

UNIVERSITE DE LILLE  
**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**  
Année 2023

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Gliomes de haut grade présentant un transcrit de fusion  
impliquant FGFR : une étude rétrospective multicentrique**

Présentée et soutenue publiquement le 25/09/2023  
à 18:00 au pôle recherche

**Par Marine Curti**

---

**JURY**

**Président :**

Monsieur le Professeur Nicolas Reyns

**Asseseurs :**

Monsieur le Professeur Luc Defebvre

Monsieur le Professeur Claude-Alain Maurage

Madame le Docteur Enora Vauléon

**Directeur de thèse :**

Madame le Docteur Apolline Monfilliette-Djelad

---

# Avertissement

**La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

# Sigles

<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique
<b>ARNm</b>	Acide ribonucléique messenger
<b>miARN</b>	Micro Acide ribonucléique
<b>ASCO</b>	American Society of Clinical Oncology
<b>CGH</b>	Comparative Genomic Hybridization
<b>CNIL</b>	Commission Nationale de l'Informatique des Libertés
<b>DNET</b>	Dysembryoplastic Neuroepithelial Tumor
<b>EANO</b>	European Association for Neuro-Oncology
<b>F3T3</b>	Fusion FGFR3-TACC3
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FISH</b>	Fluorescence in situ hybridization
<b>HR</b>	Hazard Ratio
<b>HTIC</b>	Hypertension intracrânienne
<b>IQR</b>	Intervalle interquartile
<b>NGS</b>	Next generation sequencing
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>RANO</b>	Response Assessment in Neuro-Oncology
<b>RT</b>	Radiothérapie
<b>RT-PCR</b>	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
<b>SG</b>	Survie Globale
<b>SNC</b>	Système nerveux central
<b>SSP</b>	Survie Sans Progression

**TCGA** The Cancer Genome Atlas Program

**TMZ** Temozolomide

# Sigles, principaux gènes et protéines

<b>BCR</b>	Breakpoint cluster region
<b>CGNL1</b>	Cingulin Like 1
<b>EGFR</b>	Epidermal Growth Factor Receptor
<b>FGFR</b>	Fibroblast Growth Factor Receptor
<b>H3</b>	Histone H3
<b>IDH</b>	Isocitrate Déshydrogénase
<b>MAPK</b>	mitogen-activated protein kinase
<b>MGMT</b>	O <sup>6</sup> -Methylguanine-DNA Methyltransferase
<b>TACC</b>	Transforming acidic coiled-coil
<b>TERT</b>	Telomerase reverse transcriptase

# Sommaire

Avertissement.....	2
Remerciements .....	3
Sigles.....	6
Sigles, principaux gènes et protéines .....	8
Sommaire .....	9
Introduction.....	12
1 Les gliomes diffus de l'adulte .....	12
1.1 Epidémiologie.....	12
1.1.1 Généralités.....	12
1.1.2 Astrocytomes IDH mutés et Oligodendrogliomes IDH mutés, 1p/19q-codélétés .....	12
1.1.3 Glioblastomes .....	13
1.2 Présentation clinique et diagnostic .....	14
1.3 Biologie moléculaire des gliomes et classification OMS 2021 .....	15
1.3.1 Astrocytomes IDH mutés .....	15
1.3.2 Oligodendrogliomes IDH mutés, 1p19q-codélétés.....	16
1.3.3 Glioblastomes .....	17
1.4 Prise en charge et pronostic.....	17
1.4.1 A la récurrence .....	18
2 Les transcrits de fusion.....	19
2.1 Définition et mécanismes moléculaires .....	19
2.2 Méthodes de détection .....	22
2.3 Les transcrits de fusion dans les gliomes de haut grade .....	23
3 Transcrits de fusion impliquant FGFR .....	24
3.1 Physiologie et physiopathologie de FGFR.....	24
3.2 Découverte des transcrits impliquant FGFR dans les glioblastomes et premières études .....	25
3.3 Thérapies ciblées .....	28
4 Objectif.....	29
Article en Anglais.....	31
1 Abstract .....	31
2 Introduction.....	31

3	Material and methods .....	33
3.1	Study design.....	33
3.2	Study population.....	33
3.3	Data collection .....	33
3.3.1	Molecular analysis .....	33
3.3.2	Survival data .....	34
3.3.3	Demographic and clinical data .....	35
3.3.4	Radiological data .....	35
3.3.5	Treatment data.....	35
3.3.6	Immunohistochemistry .....	35
3.4	Statistical analysis .....	35
3.5	Regulatory framework .....	36
4	Results .....	36
4.1	Description of patients populations.....	36
4.2	Survival analysis.....	38
4.3	Clinical presentation .....	40
4.4	Radiological characteristics .....	41
4.5	Immunohistochemistry and FGFR3 screening .....	42
4.6	Molecular biology results .....	43
4.7	Identification of two atypical fusions .....	44
5	Discussion .....	46
6	Conclusion.....	50
	Matériel et méthodes .....	52
1	Design de l'étude.....	52
2	Population étudiée.....	52
3	Recueil des données .....	53
3.1	Biologie moléculaire .....	53
3.2	Données de survie.....	54
3.3	Données démographiques et cliniques.....	54
3.4	Données radiologiques.....	55
3.5	Traitements reçus.....	55
3.6	Analyses anatomopathologiques et immunohistochimiques .....	55
4	Analyses statistiques.....	56
5	Cadre réglementaire.....	56
	Résultats.....	57

1	Description de la population .....	57
2	Analyse de survie .....	59
3	Présentation clinique au diagnostic .....	60
4	Caractéristiques radiologiques .....	61
5	Immunohistochimie et dépistage des anomalies FGFR3 .....	63
6	Résultats de biologie moléculaire .....	64
7	Fusions FGFR atypiques .....	65
	Discussion .....	68
	Conclusion.....	74
	Liste des tables.....	75
	Liste des figures .....	76
	Références .....	77
	Annexes.....	83
1	Annexe 1 .....	83
2	Annexe 2 .....	85



# Introduction

## 1 Les gliomes diffus de l'adulte

### 1.1 Epidémiologie

#### 1.1.1 Généralités

Les gliomes sont les tumeurs primitives malignes les plus fréquentes du système nerveux central (SNC). Ils représentent environ 25% des tumeurs primitives du SNC et 80% des tumeurs primitives malignes. [1,2]

Leur incidence varie en fonction du type histologique, de l'âge et du sexe. De manière générale, les gliomes de haut grade voient leur incidence augmenter avec l'âge et le sexe masculin. [3]

Dans la majeure partie des cas, l'origine de ces tumeurs demeure inconnue. Parmi les facteurs de risque reconnus, on retrouve :

- Certains syndromes génétiques (Syndrome de Lynch, Syndrome de Li-Fraumeni, Neurofibromatose de type 1),
- La radiothérapie de la région céphalique.

Aucun autre facteur environnemental étudié n'a démontré, à ce jour, d'augmentation du risque de tumeur gliale. [3]

Depuis la mise à jour en 2021 de la classification OMS des tumeurs du système nerveux central, on oppose les gliomes diffus de l'adulte aux gliomes diffus pédiatriques. Les gliomes diffus de l'adultes sont eux-mêmes divisés en 3 types tumoraux : les astrocytomes IDH mutés, les oligodendrogliomes IDH mutés et 1p/19q codélétés, et les glioblastomes. [4]

#### 1.1.2 Astrocytomes IDH mutés et Oligodendrogliomes IDH mutés, 1p/19q-codélétés

La nouvelle classification des gliomes diffus de l'adulte n'étant appliquée que depuis 2021, nous manquons de données épidémiologiques précises sur les différents types tumoraux.

**Concernant les astrocytomes IDH mutés**, une analyse de 2015 passant en revue les données de 3 études incluant des patients IDH mutés et excluant les patients 1p19q codélétés retrouvait un âge médian au diagnostic :

- D'environ 38 ans pour les patients présentant une tumeur de grade 2 ou 3 ;
- D'environ 42 ans pour les patients présentant une tumeur de grade 4. [5]

L'analyse des données statistiques des tumeurs cérébrales aux Etats-Unis de 2015 à 2019 s'appuyant sur la classification OMS 2016 retrouvait des données différentes.

L'âge médian au diagnostic des astrocytomes diffus était de 45 ans et celui des astrocytomes anaplasiques de 52 ans. [1]

**Concernant les oligodendrogliomes**, une étude de 2009 se basant sur les critères anatomopathologiques de 2007 retrouvait un âge moyen au diagnostic de 43-44 ans pour les grades 2 et de 47-49 ans pour les grades 3. [6]

L'analyse des données statistiques des tumeurs cérébrales aux Etats-Unis de 2015 à 2019 retrouvait cette fois des données similaires : l'âge médian au diagnostic des oligodendrogliomes de grade 2 était de 44 ans et celui des oligodendrogliomes anaplasiques (grade 3) de 49 ans. [1]

**Les mécanismes de transformation tumorale** à l'origine des astrocytomes et oligodendrogliomes ne sont pas parfaitement élucidés. Il existe des arguments en faveur d'une origine cellulaire commune à tous les gliomes IDH mutés. [7] Il semblerait que les masses tumorales soient composées d'un mélange de sous populations cellulaires : des cellules matures de différenciation astrocytique ou oligodendrocytique, et des cellules peu différenciées, proches de cellules progénitrices ou souches, capables de prolifération. [8]

### 1.1.3 Glioblastomes

Parmi les gliomes, les glioblastomes sont les tumeurs les plus fréquentes. Ils représentent 14% des tumeurs primitives du système nerveux central et 50% des tumeurs primitives malignes.

L'incidence augmente avec l'âge mais ils peuvent survenir à tout âge. L'âge médian au diagnostic est de 65 ans. [1]

Plusieurs arguments sont en faveur d'une origine cellulaire bien distincte des astrocytomes et oligodendrogliomes IDH mutés : les différences moléculaires, d'âge au diagnostic, de pronostic, mais aussi de localisation tumorale. Les gliomes diffus IDH mutés semblent présenter une prédilection pour les régions frontales que l'on ne retrouve pas chez les glioblastomes. [7]

A l'échelle microscopique, les glioblastomes présentent une hétérogénéité marquée, inter et intra individuelle. Cette hétérogénéité s'exprime spatialement au sein de différentes régions tumorales, mais également temporellement avec une évolutivité des lésions et de leur composition. Devant l'importance de l'hétérogénéité tumorale et de la plasticité cellulaire, déterminer la cellule à l'origine de la transformation tumorale est une tâche ardue. [9,10]

## 1.2 Présentation clinique et diagnostic

Quelle que soit l'anatomopathologie sous-jacente, la présentation clinique des gliomes de haut grade dépend principalement de la localisation tumorale. Ils peuvent engendrer des **déficits focaux** variés, d'installation généralement progressive ou rapidement progressive. **Des signes d'hypertension intracrânienne** (HTIC) peuvent être révélateurs, associés ou non à un déficit focal :

- Céphalées à prédominance matinale,
- Nausées et vomissements soulageant la céphalée,
- Diplopie horizontale par atteinte non localisatrice du nerf crânien VI.

Les **manifestations épileptiques** sont fréquentes et de sémiologie variable selon la localisation tumorale. Elles sont généralement focales avec parfois une généralisation secondaire. Le risque de survenue de crise dépend de l'anatomopathologie tumorale. [11] A titre d'exemple, la présence d'un gliome avec mutation IDH serait un facteur de risque indépendant de présenter des manifestations épileptiques. Elle engendrerait la libération de D-2-hydroxyglutarate dans l'environnement cellulaire, agissant comme un analogue du glutamate, pouvant favoriser la survenue de crises d'épilepsie. Une étude de 2017 s'est intéressée à la fréquence de survenue de crises d'épilepsie en préopératoire en fonction de l'histologie tumorale. On retrouvait une fréquence de crises allant de 18 à 34% pour les patients présentant un glioblastome IDH sauvage, contre 59 à 74% pour les patients présentant une tumeur IDH mutée (astrocytome ou oligodendrogliome). [12]

L'apparition de déficits focaux rapidement progressifs, de signes d'HTIC, ou de crises focales, doit motiver la réalisation d'une imagerie cérébrale qui permettra d'authentifier le processus lésionnel sous-jacent. Dans le cadre des tumeurs cérébrales, le Gold standard en imagerie est **l'IRM cérébrale avec injection de gadolinium**. [13]

Les gliomes de haut grade apparaissent en IRM comme des lésions irrégulières, avec des prises de contraste périphériques. Un contingent de nécrose centrale est fréquemment présent. Ils sont entourés d'une réaction œdémateuse en hypersignal T2 variable. Leur aspect remnographique est parfois moins évocateur, constitué d'un simple hypersignal T2 ponctué de prises de contraste focales en séquence T1 avec injection de gadolinium.

Une fois le processus tumoral identifié en imagerie, c'est le **geste chirurgical** qui permettra l'analyse anatomopathologique de la lésion et le diagnostic. L'exérèse chirurgicale sera préférée si le patient est en bon état général et que la lésion n'envahit pas une zone fonctionnelle. Dans le cas contraire, des biopsies seront réalisées.

### 1.3 Biologie moléculaire des gliomes et classification OMS 2021

Une fois le prélèvement chirurgical effectué, l'**anatomopathologie** permet le diagnostic définitif, guidée par la classification OMS 2021 des tumeurs du système nerveux central. Cette dernière version de la classification OMS introduit le concept de **diagnostic intégré**, associant les informations issues de l'analyse anatomopathologique, immunohistochimique et des analyses de biologie moléculaire. [4]

Comme exposé précédemment, on distingue 3 types de gliomes diffus de l'adulte : les astrocytomes IDH mutés, les oligodendrogliomes IDH mutés 1p19q-codélétés et les glioblastomes ([Figure 1](#))

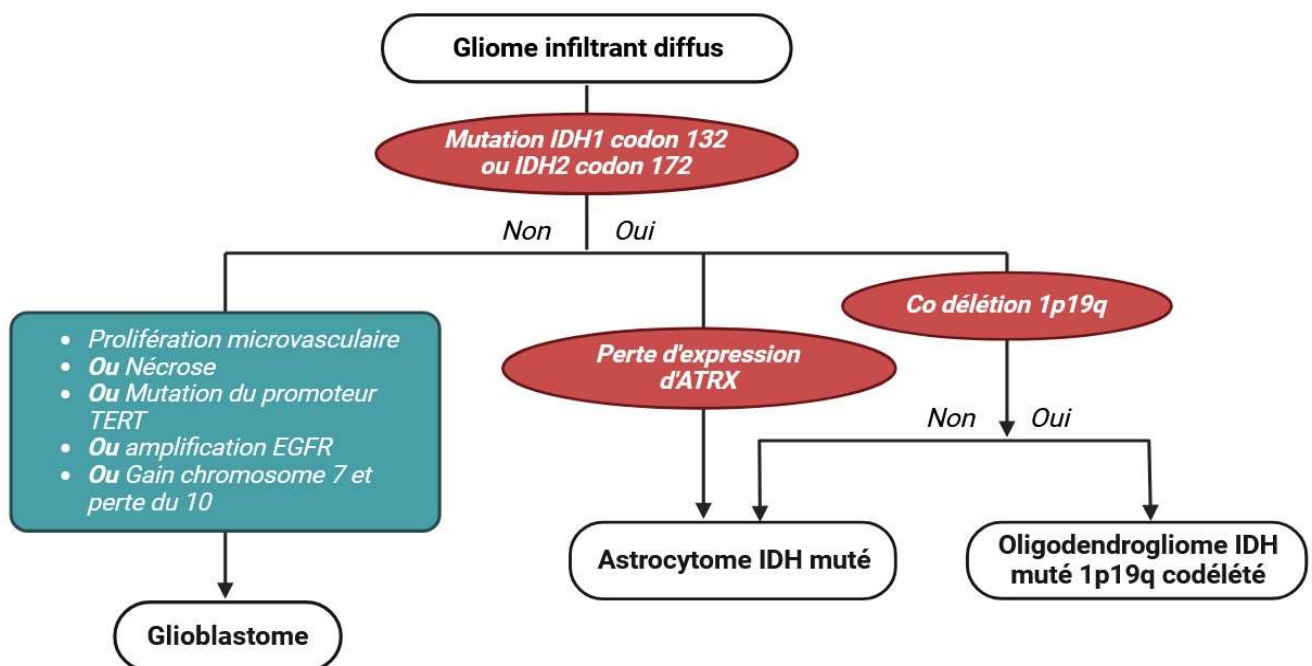


Figure 1 : Représentation schématique de la classification OMS 2021 des gliomes diffus de l'adulte. Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.

#### 1.3.1 Astrocytomes IDH mutés

Les **astrocytomes IDH mutés** sont des tumeurs infiltrantes de morphologie gliale. Il en existe 3 grades, allant de 2 à 4.

Un critère essentiel à leur diagnostic est la présence d'une **mutation IDH1 ou IDH2**. Sa recherche peut se faire par l'immunohistochimie, qui identifie de manière sensible et spécifique les mutations IDH1 R132H, représentant 90% des mutations IDH. Sa positivité suffit à affirmer la présence d'une mutation IDH1. En cas de négativité, le séquençage du gène est nécessaire pour rechercher une mutation plus rare d'IDH1 ou 2.

Une fois la présence d'une mutation IDH1 affirmée, il faut rechercher la perte d'expression d'ATRX en immunohistochimie **ou** exclure la présence d'une codélétion 1p/19q en Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) ou en biologie moléculaire pour affirmer le diagnostic d'astrocytome IDH muté.

Enfin, la détermination du grade tumoral peut se baser sur des critères anatomopathologiques :

- Présence d'anaplasie,
- Intensité de l'activité mitotique,
- Présence de prolifération microvasculaire ou de nécrose.

Il existe également un critère de biologie moléculaire : la délétion homozygote de CDKN2A ou B, qui signe la présence d'un astrocytome de grade 4. [14]

### 1.3.2 Oligodendrogliomes IDH mutés, 1p19q-codélétés

Les **oligodendrogliomes** sont des tumeurs relativement bien délimitées, pouvant être composées de cellules de morphologie oligodendrogliale, mais également astrocytaire ou gemistocytaire. Il en existe seulement deux grades : le grade 2 ou 3.

Quelle que soit la morphologie cellulaire, deux critères signent le diagnostic :

- La présence d'une mutation IDH1 ou 2, identifiée par l'immunohistochimie IDH1 R132H ou par séquençage du gène en biologie moléculaire (NGS).
- La présence d'une codélétion 1p/19q, identifiée par FISH ou méthode de biologie moléculaire.

La préservation de l'expression d'ATRX en immunohistochimie et la présence d'une mutation du promoteur de TERT sont également des arguments en faveur du diagnostic.

Une fois le diagnostic d'oligodendrogliome affirmé, la détermination du grade se basera sur :

- La cellularité,
- Les atypies cytologiques,
- L'activité mitotique,
- La présence ou non d'une prolifération microvasculaire ou de nécrose.

Il n'existe pas de critère objectif bien établi permettant de faire la différence entre un grade 2 et un grade 3. L'impact pronostic de la délétion homozygote de CDKN2A semble péjoratif, sans définition aussi claire que pour les astrocytomes. [15]

### 1.3.3 Glioblastomes

Les **glioblastomes** sont des tumeurs très infiltrantes, composées de cellules astrocytaires habituellement peu différenciées. Il n'en existe qu'un seul grade : le grade 4.

Le diagnostic nécessite la présence d'une tumeur astrocytaire sans mutation IDH ou H3. La négativité de l'immunohistochimie IDH1 R132H est suffisante pour les patients de plus de 55 ans :

- Sans antécédent de gliome de bas grade préexistant,
- Avec une expression d'ATRX préservée.

Dans le cas contraire, une technique complémentaire de séquençage des gènes IDH1 et 2 est nécessaire pour exclure un astrocytome. De manière similaire, les tumeurs gliales de la ligne médiane doivent systématiquement bénéficier d'une recherche complémentaire de la mutation H3K27M, pour exclure un gliome diffus de la ligne médiane H3K27 altéré, qui est une entité propre de la classification OMS.

Au sein des gliomes infiltrants IDH et H3 sauvages, la présence d'un des 5 critères suivants suffit pour affirmer le diagnostic de glioblastome :

- La présence d'une prolifération microvasculaire ;
- La présence d'une nécrose ;
- La présence d'une mutation du promoteur de TERT ;
- La présence d'une amplification EGFR ;
- La présence d'un gain de copie du chromosome 7 et d'une perte du chromosome 10.

Ainsi, le diagnostic de glioblastome peut être posé malgré l'absence d'un aspect anatomopathologique caractéristique, grâce à la biologie moléculaire. [16]

## 1.4 Prise en charge et pronostic

Une fois le diagnostic définitif affirmé, les options thérapeutiques pour chaque patient sont discutées en **réunion de concertation pluridisciplinaire**, afin d'assurer la meilleure prise en charge en l'état des connaissances scientifiques.

**Pour les patients présentant un astrocytome IDH muté ou un oligodendrogliome IDH muté, 1p/19q-codéleté**, une résection chirurgicale maximaliste est bénéfique dès que réalisable. Selon les recommandations de l'EANO et de l'ASCO, un traitement adjuvant par radiothérapie et chimiothérapie peut être proposé en fonction de l'extension de la résection, de l'âge et du grade anatomopathologique. [17,18]

**Pour les patients présentant un astrocytome IDH muté de grade 4**, selon l'ASCO, la prise en charge peut rejoindre celle des glioblastomes, détaillée ci-dessous, ou celle des astrocytomes de grade 3. [18]

**Pour les glioblastomes**, la première ligne de traitement est bien codifiée et comprend, dès que réalisable, une chirurgie avec résection maximaliste, une radio-

chimiothérapie adjuvante et 6 cycles de chimiothérapie adjuvante par Temozolomide, administrée 5 jours par mois à la posologie de 150mg/m<sup>2</sup> le premier cycle puis 200mg/m<sup>2</sup> les cycles suivants. [17–20]

Quelle que soit la pathologie gliale sous-jacente, un âge jeune et un bon état général constituent des facteurs indépendants de bon pronostic. [17]

**Au sein des astrocytomes IDH mutés**, un autre facteur pronostic reconnu est la présence ou non d'un reliquat tumoral post opératoire. [21] Le grade anatomopathologique est également associé à la survie : les astrocytomes IDH mutés de grade 2 présentent une survie globale supérieure à 10 ans, les astrocytomes IDH mutés de grade 3, une survie globale entre 5 et 10 ans et les astrocytomes IDH mutés de grade 4, une survie de moins de 5 ans (environ 3 ans). [22]

Il existe peu d'études pronostiques puissantes concernant les **oligodendrogliomes IDH mutés, 1p/19q-codélétés**, ceux-ci étant auparavant confondus dans la population des gliomes IDH mutés. Ils semblent néanmoins présenter un pronostic plus favorable que les astrocytomes IDH mutés. [23]

Malgré une prise en charge maximale, **les glioblastomes** restent des tumeurs de pronostic sombre, avec une médiane de survie de 15 mois. [13] A grade identique, leur pronostic est plus péjoratif que celui des astrocytomes IDH mutés. [24] Les facteurs de bon pronostic actuellement reconnus en dehors de l'âge sont : un bon état général et la présence d'une hyperméthylation du promoteur MGMT. [20] L'extension de la résection est également un facteur pronostic important, renforcé par la définition récente de l'exérèse « supramaximale » par le Response Assessment in Neuro-Oncology (RANO) resect group. Ce terme désigne une résection de la prise de contraste et de plus de 60% de l'hypersignal FLAIR, ou laissant moins de 5cm<sup>3</sup> de lésion tumorale ne prenant pas le contraste. Elle est associée à une meilleure survie que la résection complète, désignant la résection de toute la prise de contraste. [25]

#### 1.4.1 A la récurrence

Nous disposons de peu de données comparatives sur l'efficacité des traitements à la récurrence et il n'existe pas, à ce jour, de recommandation formelle sur leur prise en charge. Celle-ci doit être discutée en réunion de concertation pluridisciplinaire afin d'évaluer l'opportunité d'un nouveau traitement par chirurgie, radiothérapie ou chimiothérapie, en fonction des traitements précédemment reçus, des caractéristiques IRM de la récurrence (multifocalité, étendue, envahissement d'une zone fonctionnelle) et de l'état général du patient. [17,18]

## 2 Les transcrits de fusion

### 2.1 Définition et mécanismes moléculaires

Les gènes de fusion sont des gènes hybrides, nés de la mise en continuité de deux gènes habituellement non attenants, via divers mécanismes moléculaires.

