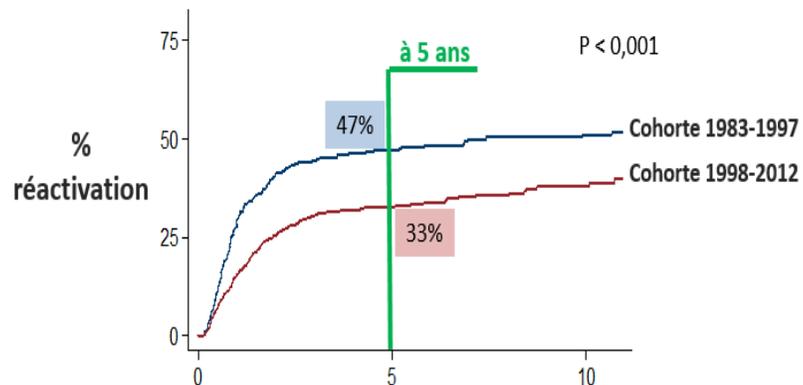
1. Rationnel

Histiocytose langerhansienne : groupe L

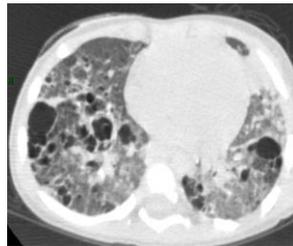
- La plus fréquente
- Diag anapath pas toujours facile (faible % d'histiocytes pathologique, biopsie de petites tailles du fait de l'âge patient / accès au site biopsié)
- Assez souvent bénigne, auto-régressive – Survie 99%
- Besoin d'une chimiothérapie dans un peu plus de la moitié des cas

Souvent bénigne donc mais 3 problèmes persistent :

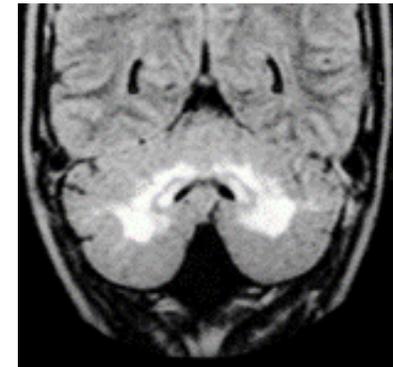
Réactivation fréquente après chimiothérapie et 20% de séquelles



Présentations sévères : environ 15 cas/ an



Atteinte neurodégénérative tardive : environ 1 à 2 cas/ an



1. Rationnel

Histiocytose langerhansienne : groupe L

Depuis 2015 : Utilisation des nouvelles connaissances moléculaires

Intérêts cliniques : Charge allélique $BRAF^{V600E}$

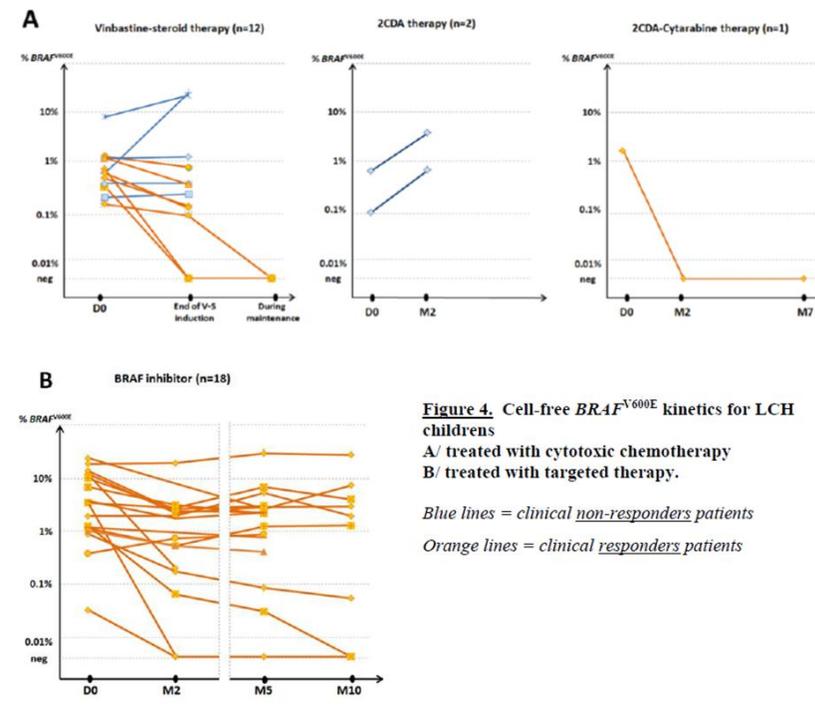


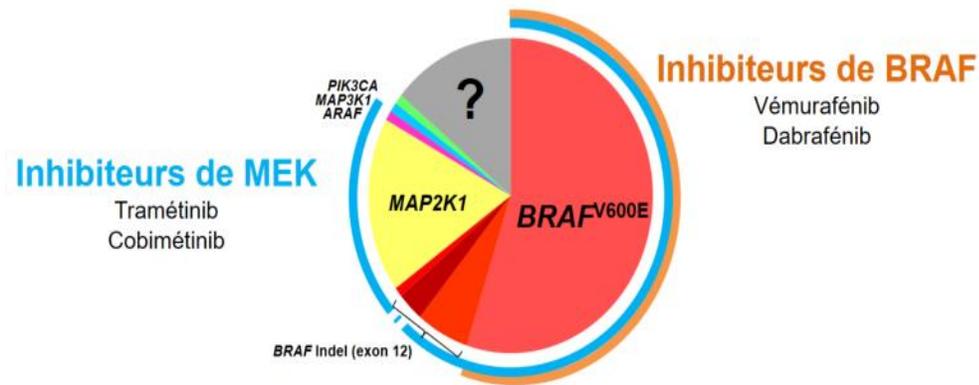
Figure 4. Cell-free $BRAF^{V600E}$ kinetics for LCH children

A/ treated with cytotoxic chemotherapy
B/ treated with targeted therapy.

Blue lines = clinical non-responders patients

Orange lines = clinical responders patients

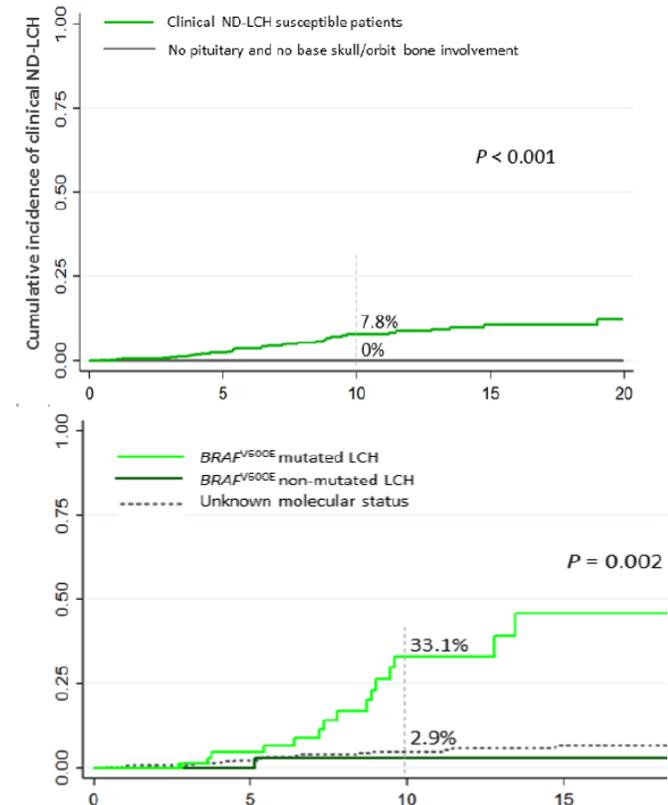
Intérêts cliniques : Cible thérapeutique



Mais souvent, sevrage de la thérapie ciblée impossible (=> traitement à vie?)