Les mécanismes les plus souvent impliqués sont ([Figure 2](#)) :

- La translocation : échange de segments de chromosomes entre deux chromosomes différents,
- L'insertion : insertion d'un fragment chromosomique sur un site différent d'un même chromosome ou d'un second chromosome,
- L'inversion : rotation d'un segment de chromosome mettant en continuité des gènes habituellement non contigus,
- La délétion : perte d'un fragment de chromosome pouvant rapprocher deux gènes non attenants,
- La duplication : copie d'un fragment de chromosome (détails partie [3.2 Découverte des transcrit impliquant FGFR dans les glioblastomes et premières études](#)).



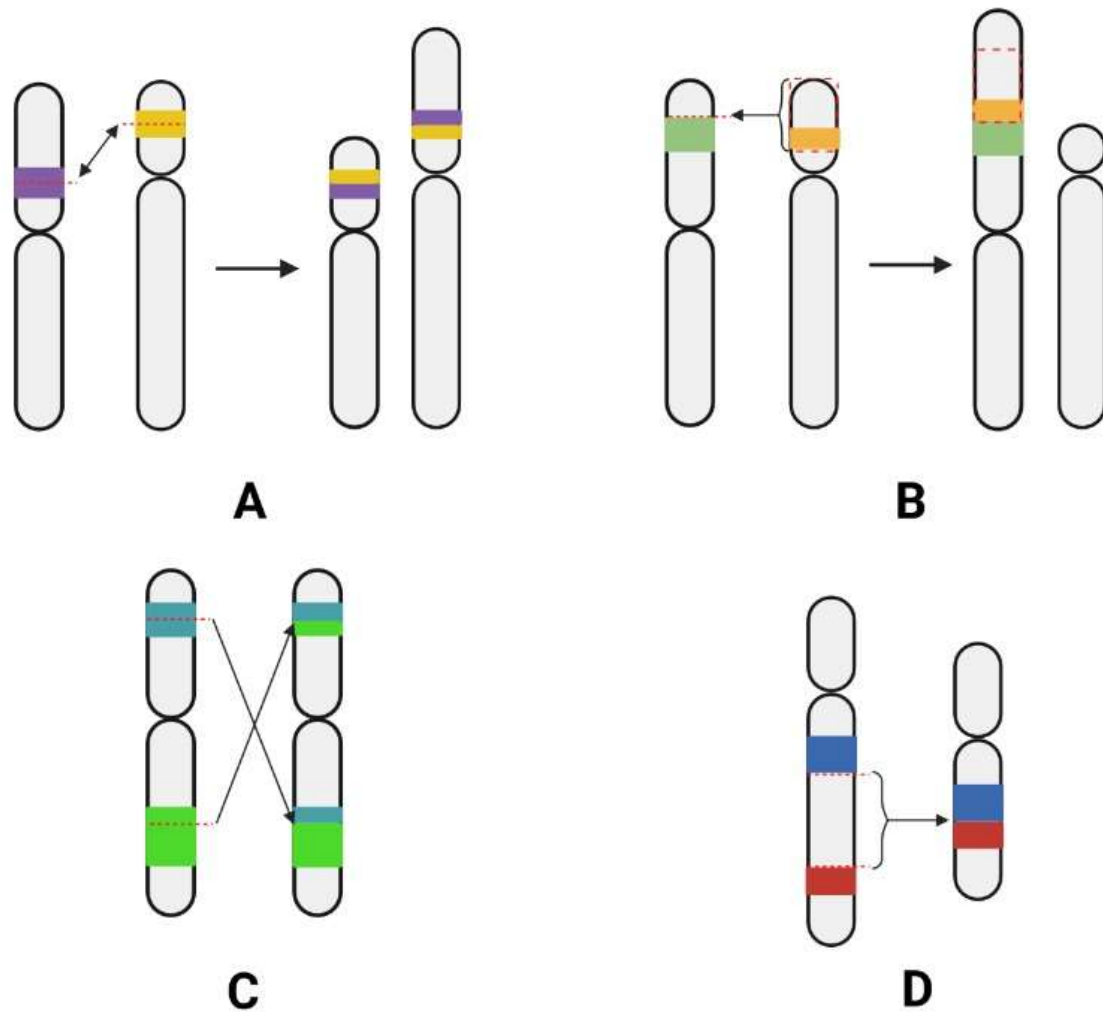


Figure 2 : Schéma des principaux réarrangements chromosomiques pouvant être responsables de la constitution de gènes de fusion ; A : Translocation ; B : Insertion ; C : Inversion ; D : délétion. Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.

Ces réarrangements sont dits équilibrés s'ils préservent la quantité de matériel génétique de la cellule mais entraînent une réorganisation des informations (translocation, insertion, inversion). Ils sont dits déséquilibrés si la quantité d'information génétique de la cellule est modifiée (délétion, duplication). [26]

Les gènes de fusion sont tenus responsables d'environ 20% de la morbidité liée aux cancers chez l'Homme. [27] Ils participent à la carcinogénèse via différents mécanismes :

- La **synthèse d'un ARNm de fusion (transcrit de fusion)** puis d'une protéine de fusion ayant une activité pro-oncogène anormale ;
- La **dérégulation de la transcription** d'une protéine ayant une morphologie et une activité normale, par la mise en continuité de sa séquence codante avec un nouveau promoteur. Ceci aboutit, le plus souvent, à un excès de transcription et de synthèse d'une protéine pro-oncogène normale ;

- La troncation d'un gène suppresseur de tumeur, entraînant une perte de fonction d'une protéine antitumorale. [26]

Dans la majeure partie des cas, les protéines mises en cause dans ces fusions sont des tyrosines kinases ou des facteurs de transcription. [27]

Le premier gène de fusion a été identifié dans les années 1980. Il s'agit du gène de fusion BCR-ABL, impliqué dans la pathogénèse de la leucémie myéloïde chronique.

Il est la conséquence d'une translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22 ( $t(9;22)(q34;q11)$ ), mettant en continuité la région BCR du bras long du chromosome 22 et le gène Abelson (ABL) du bras long du chromosome 9, au sein du chromosome de Philadelphie (22q-) (Figure 3). Il entraîne la synthèse d'une protéine de fusion avec une fonction tyrosine kinase constitutivement active et non régulée, conduisant à l'apparition de la maladie hématologique. [28]

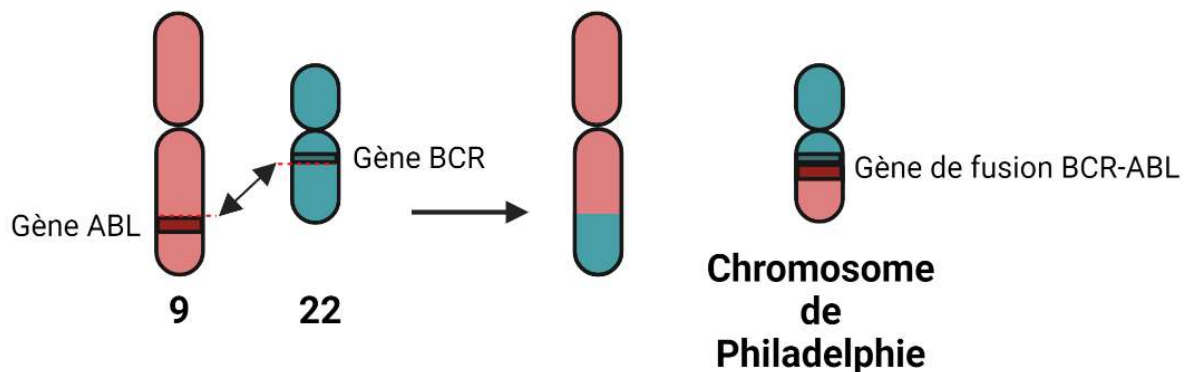


Figure 3 : Translocation ( $t(9;22)(q34;q11)$ ) : genèse du chromosome de Philadelphie et du gène de fusion BCR-ABL. Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.

La découverte de ce mécanisme physiopathologique a permis le développement d'inhibiteurs spécifiques dont le premier, synthétisé en 1996 et approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) en 2001, a été l'Imatinib, révolutionnant le pronostic de cette maladie. [29]

Ainsi, les gènes de fusion se sont progressivement imposés comme des outils clés de la prise en charge des cancers à plusieurs niveaux :

- L'aide au diagnostic en cas de fusion spécifique d'un certain type tumoral,
- L'aide au suivi de l'efficacité thérapeutique par la clairance et disparition du transcrite de fusion, reflétant la présence des cellules tumorales,
- Et l'aide au traitement, les anomalies moléculaires en cause pouvant constituer des cibles thérapeutiques spécifiques.

## 2.2 Méthodes de detection

Les premières fusions ont été mises en évidence par l'**analyse cytogénétique des bandes chromosomiques**, qui sont spécifiques à chaque chromosome. Cependant, la sensibilité et la résolution de cette méthode est faible, et elle nécessite l'accès à des cellules vivantes et une étape préalable de culture cellulaire. [26]

Dans un second temps, la mise au point des méthodes de **FISH** a permis de préciser l'analyse des fusions géniques. Parmi les inconvénients de cette méthode, on peut citer la nécessité de connaître à priori le gène recherché afin d'utiliser la sonde appropriée. Elle ne permet pas la découverte de nouvelles fusions avec deux partenaires géniques inconnus. De plus, elle ne permet la recherche que d'une fusion à la fois. [26]

Par la suite, le développement des méthodes de biologie moléculaire a considérablement accéléré l'étude et la découverte de nouvelles fusions géniques.

Parmi celles que l'on peut citer, les **méthodes de RT-PCR** (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) sont rapides à mettre en œuvre, sensibles et nécessitent peu de tissu. Cependant, elles ne permettent la recherche que d'un nombre limité de réarrangements dont les partenaires sont connus. [30]

Le développement des **méthodes de séquençage génomique** a révolutionné l'étude du génome tumoral et des fusions géniques. Les **méthodes de séquençage haut débit ou NGS (Next Generation Sequencing)**, par une analyse non orientée du génome tumoral, ont permis l'identification de plus 10 000 fusions géniques. Elles ont révélé l'existence de fusions impliquant des partenaires géniques insoupçonnés ou des modifications intrachromosomiques minimales.

La base de données Mitelman, accessible sur internet, apporte un recueil exhaustif réalisé manuellement et mis à jour 4 fois par an, de toutes les anomalies génétiques, particulièrement les fusions géniques, retrouvées dans les cancers. Elle recense actuellement 33 671 fusions, tout cancer confondu. [31]

Le matériel cellulaire utilisé pour ces techniques peut être :

- De l'ADN cellulaire : whole genome sequencing ou séquençage de l'exome,
- De l'ARN : analyse du transcriptome.

Ces méthodes non orientées sont cependant longues et coûteuses à mettre en œuvre. [32]

Les méthodes actuellement utilisées en pratique courante assurent un **séquençage orienté de l'ARN**, s'appuyant sur des panels prédéfinis de gènes connus pour être impliqués dans la physiopathologie des tumeurs solides ou des hémopathies malignes. Une amélioration de la sensibilité de la recherche de fusions géniques a été démontrée avec l'utilisation de ces panels. Une étude de 2019 menée par Heyer et al. a retrouvé une amélioration du taux diagnostique des fusions géniques de 63 à 76% au sein d'une cohorte de 72 tissus tumoraux de patients (40 tumeurs solides et 32

hémopathies malignes), en utilisant une méthode de séquençage ARN ciblée avec deux panels distincts de gènes : l'un plutôt orienté pour les pathologies hématologiques comprenant 188 gènes, et l'autre plutôt orienté pour les tumeurs solides avec 241 gènes. [33]

Au CHU de Lille, pour les tumeurs solides, nous utilisons une méthode de séquençage ARN ciblé via le panel Archer® FusionPlex®, étudiant la présence de fusions ou de mutations associées à 74 gènes impliqués dans la physiopathologie de différentes tumeurs solides.

## 2.3 Les transcrits de fusion dans les gliomes de haut grade

Les tumeurs primitives du système nerveux central et notamment les gliomes de haut grade ont pu bénéficier des avancées techniques des méthodes d'analyse du génome, en cytologie et en biologie moléculaire. Ces tumeurs gardant un pronostic sombre et variable d'un individu à l'autre, l'analyse de leur génome est motivée par une volonté de compréhension de leurs mécanismes moléculaires et la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques.

La première fusion génique identifiée dans le glioblastome a été mise en évidence en 2003. Il s'agissait d'une **fusion FIG-ROS**, née d'une délétion intrachromosomique. Elle entraîne l'expression d'un transcrite de fusion, puis la synthèse d'une protéine de fusion présentant une activité kinase constitutivement active, pouvant favoriser la transformation gliale. [34]

Par la suite, l'arrivée des méthodes de séquençage génomique et d'analyse du transcriptome a accéléré les découvertes. Une étude de 2013 a ainsi retrouvé un gène de fusion au sein de 30 à 50% des glioblastomes de 2 cohortes de patients. La plupart de ces fusions étaient uniques et retrouvées au sein d'une seule tumeur gliale. Leur implication dans la gliomagenèse et leur pertinence thérapeutique est alors difficile à évaluer. Certaines fusions, en revanche, ont été retrouvées de manière récurrente et semblent présenter une importance physiopathologique et thérapeutique. [35]

Parmi elles, **les fusions impliquant FGFR et notamment les fusions FGFR-TACC** ont rapidement été identifiées comme récurrentes et possiblement déterminantes dans la gliomagenèse (détails partie [3.2 Découverte des transcrits impliquant FGFR dans les glioblastomes et premières études](#)). [35–37]

Certaines **fusions impliquant EGFR** ont également été retrouvées de manière récurrente. [35,37,38] Une étude réalisant une analyse du transcriptome de 185 échantillons de glioblastome a retrouvé une fusion impliquant EGFR au sein de 7.6% de ces échantillons. Dans 9 cas sur 14, il s'agissait d'une fusion EGFR-SEPT14. Par une activation de voies de signalisation spécifiques, cette fusion favoriserait la prolifération et la migration tumorale. [38]

**Les fusions NTRK** ont été mises en évidence dans plusieurs types de cancer solides, et particulièrement dans les gliomes. Une étude de 2014 analysant le transcriptome de 162 échantillons de gliomes a retrouvé 2 fusions impliquant NTRK. Par la suite, une étude de 2019 recherchant ces fusions au sein de différents types de tumeurs solides issus de 11 500 patients a retrouvé 31 cas de fusions impliquant NTRK. Parmi eux, 14 étaient des gliomes. [39] L'activité de ces fusions sur la prolifération cellulaire a été démontrée *in vivo et in vitro*. [40] Elles sont intéressantes à mettre en évidence car elles présentent un intérêt thérapeutique. [41]

**Les fusions PTPRZ1-MET** sont également retrouvées de manière récurrente. Elles semblent concerner principalement les gliomes IDH mutés. Leur présence traduirait un pronostic plus sévère de la pathologie sous-jacente et une diminution de la survie. [36,37]

Ces exemples ne constituent qu'un fragment de l'ensemble des découvertes faites par l'analyse du génome des gliomes de haut grade. La base de données Mitelman recense, suite à la dernière mise à jour de juillet 2023, 1 186 cas de fusion génique au sein des gliomes de haut grade. [31] La détermination précise de leur impact dans la gliomagénèse reste à l'étude, de même que l'évaluation de leur importance thérapeutique. L'étude moléculaire des gliomes est toujours un enjeu d'actualité, à la recherche de biomarqueurs diagnostiques, pronostiques et à la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques.

## 3 Transcrits de fusion impliquant FGFR

### 3.1 Physiologie et physiopathologie de FGFR

Les **récepteurs au facteur de croissance fibroblastique (FGFR)** constituent une famille de récepteurs à activité tyrosine kinase. Il en existe 4 différents codés par 4 gènes distincts : FGFR1, FGFR2, FGFR3 et FGFR4. Ils sont composés d'un domaine extracellulaire, d'une hélice transmembranaire et d'un domaine intracellulaire ([Figure 4](#)).

Le **domaine extracellulaire** est constitué de 3 sous-unités présentant une structure semblable à celle d'immunoglobulines, dites « Ig-like ». Ces sous-unités permettent la fixation de ligands spécifiques. Elles exercent également un rôle d'auto-inhibition permettant une régulation physiologique des récepteurs.

Le **domaine intracellulaire** porte l'activité tyrosine kinase. La fixation d'un ligand sur le domaine extracellulaire entraîne une dimérisation du récepteur, une transphosphorylation des domaines kinases intra-cellulaires, permettant l'activation de différentes voies de signalisation (voie des MAPK, voie de PI3K). Des sous-unités assurant une activité régulatrice sont également présentes en intra-cellulaire. [42,43]

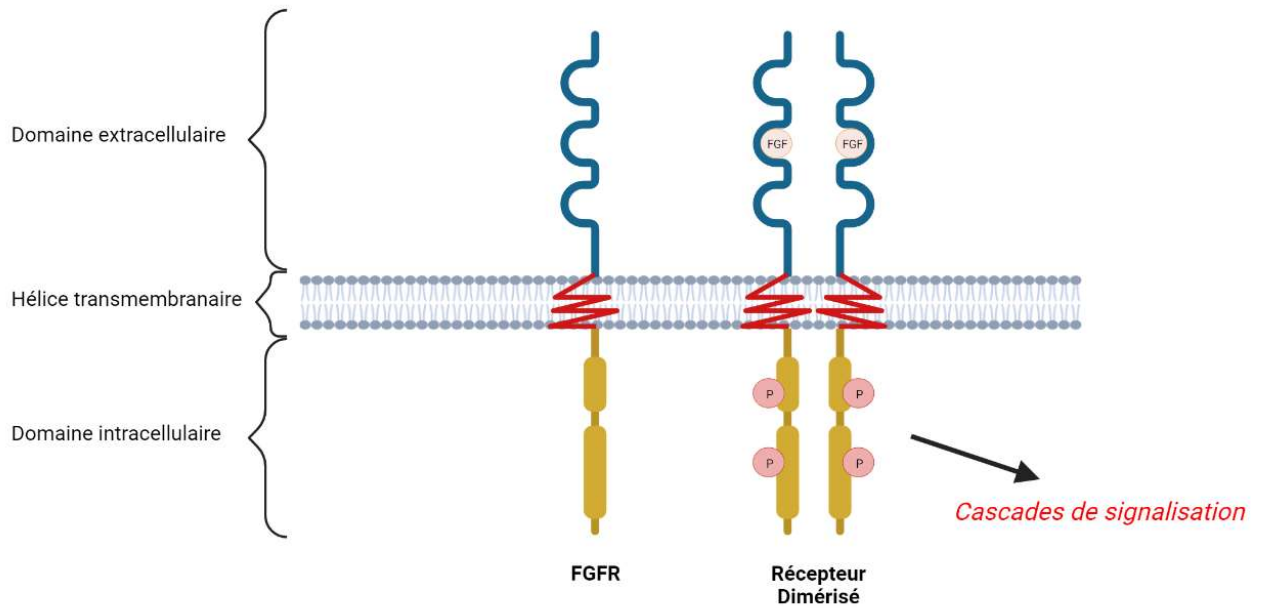


Figure 4 : Schéma simplifié du Fibroblast growth factor receptor (FGFR). Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.

Ces récepteurs sont essentiels à certains processus physiologiques : migration, survie, prolifération, différenciation cellulaire. Leur dérégulation peut être impliquée dans différents processus pathologiques. L'hyperactivation de ces récepteurs et de leurs voies d'aval peut être à l'origine de phénomènes de carcinogénèse. [44]

### 3.2 Découverte des transcrits impliquant FGFR dans les glioblastomes et premières études

En 2012, Singh et al. ont décrit les premiers et principaux gènes de fusion impliquant FGFR dans le glioblastome : **les gènes de fusion FGFR-TACC**. Ils mettent en continuité l'un des gènes codant pour un récepteur de croissance fibroblastique et le gène transforming acidic coiled coil (TACC).

**Le gène TACC** code une protéine constituée d'un domaine super hélice qui détermine sa localisation au niveau du fuseau mitotique et du centrosome. Physiologiquement, cette protéine assure la stabilisation du fuseau mitotique pendant la mitose.

La plus fréquente et la mieux décrite de ces fusions est **FGFR3-TACC3**, dont la fréquence est estimée entre 3 et 4% au sein des gliomes. [45,46] Elle a été décrite pour la première fois par Singh et al qui l'identifient à 2 reprises lors d'une analyse du transcriptome de 9 lignées de cellules de glioblastome de patients, et secondairement à 4 reprises au sein des données du Cancer Genome Atlas (TCGA). [45] Elle a, par la suite, été retrouvée et décrite dans de nombreuses études [46–50]

Elle naît d'un phénomène de duplication en tandem au sein du chromosome 4 ([Figure 5](#)). Différents variants existent selon les points de cassure impliqués. Tous comprennent le domaine tyrosine kinase de FGFR3 et le domaine superhélice de TACC3. [48]

Les fusions FGFR3-TACC3 déterminent la synthèse d'une protéine de fusion constituée du domaine FGFR3 à son extrémité N-terminale et TACC à son extrémité C-terminale.

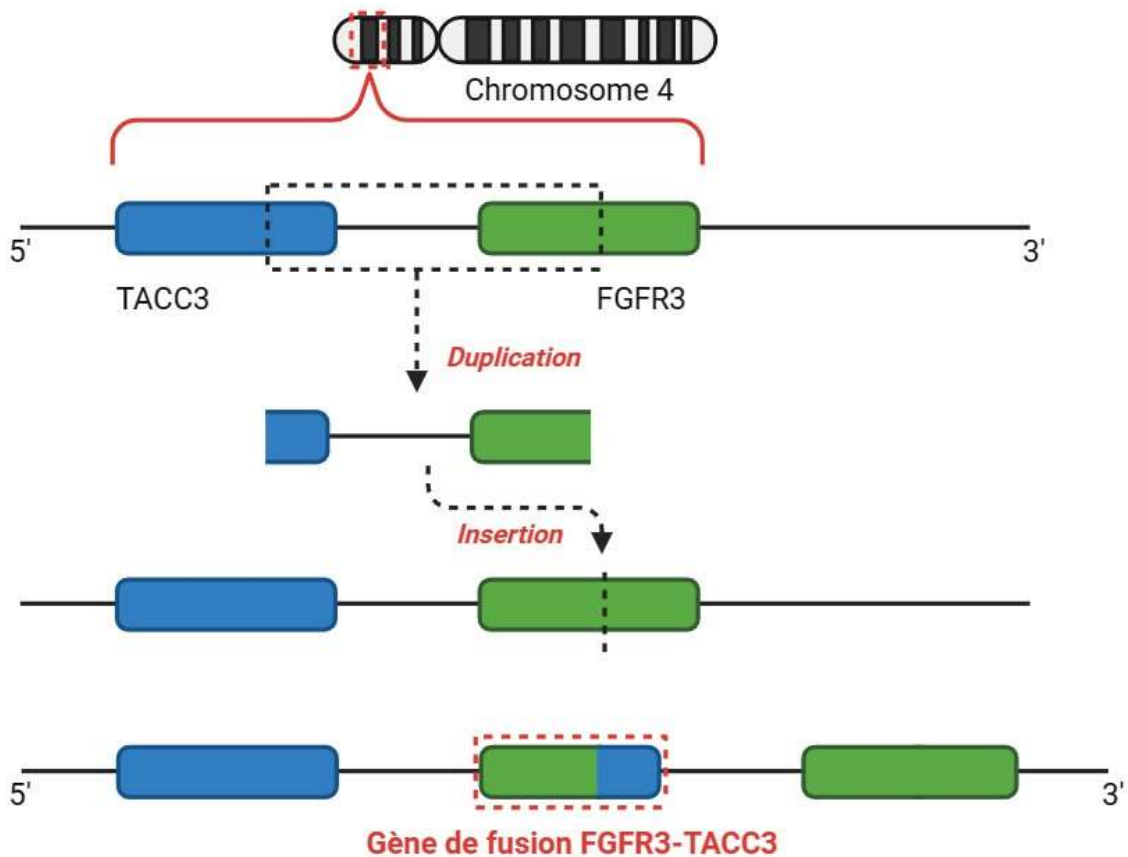


Figure 5 : Schéma simplifié de la duplication en tandem à l'origine des gènes de fusion FGFR3-TACC3. Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.