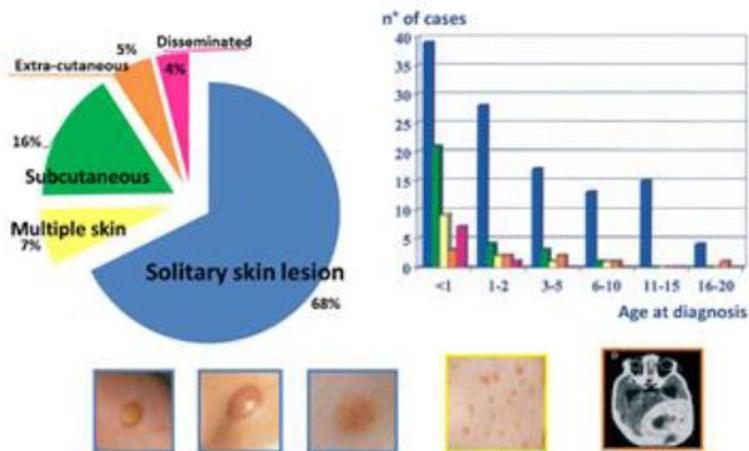
Intérêts cliniques : Pronostic $BRAF^{V600E}$

- Présentation sévère jeune nourrisson
- Atteinte neuro-dégénérative



1. Rationnel

Xanthogranulome juvenile



Clinique

Mutations identifiées

Besoin médical

Souvent ?????, parfois *MAP2K1*, *KRAS*, *BRAF^{V600E}*, fusions de *NTRK1*, *ALK* ...

Efficacité variable des traitement HL-like
Qq présentation compressives organes profonds
Qq présentations disséminées +++ (Pb esthétique)

Rosai Dorfman



Très souvent ?????, parfois *MAP2K1*, *KRAS*...
Physiopathologie moins bien connue

Qq présentation compressives organes profonds

Histiocytose maligne

- Plusieurs sous-entités +/- bien définies
 - histiocytic sarcomas (HS)
 - inter-digitized dendritic cells sarcomas (IDDS)
 - Langerhans cells sarcomas (LCS)
- Pronostic sombre

Quasi toujours ?????, complexe parfois *BRAF^{V600E}*

Pas de traitement standard
Chimio/radorésistance +++

2. Objectif de l'étude

- *Identifier les biomarqueurs pronostiques et prédictifs à partir :*
 - *de la biopsie diagnostique*
 - *d'échantillons sanguins (ADN libre circulant, cellules circulantes)*

- *Chez les patients à risque spécifique :*
 - *atteinte neurodégénérative IRM ou clinique : LCR*
 - *atteinte rate/foie/hémato ou sous thérapie ciblée : moelle*

3. Méthodologie

Type d'étude :

RIPH (**R**echerche **I**mpliquant la **P**ersonne **H**umaine) de type 2 : Recherche interventionnelle à risques et contraintes minimales (volumes max de sang à prélever selon l'âge et le poids). Etude multicentrique, prospective de recueil d'échantillons tumoraux et biologiques pendant le traitement et le suivi du patient.

Nombre de centres participants : centres SFCE français
Etude labélisée par la SFCE

2 plateformes/laboratoires :

Service de Pathologie, Hôpital Ambroise Paré, AP-HP
Laboratoire hématologie, Hôpital Armand Trousseau, AP-HP



3. Méthodologie

5 Cohortes :

Cohort 1: Children (<18 y.o. at diagnosis) with a diagnosis of “L” group histiocytosis.

Cohort 2: Adults (≥18 y.o. at diagnosis) with a diagnosis of “L” group histiocytosis

Cohort 3: Childrens and adults with a diagnosis of “C” group histiocytosis

Cohort 4: Childrens and adults with a diagnosis of “R” group histiocytosis

Cohort 5: Childrens and adults with a diagnosis of maligniant (“M” group) histiocytosis

BIOPSIE	SANG/MOELLE /LCR
OUI	+/-
OUI	
OUI	
OUI	

4. Critères d'inclusion

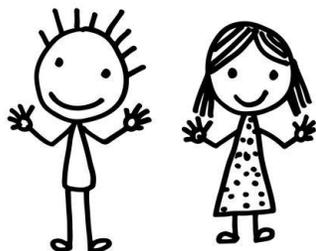
- Disponibilité de l'échantillon biospiés FFPE et/ou cryoconservé obtenu lors des procédures diagnostiques habituelles, au moment du diagnostic ou de la rechute ou de la progression.
- Information du patient/parents et consentement éclairé écrit signé par la personne appropriée : patient, parents ou personne(s) ayant l'autorité parentale.
- Le patient est affilié ou couvert à une assurance maladie nationale
- Patient inscrit au registre français des histiocytoses
- Critères correspondant à l'une des cohortes suivantes ci-dessous :
 - Cohorte 1 : Enfants (<18 ans au diagnostic) avec un diagnostic d'histiocytose du groupe « L ».
 - Cohorte 2 : Adultes (≥18 ans au diagnostic) avec un diagnostic d'histiocytose du groupe « L »
 - Cohorte 3 : Enfants et adultes avec un diagnostic d'histiocytose du groupe « C »
 - Cohorte 4 : Enfants et adultes avec un diagnostic d'histiocytose du groupe « R »
 - Cohorte 5 : Enfants et adultes avec un diagnostic d'histiocytose maligne (groupe « M »)
- **Les patients peuvent être inclus lors du diagnostic initial de la maladie ou après une réactivation ultérieure**

4. Critères de non inclusion

- Absence du patient ou des parents ou du représentant légal
consentement éclairé écrit
- Patient pour lequel un suivi par le centre investigateur ne semble pas faisable
- Personnes privées de liberté par décision judiciaire ou administrative, placées sous protection judiciaire, tutelle ou surveillance
- Patient soumis à des soins de santé mentale obligatoires
- Personnes admises dans un établissement sanitaire et social
- Femmes enceintes

5. Déroulement de l'étude

5.1 Note d'information et Consentement : adapté à l'âge/statut



IC_HistioTarget_6-11 ans_v1.1

IC_HistioTarget_mineur 12-17 ans_v1.1

+

IC_HistioTarget_parents_v1.1

IC_HistioTarget_majeurs_v1.1

IC_HistioTarget_sujets devenus majeurs_v1.1

5. Déroulement de l'étude

5.2 Déroulement de l'étude

• Etape 1 : Vérifications critères d'inclusion

Inclusion (fiche d'inclusion p.24 du protocole)

- Patient inclus dans le **registre français des histiocytose**
- Diagnostic d'histiocytose langerhansienne ou Erdheim Chester, Rosai Dorfman, xanthogranulome ou histiocytose maligne
- Diagnostic prouvé histologiquement avec **biopsie disponible (bloc FFPE +/- congel)**
- Consentement signé

5. Déroulement de l'étude

5.2 Déroulement de l'étude

• Etape 3 : Envoi des échantillons biologiques

Biopsie

Qui ? Tous les patients inclus

Où ? Service de Pathologie, Hôpital Ambroise Paré, AP-HP

9 Avenue Ch. de Gaulle 92104 Boulogne, France

Quand ? ASAP

Quoi ?

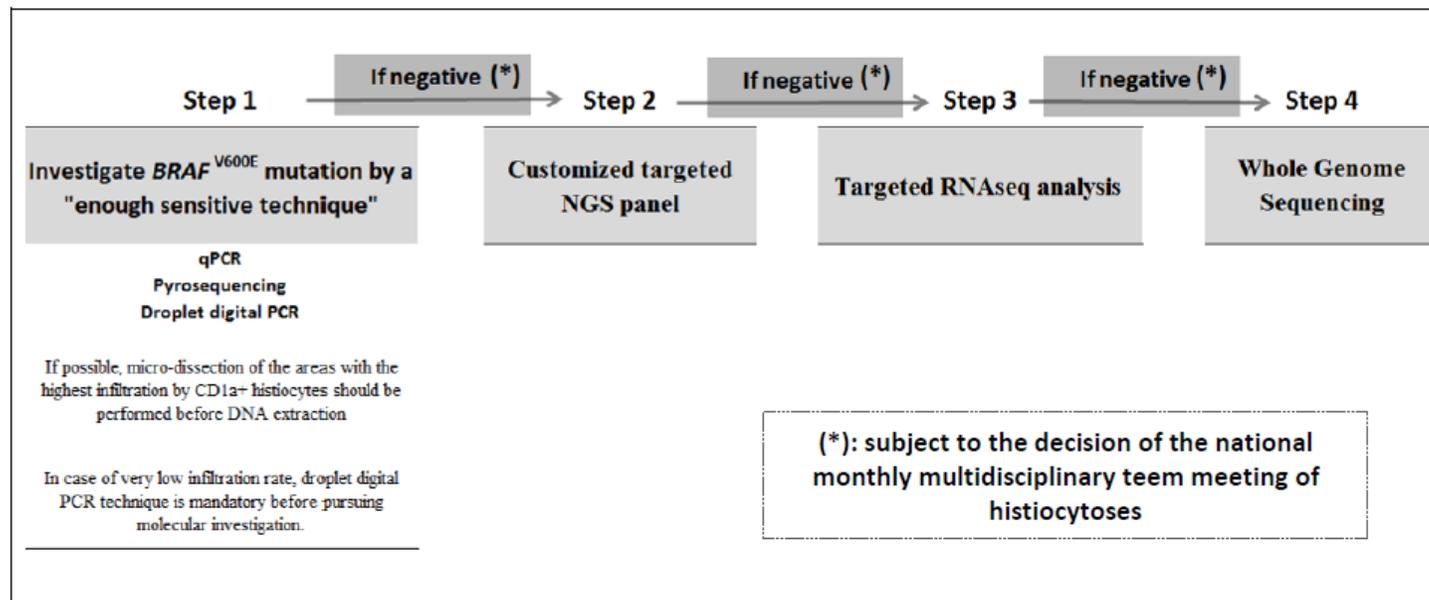
- Un échantillon de biopsie inclus en paraffine fixe (FFPE) = **le bloc**
- Avec la biopsie du patient, les **coupes colorées utilisées pour établir le diagnostic** doivent être envoyées avec, afin de revoir le diagnostic pathologique.
- En cas de matériel tissulaire insuffisant, un deuxième échantillon du tissu biopsié peut être réclamé (FFPE ou échantillon congelé) pour compléter les analyses moléculaires.