Son importance dans la gliomagenèse a rapidement été démontrée *in vitro* et *in vivo*. *In vitro*, la transfection de cette fusion au sein de fibroblastes de rats a permis l'acquisition de caractéristiques de cellules tumorales, avec notamment l'apparition d'une indépendance d'ancrage. *In vivo*, sa transfection au sein de cellules astrocytaires secondairement greffées à des souris immunodéficientes entraînait la formation de tumeurs chez ces souris. [45]

Une étude de 2012 a démontré que la naissance de cette fusion engendrait une perte de la région 3' non traduite du gène FGFR. Or, y est présent un site de fixation de



microARN (miRNA) spécifiques, régulant la synthèse du récepteur. Cette régulation est donc perdue pour la protéine de fusion et son expression est plus importante dans les cellules tumorales. [47]

Les voies par lesquelles cette protéine de fusion favorise la transformation tumorale ne sont pas toutes élucidées. Le domaine TACC de la protéine de fusion favorise sa dimérisation, sa phosphorylation et son activation. **Les protéines de fusion FGFR-TACC sont donc constitutivement actives.** Plusieurs études semblent cependant démontrer que, bien que sa mise en jeu active des voies de prolifération cellulaire, il ne s'agit pas des voies habituellement mises en jeu par les récepteurs FGFR membranaires. [45,51] Une étude de 2018 présentait des résultats en faveur de l'activation du métabolisme mitochondrial au sein des cellules tumorales grâce à cette protéine de fusion. [52] Par ailleurs, la présence du domaine superhélice de TACC permettrait la localisation de cette protéine à proximité du fuseau mitotique, où elle favoriserait l'aneuploïdie. [45]

Plusieurs études se sont attachées à décrire les **caractéristiques cliniques des patients** présentant un gliome avec une fusion FGFR3-TACC3. Aucune caractéristique clinique ne semble se détacher particulièrement. Certains **motifs anatomopathologiques** semblent en revanche récurrents :

- Des noyaux ovoïdes monomorphes,
- Une disposition palissadique des noyaux,
- Un aspect de pseudorosettes périvasculaires. [49]

De même, **certaines anomalies moléculaires** semblent associées à la présence d'un transcrite FGFR3-TACC3 :

- La présence plus fréquente d'amplification MDM2 ou CDK4,
- Une fréquence moindre d'amplification EGFR,
- Et une fusion mutuellement exclusive avec le variant EGFRvIII. [46,48,50]

Certaines études se sont attachées à déterminer si la présence d'une fusion FGFR3-TACC3 constituait un **facteur pronostic indépendant**. Les résultats sont discordants à ce sujet. Une première étude de 2020 menée par Di Stephano et al. a associé la présence d'une fusion FGFR3-TACC3 à un allongement de la survie globale, indépendamment de l'âge, de l'état général, de l'étendue de la résection, du statut MGMT et du traitement réalisé (HR=0.47, 95%CI 0.27-0.80) [50]. Cependant, une seconde étude de 2020 menée par Mata et al n'a pas retrouvé de différence statistiquement significative sur la survie globale. [46]

**D'autres fusions moins fréquentes** impliquant FGFR3 ou d'autres isoformes de FGFR ont également été découvertes, mais sont moins décrites.

**FGFR1-TACC1** a également été décrite pour la première fois par Singh et al [45], puis citée à plusieurs reprises dans la littérature. [53,54] Son rôle au cours de la mitose serait similaire à celui de FGFR3-TACC3.

Une **fusion FGFR2-TACC2** a également été retrouvée, associée à un pronostic particulièrement péjoratif [55]



FGFR3 a également été décrit en association à d'autres partenaires : CAMK2A, qui semble également favoriser sa dimérisation et son activation [56], TLN1 [55], etc... [54].

Il n'existe pas à ce jour de critère validé pour indiquer une recherche de transcrits de fusion. Pour les fusions impliquant FGFR3, une analyse immunohistochimique à la recherche de FGFR3 peut être réalisée sur les prélèvements tumoraux. [48,56] Sa positivité est un argument devant inciter à rechercher un transcrit de fusion impliquant FGFR3. La sensibilité de cette immunohistochimie a été évaluée à 100% et sa spécificité à 92% [49]. Il n'existe cependant pas de test de dépistage pour les transcrits de fusion impliquant une autre isoforme de FGFR.

### 3.3 Thérapies ciblées

**Les premiers tests mettant en jeu des inhibiteurs spécifiques de FGFR** ont été menés presque immédiatement après la découverte de FGFR3-TACC3 par la même équipe, celle de Singh et al. L'efficacité de 3 inhibiteurs différents de FGFR a d'abord été évaluée *in vitro* sur des lignées cellulaires fibroblastiques transfectées avec des fusions FGFR3-TACC3 ou FGFR1-TACC1. Les 3 molécules ont démontré une capacité d'inhibition de la croissance de ces cellules tumorales. Deux de ces inhibiteurs ont ensuite été évalués *in vivo*, au sein de souris xénotreffées de cellules astrocytaires exprimant la fusion FGFR3-TACC3. L'administration d'un inhibiteur de FGFR permettait de réduire efficacement la croissance tumorale et de prolonger leur survie. [45]

La première tentative d'administration d'un inhibiteur de FGFR à l'Homme a été menée en 2015 par Di Stephano et al [48], chez de deux patients atteints de glioblastome présentant une progression en cours de TEMOZOLOMIDE adjuvant. L'usage de ce traitement a permis d'obtenir, dans un cas, une stabilisation de la maladie pendant 4 mois, et dans l'autre une réduction de 22% de la taille tumorale pendant 4 mois. [48]

**Plusieurs inhibiteurs de FGFR** ont ensuite été évalués dans des essais cliniques dédiés aux tumeurs primitives cérébrales ou autorisant l'inclusion de différents types de tumeurs solides présentant différentes altérations moléculaires de FGFR.

**Un premier essai de Phase 2 multicentrique a débuté en 2013, évaluant le BGJ398 ou INFIGRATINIB**, un inhibiteur de tyrosine kinase ciblant les récepteurs FGFR1, 2 ou 3. Cet essai a été mené chez des patients présentant un glioblastome ou un gliome opéré, récidivant ou non résécable, porteurs d'une mutation activatrice de FGFR ou d'une fusion FGFR3-TACC3 ou FGFR1-TACC1. 26 patients ont été inclus. Deux patients ont présenté une réponse partielle (7.7%) et 7 une stabilisation de la maladie (26.9%), pendant plus d'un an pour 4 d'entre eux, dont un présentait une fusion FGFR3-TACC3. L'étude n'a pas retrouvé de signaux de sécurité inquiétant. [57] Les essais n'ont cependant pas été poursuivis et la molécule n'est actuellement plus produite.

**L'essai TARGET**, de phase I/II, ouvert en 2015 et conduit en France, s'est intéressé à l'efficacité de **l'AZD4547**, un inhibiteur de tyrosine kinase ciblant également les récepteurs FGFR1, 2 ou 3, au sein de gliomes présentant une fusion FGFR-TACC. L'essai est fermé aux inclusions depuis 2019, sans résultat publié pour le moment. [58]

**L'ERDAFITINIB**, un inhibiteur de tyrosine kinase pan FGFR, a été évalué par **l'essai RAGNAR**, essai de phase 2 ouvert en 2019 aux patients atteints de tumeurs solides avancées présentant une altération de FGFR. L'inclusion de patients présentant une tumeur primitive cérébrale était autorisée. L'essai est actuellement fermé aux inclusions, sans résultat publié pour le moment. Nous ne disposons pas du nombre de tumeurs gliales éventuellement incluses dans cet essai [59] Cependant, il existe un programme d'accès étendu à cette molécule aux Etats Unis depuis 2019 pour tous les patients ayant un cancer avancé avec altération de FGFR au sens large. [60] Un essai de phase 2 doit également s'ouvrir prochainement, évaluant spécifiquement l'efficacité de l'ERDAFITINIB sur les gliomes IDH sauvages présentant une fusion FGFR-TACC. [61] En France, le Laboratoire Janssens a décidé de restreindre son accès compassionnel aux carcinomes urothéliaux.

**L'essai FUZE**, un essai de phase II ouvert en 2019, s'est intéressé à l'activité de **Debio1347**, un inhibiteur pan FGFR sur les tumeurs solides présentant une fusion FGFR1, 2 ou 3. L'essai a dû être arrêté précocement en 2022 devant une efficacité antitumorale insatisfaisante. Aucun résultat n'a été publié pour le moment et nous ne disposons pas des données sur le nombre de tumeurs gliales éventuellement incluses dans cet essai. [62]

Actuellement, une étude de phase 2, **l'étude FIGHT-209**, a été ouverte en 2022, évaluant l'activité du **PEMIGATINIB**, un inhibiteur de tyrosine kinase ciblant FGFR1, 2 ou 3, chez les patients présentant un glioblastome ou toute autre tumeur primitive du système nerveux central portant une altération activant FGFR1, 2 ou 3. Cette étude est accessible dans certains centres en France, notamment à Lille. Des résultats sont attendus pour 2026. [63]

## 4 Objectif

L'analyse moléculaire des gliomes de haut grade demeure un enjeu clé pour la compréhension des mécanismes de gliomagenèse et la découverte de biomarqueurs diagnostiques et thérapeutiques.

Les transcrits de fusion, identifiés de manière récurrente dans les gliomes de haut grade, constituent une piste d'intérêt. Parmi eux, les transcrits de fusion impliquant FGFR sont les plus fréquents. Leur association à un meilleur pronostic a été suggérée mais les résultats sont discordants. Par ailleurs, il n'a pas été retrouvé de profil clinique spécifique des patients présentant ce type de gliome.

**L'objectif principal de cette thèse est donc de comparer la survie de patients présentant un gliome de haut grade avec transcrit de fusion impliquant FGFR, à celle de patients présentant un gliome de haut grade sans transcrit de fusion impliquant FGFR. Nous émettons l'hypothèse d'une meilleure survie des patients présentant un transcrit de fusion impliquant FGFR.**

**Les objectifs secondaires de cette thèse sont d'assurer une description clinique, radiologique, immunohistochimique et de biologie moléculaire des patients présentant un gliome de haut grade avec un transcrit de fusion impliquant FGFR, afin d'affiner les connaissances à disposition sur cette population.**

# Article en Anglais

## 1 Abstract

**Introduction:** Gliomas are the most common primary brain tumor. Molecular biology is essential to their integrated diagnosis. Various molecular biology anomalies were recently discovered in high grade glioma. Among them, FGFR gene fusions rise a particular interest. We performed this retrospective study to evaluate prognosis of gliomas exhibiting a FGFR fusion and to provide a comprehensive description of their clinical, radiological, histopathological et molecular biology characteristics.

**Methods:** We conducted a retrospective multicentric study involving the CHU de Lille, CHU de Caen and Henri Becquerel cancer center of Rouen. We retrospectively identified every patient who had undergone a fusion transcript research. Our cases cohort (FGFR group) included every patient with a fusion transcript involving FGFR. Our control cohort included patients with negative results for FGFR fusion transcript research. We compared their progression free survival, overall survival, clinical and radiological presentation at diagnosis, histopathological characteristics, and molecular biology features.

**Results:** We included 52 patients: 36 in the control group and 16 in the FGFR group, with 14 FGFR3-TACC3 fusions and two atypical fusion transcripts: 1 FGFR3 CGNL1 and 1 FGFR2-TACC2. Every patient in the FGFR group had a glioblastoma. Mean age at diagnosis was significantly higher in the FGFR group (54.38 years VS 43.72 years,  $p=0.015$ ). There was no significant difference in progression free survival (HR=0.975, 95%CI [0.475-2.004]) or overall survival (HR=0.70, 95%CI [0.268-1.865],  $p=0.48$ ) between the two groups. Clinical presentation at diagnosis were similar between the two groups. Seizure was the most common initial symptom in each group. FGFR3 immunochemistry demonstrated a sensitivity of 92% and a specificity of 94% for FGFR3 transcript fusion detection.

**Discussion:** It seems that all patients with an FGFR fusion transcript are diagnosed with glioblastoma according to the WHO 2021 classification. We did not find a better prognosis for FGFR patients. Through this research, we identified and described 2 patients with glioblastoma and atypical FGFR fusions.

## 2 Introduction

Gliomas are the most common primary brain tumor, accounting for approximately 80% of primary central nervous system (CNS) tumors. According to the 2021 World Health Organization (WHO) classification of CNS tumors, there are three adult-type diffuse gliomas: astrocytoma IDH-mutant, oligodendroglioma IDH-mutant and 1p/19q codeleted, and glioblastoma (GBM). They originate from astrocytic glial cells, that participate to CNS homeostasis. Their prognosis is uneven. Glioblastoma is the most aggressive one and displays the highest grade (grade IV) according to the 2021 WHO classification. [4]

Patients with glioma experience various clinical presentations leading to tumor discovery, ranging from headaches and nausea because of elevated intracranial

pressure, to focal neurological deficits or epilepsy. The radiologic gold standard for gliomas diagnosis is MRI, performed only in the presence of clinical symptoms. There is currently no screening tool for earlier glioma detection. [13]

Current treatment recommendations remain unchanged since a few years. For every glioma, they start with a maximalist resection whenever feasible. After tumor resection, adjuvant treatments are discussed:

- For grade 2 astrocytoma or oligodendroglioma, they are only proposed if there is a partial resection or if the patient is more than 40 years old. They consist in radiotherapy and adjuvant chemotherapy.
- For grade 3 astrocytoma or oligodendroglioma, radiotherapy followed by adjuvant chemotherapy is always proposed.
- For glioblastoma, resection is followed by radiotherapy with concomitant and then adjuvant Temozolomide chemotherapy. [17]

If surgery cannot be performed, because of the tumor location or patient general condition, biopsy must be realized for anatomopathological diagnosis. They are no recommendation for treatment at recurrence. In this case, patients' care must be discussed in a multidisciplinary meeting. [17,19]

Despite these treatments, patients presenting with high grade gliomas and especially GBM display a poor prognosis. Currently, median overall survival of patients presenting with GBM is 15 months [13], and the 5 years survival rate in the good shape population of clinical trials is 10%. [20]

Improvement in molecular biology techniques allowed discovery of numerous genetic alterations in high grade gliomas. Their clinical and prognosis relevance have been widely studied and lead to consequent adaptations in the WHO CNS tumor classification, with the last version published in 2021. In this version, molecular biomarkers have a major role in CNS tumor classification. They take part of the integrated diagnosis, also combining anatomopathological and immunohistochemical informations. In adult-type diffuse gliomas, the first crucial molecular alteration is the IDH 1 or 2 mutation. It distinguishes IDH-wildtype GBM to IDH-mutant astrocytomas and oligodendrogliomas. IDH-mutant astrocytomas are then classified as grade 2, 3 or 4 according to histological parameters. Another molecular alteration identifies a grade 4 IDH-mutant astrocytoma: the homozygous deletion of CDKN2A and/or CDKN2B, which is associated with a shorter survival. However, grade 4 IDH-mutant astrocytomas display a better prognosis than GBM. [64]

Improvements in molecular biology techniques allowed the discovery of gene fusions. Gene fusions are chromosomal rearrangements and can play a key role in carcinogenesis. They are held responsible for 20% of cancer morbidity in human. [65] With the increased development of targeted therapies, they can also represent promising targets for treatment.

Several gene fusion have been identified in gliomas. Among them, fusions that involve Fibroblast Growth Factor Receptor (FGFR) are particularly interesting because they can be targeted by FGFR inhibitors. The most prevalent of these is the FGFR3-TACC3 fusion, found in 3 to 4% of GBM patients [45,46]. This alteration has been often studied since. Studies pointed out that GBM patients with a FGFR3-TACC3 fusion seem to have specific histological characteristics and molecular biology patterns. There was no conclusive data about specific clinical feature of these gliomas. They are also

conflicting data regarding whether these gliomas may have a more favorable prognosis. [45,46,48–50]

The purpose of this retrospective study was to evaluate the prognosis of patients harboring high grade gliomas with FGFR fusion, to confirm they present a longer survival. We also aimed to describe their clinical, radiological, histopathological characteristics and the molecular alterations found in this population.

## **3 Material and methods**

### **3.1 Study design**

We conducted a retrospective, observational, multicenter study, to assess the prognosis of patients diagnosed with a high-grade glioma harboring FGFR fusion and describe their clinical, radiological, histopathological characteristics and their molecular biology profile.

### **3.2 Study population**

We included every patient over 18 years old, presenting with a central nervous system tumor with an anatomopathological diagnosis of glioma from grade 2 to 4 according to the 2016 WHO classification, or grade 3 or 4 according to the 2021 WHO classification. Patients diagnosed before the application of the 2021 WHO classification, were subsequently reevaluated in accordance with this updated classification. Then, we excluded every patient with a diagnosis different from Glioblastoma IDH-wildtype or grade 3 or 4 astrocytoma IDH-mutant or grade 3 or 4 Oligodendroglioma IDH mutant and 1p/19q codeleted. We also excluded patients who could not be classified according to the 2021 WHO classification.

Cases group included patients with a FGFR fusion identified with RNA sequencing between January 1<sup>st</sup>, 2019, and December 31<sup>st</sup>, 2022 (FGFR group).

Control group included patients for whom RNA sequencing was performed during the same period but resulted negative for FGFR fusion (control group). Control patients were recruited exclusively at CHU de Lille.

To ensure enough follow up time, patients had to undergone surgery before June 31<sup>st</sup>, 2022. Patients who underwent surgery after this date were excluded.

We also excluded patients with a spinal glioma.

### **3.3 Data collection**

For each patient, we used informatized medical records of CHU de Lille, CHU de Caen and Henri-Becquerel Cancer Center of Rouen, to retrospectively collect every needed data.

#### **3.3.1 Molecular analysis**

For every patient, RNA sequencing using Archer® Dx Fusion Plex Solid Tumor v2 or Lung v2 research kit was performed for fusion search.

As for other molecular alterations, we focused on:

- IDH1/2 mutation, histone mutation (H3F3A/B, HISTH3B/3C), BRAF mutation, P53 mutation and PTEN mutation, detected by NGS using an adapted PCR multiplex Panel on Ion S5 XL system (Thermo Fisher Scientific) and then analyzed by Torrent Suite V5.10 software (Thermo Fisher Scientific), that was systematically asked for every patient from CHU de Lille and CHU de Caen. This search is lacking for two of those patients because of the lack of DNA material (analyses conducted on tissue extracted through biopsy) for one and uninterpretable results for the other (tissue coming from tumor resection). Some of those results are lacking for patients from the Henri-Becquerel cancer center.
- 1p/19q codeletion, gain of chromosome 7 and loss of chromosome 10, MDM2 amplification, CDK4 amplification, EGFR amplification, CDKN2A homozygous deletion assessed by CGH array using SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, systematically asked for every patient. This search is lacking for three patients because of the lack of DNA material for two (tissue coming from 1 biopsy and 1 tumor resection) and uninterpretable results for one (tissue coming from tumor resection).
- TERT promotor mutation, assessed through a targeted screen: research for the C228T and C250T mutations by digital PCR, if available or if needed for patients re classification according to the OMS 2021.
- MGMT hypermethylation assessed by pyrosequencing, if available
- Presence of an EGFRvIII transcript assessed by NGS using Archer Dx Fusion Plex Solid Tumor v2 or Lung v2 kit

Samples used for the analyses came from formalin-fixed-paraffin embedded (FFPE) blocks and total nucleic acid (DNA, RNA) was extracted using QIAamp DNA FFPE tissue kit (Qiagen). In the control group, FFPE blocks concerned the first surgical excision in 31 cases and recurrence excision in 5 cases. Tissue came from tumor resection in 28 cases and tumor biopsy in 9 cases. In the EGFR group, FFPE blocks concerned the first surgical excision in 11 cases and recurrence excision in 1 case. This data is lacking for 4 patients. Tissue came from tumor resection in 13 cases and tumor biopsy in 3 cases.

### 3.3.2 Survival data

We evaluated prognosis through:

- progression free survival, defined as the period in months between diagnosis and progression according to RANO criteria, assessed by our experienced neuroradiologist and confirmed by a multidisciplinary meeting,
- and overall survival defined as the period in months between diagnosis and death of any cause.

We also recorded follow-up duration for each patient in months, defined as the time between diagnosis and death of any cause or loss of follow-up or censored date. For patients still alive or recurrence free at the end of the study, survival data were censored at the date of the last follow up examination before December 31st, 2022.

For every parameter, date of diagnosis was defined as the date of the surgical procedure allowing anatomopathological diagnosis.



### 3.3.3 Demographic and clinical data

Demographic and clinical data retrieved included: age at diagnosis, gender, personal history of cancer, familial history of cancer, history of brain radiation therapy, performance status at diagnosis, time between symptoms beginning and diagnosis (weeks), symptoms at diagnosis (intracranial hypertension syndrome, epileptic manifestations, aphasia, motor loss, sensory loss, ataxia, impaired visual field, spatial and sensory neglect, impaired cognitive functions).

For every parameter, date of diagnosis was defined as the date of the surgical procedure allowing anatomopathological diagnosis.

### 3.3.4 Radiological data

We considered: tumor location, tumor volume (mm<sup>3</sup>), contrast enhancement, diffusion restriction and intra tumoral hemorrhage, assessed on the preoperative imaging. There were only two patients with unavailable preoperative MRI, one from each group. Tumor volume assessment could not be performed for patients treated at the Henri-Becquerel cancer center.

To assess tumor volume, we used ITK-SNAP and its manual delineation tool, a free, open source, multi-platform software application designed to segment structures in 3D medical images. [66] We performed volume evaluation through tumor delineation on T1 Gadolinium sequences. If tumors did not display contrast enhancement, we used Flair sequences for tumor delineation.

### 3.3.5 Treatment data

For each patient, we registered treatment lines from the first to the fourth included.

### 3.3.6 Immunohistochemistry

For each patient, we retrieved the results of IDH<sup>R132H</sup>, ATRX and FGFR3 immunohistochemistry when available. Immunohistochemical expression of FGFR3 (anti-FGFR3 clone B-9; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) was systematically examined for every patient from CHU de Lille and CHU de Caen, using FFPE tissue samples. Immunohistochemistry was performed after a citrate pretreatment and on a Roche Tissue Diagnostics instrument, the ULTRA system.

## 3.4 Statistical analysis

Categorical variables are expressed as numbers (percentages). Continuous variables are expressed as mean (standard deviation, SD) in the case of normal distribution, or median [interquartile range, IQR] otherwise. Normality of distribution was assessed using histograms and the Shapiro-Wilk test.

Comparisons between FGFR patients and control patients according to clinical, radiological, immunohistochemical and molecular biology data are carried out using Chi-square tests (or Fisher's exact tests when expected cell frequency was < 5) for categorical variables and Mann-Whitney U or Student t tests (with respect to the normality of the distributions) for continuous variables.

Survival and progression-free survival are represented using the Kaplan Meier curve and are assessed between the two groups (FGFR patients and control patients) in univariate Cox's proportional-hazard regression analysis. Hazards ratio (HRs) are



derived from Cox's regression models as effect size measures, with their 95% confidence intervals (CIs).

Then, progression-free survival is compared between the two study groups by considering an adjustment on two factors defined (age at diagnosis and duration of resection) by the Cox proportional hazards model.

Statistical testing was done at the two-tailed  $\alpha$  level of 0.05. Data were analyzed using SAS software package, release 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

### **3.5 Regulatory framework**

Patient non-objection was search thanks to an informative letter send before data collection ([appendix 1](#)). If no negative response to this letter was received within two months, we regarded it as consent for the study.

This study was declared to the French Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés CNIL and approved by the ethical board of CHU de Lille ([appendix 2](#)).

## **4 Results**

### **4.1 Description of patients populations**

We enrolled 52 patients who underwent RNA sequencing to investigate fusion transcripts ([figure 6](#)).

We found 16 patients diagnosed with a high-grade glioma positive for a FGFR fusion. 11 were treated at CHU de Lille, 1 at CHU de Caen and 4 at Henri Becquerel cancer center of Rouen. There were 14 patients with a FGF3-TACC3 (F3-T3) fusion, and 2 others with atypical FGFR fusions: 1 with a FGFR3-CGNL1 fusion and 1 with a FGFR2-TACC2 fusion. Every CNS tumor presenting with a FGFR fusion were glioblastomas according to the 2021 WHO classification.

Our control group included 36 patients screened with the Archer® research kit with negative results. 30 patients presented a glioblastoma, three presented a grade 3 astrocytoma and three a grade 4 astrocytoma.

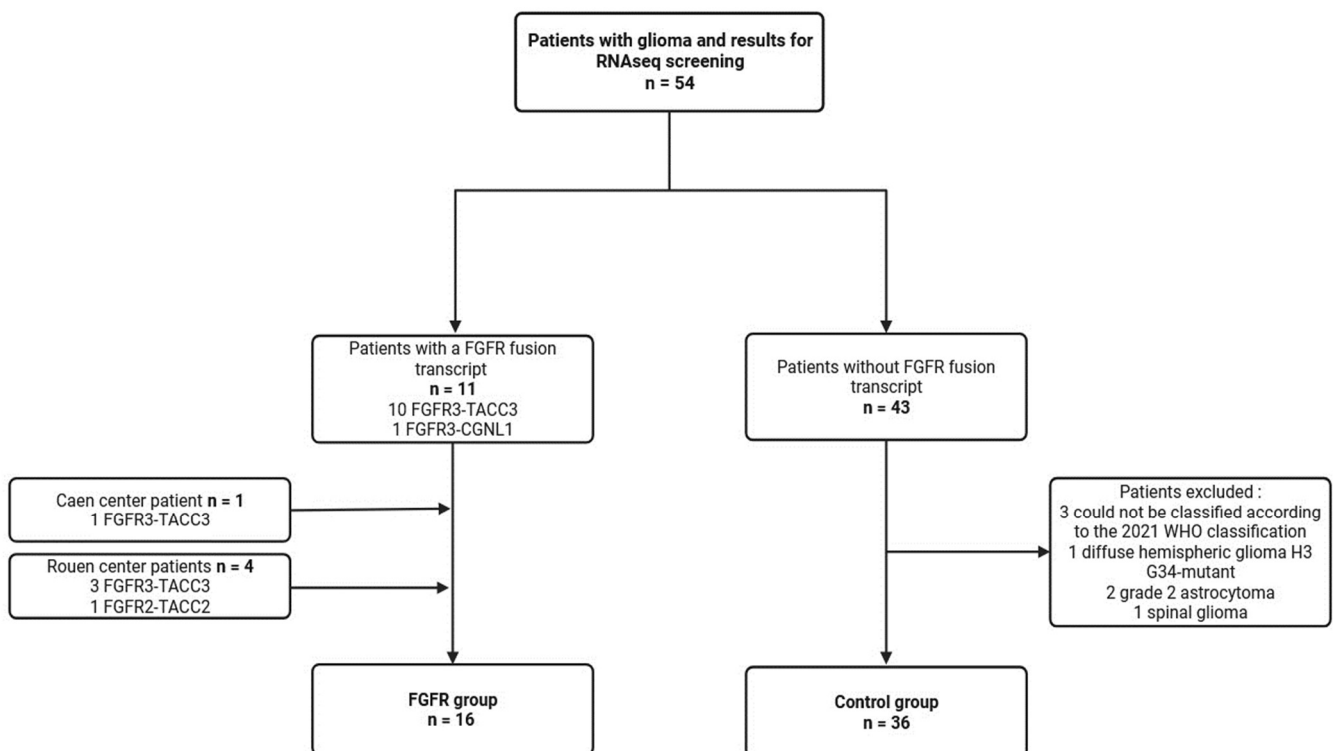


Figure 6: Flow Chart. Designed with Biorender software.

Among the FGFR group, 2 patients presented a personal history of cancer: 1 papillary thyroid carcinoma, and the data of the other is missing. Concerning control patients, 4 had a personal history of cancer: 2 prostate carcinoma, 1 neuroendocrine tumor of the biliary tract, and the last one a myoepithelial carcinoma of a minor salivary gland and a leiomyosarcoma (patient affected by a Li-Fraumeni syndrome).

Except for 1 patient affected by a Li-Fraumeni syndrome in the control group, there was no other patient with a family history that could raise the question of a genetic predisposition for cancer.

There was no history of brain radiotherapy in any patient.

In the control group, patients were aged from 19 years old to 79 years old. In the FGFR group, patients were aged from 18 years old to 78 years old. Mean age at diagnosis was significantly higher in the FGFR group ([Table1](#)). In most cases, performans status at diagnosis remained good and allowed first line treatments recommended at the time of anatomopathological diagnosis.

Clinical characteristics and surgical outcomes of both populations are summarized in [Table1](#).

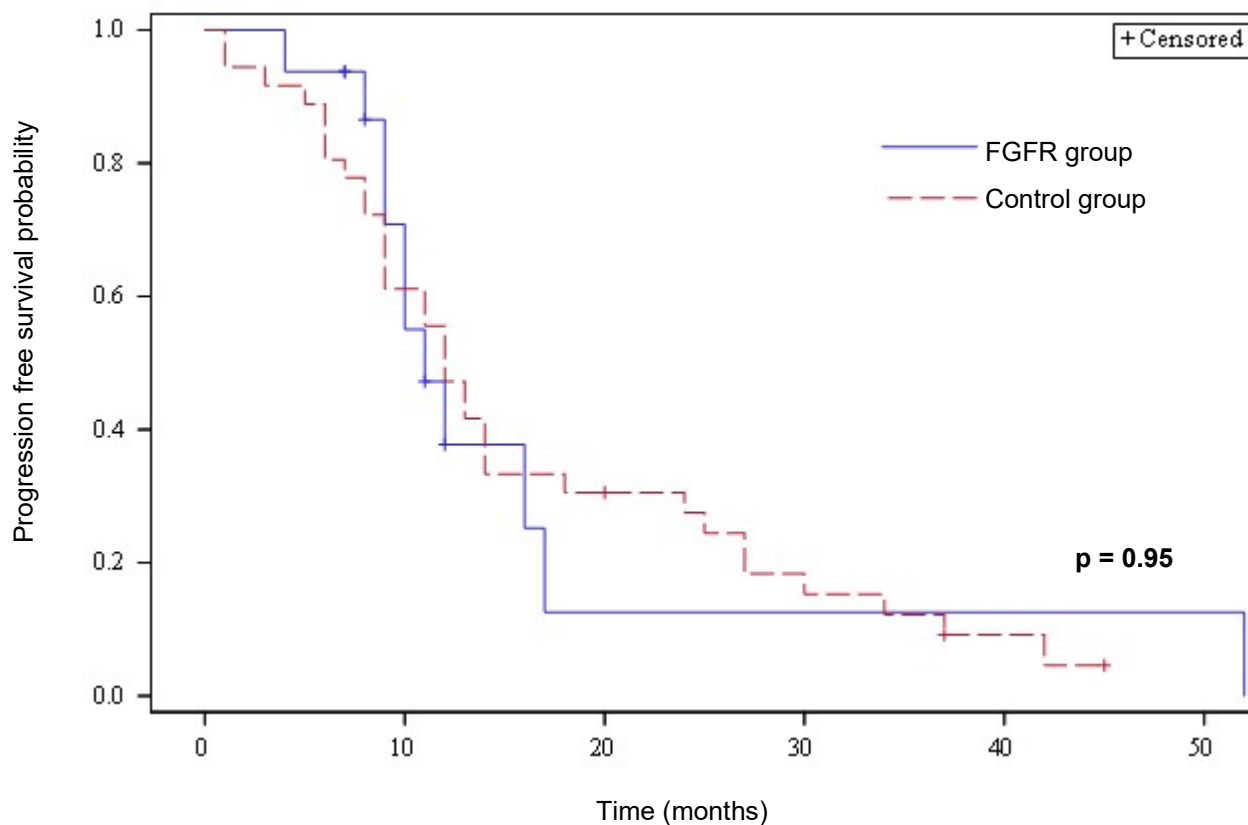
	Cases (n=16)	Controls (n=36)	
<b>Gender</b>			
Female	n=7 (43.75%)	n= 13 (36.11%)	
Male	n= 9 (56.25%)	n= 23 (63.89%)	p= 0.60
<b>Age at diagnosis, years</b>			
Mean (SD)	54.38 (16.76)	43.72 (12.82)	<b>p= 0.015</b>
<b>WHO score at diagnosis</b>			
Median [IQR]	0 [0-1]	0 [0-1]	p= 0.84
<b>Anatomopathological diagnosis</b>			
Glioblastoma	n= 16 (100%)	n= 30 (83.3%)	
G4 Astrocytoma	n= 0	n= 3 (8.3%)	
G3 Astrocytoma	n= 0	n= 3 (8.3%)	
<b>Extension of resection*</b>			
Maximal	n= 9 (56.25%)	n= 21 (58.33%)	
Submaximal	n= 4 (25%)	n= 6 (16.67%)	
Biopsy	n= 3 (18.75%)	n= 9 (25%)	
<b>First line treatment after surgery†</b>			
RT + concomitant and adjuvant TMZ	n= 12 (75%)	n= 26 (87%)	
Other treatment	n= 4 (25%)	n= 4 (13%)	

*Table 1: Characteristics and first line treatment of the study population; \* supramaximal resection wasn't considered because it wasn't precisely defined at the time of most patients surgery; † Only for GBM patients according to the WHO 2021 classification*

## 4.2 Survival analysis

Most of the patients progressed during the study period: 44 patients overall experienced disease progression, 33 in the control group and 11 in the FGFR group.

Median progression free survival (PFS) in the FGFR group was 11 months and 12 months in the control group. There was no statistical difference between PFS of both groups (HR = 0.975, 95%CI [0.475-2.004], p = 0.95, [figure 7](#)). The FGFR group still did not exhibit a favorable prognosis after accounting for potential confounding factors: age at diagnosis and extension of resection (HR = 0.942, 95%CI [0.446-1.991], p = 0.88). We did not consider the MGMT status and WHO score at the time of diagnosis, others recognized prognostic factors, in this analysis because their distributions were not statistically different between the two groups. Subgroup analyses for PFS were complete, including only glioblastoma patients of both groups, that is the 16 patients of the FGFR group and 30 patients of the control group. Again, no statistical difference in PFS was observed between both subgroups (HR =1.081, 95%CI [0.503-2.323], p = 0.84).



*Figure 7: Kaplan Meier curves for progression free survival*

We reported 29 deaths in the entire cohort: 23 in the control group and 6 in the FGFR group. Median overall survival (OS) was 36 months in the FGFR group and 31 months in the control group. We observe no statistical difference of OS between the two groups (HR = 0.70, 95%CI [0.268-1.865],  $p = 0.48$ , [figure 8](#)).

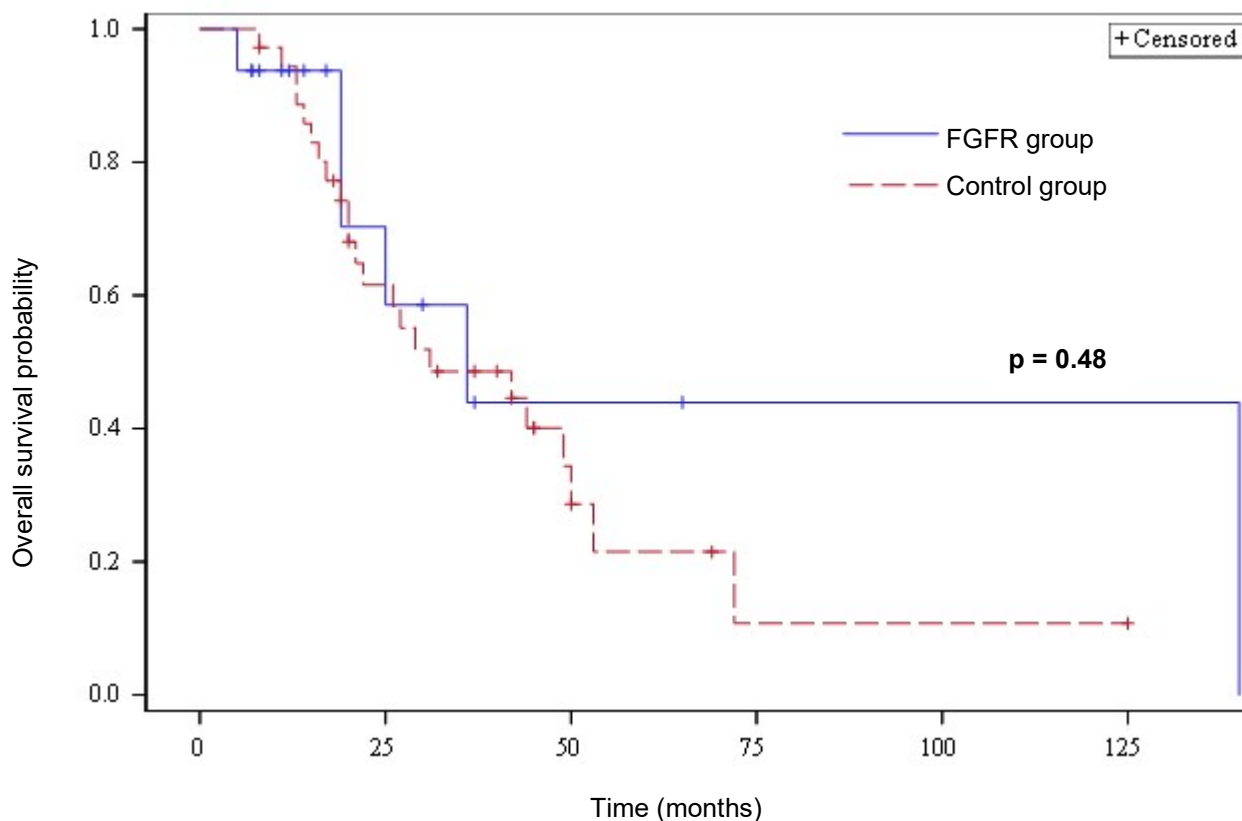


Figure 8: Kaplan Meier curves for overall survival

### 4.3 Clinical presentation

The most frequent clinical presentation in both groups was epileptic seizure, concerning 7 patients in the FGFR group and 19 patients in the control group (respectively 43.75 and 52.78%,  $p = 0.55$ ). Then came intracranial hypertension symptoms for 5 patients in the FGFR group and 16 patients in the control group (respectively 31.25 and 44.44%,  $p = 0.37$ ). Overall, there was no statistical difference in clinical symptoms at diagnosis between the two groups.

Other clinical presentations and their respective frequencies are reported in [figure 9](#).

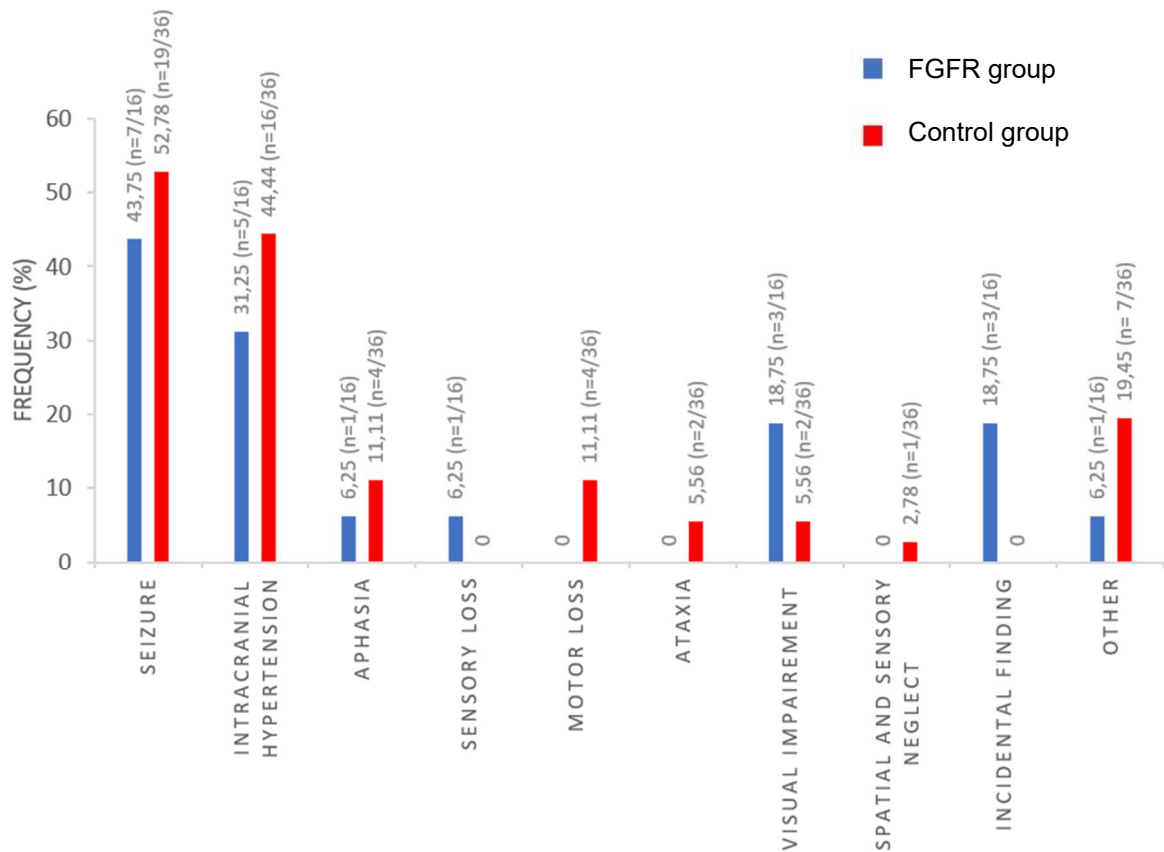


Figure 9: Frequencies of each clinical presentation at diagnosis for FGFR group and control group; “Other” includes: cranial nerve impairment, confusional state, cognitive impairment, systematic screening guided by medical history.

We also compared the time between symptoms beginning and diagnosis. Median time between symptoms beginning and glioma diagnosis was 6 weeks in the FGFR group (IQR [4-12]) and 3 weeks in the control group (IQR [2-6]). It was statistically longer in the FGFR group ( $p < 0.01$ ).

#### 4.4 Radiological characteristics

Most of FGFR tumors were localized in the parietal lobe (7/16). 3 were in the frontal lobe, 3 in the temporal lobe, and 3 in the occipital lobe. In the control group, tumors were mostly localized in the temporal lobe (14/36) and in the frontal lobe (11/36). There were 7 tumors in the parietal lobe, 2 in the occipital lobe. 2 were multifocal.

46.15% (6/16) and 37.5% (12/36) of FGFR and control patients respectively, presented intra tumoral hemorrhage. There was no diffusion restriction in the FGFR group and 2 in the control group.

Only 5 patients did not present contrast enhancement in the control group on the first MRI: 2 grade 3 astrocytoma and 3 glioblastomas according to molecular criteria. Two patients in the FGFR group did not present contrast enhancement. Both presented glioblastomas according to molecular criteria.

For each patient with MRI at diagnosis available, tumor volume was assessed thanks to the ITK SNAP delineation tool ([figure 10](#)). Median volume at diagnosis was 14.25mm<sup>3</sup> (IQR [2.56-44.37]) in the FGFR group and 30.42mm<sup>3</sup> (IQR [15.37-55.25]). There was no significant difference in volume at diagnosis between the two groups ( $p=0.11$ ).

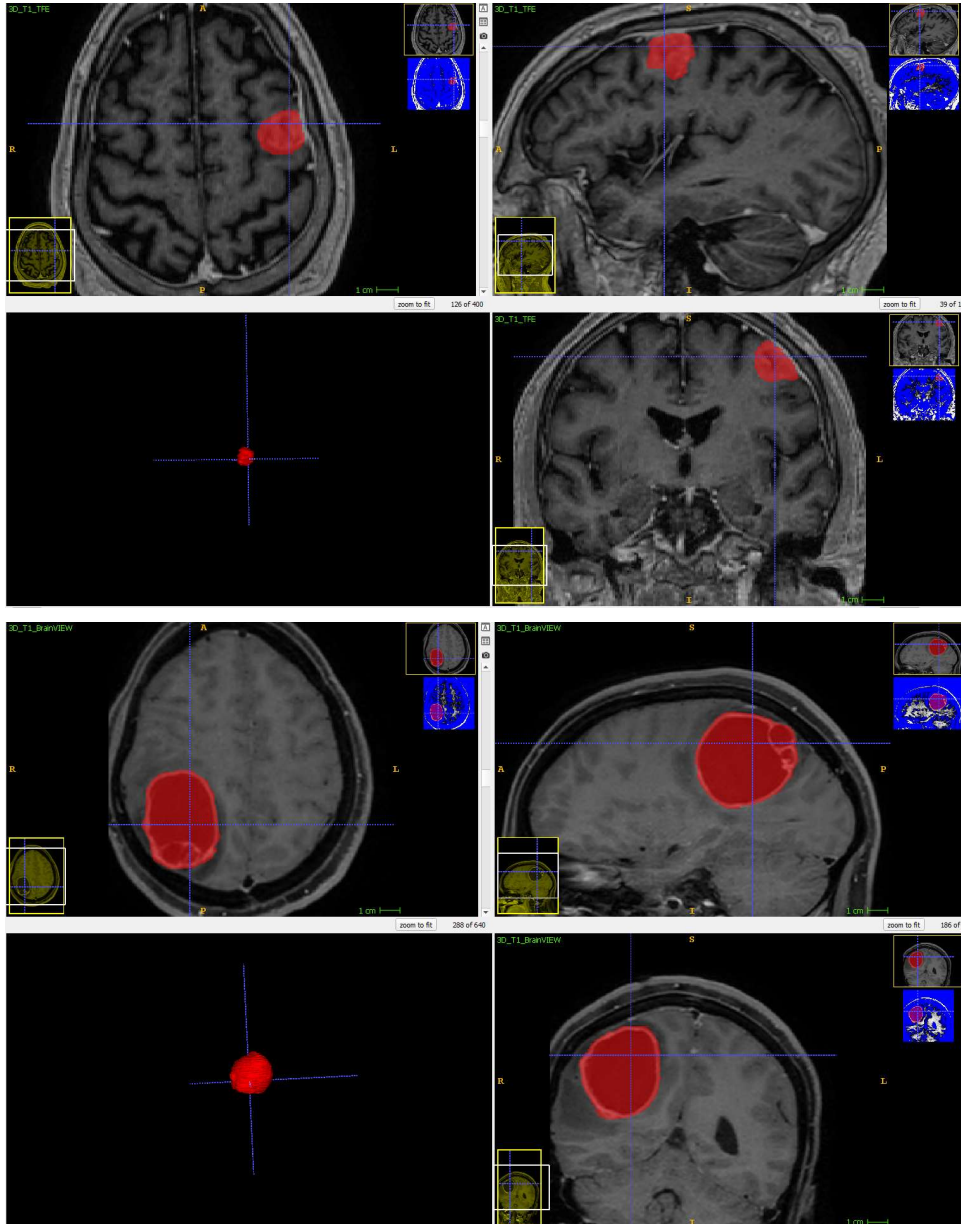


Figure 10: Examples of volume calculation thanks to ITK SNAP delineation tool

#### 4.5 Immunohistochemistry and FGFR3 screening

There were 3 patients positive for IDH1<sup>R132H</sup> immunochemistry, only in the control group. For all of them, the mutation was also found in NGS. There was no IDH positive patient in the FGFR group.

Only 6 patients lost ATRX expression: 1 in the FGFR group, carrying a glioblastoma and a F3T3 fusion transcript, and 5 in the control group, 4 carrying astrocytoma and 1 carrying a glioblastoma.

Concerning FGFR3 immunohistochemistry, it was significantly more positive in the FGFR group, with 92% of patients showing positive results compared to 5.56% in the control group ( $p < 0.0001$ ).

Sensitivity and specificity of FGFR3 immunohistochemistry for detecting FGFR3 fusion were 92% and 94% respectively. Only one patient with a FGFR3 fusion was initially considered negative for FGFR3 immunohistochemistry. He presented an atypical FGFR3-CGNL1 fusion. 2 patients in the control group were positive for FGFR3 immunohistochemistry. After further research, a FGFR3 K650E mutation was found for one of them. It could not be verified for the other since there was not enough genetic material left to perform NGS.

## 4.6 Molecular biology results

Six patients ( $n = 6/35$ ) presented IDH mutations in the control group: 4 IDH1<sup>R132H</sup>, 1 IDH1<sup>R132C</sup> et 1 IDH1<sup>R132S</sup>. There was no patient with IDH mutation in the FGFR group ( $n = 0/16$ ). There was no 1p19q codeletion so no oligodendroglioma in the entire cohort.