5. Déroulement de l'étude

5.2 Déroulement de l'étude

- Etape 3 : Envoi des échantillons biologiques

Biopsie



Après relecture et étude moléculaire :

- Résultats relecture et moléculaires envoyés au centre investigateur
- Lames + bloc restant renvoyé au labo anapath du centre investigateur

Figure 9. Flowchart of molecular multistep biopsy analyses of patients with histiocytoses

5. Déroulement de l'étude

5.2 Déroulement de l'étude

• Etape 3 : Envoi des échantillons biologiques

Sang

Qui ? Tous les patients traités par chimiothérapie systémique (55% des cas)

Où ? Laboratoire hématologie Hôpital Armand Trousseau
Bat. Parrot Roussel, Porte 25 26, avenue du Dr Netter 75012 Paris, France

Quoi ? 2 x 5 ml pour chaque prélèvement (pour les nourrissons, Cf Tableau 3 p.29-30)

- **Tube EDTA** (attention – doit arriver au plus tard dans les 24 – 48h après prélèvement au labo hématologie Trousseau) => **anticipation +++**

OU

- Tubes PAXGene ccfDNA (délai transport de 7j)

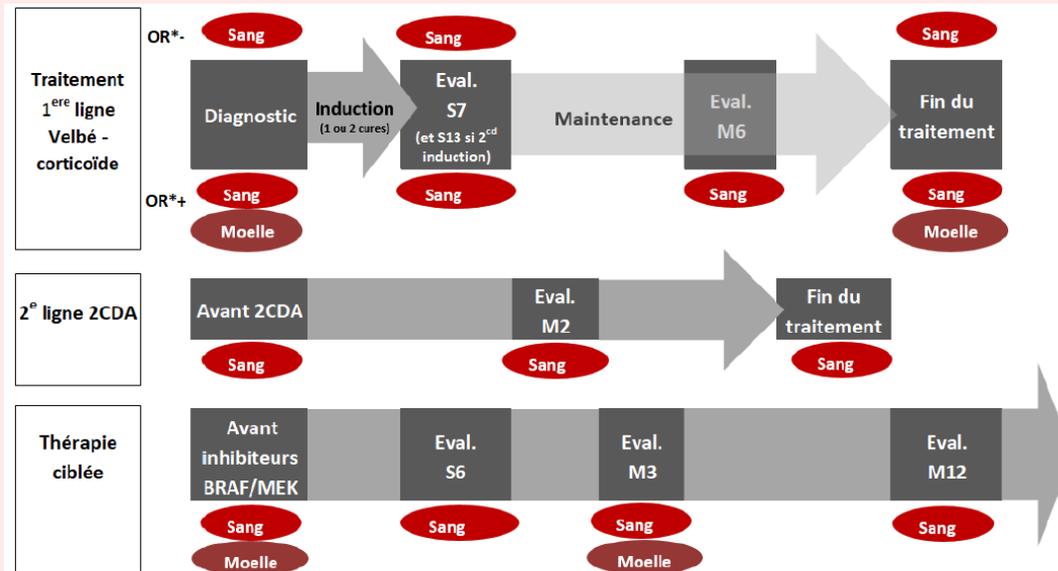
5. Déroulement de l'étude

5.2 Déroulement de l'étude

• Etape 3 : Envoi des échantillons biologiques

Sang

Quand ?