TERT promoter mutation was only searched for 11 patients to complete the integrated diagnosis according to 2021 WHO classification. It was searched for 8 patients in the FGFR group and was positive for 7, and for 3 patients in the control group and was positive for the 3. No BRAF mutation was found in the entire cohort ( $n = 0/48$ ).

MDM2 amplification was found for two patients on the FGFR group ( $n = 2/12$ ) and 2 patients in the control group ( $n = 2/33$ ). CDK4 amplification was found for two patients in the FGFR group ( $n = 2/12$ ) and 3 patients in the control group ( $n = 3/33$ ).

There was no EGFR amplification in the FGFR group ( $n = 0/12$ ), while there were 13 in the control group ( $n = 13/33$ ). 5 EGFRvIII transcripts were found, only in the control group (searched for every patient).

As for other molecular biology data, there was no statistical difference between each group (see [table 2](#)).



	Cases (n=16)	Controls (n=36)	
<b>MGMT Hypermethylation</b> (9 missing data)	7/13 (50%)	12/30 (40%)	p= 0.55
<b>+7 / -10</b> (3 missing data)	9/16 (56.25%)	20/33 (60.61%)	p= 0.77
<b>Homozygous CDKN2A deletion</b> (7 missing data)	4/12 (33.33%)	14/33 (42.42%)	p= 0.74
<b>P53 Mutation</b> (6 missing data)	1/12 (8.33%)	13/34 (38.24%)	p= 0.07
<b>PTEN Mutation</b> (4 missing data)	3/14 (21.43%)	14/34 (41.18%)	p= 0.32

Table 2: Frequency and comparison of main molecular biology data

#### 4.7 Identification of two atypical fusions

Through this study, we identified 2 atypical FGFR fusions: 1 FGFR3-CGNL1 fusion and 1 FGFR2-TACC2 fusion (summarized characteristics [figure 11](#)).

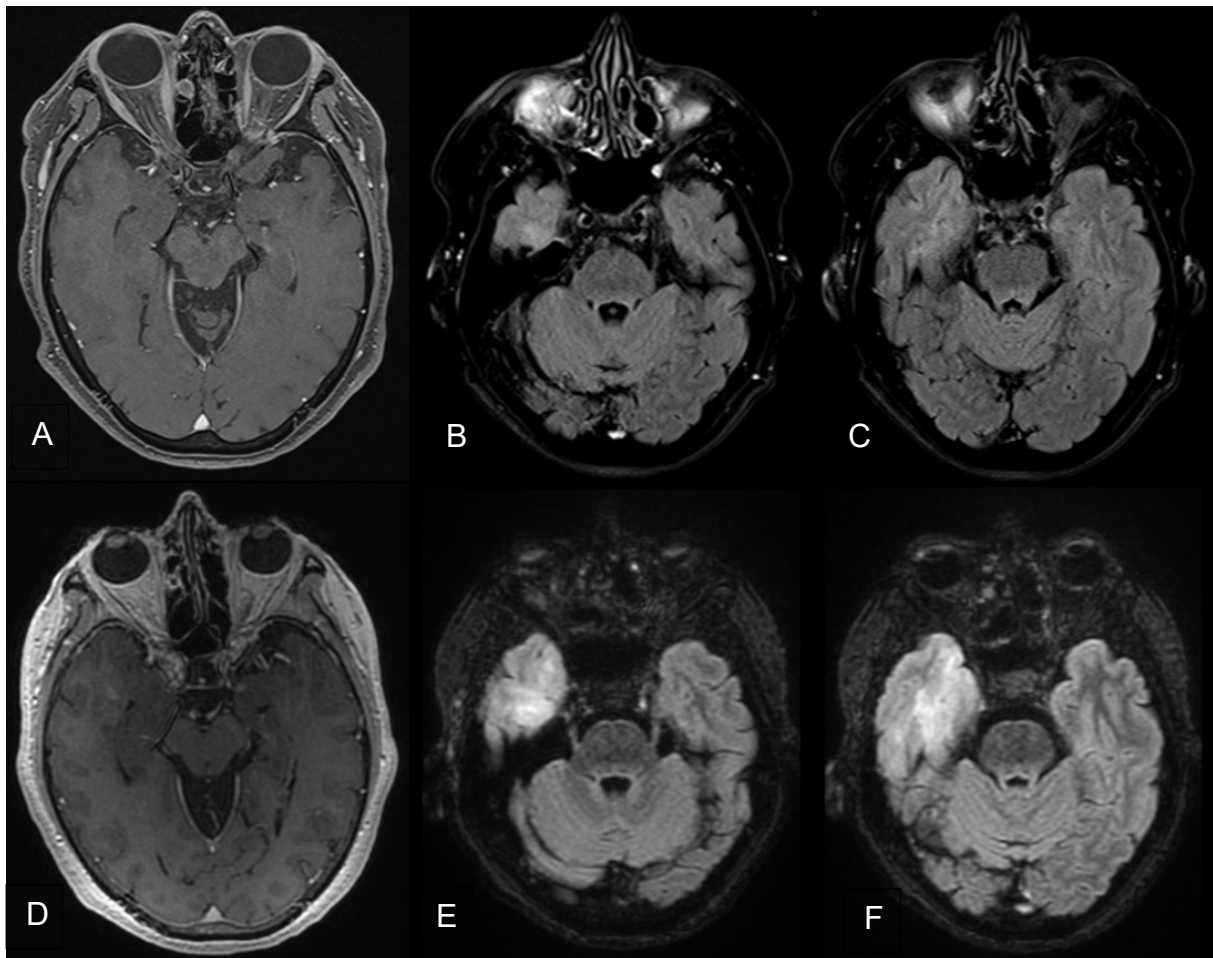
<b>FGFR3-CGNL1 patient</b>	<b>FGFR2-TACC2 patient</b>
<b>Age at diagnosis:</b> 62 years old	<b>Age at diagnosis:</b> 18 years old
<b>Gender:</b> Woman	<b>Gender:</b> Man
<b>WHO score at diagnosis:</b> 0	<b>WHO score at diagnosis:</b> 0
<b>Symptoms at diagnosis:</b> Incidental discovery	<b>Symptoms at diagnosis:</b> seizure + intracranial hypertension symptoms
<b>Tumor location:</b> Right temporal lobe	<b>Tumor location:</b> Temporale droite
<b>WHO 2021 anatomopathology:</b> Glioblastoma	<b>WHO 2021 anatomopathology:</b> Glioblastoma
<b>First line treatment:</b> Maximal surgical resection and STUPP protocol	<b>First line treatment:</b> Maximal surgical resection and STUPP protocol
<b>Progression:</b> No progression	<b>Progression:</b> Progression free survival of 16months
<b>Survival:</b> Still alive	<b>Survival:</b> Still alive
<b>Follow-up duration:</b> 8 months	<b>Follow-up duration:</b> 30 months
<b>Other molecular data:</b> TERT promotor mutation, +7/-10 chromosome copy number alteration	<b>Other molecular data:</b> +7/-10 chromosome copy number alteration

Figure 11: Summarized characteristics of patients with 2 atypical FGFR fusions

**Concerning the FGFR3-CGNL1 patient**, she was a woman, diagnosed at 62 years old with a glioblastoma at CHU de Lille. She had no personal or family history of cancer, no alcohol or smoking issue. WHO score at diagnosis was preserved (0).

She had a right temporal glioblastoma, accidentally found in February 2019, on an MRI performed for vertigo. On the first MRI, her glioma appeared as single FLAIR hypersignal of 4.78mm<sup>3</sup>. She was first monitored for three years, until significant progression with contrast enhancement appearance ([Figure 12](#)).

Her tumor was then surgically removed in April 2022 with a maximal resection. Anatomopathological results were in favor of a glioblastoma according to the 2021 WHO classification (no microvascular proliferation or necrosis but +7/-10 chromosome copy number alteration). Other molecular characteristics of her tumor were: no MGMT promoter methylation, no MDM2, CDK4 or EGFR amplification, no CDKN2A homozygous deletion, no BRAF, P53 or PTEN mutation. FGFR3 immunochemistry was considered negative on tumor samples at the first analysis. However, after a second reading of the immunochemistry, it was considered ambiguous and a RNAseq was conducted, finding the FGFR3-CGNL1 transcript.



*Figure 12: MRI at diagnosis and before surgery of the patient presenting a FGFR3-CGNL1 fusion transcript; Images ABC: first MRI in 02/2019, A: T1-weighted with gadolinium sequence, B and C: FLAIR sequences; Images DEF: MRI performed before surgery in 04/2022, D: T1-weighted with gadolinium sequence, E and F: FLAIR sequences*

Afterwards, she underwent STUPP protocol. She was still alive with no progression at the end of the data collection period, after 8 months of follow up.

**Concerning the FGFR2-TACC2 patient**, he was a man, diagnosed at 18 years old with a glioblastoma at Henri Becquerel cancer center of Rouen. He had no personal history of cancer but more than 2 first degree relatives diagnosed with cancer (no precision available). He had no alcohol or smoking issue. WHO score at diagnosis was preserved (0).

He was diagnosed with a right temporal glioblastoma discovered after a seizure with intracranial hypertension symptoms.

His tumor was surgically removed 4 weeks after symptoms beginning, in June 2020, with a maximal resection. Anatomopathological results were in favor of a glioblastoma according to the 2021 WHO classification (+7/-10 chromosome copy number alteration). Other molecular characteristics of his tumor were: no MGMT promoter methylation, no TERT, BRAF or PTEN mutation.

Afterwards, he underwent a STUPP protocol. He relapsed after 16 months of follow up. A new surgery was performed, followed by adjuvant chemotherapy. He was still alive at the end of the data collection period, after 30 months of follow up.

## 5 Discussion

Physiopathology of gliomas remains poorly understood. For instance, prognosis and survival of patients presenting with glioblastoma are extremely variable, without clear explanation for those discrepancies. A better understanding of gliomas is needed, and molecular biology improvements are helping to better characterize those tumors. Gliomas screening with NGS allowed identification of many gene fusions. Among them, FGFR fusions and especially F3T3 fusions seems to be recurrent and interesting targets. We aimed to study more thoroughly their prognosis and characteristics.

While our results suggest a potential improvement in **median overall survival (OS)** (36 months in the FGFR group and 31 months in the control group), we did not find a significant difference in overall survival and progression free survival between control patients and FGFR patients, even after adjustment for potential confounders (age at diagnosis and extension of resection).

Prognosis of patients presenting gliomas with F3T3 fusions was previously assessed in different studies. **Firstly, in 2020, Di Stephano et al** systematically screened 1162 diffuse gliomas for FGFR-TACC fusions and found a better prognosis for F3T3 patients than control patients (median OS 29.1 vs 20.5 months respectively,  $p=0.04$ ) [50]

**Also in 2020, Mata et al** conducted a retrospective study with a systematic screening for F3T3 fusions of every IDH-wildtype glioblastoma diagnosed between January 2015 and December 2019 at their center. Median OS seemed to be slightly longer in the FGFR group with 26.6 months while it was 18.5 months in the control group, without statistical significance in univariate (HR = 0.69, 95%CI [0.46-1.04]) or multivariate model (HR = 0.68, 95%CI [0.45-1.03]). [46]

As Mata et al study, our retrospective study, despite a multicenter design, lacked statistical power to demonstrate a longer survival for F3T3 patients. Moreover, at the date of data collection, there were only 6 deaths in the FGFR group out of 16 patients, while there were 23 deaths in the control group out of 36 patients. Follow up continuation will be necessary to rule out a difference between the two groups.

In comparison with those studies, ours also presented a selection bias, since we did not realize a systematic screening for FGFR fusion in patients presenting gliomas but used those done for conventional care. Currently, there is no clear recommendation to guide which patient should benefit from RNA sequencing for fusion transcript screening. It is performed after oncologist's request, mostly in search for therapeutic target for young and healthy patients presenting with diffuse glioma, or after pathologist's request. However, since approximately 2021, FGFR3 IHC is done more often for diffuse glioblastoma, expanding the indication of RNA seq to patients presenting a positive IHC, even older patients for whom it was not commonly proposed. In our study, they are only few false positives, and most patients with a positive IHC present a FGFR3 fusion. In this way, our FGFR group comprises older patients while our control group is still composed of mostly young and healthy patients with good prognosis. Combined to the lack of statistical power, this could explain why we did not find a significant favorable prognosis for FGFR3 patients.

Moreover, this selection bias substantially explains the significant difference observed in **age at diagnosis**, FGFR patients being older than control patients (mean age at diagnosis 54.38 years old vs 43.72 years old in the control group,  $p = 0.015$ ). This could also be partly explained by the composition of the two cohorts. Indeed, the FGFR cohort was only composed of glioblastoma patients, and the control cohort was composed of patients exhibiting glioblastoma and G3 and 4 astrocytomas. However, we cannot rule out the possibility of a real difference in age at diagnosis between the group since in Mata et al study, a difference in age at diagnosis was also noted, the FGFR group being older than the control group (mean age at diagnosis 63.6 years old vs 59.4 years old,  $p=0.02$ ). [46]

We also noticed that every patient harboring a FGFR fusion **presented a glioblastoma according to the 2021 WHO classification**. From the beginning of FGFR fusion descriptions, these fusions have consistently been associated with IDH wild-type gliomas. [45,48–50] However, some of those studies reported FGFR fusions in lower grade gliomas (grade 2 or 3) according to the 2007 and 2016 WHO classifications. [48–50] Currently, grade 2 or 3 IDH 1 or 2 wildtype gliomas does no longer exist according to the 2021 WHO classification. Thanks to molecular criteria (TERT promoter mutation, EGFR gene amplification, +7/-10 chromosome copy-number alterations) most of this IDH wildtype lower grade gliomas are now classified as glioblastomas. It is possible that every lower grade gliomas of these previous studies were also glioblastomas according to the 2021 WHO classification.

However, in 2022, Métails et al also noted that some of the F3T3 gliomas had pathological features of lower grade gliomas, notably pediatric-type diffuse low-grade gliomas (LGG) according to the 2021 WHO classification. They tried to characterize those tumors. They found 14 adult and pediatric cases of F3T3 tumors with morphologic features of LGG. Among them, 6 had TERT promoter mutation, three +7/-10 chromosome copy-number alterations, always associated with TERT promoter

mutation, and were glioblastoma according to the 2021 WHO classification. Eight remained with diagnosis of pediatric-type diffuse LGG. [67] In this way, despite being a strong argument for a glioblastoma, gliomas with FGFR fusions and especially, F3T3 fusion, without histopathological or molecular biology arguments for a 2021 WHO glioblastoma, raise a diagnostic challenge, and should benefit from an extensive molecular and methylome assessment to enhance their characterization.

**Concerning FGFR3 IHC**, we found a very promising sensitivity and specificity of 92% and 94% respectively for FGFR3 fusions. Previous evaluations of FGFR3 IHC found similar results. [48–50] In 2017, a study evaluating the intensity of FGFR3 immunostaining found for every FGFR3 fusion (F3T3 and FGFR3-CAMK2A) a strong FGFR3 immunostaining. There were 5 false positive with a strong immunostaining. No FGFR3 fusion was found in moderately stained cases. [56] Conversely, one of our patients presenting an atypical FGFR3-CGNL1 fusion displayed a doubtful IHC. In this way, FGFR3 IHC seems to be a valid screening test for FGFR3 fusions, and moderate to strong staining should be evaluated in RNA sequencing.

One control patient presented a positive FGFR3 IHC that revealed a **FGFR3 K650E mutation**. FGFR3 K650E mutation is an oncogenic mutation mostly described in multiple myeloma. Because of this mutation, the kinase domain of FGFR3 is constitutively activated. [68] We found only one other glioma patient with a FGFR3 K650E mutation, in a phase 2 study evaluating Infigratinib, a FGFR1-3 inhibitor. This patient presented a favorable response to Infigratinib, with a stable disease for 12.9 months. [57] So FGFR3 IHC could be a screening test mostly for FGFR fusion but also for FGFR3 molecular alterations that result in its overexpression and could constitute a therapeutic target.

Concerning others **molecular biology results**, we confirmed that FGFR fusions are mutually exclusive with EGFR amplification, also found in other studies. [48–50,56] However, as Mata et al [46], we did not find the increased frequency of MDM2 and CDK4 amplification found by others. [48–50] We did not found significant difference in MGMT status between the two groups which is in accordance with 2015 Di Stephano et al [48] and Mata et al results [46] but conflicting with 2020 Di Stephano et al results who found a lower rate of MGMT hypermethylation in the F3T3 group [50]. We also found a tendency for a lower rate of p53 somatic mutation in the FGFR group. This result was already reported by Mata et al in 2020, who found a significant lower frequency of oncogenic p53 alteration in the F3T3 patients. [46]

At the time of diagnosis, **the clinical presentations** were comparable in both groups, with seizures being the most common initial symptom. Interestingly, there were 3 incidental findings in the FGFR group. Besides, time between symptoms beginning and diagnosis was significantly longer in the FGFR group than in the control group. Moreover, concerning radiological patterns, every FGFR tumors were supratentorial. They mostly occurred in the parietal lobe while control tumors were mostly localized in the temporal lobe. In 2018, Bielle et al found that FGFR tumors were mostly found in the parietal and frontal lobes. [49] In 2020, Di Stephano et al described that F3T3 glioblastomas concerned less frequently eloquent areas. [50] This seems consistent

with our clinical observations: invading non eloquent areas, patients with FGFR tumors seem sometimes to present poor, nonspecific clinical presentations and may need more time to be diagnosed. Further observations will be needed to confirm this hypothesis.

There was no other significant difference in radiological characteristics between FGFR and control patients. In 2020, Di Stephano et al also tried to identify specific radiological characteristics. They found no difference in tumor volumes but identified other specific MRI features like poorly defined tumor margins, non-enhancing margins and increased edema. They also found arguments for a specific radiomic signature of F3T3 tumors. [50]

Thanks to this study, **we identified two atypical FGFR fusions**: a FGFR3-CGNL1 fusion and a FGFR2-TACC2 fusion. To our knowledge, this is the first description of a patient presenting a FGFR3-CGNL1 fusion. The CGNL1 gene encodes a protein from the cingulin family, which is typically found in proximity to various cell junctions and plays a role in the assembly of these junctions. It is physiologically mostly expressed in the kidney. [69] According to the Mitelman database, 3 fusions involving CGNL1 were previously described in cancers: two POLG-CGNL1 fusions in liver adenocarcinoma and CGNL1-TCF12 in breast carcinoma. It's physiopathology and implication in glioma development remains unknown.

One other FGFR2-TACC2 case was already reported, in a 48 years old women, with a very aggressive disease course. Fastly after two surgeries, she presented a clinical alteration that did not allowed any adjuvant treatment. She died after ten weeks. [55] This presentation is very different from our patient, a younger man of 18 years old with a favorable disease course. Further observation and report of new cases will be essential to better describe this population.

Our study presented **several limitations**. First, it was a small retrospective study based on patients' medical records that could biased data collection. Some data were missing like MGMT methylation status for 9 patients. Additionally, the follow-up duration for some FGFR patients was relatively brief, which could have been insufficient time for the collection of comprehensive overall survival data. As previously mentioned, there was an important differential selection bias that could have skew prognosis results. The ideal approach would have been a systematic screening for FGFR fusions for every glioblastoma patient during a determined period. Finally, tumor volume and radiological data assessment were not reviewed by an experimented radiologist.

However, **strengths of our study** need to be highlighted. First, it was a multicentric study. NGS and FGFR3 IHC were systematically performed for every patient. It is also one of the only studies about FGFR fusions that used 2021 WHO classification, providing a new insight of those tumors according to the most recent criteria.

**Our study contributed to raise many questions** that are still not answered.

- Improvements in molecular biology allowed detection of many gene fusions but their real implication in carcinogenesis is unknown, especially for non-recurrent gene fusion like the FGFR3-CGNL1 transcript that we found. This questions the



significance of those molecular defects and their relevance for targeted treatment. As mentioned in a 2019 review, despite advanced detection methods for fusion genes, development of targeted treatments remains challenging and sometimes disappointing. [70] And so far, no FGFR inhibitors demonstrated a clear benefit in survival of glioma patients, but we are still waiting for various phase II studies results.

- As previously mentioned, gliomas and especially glioblastoma displays a strong heterogeneity, even in the same tumor. Most of our FGFR fusions, found on tissue samples collected for diagnosis, were not confirmed on tumor recurrence. In 2015 Di Stephano et al study, F3T3 fusion was searched for one patient at initial diagnosis and recurrence, and found at both times. [48] This result is in favor of a persistence of the fusion over time, but we need more proof to confirm this. However, it seems difficult to put it into practice. IHC could be enough to confirm the persistence of the fusion, but it would require new tumor samples, while surgery is at risk of infections, bleeding and neurological impairment that are not in favor of a new surgical gesture only to confirm persistence of the FGFR fusion. Research for the fusion in circulating cell-free DNA could be a way to non-invasively assess fusion persistence but it needs to be validated. [71]
- At last, a 2023 study suggested that even gliomas with the same F3T3 fusion are heterogenous. They observed that some F3T3 gliomas presented pathological features of pediatric-type LGG and tried to characterize them. They realized methylation profiling of those F3T3 LGG and of F3T3 glioblastoma. Methylation profiling is a diagnosis and research tool that helps to classify tumors according to cluster subgroups. It gives the probability of the tumor sample to cluster with a determined subgroup. A probability over 0.9 is needed to be truly informative. In this study, 7 samples had a probability over 0.9 to cluster with one of those methylation classes: ganglioglioma, glioblastoma IDH-wildtype RTK2, glioblastoma IDH-wildtype mesenchymal subtype or dysembryoplastic neuroepithelial tumor (DNET). [67] So F3T3 diffuse gliomas present epigenetic heterogeneity and their precise characterization and classification will need way more cases and observations.

Many studies remain to be done. First, for survival data, meta-analysis of the different study available or larger prospective cohorts are needed to establish if there is a favorable prognosis for glioblastoma with FGFR fusions. Secondly, a large multicentric study with systematic screening for FGFR fusions and systematic methylation profiling with correlation to patient clinical course seems essential to further characterize gliomas with FGFR fusions. Finally, on a therapeutic point of view, we hope that FIGHT-209 will bring insights into the possibility of using targeted therapies for those tumors.

## 6 Conclusion

FGFR fusions seem to be found mostly in glioblastoma patients according to the 2021 WHO classification. We did not demonstrate a favorable prognosis of those patients. They seem to present specific molecular biology patterns: there are mutually exclusive with EGFR amplification and seems to present less somatic p53 oncogenic mutations. FGFR3 immunochemistry seems to be a valid screening for FGFR3 fusions. Further

studies with systematic screening for FGFR fusions and systematic methylation profiling with correlation to patient clinical course seems essential to further characterize gliomas with FGFR fusions.



# Matériel et méthodes

## 1 Design de l'étude

Nous avons mené une étude rétrospective, multicentrique, observationnelle afin de comparer le pronostic de patients présentant un gliome exprimant un transcrite de fusion impliquant FGFR, à celui de patients présentant un gliome sans transcrite de fusion impliquant FGFR.

Nous avons également réalisé une comparaison de leurs caractéristiques cliniques, radiologiques, immunohistochimiques et moléculaires.

## 2 Population étudiée

Nous avons inclus tout patient présentant une tumeur primitive du SNC, avec un diagnostic anatomopathologique de gliome de grade 2 à 4 selon la classification OMS 2016 ou de grade 3 à 4 selon la classification OMS 2021. Tous les patients diagnostiqués avant l'application de la classification OMS 2021 ont été reclassés selon cette dernière classification. Nous avons alors exclu tout patient présentant une tumeur autre qu'un glioblastome, astrocytome IDH-muté de grade 3 ou 4 ou oligodendrogliome IDH-muté, 1p19q-codéléte de grade 3. Les patients non classables selon la classification OMS 2021 ont également été exclus.

Notre groupe de cas était constitué de tous les patients pour lesquels l'analyse du transcriptome, conduite entre le premier janvier 2019 et le 31 décembre 2022, a révélé la présence d'un transcrite de fusion impliquant FGFR (groupe FGFR).

Notre groupe contrôle a inclus tous les patients pour lesquels une analyse du transcriptome a été menée durant la même période, sans révéler de transcrite de fusion impliquant FGFR (groupe contrôle). Les patients du groupe contrôle ont tous été recrutés au CHU de Lille.

Pour assurer un recul de suivi suffisant, l'intervention chirurgicale des patients inclus devait avoir eu lieu avant le 31 juin 2022. Les patients opérés après cette date ont été exclus.