* OR : atteinte des organes à risques : foie, rate, hématologique

Résultats « BRAFEMIE » :

- Que pour les patients avec mutation $BRAF^{V600E}$ identifiée sur biopsie (la majorité +++)
- Objectif de rendu en « temps clinique » au centre investigateur : délais max de 6-8 semaines

5. Déroulement de l'étude

5.2 Déroulement de l'étude

- **Etape 3 : Envoi des échantillons biologiques**



Moelle

Qui ? Atteinte MS OR+ c'est-à-dire nourrisson avec atteinte hémato, rate, foie
Environ 5-10 cas/an en France (rare+++)

Où ? Laboratoire hématologie Hôpital Armand Trousseau
Bat. Parrot Roussel, Porte 25 26, avenue du Dr Netter 75012 Paris, France

Quoi ? 2 x 3 ml pour chaque prélèvement

- **Tube EDTA** (attention – doit arriver au plus tard dans les 24 – 48h après prélèvement au labo hémato Trousseau
anticipation +++

5. Déroulement de l'étude

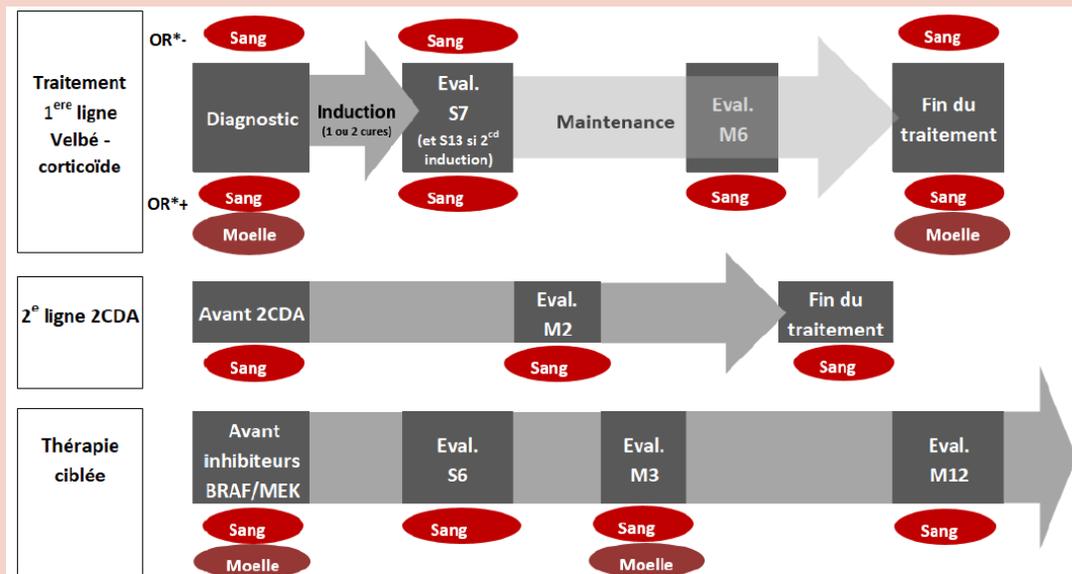
5.2 Déroulement de l'étude

- Etape 3 : Envoi des échantillons biologiques



Moelle

Quand ?



* OR : atteinte des organes à risques : foie, rate, hématologique

5. Déroulement de l'étude

5.2 Déroulement de l'étude

- **Etape 3 : Envoi des échantillons biologiques**

Atteinte neurodégénérative : sang + LCR

Qui ? Anomalie IRM de neurodégénération
Trouble neurologique
Troubles cognitifs / psychiatriques

Où ? Laboratoire hématologie Hôpital Armand Trousseau
Bat. Parrot Roussel, Porte 25 26, avenue du Dr Netter 75012 Paris, France

Quoi ? Sang : 2 x 5ml pour chaque prélèvement
2 tubes EDTA (envoi t° ambiante délai < 24-48h)
OU
2 tubes PAXGene ccfDNA (envoi t° ambiante,
délai < 7j) ou

LCR : 3 tubes en verre de 15 gouttes à congeler à -80°C
(envoi carboglace)

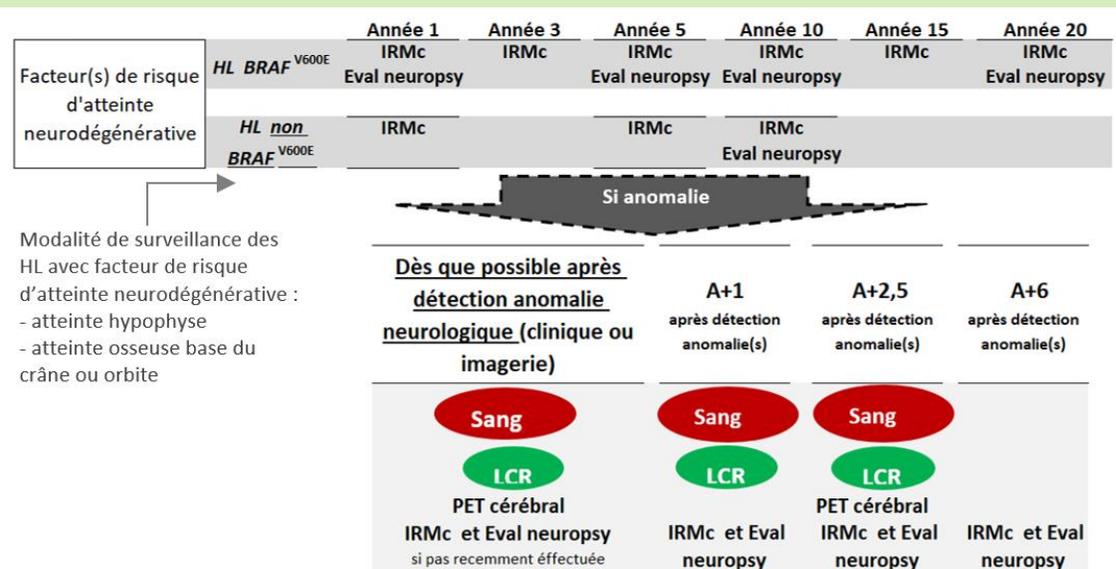
5. Déroulement de l'étude

5.2 Déroulement de l'étude

- Etape 3 : Envoi des échantillons biologiques

Atteinte neurodégénérative : sang + LCR

Quand ?



Résultats NF-light (plasma et LCR)

Transmis au centre investigateur dès réception

6. Logistique

Types de procédure Transport :

- n°1 : Enlèvement sous 24h à Température Ambiante
- n°2 : Enlèvement à Température Ambiante
- n°3 : Enlèvement en carboglace

1- Réserver le transport au minimum la veille du jour d'enlèvement avant 14h (Cf demande d'enlèvement)

2- remplir la fiche « laboratoire » et la joindre à l'envoi

3- si possible, prévenir le labo « receveur » de l'envoi ainsi que l'équipe du registre (pour assurer une meilleur traçabilité)