Nous avons également exclu tous les patients présentant un gliome spinal.

### 3 Recueil des données

Pour chaque patient, nous avons réalisé le recueil rétrospectif des données à partir du dossier médical informatisé des CHU de Lille et Caen, et du centre de lutte contre le cancer Henri-Becquerel de Rouen.

#### 3.1 Biologie moléculaire

Pour chaque patient, une analyse du transcriptome à la recherche de transcrits de fusion a été réalisée grâce au panel Archer® Dx Fusion Plex Solid Tumor v2 ou Lung v2.

Les autres données de biologie moléculaire recueillies étaient les suivantes :

- La présence d'une **mutation IDH1/2, BRAF, P53, PTEN ou d'une mutation des histones** (H3F3A/B, HISTH3B/3C), recherchée par un panel NGS, PCR multiplex sur Ion S5 XL system (Thermo Fisher Scientific) et analysée par les logiciels Torrent Suite V5.10 software (Thermo Fisher Scientific) et Anatole (profondeur minimale pour le rendu des résultats négatifs fixée à 500x).
  - Ce panel a été systématiquement demandé pour les patients des CHU de Lille et Caen.
  - Parmi eux, les résultats sont manquants pour 2 patients : le premier à cause d'un manque de matériel ADN pour réaliser l'analyse (matériel tissulaire provenant d'une biopsie), le second en raison de résultats non interprétables (matériel tissulaire provenant d'une exérèse).
  - Certaines données sont manquantes pour les patients du centre Henri-Becquerel.
  
- La présence **d'une codélétion 1p/19q, d'un gain du chromosome 7 et d'une perte du chromosome 10, d'une amplification MDM2, d'une amplification CDK4, d'une amplification EGFR, d'une délétion homozygote de CDKN2A ou B**, recherchée par CGH array grâce au kit SurePrint G3 Human CGH Microarray.
  - Cette recherche a été systématiquement demandée pour les patients des CHU de Lille et Caen.
  - Les résultats sont manquants pour 3 patients : 2 à cause d'un manque de matériel ADN pour réaliser l'analyse (matériel tissulaire provenant d'une biopsie et d'une exérèse), et le dernier en raison de résultats non interprétables (matériel tissulaire provenant d'une exérèse).
  - Certaines données sont manquantes pour les patients du centre Henri-Becquerel.
  
- La **présence des mutations du promoteur de TERT C228T et C250T**, recherchée grâce à une méthode de séquençage ciblée en PCR, si disponible ou demandée en complément si nécessaire pour reclasser les patients selon la classification OMS 2021.

- La présence d'une **hyperméthylation du promoteur du gène MGMT**, évaluée par pyroséquençage, si disponible.
- La présence d'un **transcrit EGFRvIII**, recherchée par les mêmes panels Archer® que les fusions impliquant FGFR.

Les échantillons utilisés pour ces analyses étaient inclus en paraffine. Les acides nucléiques totaux (ADN et ARN) ont été extraits via le kit QIAamp DNA FFPE tissue (Qiagen). Dans le groupe contrôle, le matériel tissulaire utilisé pour les analyses provenait du geste chirurgical réalisé au diagnostic dans 31 cas et à la récurrence dans 5 cas. Il provenait d'une exérèse chirurgicale dans 28 cas et d'une biopsie dans 9 cas. Dans le groupe FGFR, le matériel utilisé pour les analyses provenait du geste chirurgical réalisé au diagnostic dans 11 cas et à la récurrence dans 1 cas. Cette donnée manque pour 4 patients. Il provenait d'une exérèse chirurgicale dans 13 cas et d'une biopsie dans 3 cas.

### 3.2 Données de survie

Nous avons évalué les données pronostiques suivantes :

- La **survie sans progression**, en mois, définie comme le temps écoulé entre le diagnostic et la première progression en imagerie selon les critères RANO, évaluée par un neuroradiologue expérimenté participant à la réunion de concertation pluridisciplinaire de neuro-oncologie,
- La **survie globale**, en mois, définie comme le temps écoulé entre le diagnostic et le décès, toutes causes confondues.

Nous avons également recueilli la durée de suivi pour chaque patient, en mois, définie comme le temps écoulé entre le diagnostic et le décès toute cause confondue, la perte de vue ou la date de censure. Pour les patients en vie à la fin de l'étude ou n'ayant pas présenté de récurrence, les données de survie ont été censurées à la date du dernier suivi clinique disponible avant le 31 décembre 2022.

Pour chaque paramètre, la date du diagnostic a été définie comme la date du geste chirurgical ayant permis le diagnostic anatomopathologique.

### 3.3 Données démographiques et cliniques

Nous avons relevé les données démographiques et cliniques suivantes : le genre, l'âge au diagnostic, l'histoire personnelle et familiale de cancer, les antécédents de radiothérapie cérébrale, le score OMS au diagnostic, le temps écoulé entre le début des symptômes et le diagnostic (semaines), les signes cliniques et signes fonctionnels au diagnostic (signes d'HTIC, manifestations épileptiques, troubles phasiques, déficit moteur ou sensitif, ataxie, altération du champ visuel, troubles cognitifs).

Pour chaque paramètre, la date du diagnostic a été définie comme la date du geste chirurgical ayant permis le diagnostic anatomopathologique.

### **3.4 Données radiologiques**

Concernant les données radiologiques, nous avons recueilli : la localisation tumorale, le volume tumoral ( $\text{mm}^3$ ), la présence de prises de contraste, la présence d'une restriction de diffusion, la présence de remaniements hémorragiques intra-tumoraux, évalués sur la première imagerie préopératoire. Nous n'avons pas eu accès aux imageries préopératoires de 2 patients du CHU de Lille, un dans le groupe FGFR et 1 dans le groupe contrôle. L'analyse du volume tumoral n'a été possible pour aucun patient du centre Henri-Becquerel.

L'analyse du volume tumoral a été réalisée grâce au logiciel ITK-SNAP et son outil de délimitation manuelle. Il s'agit d'un logiciel open source conçu pour la segmentation d'imageries médicales en 3 dimensions. [66] Nous avons réalisé la délimitation manuelle des images pour le calcul du volume, à partir des séquences T1 avec injection de gadolinium en cas de prises de contraste tumorales, ou des séquences FLAIR dans le cas contraire.

### **3.5 Traitements reçus**

Pour chaque patient, nous avons recueilli les différentes lignes de traitement reçues, jusqu'à la quatrième ligne incluse. Les éventuelles participations à des protocoles de recherche ont été spécifiées.

### **3.6 Analyses anatomopathologiques et immunohistochimiques**

Nous avons recueilli les résultats des analyses immunohistochimiques IDH1<sup>R132H</sup> et ATRX, réalisées au diagnostic, quand elles étaient disponibles. Pour tous les patients du CHU de Lille et de Caen, une analyse immunohistochimique recherchant FGFR3 (anti-FGFR3 clone B-9; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA) a été réalisée de manière systématique sur tissus fixés au formol et inclus en paraffine, après pré traitement au citrate sur un automate Roche Tissue Diagnostics, ULTRA.

## 4 Analyses statistiques

Les variables catégorielles sont exprimées en nombres (pourcentage). Les variables quantitatives sont représentées par leur moyenne (déviation standard, DS) si elles suivent une loi normale, ou médiane [intervalle interquartile, IQR] dans le cas contraire. La normalité des distributions a été évaluée par l'usage d'histogrammes et le test de Shapiro-Wilk.

La comparaison des données cliniques, radiologiques, immunohistochimiques et moléculaires entre les patients FGFR et contrôles, a été réalisée à l'aide d'un test du Chi<sup>2</sup> (ou test exact de Fisher quand la fréquence attendue des variables était <5) pour les variables catégorielles, et un test de Mann-Whitney ou test t de Student (selon la normalité des distributions) pour les variables quantitatives.

La survie globale et la survie sans progression ont été représentées par des courbes de Kaplan Meier et comparées entre les deux groupes à l'aide d'un modèle de Cox univarié. Les résultats sont exprimés en termes de hazard ratio (HR) assorti d'un intervalle de confiance à 95%.

La survie sans progression a été comparée entre les deux groupes après ajustement sur deux facteurs prédéfinis (l'âge au diagnostic et l'extension de la résection) à l'aide d'un modèle de Cox.

Les tests statistiques sont bilatéraux et réalisés pour un risque  $\alpha$  de 0.05. Les données ont été analysées grâce au logiciel SAS, version 9.4 (SAS institute, Cary, NC, USA).

## 5 Cadre réglementaire

La non-opposition des patients a été systématiquement recherchée par la transmission d'une lettre d'information en consultation ou envoyée au domicile ([Annexe 1](#)). Nous avons retenu l'absence d'opposition des patients en l'absence de réponse négative de leur part dans les deux mois suivant la transmission de la lettre d'information.

L'étude a été déclarée à la Commission Nationale de l'Informatique des Libertés française, CNIL et approuvée par le bureau local du comité d'éthique du CHU de Lille ([Annexe 2](#)).

# Résultats

## 1 Description de la population

Nous avons inclus 52 patients pour lesquels une analyse du transcriptome a été réalisée à la recherche de transcrits de fusion, du 1<sup>er</sup> janvier 2019 au 31 décembre 2022 ([figure 6](#)).

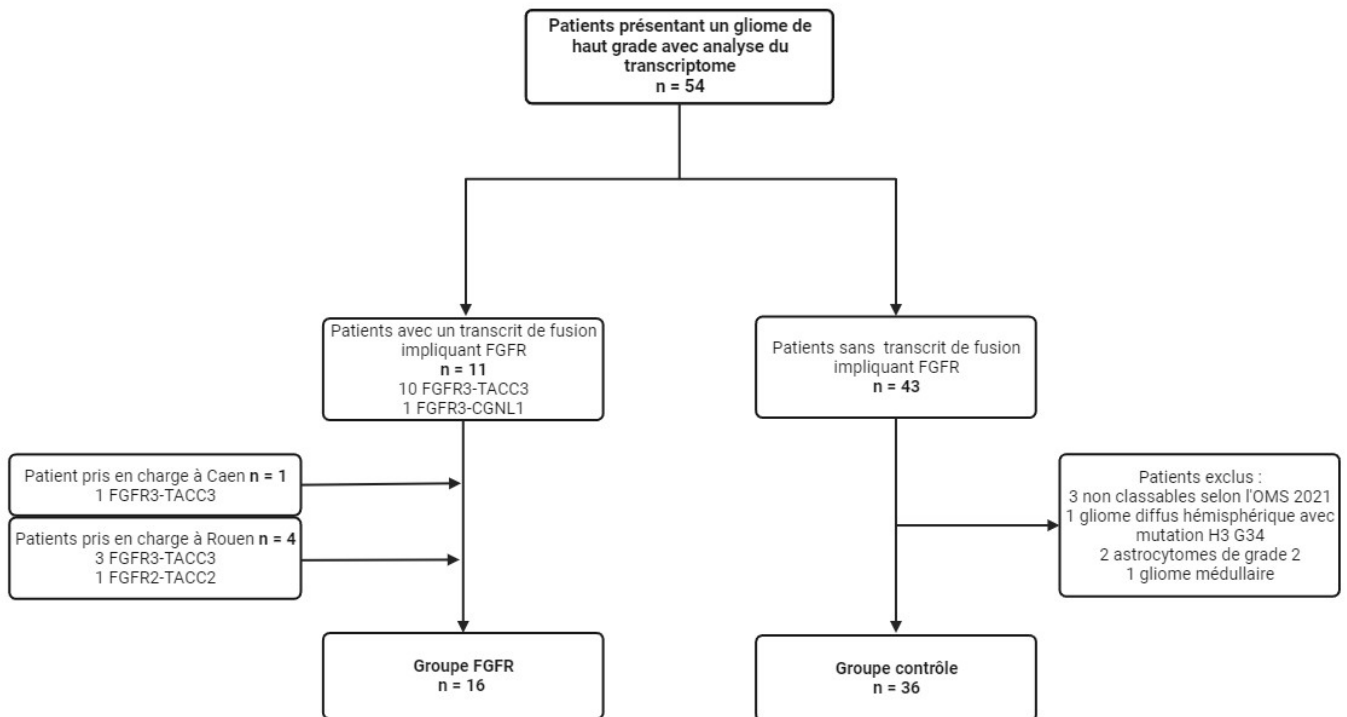


Figure 6 : Flow Chart. Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.

**Dans le groupe FGFR**, 16 patients présentant un gliome de haut grade avec un transcrit de fusion impliquant FGFR ont été inclus. Onze ont été pris en charge au CHU de Lille, 1 au CHU de Caen et 4 au centre de lutte contre le cancer Henri Becquerel de Rouen. 14 patients présentaient une fusion FGFR3-TACC3 (F3T3). Les 2 autres présentaient deux fusions atypiques : une fusion FGFR3-CGNL1 et une fusion FGFR2-TACC2. Tous les patients présentant un transcrit de fusion impliquant FGFR étaient porteurs de glioblastomes selon la classification OMS 2021.

**Dans le groupe contrôle**, 36 patients pour lesquels une analyse du transcriptome est revenue négative pour toute fusion FGFR ont été inclus. Trente étaient atteints de glioblastome, 3 d'astrocytome de grade 3 et 3 d'astrocytome de grade 4.

Parmi les patients FGFR, 2 avaient un antécédent personnel carcinologique : 1 carcinome papillaire de la thyroïde et un autre pour lequel l'anatomopathologie précise est manquante. Dans le groupe contrôle, 4 patients avaient un antécédent personnel de cancer : 2 cancers de la prostate, 1 tumeur neuroendocrine biliaire, et enfin un carcinome myoépithélial d'une glande salivaire accessoire et un léiomyosarcome chez une patiente connue pour un syndrome de Li-Fraumeni.

A l'exception de la patiente présentant un syndrome de Li-Fraumeni connu, aucun patient du groupe FGFR ou du groupe contrôle ne présentait d'histoire familiale de cancer pouvant évoquer une prédisposition génétique à la pathologie cancéreuse.

Aucun patient n'avait d'antécédent de radiothérapie à l'étage céphalique pouvant évoquer un gliome secondaire.

Dans le groupe contrôle, l'âge des patients au diagnostic allait de 19 à 79 ans. Dans le groupe FGFR, il allait de 18 à 78 ans. L'âge moyen au diagnostic était significativement plus élevé dans le groupe FGFR ([Tableau 1](#)). Pour tous les patients, l'état général au diagnostic était préservé et permettait la réalisation des traitements de première ligne recommandés au moment du diagnostic anatomopathologique.

Les caractéristiques cliniques et, pour les patients atteints d'un glioblastome, les traitements de première ligne sont résumés dans le [Tableau 1](#).

	Cas (n=16)	Contrôles (n=36)	
<b>Sexe</b>			
Féminin	n=7 (43.75%)	n= 13 (36.11%)	
Masculin	n= 9 (56.25%)	n= 23 (63.89%)	p= 0.60
<b>Age au diagnostic, années</b>			
Moyenne (écart-type)	54.38 (16.76)	43.72 (12.82)	<b>p= 0.015</b>
<b>Score OMS au diagnostic</b>			
Médiane [IQR]	0 [0-1]	0 [0-1]	p= 0.84
<b>Diagnostic anatomopathologique</b>			
Glioblastome	n= 16 (100%)	n= 30 (83.3%)	
Astrocytome G4	n= 0	n= 3 (8.3%)	
Astrocytome G3	n= 0	n= 3 (8.3%)	
<b>Etendue de la résection</b>			
Maximale	n= 9 (56.25%)	n= 21 (58.33%)	
Submaximale	n= 4 (25%)	n= 6 (16.67%)	
Biopsie	n= 3 (18.75%)	n= 9 (25%)	
<b>Première ligne de traitement après chirurgie<sup>†</sup> et adjuvant</b>			
RT + TMZ concomitant	n= 12 (75%)	n= 26 (87%)	
Autre traitement	n= 4 (25%)	n= 4 (13%)	

*Tableau 1 : Caractéristiques et première ligne de traitement de la population étudiée ; \*pas de prise en compte de la résection supra maximale qui n'était pas précisément définie au moment de la prise en charge chirurgicale de la plupart des patients de l'étude ; †seulement pour les patients présentant un glioblastome selon l'OMS 2021.*

## 2 Analyse de survie

Quarante-quatre patients ont présenté une première progression selon les critères RANO sur la période choisie pour l'étude : 33 dans le groupe contrôle et 11 dans le groupe FGFR.

La **médiane de survie sans progression (SSP)** était de 11 mois dans le groupe FGFR et 12 mois dans le groupe contrôle. Il n'y avait pas de différence statistique entre les deux groupes (HR=0.975, IC95% [0.475-2.004],  $p=0.95$ , [figure 7](#)). Cette absence de différence persistait après ajustement sur les potentiels facteurs de confusion : l'âge au diagnostic et l'étendue de la résection (HR = 0.942, IC95% [0.446-1.991],  $p = 0.88$ ). Nous n'avons pas pris en compte dans cette analyse le statut MGMT et le score OMS au diagnostic, autres facteurs pronostiques connus, qui étaient répartis de manière équitable entre les groupes. Une analyse de la SSP entre le sous-groupe de patients FGFR atteints d'un glioblastome (16/16 patients) et le sous-groupe de patients contrôles atteints d'un glioblastome (30/36) a été réalisée, à nouveau sans différence statistiquement significative (HR=1.081, IC95% [0.503-2.323],  $p=0.84$ ).

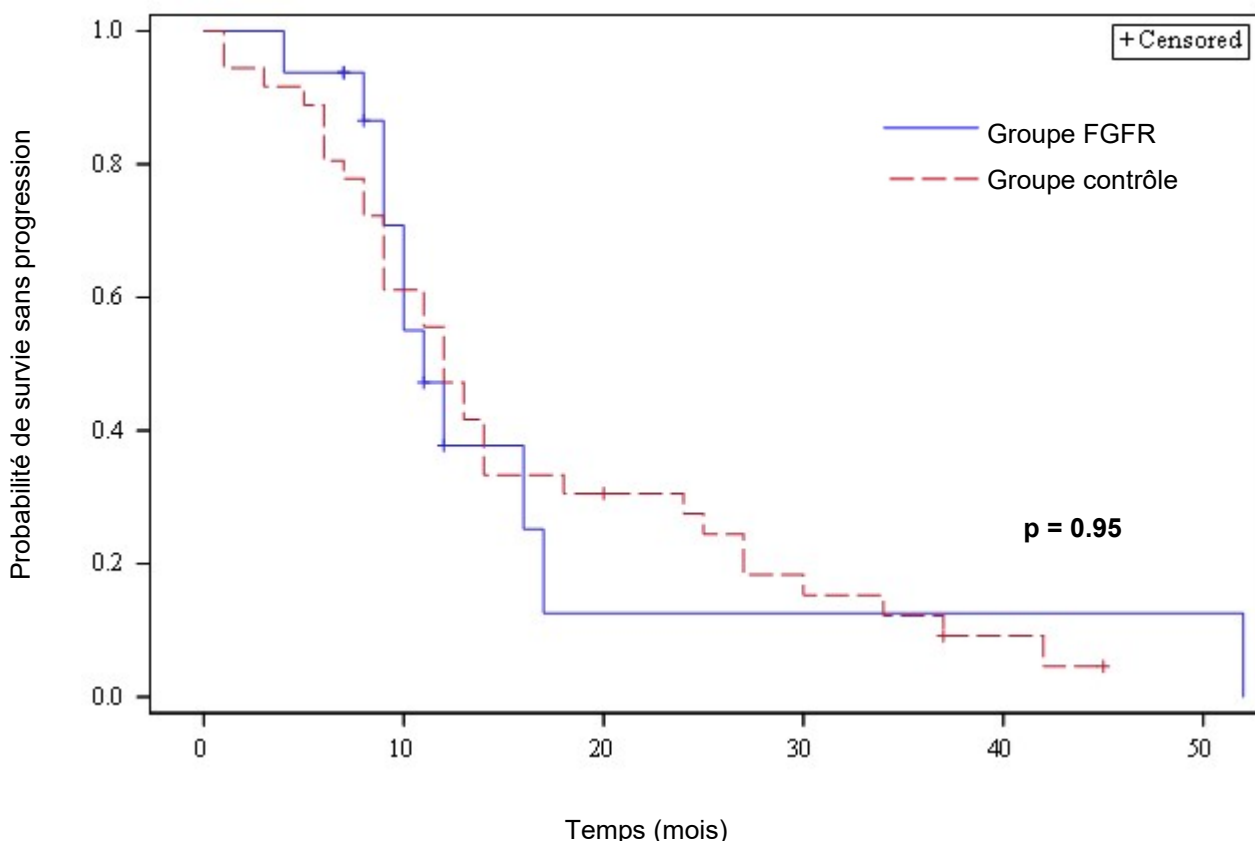


Figure 7 : Courbe de Kaplan Meier de survie sans progression



Au total, 29 patients sont décédés sur la période de l'étude : 23 dans le groupe contrôle et 6 dans le groupe FGFR. La **médiane de survie globale** était de 36 mois dans le groupe FGFR et 31 mois dans le groupe contrôle. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes (HR = 0.70, IC95% [0.268-1.865],  $p=0.48$ , [figure 8](#)).

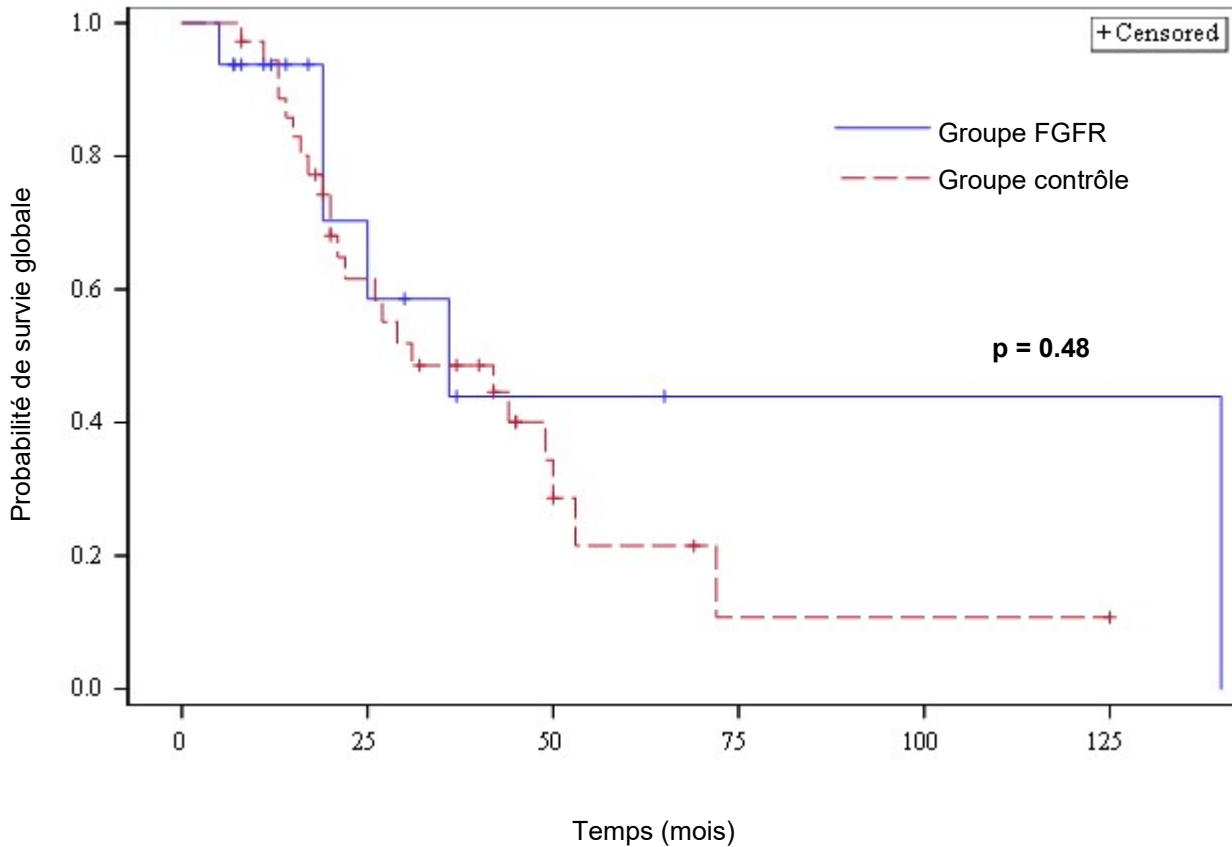


Figure 8 : Courbe de Kaplan Meier de survie globale

### 3 Présentation clinique au diagnostic

Dans les deux groupes, le **mode de découverte le plus fréquent** des lésions gliales était la crise d'épilepsie, concernant 7 patients dans le groupe FGFR et 19 dans le groupe contrôle (respectivement 43.75 et 52.78%,  $p=0.55$ ). Le deuxième motif de consultation le plus fréquent était le syndrome d'HTIC, présent pour 5 patients dans le groupe FGFR et 16 dans le groupe contrôle (respectivement 31.25 et 44.44%,  $p=0.37$ ). Dans l'ensemble, il n'y avait pas de différence statistiquement significative sur la fréquence des différents signes cliniques au diagnostic.