ANNEXE 1: Fiche de transport pour centre hors APHP

Fiche de demande de transport pour tous les centres investigateurs hors APHP	
 	
FORMULAIRE "DEMANDE DE TRANSPORT" <small>Merci de renvoyer cette demande IMPÉRATIVEMENT au plus tard la veille de l'enlèvement avant 14 heures par fax au 01.34.02.48.40 ou par mail demande.transport@arsa.tinsa.fr CONTACT AREA TIME Logistics : 01.34.02.48.88</small>	
CASE# RESERVE AU CLIENT Vos références N° de client : 1207015 Nom et adresse de facturation : GROUPE D'ETUDE DES HISTIOCYTOSES ETUDE HISTIO TARGE HÔPITAL ALFRED TRUJAS 25 avenue du Docteur A. Neller 75071 PARIS CEDEX 12	CASE# RESERVE A AREA TIME LOGISTICS Nom de l'entreprise : Hôpital TROUSSEAU Devis n° : 29231-02 Date : 1/01/2017 Contact : Monsieur Jean DONADIEU Tel : 01 71 73 87 06 / 01 44 73 56 98 Fax : 01 44 73 65 73 Mail : trs-registre-histiocytose@aphp.fr
RÉSUMÉ DE VOTRE PRESTATION TRANSPORT DÉCRITE AU DEVIS N° 25251 - VALIDITÉ DU 01/01/2017 AU 31/12/2020 <ul style="list-style-type: none"> • Température : Ambiante/congelée • Nature des échantillons : échantillon sanguin ou LCR ou tissus congelés • Nombre d'échantillons : 5 tubes maximum / transport • Dangerosité : Matières radioactives de catégorie II, UN 3373 • Emballage fourni par : Fourni par AREA TIME, conformes aux réglementations en vigueur • ETUDE HISTIO TARGE • Assurance Ad Valorem : NON 	
MERCI DE CONFIRMER CI-DESSOUS LES INFORMATIONS POUR VOTRE TRANSPORT	
Nom de la personne qui demande le transport : N° de Commande Interne : N° de téléphone fixe : portable : Nombre de tubes ou de façons à transporter : Volume contenu dans chaque tube ou façon : ml Si les solis sont fournis par le client, merci d'en indiquer le nombre : Température au cours du transport : Ambiante [] Réfrigérée [] Congelée []	
Date d'enlèvement	Date de livraison
VOTRE TRANSPORT SERA EFFECTUE ENTRE 8h30 - 12h et 14h - 18h <small>(ces horaires pouvant varier en fonction de notre logistique)</small>	
Site Adresse :	Site Adresse :
Contact : Téléphone :	Contact : Téléphone :
Précisions adresse (Bât / étage / service):	Précisions adresse (Bât / étage / service):
<small>Informations: Délai de livraison J+1 Prévenue du JU Paris-AP Le prix s'entend pour un transport et un emballage isotherme conforme D453 Frigo 6 ou 12 litres + sachet étanche 95 kg3 + source de froid si nécessaire.</small>	

7. Pharmacovigilance

- Pas de déclaration de SAE dans le cadre de cette étude
=> Déclaration dans le cadre du soin courant via le site :
<http://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/signalement-sante-gouv-fr>
- **Evénements Indésirables Graves (EIG) :**
- Est considéré comme un EIG tout événement :
 - entraînant le décès
 - mettant en jeu le pronostic vital du patient
 - entraînant une hospitalisation (ou une prolongation d'une hospitalisation >24h)
 - provoquant une invalidité permanente ou une incapacité temporaire grave
 - provoquant une anomalie congénitale, une malformation foetale ou un
 - avortement
 - médicalement significatif par l'investigateur

8. Durée de l'étude / valorisation

- Durée d'inclusion de 10 ans.
- Les centres investigateurs seront associés aux publications.

Vos contacts pour l'étude pédiatrique



Investigateur coordonnateur :

Dr Sébastien Héritier :
sebastien.heritier@aphp.fr

DECT : 01 71 73 87 17 / Secrétariat : 01 44
73 66 04

Dr Jean Donadieu : jean.donadieu@aphp.fr

DECT : 01 71 73 87 06 / Secrétariat : 01 44
73 66 98

Inclusion/consentement/registre :

trs-registre-histiocytose@aphp.fr

Moniteur d'étude :

Mohamed-aziz.barkaoui@aphp.fr

Tél : 01 44 73 65 64 / DECT : 01 71 73 87 06

Transporteur (fiche de demande p.40 du protocole)

Area Time Logistics : Tel 01 34 02 46 88 / Fax 01 34 02 46 40
demande.transport@area-time.fr

Faire la demande de transport au plus tard la veille de
l'enlèvement avant 14h

Envoi biopsie (pour tous les patients inclus)

Adresse : Service de Pathologie, Hôpital Ambroise Paré, AP-HP,
9 Av. Ch. De Gaulle, 92104 Boulogne Tel : 01 49 09 57 28

+/- Envoi échantillons sanguins, moelle et LCR

Adresse : Laboratoire hématologie, Hôpital Armand Trousseau,
AP-HP, Bat. Parrot Roussel Porte 25, 26 avenue du Dr Netter,
75012 Paris

Tel : 01 44 73 69 90