Toutes les présentations cliniques au diagnostic et leurs fréquences respectives sont représentées [figure 9](#).

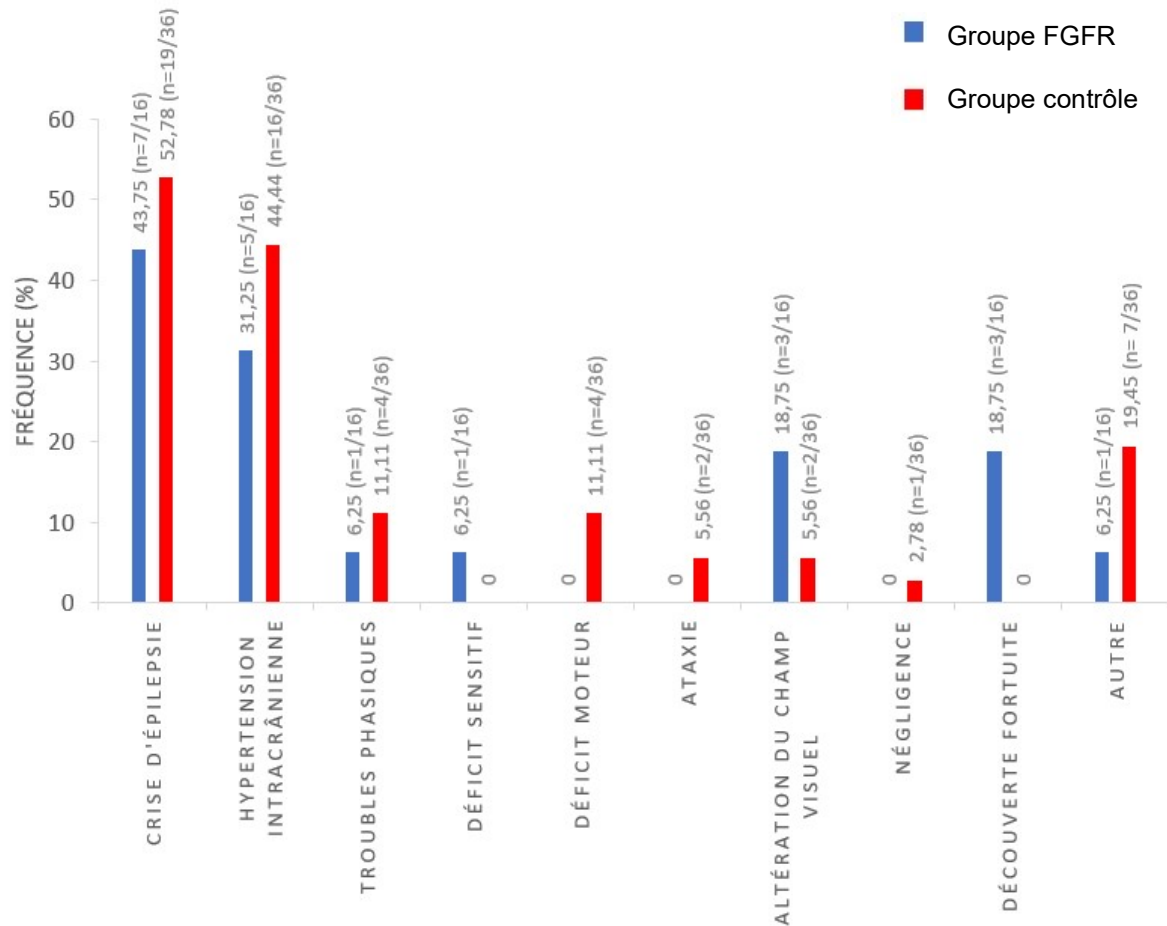


Figure 9 : Fréquences de chaque présentation clinique au diagnostic pour les groupes FGFR et contrôle ; sont compris dans "autre" : atteinte de nerf crânien, syndrome confusionnel, troubles cognitifs, examen d'imagerie systématique sur antécédent

Nous avons également étudié la différence de temps (en semaines) écoulé entre les premiers signes cliniques et le diagnostic entre les deux groupes. Le temps médian entre les premiers symptômes et le diagnostic était de 6 semaines dans le groupe FGFR (IQR [4-12]) et de 3 semaines dans le groupe contrôle (IQR [2-6]). Il était statistiquement plus long dans le groupe FGFR ( $p < 0.01$ ).

## 4 Caractéristiques radiologiques

Quarante-trois pour cent des gliomes avec transcrite de fusion impliquant FGFR étaient localisés en pariétal (7/16). Concernant les autres localisations : 3 étaient frontaux, 3 temporaux et 3 occipitaux. Dans le groupe contrôle, les gliomes envahissaient principalement les lobes temporaux (14/36) et frontaux (11/36). Par ailleurs, 7 gliomes ont été retrouvés au sein du lobe pariétal, 2 au sein du lobe occipital, et 2 étaient multifocaux.

46.15% (6/16) des gliomes FGFR et 37.5% (12/36) des gliomes contrôles présentaient des remaniements hémorragiques. Il n'y avait pas d'image en restriction de diffusion au sein des tumeurs FGFR, et 2 au sein des gliomes contrôles.

Parmi les patients du groupe contrôle, 5 tumeurs seulement ne présentaient pas de prise de contraste sur la première IRM cérébrale : 2 astrocytomes de grade 3 et 3 glioblastomes sur critères moléculaires. Deux patients dans le groupe FGFR ne présentaient pas de prise de contraste sur l'IRM cérébrale au diagnostic. Tous les deux présentaient un glioblastome sur critères moléculaires.

Pour chaque patient dont l'IRM au diagnostic était disponible, une évaluation du **volume tumoral au diagnostic** a été réalisée grâce à l'outil de délimitation manuelle d'ITK SNAP ([figure 10](#)). Le volume médian au diagnostic était de 14.25mm<sup>3</sup> (IQR [2.56-44.37]) dans le groupe FGFR et de 30.42mm<sup>3</sup> (IQR [15.37-55.25]) dans le groupe contrôle. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes (p=0.11).

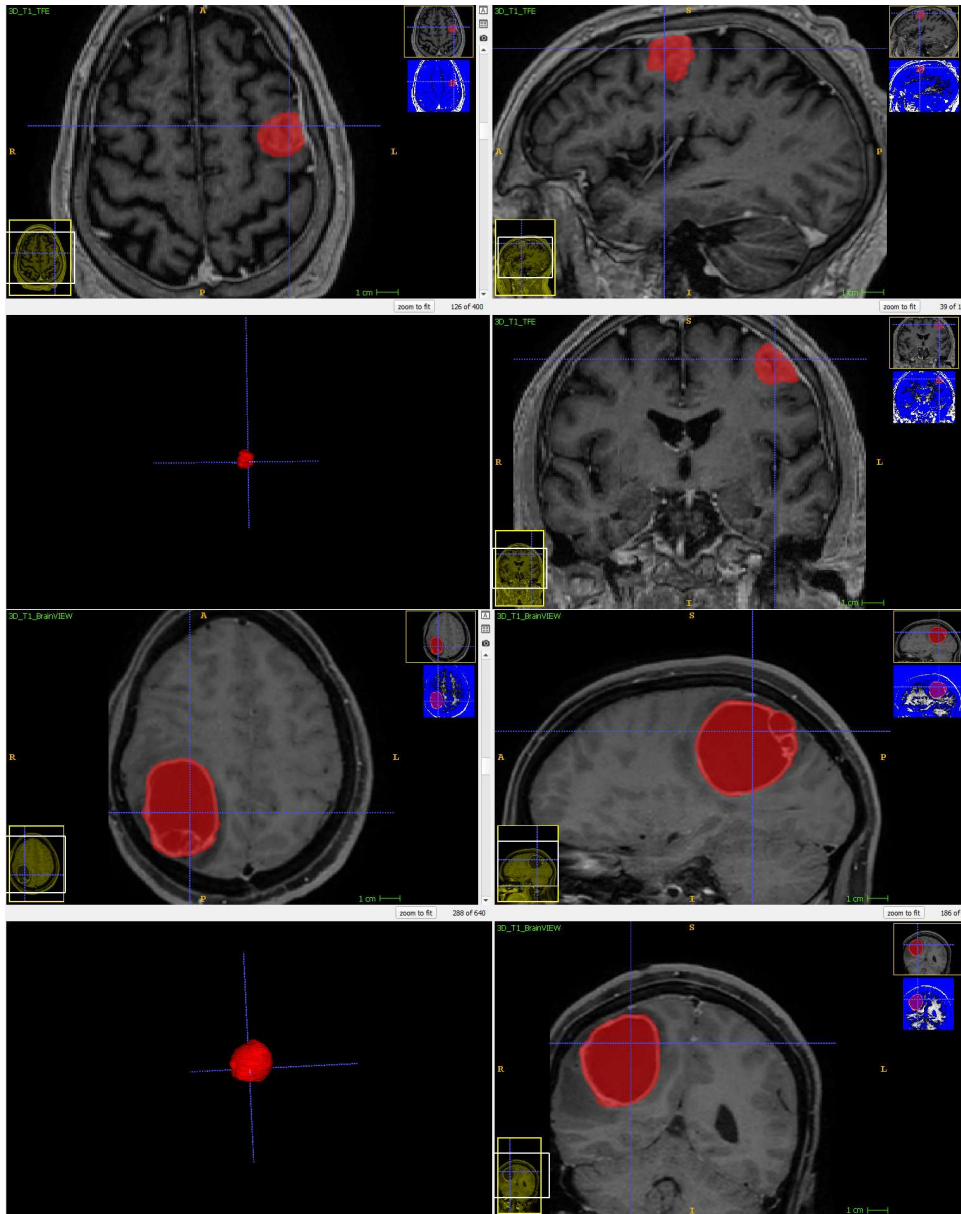


Figure 10 : Exemple d'évaluation du volume grâce à l'outil de délimitation manuelle d'ITK SNAP

## 5 Immunohistochimie et dépistage des anomalies FGFR3

Trois patients du groupe contrôle uniquement avaient une immunohistochimie IDH1<sup>R132H</sup> positive. Pour tous, la mutation a également été retrouvée en NGS. Aucun patient du groupe FGFR3 n'avait d'immunohistochimie IDH1<sup>R132H</sup> positive.

Six patients seulement présentaient une perte d'expression d'ATRX : 1 dans le groupe FGFR atteint d'un glioblastome avec un transcrite de fusion F3T3, 5 dans le groupe contrôle, 4 patients atteints d'astrocytomes et 1 atteint d'un glioblastome.

**L'immunohistochimie FGFR3** était significativement plus fréquemment positive dans le groupe FGFR que dans le groupe contrôle : 92% contre 5.56% de positivité respectivement ( $p < 0.0001$ ).

La sensibilité de l'immunohistochimie FGFR3 pour la détection des transcrits de fusion FGFR3 était de 92% et sa spécificité de 94%. Un patient seulement du groupe FGFR, présentant un transcrit de fusion FGFR3-CGNL1 atypique, était négatif pour l'immunohistochimie FGFR3. Deux patients contrôles avaient une immunohistochimie FGFR3 positive. Après recherches complémentaires, l'un d'entre eux présentait une mutation FGFR3 K650E. Des recherches moléculaires plus approfondies n'ont pas pu être menées pour le second, par manque de matériel génétique permettant la réalisation d'un NGS complémentaire.

## 6 Résultats de biologie moléculaire

Six patients ( $n=6/35$ ) présentaient une mutation IDH dans le groupe contrôle : 4 IDH1<sup>R132H</sup>, 1 IDH1<sup>R132C</sup>, 1 IDH1<sup>R132S</sup>. Aucun patient du groupe FGFR ne présentait de mutation IDH. Aucun patient de la cohorte entière ne présentait de codélétion 1p/19q.

La mutation du promoteur de TERT n'a été recherchée que pour 11 patients de la cohorte, à chaque fois afin de compléter le diagnostic intégré selon la classification OMS 2021. Parmi ces patients, 8 étaient du groupe FGFR, dont 7 étaient revenues positives, et 3 étaient du groupe contrôle, toutes les 3 positives. Aucune mutation BRAF n'a été retrouvée dans la cohorte ( $n=0/48$ ).

L'amplification MDM2 a été retrouvée chez 2 patients du groupe FGFR ( $n=2/12$ ) et 2 patients du groupe contrôle ( $n=2/33$ ). L'amplification CDK4 a été retrouvée chez 2 patients dans le groupe FGFR ( $n=2/12$ ) et 3 patients dans le groupe contrôle ( $n=3/33$ ).

Aucune amplification EGFR n'a été retrouvée dans le groupe FGFR ( $n=0/12$ ), contre 13 positives dans le groupe contrôle ( $n=13/55$ ). Cinq transcrits EGFRvIII ont été trouvés dans le groupe contrôle uniquement.

Pour toutes les autres données de biologie moléculaire, aucune différence statistiquement significative n'a été mise en évidence ([Tableau 2](#)).

	Cas (n=16)	Contrôles (n=36)	
<b>Hyperméthylation MGMT</b> (9 données manquantes)	7/13 (50%)	12/30 (40%)	p= 0.55
<b>Gain 7 perte 10</b> (3 données manquantes)	9/16 (56.25%)	20/33 (60.61%)	p= 0.77
<b>Délétion homozygote de CDKN2A</b> (7 données manquantes)	4/12 (33.33%)	14/33 (42.42%)	p= 0.74
<b>Mutation P53</b> (6 données manquantes)	1/12 (8.33%)	13/34 (38.24%)	p= 0.07
<b>Mutation PTEN</b> (4 données manquantes)	3/14 (21.43%)	14/34 (41.18%)	p= 0.32

Tableau 2 : Fréquence et comparaison des principales données de biologie moléculaire

## 7 Fusions FGFR atypiques

Cette étude a permis l'identification de 2 transcrits de fusion FGFR atypiques : un transcrit FGFR3-CGNL1 et 1 transcrit FGFR2-TACC2. Les caractéristiques des patients en question sont résumées [figure 11](#).

<p><b>Vignette 2 : Patient FGFR3-CGNL1</b></p> <p><b>Age au diagnostic</b> : 62 ans  <b>Sexe</b> : Féminin  <b>OMS au diagnostic</b> : 0  <b>Mode de découverte</b> : Découverte fortuite  <b>Localisation tumorale</b> : Temporale droite  <b>Anatomopathologie OMS 2021</b> : Glioblastome  <b>Prise en charge initiale</b> : Exérèse chirurgicale maximale et protocole STUPP  <b>Progression</b> : Pas de progression  <b>Survie</b> : Actuellement en vie  <b>Durée de suivi</b> : 8 mois  <b>Anomalies moléculaires retrouvées</b> : Mutation promoteur TERT, Gain chromosome 7 et perte chromosome 10</p>	<p><b>Vignette 1 : Patient FGFR2-TACC2</b></p> <p><b>Age au diagnostic</b> : 18 ans  <b>Sexe</b> : Masculin  <b>OMS au diagnostic</b> : 0  <b>Mode de découverte</b> : Crise épilepsie + HTIC  <b>Localisation tumorale</b> : Temporale droite  <b>Anatomopathologie OMS 2021</b> : Glioblastome  <b>Prise en charge initiale</b> : Exérèse chirurgicale complète et protocole STUPP  <b>Progression</b> : Survie sans progression 16mois  <b>Survie</b> : Actuellement en vie  <b>Durée de suivi</b> : 30 mois  <b>Anomalies moléculaires retrouvées</b> : Gain chromosome 7 et perte chromosome 10</p>
--	--

Figure 11 : Résumé des caractéristiques des deux patients présentant une fusion FGFR atypique

**Concernant la patiente présentant une fusion FGFR3-CGNL1** : il s'agissait d'une patiente diagnostiquée à 62 ans d'un glioblastome et prise en charge au CHU de Lille. Elle n'avait pas d'histoire personnelle ou familiale de cancer, pas de consommation alcoolique ou tabagique. Son état général au diagnostic était préservé avec un score OMS au diagnostic de 0.

Elle présentait un glioblastome temporal droit, découvert de manière fortuite en février 2019, sur une IRM cérébrale réalisée dans un contexte de vertiges. Elle apparaissait initialement sous la forme d'un hypersignal FLAIR isolé de 4.78mm<sup>3</sup>. Elle a d'abord été surveillée pendant 3 ans, jusqu'à progression significative avec apparition d'une prise de contraste ([Figure 12](#)).

Elle a alors été prise en charge chirurgicalement en avril 2022 avec exérèse complète. Les résultats anatomopathologiques étaient en faveur d'un glioblastome selon la classification OMS 2021 (pas de prolifération microvasculaire ou de nécrose mais gain du chromosome 7 et perte du chromosome 10). Les autres caractéristiques moléculaires retrouvées étaient les suivantes : pas d'hyper-méthylation MGMT, pas d'amplification MDM2, CDK4 ou EGFR, pas de délétion homozygote de CDKN2A, pas de mutation BRAF, P53 ou PTEN. L'immunohistochimie FGFR3 étaient initialement considérée négative. Cependant, une relecture a mis en doute ce résultat et une analyse du transcriptome a été réalisée permettant la découverte du transcrit FGFR3-CGNL1.

Par la suite, elle a été prise en charge selon le protocole STUPP. Elle était toujours en vie et sans progression à la fin de la période d'étude, après 8 mois de suivi.



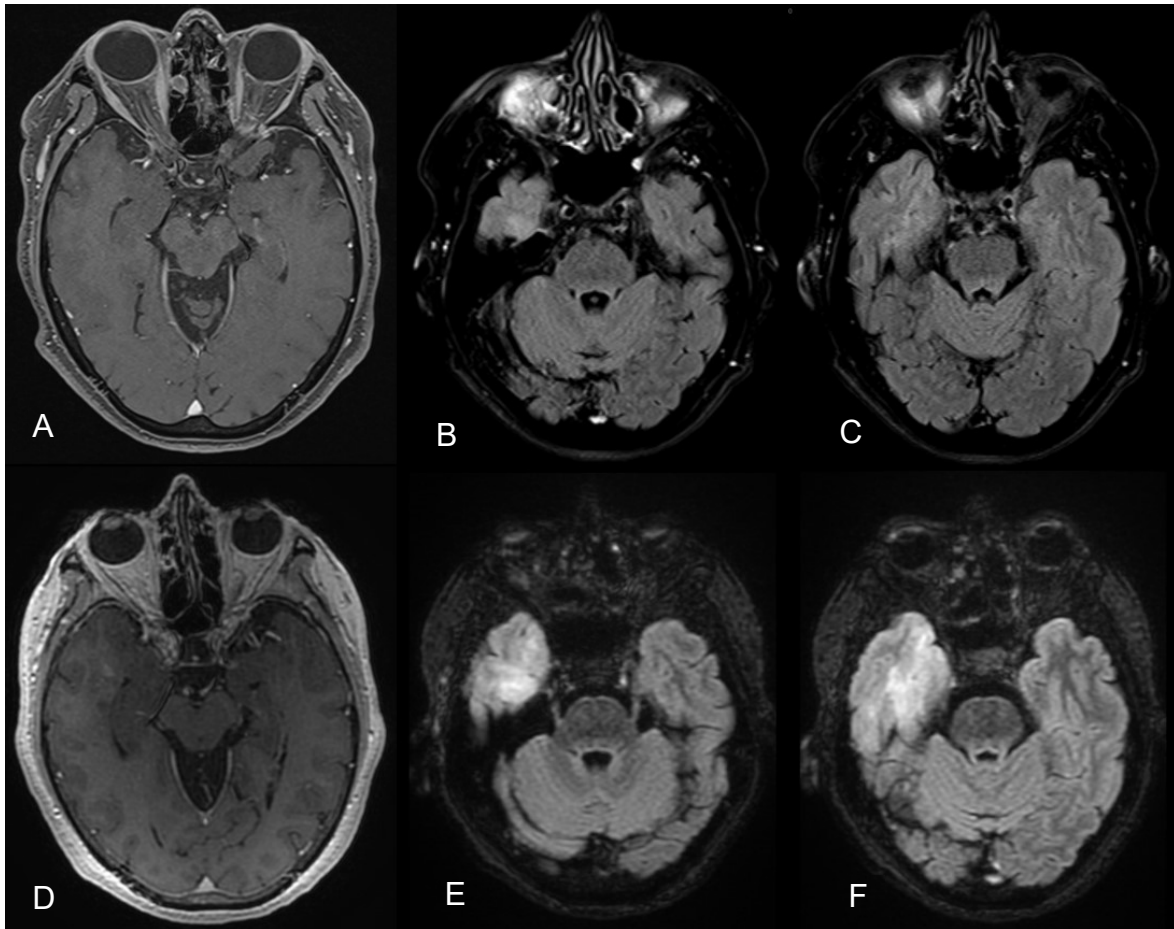


Figure 12 : IRM au diagnostic avant chirurgie d'une patiente présentant un transcrite de fusion FGFR3-CGNL1 ; Images ABC : première IRM de février 2019, A : Séquence T1 avec injection de gadolinium, B et C : séquences FLAIR ; Images DEF : IRM réalisée juste avant la prise en charge chirurgicale en avril 2022, D : séquence T1 avec injection de gadolinium, E et F : séquences FLAIR

**Concernant le patient FGFR2-TACC2** : il s'agissait d'un homme pris en charge au centre de lutte contre le cancer Henri Becquerel de Rouen et diagnostiqué à 18 ans d'un glioblastome. Il n'avait pas d'antécédent personnel de cancer. Il avait cependant 2 ascendants au premier degré atteints de cancer, sans plus de précision disponible. Il ne présentait pas de consommation alcoolique ou tabagique. L'état général au diagnostic était préservé avec un score OMS à 0.

Il présentait un glioblastome temporal droit découvert à la suite d'une crise d'épilepsie focale, associée à des signes d'HTIC.

Il a été pris en charge chirurgicalement 4 semaines après le début des symptômes, en juin 2020, avec exérèse complète. Les résultats anatomopathologiques étaient en faveur d'un glioblastome selon la classification OMS 2021 (gain du chromosome 7 et perte du chromosome 10). Les autres caractéristiques moléculaires étaient les suivantes : pas d'hyperméthylation du promoteur MGMT, pas de mutation TERT, BRAF ou PTEN.

À la suite de la prise en charge chirurgicale un protocole STUPP a été conduit. Il a présenté une récurrence de sa maladie après 16 mois de suivi. Une nouvelle prise en charge chirurgicale a été réalisée, suivi d'un traitement adjuvant par chimiothérapie. Il était toujours en vie à la fin de la période d'étude, après 30 mois de suivi.



# Discussion

Les mécanismes de gliomagenèse restent imparfaitement élucidés. Pour une anatomopathologie identique, l'évolution clinique et la survie des patients présentant un gliome de haut grade reste très variable d'un individu à un autre. Une meilleure compréhension de leur physiopathologie est nécessaire, et les avancées techniques en biologie moléculaire apportent de nouveaux outils de caractérisation. L'étude du matériel génétique des gliomes en séquençage haut débit a permis l'identification de multiples fusions géniques. Parmi elles, les fusions FGFR et notamment les fusions F3T3 sont retrouvées de manière récurrente et pourraient constituer des cibles thérapeutiques intéressantes. Par ce travail de thèse, nous avons souhaité étudier de manière plus approfondie leur pronostic et leurs caractéristiques.

Bien que nos résultats semblent suggérer un allongement de la survie globale médiane des patients présentant un transcrite de fusion FGFR (36 mois pour les patients FGFR contre 31 mois pour les patients contrôle), nous n'avons pas retrouvé de différence statistiquement significative entre les groupes pour la survie globale et la survie sans progression, y compris après ajustement sur les facteurs de confusion potentiels pour cette dernière (âge au diagnostic, degré de résection). Nous n'avons pas non plus mis en évidence de différence statistiquement significative de survie sans progression au sein des sous-groupes de patients ne présentant que des glioblastomes.

Différentes études s'étaient intéressées au pronostic de ces patients. Tout d'abord, une étude de **2020 de Di Stephano et al**, après une recherche systématique de fusions FGFR-TACC parmi 1162 gliomes diffus de l'adulte, retrouvait un pronostic significativement plus favorable pour les patients F3T3 que pour les patients contrôles (SG médiane 29.1 mois contre 20.5 mois respectivement,  $p=0.04$ ). [50]

**Également en 2020, Mata et al** ont mené une étude rétrospective avec une recherche systématique de transcrits de fusion F3T3 pour tous les patients diagnostiqués d'un glioblastome entre janvier 2015 et décembre 2019. La médiane de survie globale semblait légèrement plus longue dans le groupe FGFR, à 26.6 mois contre 18.5 mois, sans différence statistiquement significative en analyse univariée (HR = 0.69, IC95% [0.46-1.04]) ou multivariée (HR = 0.68, IC95% [0.45-1.03]). [46]

Il est possible que notre étude, malgré son caractère multicentrique, tout comme celle de Mata et al, manque de puissance statistique pour mettre en évidence une différence significative sur la survie globale entre les deux groupes de patients. De plus, à la date choisie de fin d'étude et de censure des données, nous avons observé seulement 6 décès sur 16 patients dans le groupe FGFR contre 23 décès sur 36 patients dans le groupe contrôle. La poursuite du suivi des patients sera donc nécessaire pour affirmer ou non une éventuelle différence entre les deux groupes.

Par ailleurs, notre travail souffre d'un biais de sélection pouvant contribuer à ce résultat. En effet, contrairement aux deux études de 2020, nous n'avons pas réalisé de recherche systématique de transcrite de fusion pour tous les patients diagnostiqués d'un gliome diffus de l'adulte sur une période déterminée. Nous avons inclus uniquement les patients pour lesquels cette recherche avait été demandée dans le cadre de leur prise en charge standard. Or, à l'heure actuelle, il n'existe pas de recommandation définissant la population de patient devant systématiquement

bénéficier d'une recherche de transcrits de fusion, qui est généralement réalisée à la demande de l'oncologue, afin de démasquer de potentielles cibles thérapeutiques chez des patients jeunes et en bon état général, ou à la demande de l'anatomopathologiste en fonction de ses constatations au diagnostic. Cependant, depuis 2021 environ, la mise en place plus systématique de l'immunohistochimie FGFR3 a contribué à élargir l'indication de recherche de transcrit de fusion aux patients présentant une immunohistochimie positive, quel que soit leur âge ou état général. Au vu du faible nombre de faux positif pour l'immunohistochimie FGFR3, notre groupe FGFR est logiquement constitué de patients plus âgés que notre groupe contrôle, toujours constitué préférentiellement de patients jeunes et en bon état général, donc de bon pronostic. Combiné au manque de puissance statistique, ceci pourrait expliquer l'absence de différence statistiquement significative pour la survie globale retrouvée dans notre étude.

Par ailleurs, ce biais de sélection nous paraît être la principale explication à la différence statistiquement significative **d'âge au diagnostic** observée entre les deux groupes, les patients FGFR étant plus âgés que les patients contrôles (54 contre 43 ans). Cette différence pourrait également être expliquée par l'anatomopathologie des gliomes présents dans les groupes. En effet, le groupe FGFR n'est constitué que de patients atteints de glioblastome, tandis que le groupe contrôle comprend également 3 patients présentant un astrocytome de grade 3 et 3 patients présentant un astrocytome de grade 4.

Une différence réelle d'âge au diagnostic entre les deux groupes n'est cependant pas exclue. Dans leur étude de 2020, Mata et al retrouvaient une différence d'âge au diagnostic entre leurs deux cohortes, avec un âge plus élevé des patients FGFR (63.6 ans contre 59.4 ans). [46]

L'un des résultats intéressants de notre étude est le suivant : tous les patients présentant un gliome avec transcrit de fusion impliquant FGFR étaient atteints d'un **glioblastome selon la classification OMS 2021**. Depuis la découverte des fusions géniques impliquant FGFR, notamment des fusions F3T3, il a toujours été rapporté que les gliomes avec transcrit de fusion FGFR étaient IDH sauvage. [45,48–50] Cependant, certaines de ces études rapportaient l'expression de ces transcrits par des tumeurs avec des critères anatomopathologiques de gliomes de plus bas grade (grade 2 ou 3) selon les anciennes classifications OMS 2007 et 2016. [48–50] Depuis l'introduction de la classification OMS 2021 des tumeurs du système nerveux central, les gliomes IDH sauvages avec caractéristiques anatomopathologiques de grade 2 ou 3 n'existent plus. Certaines de ces lésions sont reclassées en glioblastome grâce aux critères moléculaires (mutation du promoteur de TERT, amplification EGFR, gain du chromosome 7 et perte du 10). Il est donc possible que les gliomes de ces études présentant un aspect anatomopathologique de bas grade, se révèlent être des glioblastomes selon la classification OMS 2021.

Cependant, une étude de 2022 de Métails et al met en doute cette hypothèse. Ils ont constaté que certains gliomes présentant une fusion F3T3, avaient un aspect anatomopathologique compatible avec des gliomes de bas grade de type pédiatrique selon la classification OMS 2021. Ils ont tenté de caractériser ces tumeurs et en ont identifié 14 cas adultes et pédiatriques. Parmi ces 14 tumeurs, 6 avaient une mutation du promoteur de TERT. Il s'agissait donc de glioblastomes selon la classification OMS

2021. Pour les 8 restantes, le diagnostic de gliome diffus de bas grade de type pédiatrique selon la classification OMS 2021 a été retenu. [67] Ainsi, si les fusions impliquant FGFR semblent constituer, dans la majorité des gliomes, un argument en faveur de l'existence d'un glioblastome, certains cas avec aspect anatomopathologique de bas grade, sans argument moléculaire pour un glioblastome selon la classification OMS 2021, posent un problème diagnostique et devraient bénéficier d'une recherche moléculaire étendue et d'un méthylome afin de poursuivre leur étude et leur caractérisation.

A propos de **l'immunohistochimie FGFR3**, nous avons retrouvé des valeurs intéressantes de sensibilité et spécificité pour le dépistage d'une fusion impliquant FGFR3, respectivement de 92 et 94%. Des résultats similaires ont été retrouvés dans des études antérieures. [48–50] En 2017, une étude s'est intéressée à l'intensité de l'immunomarquage de FGFR3. Un immunomarquage fort était retrouvé pour toutes les tumeurs présentant une fusion FGFR3 (F3T3 et FGFR3-CAMK2A), avec 5 faux positifs, sans fusion sous-jacente. Aucune fusion FGFR3 n'a été retrouvée pour les patients présentant un immunomarquage considéré modéré ou faible. [56] De manière contradictoire, l'un de nos patients présentant une fusion FGFR3-CGNL1 atypique, avait une immunohistochimie FGFR3 douteuse, considérée négative à la première lecture. L'immunohistochimie FGFR3 semble, malgré tout, constituer un test de dépistage valide des fusions impliquant FGFR3. De notre point de vue, les patients présentant un immunomarquage fort mais également modéré devraient bénéficier d'une recherche de transcrite FGFR3, afin d'éviter les faux négatifs.

Pour l'un de nos patients contrôles, l'immunohistochimie FGFR3 positive a révélé **une mutation FGFR3 K650E**. Il s'agit d'une mutation oncogénique principalement décrite dans le myélome multiple. Elle entraîne une activation constitutive du domaine kinase de FGFR3. [68] Après une recherche dans la littérature existante, un unique autre cas de patient atteint de gliome et présentant cette mutation FGFR3 K650E a été retrouvé, participant à une étude de phase 2 évaluant l'Infigratinib, une thérapie ciblée anti FGFR1 à 3. Ce patient a présenté une réponse favorable à l'Infigratinib, avec une stabilisation de sa maladie pendant 12.9 mois. [57] L'immunohistochimie FGFR3 pourrait donc constituer non seulement un test de dépistage des fusions impliquant FGFR3, mais également de diverses anomalies moléculaires de FGFR3 engendrant sa surexpression, qui pourraient se révéler des cibles thérapeutiques intéressantes.

Concernant les **altérations de biologie moléculaire classiquement rencontrées dans les gliomes**, cette étude nous a permis de confirmer la relation mutuellement exclusive des fusions FGFR avec l'amplification EGFR, déjà retrouvée antérieurement. [48–50,56] Contrairement à d'autres [48–50], mais de manière similaire à Mata et collaborateurs [46], nous n'avons pas retrouvé d'augmentation de la fréquence des amplifications MDM2 et CDK4 associée aux fusions FGFR. Nous n'avons pas mis en évidence de variation de la fréquence de l'hyperméthylation MGMT entre les groupes, ce qui est concordant avec les études de 2015 de Di Stephano et al [48] et de Mata et al [46], mais discordant avec l'étude de 2020 de Di Stéphanio et al [50] qui retrouvaient une fréquence moindre d'hyperméthylation MGMT dans le groupe FGFR. Nos résultats étaient en faveur d'une tendance à une moindre

fréquence des mutations somatiques de p53 dans le groupe FGFR. Ce résultat était retrouvé de manière significative par Mata et al dans leur étude de 2020. [46]

**Les présentations cliniques** au diagnostic étaient similaires entre les groupes, la plus fréquente étant la crise d'épilepsie. Trois patients du groupe contrôle se sont vu découvrir leurs tumeurs de manière fortuite. Par ailleurs, le temps entre le début des symptômes et le diagnostic était significativement plus long dans le groupe FGFR que dans le groupe contrôle. Nous avons également noté que tous les glioblastomes avec transcrite de fusion FGFR étaient sus-tentoriels, et principalement localisés dans le lobe pariétal, tandis que les tumeurs du groupe contrôle étaient plus souvent retrouvées dans le lobe temporal. En 2018, Bielle et al ont retrouvé une prédominance pariétale et frontale des tumeurs avec fusion FGFR [49] et en 2020, Di Stephano et al décrivaient une fréquence moindre des gliomes avec fusion FGFR au sein de régions fonctionnelles. [50] Ces résultats nous semblent concordants avec nos observations : par l'infiltration de régions peu fonctionnelles, les patients présentant un gliome avec fusion FGFR pourraient présenter une clinique plus fruste et aspécifique, nécessitant plus de temps pour poser l'indication d'une imagerie cérébrale et le diagnostic. La poursuite des analyses cliniques de ces tumeurs sera nécessaire pour confirmer ces observations.

Nous n'avons pas mis en évidence d'autre différence significative sur les **caractéristiques radiologiques** de ces tumeurs entre les deux groupes. Des comparaisons radiologiques ont été également menées en 2020 par Di Stephano et al. Aucune différence dans le volume tumoral n'a été relevée. En revanche, certaines caractéristiques IRM semblaient plus spécifiques des gliomes avec fusion FGFR3 : des marges tumorales mal définies, sans prise de contraste, associées à un œdème péri lésionnel plus marqué. Ils ont également retrouvé des arguments pour une signature radiomic spécifique des gliomes F3T3. [50]

Par cette étude, nous avons retrouvé **2 transcrits de fusion atypiques impliquant FGFR** : un transcrite FGFR3-CGNL1 et un transcrite FGFR2-TACC2.

A notre connaissance, il s'agit de la première description du **transcrite FGFR3-CGNL1**. Le gène CGNL1 code une protéine de la famille des cingulines, localisée physiologiquement au niveau des différentes jonctions cellulaires et aidant leur assemblage. Elle est naturellement plus exprimée au niveau rénal. [69] La base de données Mitelman nous a permis de retrouver 3 autres cas de fusion impliquant CGNL1 décrits dans différents cancers : 2 fusions POLG-CGNL1 au sein d'adénocarcinomes hépatiques et une fusion CGNL1-TCF12 au sein d'un cancer du sein. Ces fusions ont été identifiées dans le cadre de 3 études distinctes réalisant un séquençage systématique de nombreux échantillons tumoraux issus de divers types de cancer, afin d'identifier de nouvelles anomalies moléculaires récurrentes. L'implication physiopathologique de CGNL1 dans la gliomagenèse reste inconnue.

Concernant le **transcrite FGFR2-TACC2**, un autre cas de patient présentant un gliome de haut grade avec cette fusion a été retrouvé dans la littérature. Il s'agissait d'une patiente de 48 ans, ayant présenté une tumeur gliale particulièrement agressive. Immédiatement après deux chirurgies de résection, elle a présenté une altération clinique franche empêchant tout traitement adjuvant et entraînant son décès après 10 semaines d'évolution seulement. [55] Cette présentation est particulièrement

différente de celle de notre patient, plus jeune, diagnostiqué à 18 ans d'un glioblastome avec un transcrite de fusion FGFR2-TACC2, dont l'évolution clinique est, pour le moment, beaucoup moins agressive. Il est toujours en vie après 30 mois d'évolution. La recherche et la description de nouveaux cas seront nécessaires afin de mieux évaluer cette population de patients.

Nous devons reconnaître **plusieurs limites** à notre étude. Tout d'abord, il s'agit d'une étude rétrospective comprenant un effectif modéré de patients. Le recueil de données est basé sur le dossier médical informatisé, pouvant entraîner des lacunes dans la collection des informations. Plusieurs données étaient manquantes, par exemple la méthylation MGMT pour 9 patients. Par ailleurs, la durée de suivi de certains patients du groupe FGFR, imposée par les bornes de l'étude fixées a priori, était parfois courte. Il est ainsi possible que nous manquions de recul pour certaines données telles que la survie globale. Comme précédemment mentionné, notre étude présentait un biais de sélection différentiel qui a pu fausser l'analyse pronostique. La méthode idéale aurait été celle d'une recherche systématique des fusions FGFR pour tous les patients diagnostiqués d'un gliome diffus de l'adulte sur un intervalle de temps déterminé a priori. Enfin, les données radiologiques et notamment l'évaluation du volume n'ont pas été relues par un radiologue expérimenté.

En revanche, **certaines forces de notre étude** peuvent être soulignées. Il s'agissait d'une étude multicentrique. Un NGS et une immunohistochimie FGFR3 ont été systématiquement réalisés pour tous les patients de l'étude. Il s'agit de l'une des rares études à assurer une description aussi exhaustive, notamment sur le plan clinique, des patients présentant un gliome avec un transcrite de fusion impliquant FGFR. C'est également l'une des seules études s'intéressant à ces gliomes avec une reclassification systématique des patients selon la classification OMS 2021, apportant une nouvelle vision de ces tumeurs selon les critères diagnostics les plus récents.

Notre étude **soulève de nombreuses questions** toujours en attente de réponses.

L'amélioration des techniques de biologie moléculaire a permis la découverte de multiples fusions géniques, mais leur impact réel sur la carcinogénèse reste inconnu, particulièrement pour les fusions non récurrentes telles que le transcrite FGFR3-CGNL1 de notre étude. L'importance physiopathologique de ces anomalies moléculaire et leur intérêt thérapeutique n'est pas certain. Une revue de la littérature de 2019, qui faisait une synthèse des principales fusions géniques connues en cancérologie et ciblables par un traitement, rappelait que, malgré les progrès réalisés dans les méthodes de détection des anomalies moléculaires, le développement de thérapies ciblées demeurait difficile et parfois décevant. [70] Jusqu'à présent, aucun inhibiteur spécifique de FGFR n'a apporté de bénéfice clair en termes de survie, mais nous sommes toujours en attente des résultats de plusieurs études de phase 2.

Comme précédemment décrit, les gliomes et particulièrement les glioblastomes sont des **tumeurs très hétérogènes**, d'un patient à l'autre mais également au sein d'un même patient. Or, la plupart des fusions FGFR de cette étude ont été retrouvées sur le matériel tumoral prélevé au diagnostic de la maladie, mais n'ont pas été recherchées une seconde fois à la récurrence. L'évolution de leur expression au cours de la progression tumorale reste inconnue. Di Stephano et al, dans leur étude de 2015, se sont attachés à rechercher pour l'un des patients, la fusion F3T3 sur du matériel

tumoral prélevé au diagnostic initial et à la récurrence. La fusion F3T3 était présente sur les 2 échantillons. [48] Cette persistance reste cependant à confirmer sur des cas similaires. Cependant, cela semble difficile à mettre en œuvre avec les moyens diagnostics actuels. Confirmer la persistance du transcrite de fusion à la récurrence nécessiterait un nouveau geste chirurgical à risque d'infection, de saignement, mais également avec un risque neurologique. La recherche des fusions géniques dans l'ADN tumoral circulant pourrait être, à terme, un moyen non invasif de s'assurer de leur persistance au cours du temps, mais cette technique nécessite d'être validée pour les fusions géniques en question. [71]

Enfin, une étude de 2023 suggérait l'existence **d'une hétérogénéité tumorale au sein même de la population des gliomes présentant un transcrite de fusion F3T3**. Ayant constaté que certains gliomes présentant une fusion F3T3 avaient des caractéristiques anatomopathologiques de gliome diffus de bas grade de type pédiatrique, ils ont tenté de les caractériser plus précisément. Ils ont, pour cela, réalisé une analyse du méthylome de ces gliomes et de glioblastomes présentant la même fusion F3T3. L'analyse du méthylome est un outil diagnostique et un outil de recherche, aidant à la classification de pathologies tumorales en « groupes tumoraux » homogènes, présentant un profil de méthylation similaire. Elle donne, pour un échantillon tumoral, la probabilité que son profil de méthylation se rapproche de certains « clusters de méthylation » prédéfinis. Une probabilité d'au moins 0.9 est nécessaire pour être réellement informative. Dans cette étude de 2023, 7 échantillons avaient une probabilité supérieure à 0.9 d'appartenir à l'un des groupes de méthylation suivant : gangliogliome, glioblastome IDH-wildtype RTK2, glioblastome IDH wildtype de sous type mésoenchymateux ou tumeur neuroépithéliale dysembryoplasique (DNET). [67] Les gliomes diffus présentant une fusion F3T3, bien qu'exprimant tous la même anomalie moléculaire, démontrent une hétérogénéité épigénétique. Leur caractérisation précise et leur classification nécessitera de nombreuses analyses similaires.

Les recherches dans ce domaine nécessitent d'être poursuivies. Dans un premier temps, une méta analyse des différentes études disponibles ou une étude prospective de grande envergure, semblent nécessaires pour déterminer l'existence ou non d'un pronostic favorable des glioblastomes présentant un transcrite de fusion impliquant FGFR, particulièrement F3T3. Par ailleurs, une large analyse multicentrique avec dépistage systématique des transcrits de fusion impliquant FGFR et réalisation d'une analyse du méthylome, corrélés à l'évolution clinique des patients, serait essentielle pour mieux caractériser ces gliomes. Enfin, d'un point de vue thérapeutique, les résultats de l'étude FIGHT-209 pourraient apporter des données clés sur l'efficacité des thérapies ciblées anti FGFR à l'encontre de ces tumeurs.

# Conclusion

Les fusions géniques impliquant FGFR semblent retrouvées essentiellement chez les patients atteints d'un glioblastome selon la classification OMS 2021. Par cette étude, nous n'avons pas démontré de pronostic plus favorable pour ces patients. Cette population semble cependant présenter des altérations moléculaires spécifiques : exclusion mutuelle avec l'amplification EGFR, fréquence moindre des mutations somatiques oncogéniques de p53. L'immunohistochimie FGFR3 semble constituer un test de dépistage intéressant des fusions impliquant FGFR3. Des études complémentaires de plus grande ampleur, avec recherche systématique des transcrits de fusion, analyse du méthylome et corrélation à l'évolution clinique, semblent nécessaires pour poursuivre la caractérisation de ces tumeurs.

# Liste des tables

<u>Tableau 1</u> : Caractéristiques et première ligne de traitement de la population étudiée.....	38 / 58
<u>Tableau 2</u> : Fréquence et comparaison des principales données de biologie moléculaire.....	44 / 65



# Liste des figures

<u>Figure 1</u> : Représentation schématique de la classification OMS 2021 des gliomes diffus de l'adulte. Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.....	15
<u>Figure 2</u> : Schéma des principaux réarrangements chromosomiques pouvant être responsables de la constitution de gènes de fusion. Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.....	20
<u>Figure 3</u> : Translocation (t(9;22)(q34q11)) : genèse du chromosome de Philadelphie et du gène de fusion BCR-ABL. Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.....	21
<u>Figure 4</u> : Schéma simplifié du Fibroblast growth factor receptor (FGFR). Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.....	25
<u>Figure 5</u> : Schéma simplifié de la duplication en tandem à l'origine des gènes de fusion FGFR3-TACC3. Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.....	26
<u>Figure 6</u> : Flow Chart. Figure réalisée à l'aide du logiciel Biorender.....	37 / 57
<u>Figure 7</u> : Courbe de Kaplan Meier de survie sans progression.....	39 / 59
<u>Figure 8</u> : Courbe de Kaplan Meier de survie globale.....	40 / 60
<u>Figure 9</u> : Fréquences de chaque présentation clinique au diagnostic pour les groupes FGFR et contrôle.....	41 / 61
<u>Figure 10</u> : Exemple d'évaluation du volume grâce à l'outil de délimitation d'ITK SNAP	42 / 63
<u>Figure 11</u> : Résumé des caractéristiques des deux patients présentant une fusion FGFR atypique.....	44 / 65
<u>Figure 12</u> : IRM au diagnostic avant chirurgie d'une patiente présentant un transcrit de fusion FGFR3-CGNL1.....	45 / 67

# Références

- [1] Ostrom QT, Price M, Neff C, Cioffi G, Waite KA, Kruchko C, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2015-2019. *Neuro-Oncol* 2022;24:v1–95. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noac202>.
- [2] Schaff LR, Mellinghoff IK. Glioblastoma and Other Primary Brain Malignancies in Adults: A Review. *JAMA* 2023;329:574–87. <https://doi.org/10.1001/jama.2023.0023>.
- [3] Ostrom QT, Gittleman H, Stetson L, Virk SM, Barnholtz-Sloan JS. Epidemiology of gliomas. *Cancer Treat Res* 2015;163:1–14. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-12048-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-12048-5_1).
- [4] WHO Classification of Tumours Editorial Board. Central nervous system tumours [Internet]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2021. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 6). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/45> n.d. <https://tumourclassification.iarc.who.int/chaptercontent/45/261> (accessed June 19, 2023).
- [5] Reuss DE, Mamatjan Y, Schrimpf D, Capper D, Hovestadt V, Kratz A, et al. IDH mutant diffuse and anaplastic astrocytomas have similar age at presentation and little difference in survival: a grading problem for WHO. *Acta Neuropathol (Berl)* 2015;129:867–73. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1438-8>.
- [6] Hartmann C, Meyer J, Balss J, Capper D, Mueller W, Christians A, et al. Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol (Berl)* 2009;118:469–74. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0561-9>.
- [7] Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2013;19:764–72. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-3002>.
- [8] Venteicher AS, Tirosh I, Hebert C, Yizhak K, Neftel C, Filbin MG, et al. Decoupling genetics, lineages, and microenvironment in IDH-mutant gliomas by single-cell RNA-seq. *Science* 2017;355:eaai8478. <https://doi.org/10.1126/science.aai8478>.
- [9] Lee JH, Lee JE, Kahng JY, Kim SH, Park JS, Yoon SJ, et al. Human glioblastoma arises from subventricular zone cells with low-level driver mutations. *Nature* 2018;560:243–7. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0389-3>.
- [10] Neftel C, Laffy J, Filbin MG, Hara T, Shore ME, Rahme GJ, et al. An Integrative Model of Cellular States, Plasticity, and Genetics for Glioblastoma. *Cell* 2019;178:835-849.e21. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.06.024>.
- [11] van Breemen MSM, Wilms EB, Vecht CJ. Epilepsy in patients with brain tumours: epidemiology, mechanisms, and management. *Lancet Neurol* 2007;6:421–30. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70103-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70103-5).

- [12] Chen H, Judkins J, Thomas C, Wu M, Khoury L, Benjamin CG, et al. Mutant IDH1 and seizures in patients with glioma. *Neurology* 2017;88:1805–13. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003911>.
- [13] Grochans S, Cybulska AM, Simińska D, Korbecki J, Kojder K, Chlubek D, et al. Epidemiology of Glioblastoma Multiforme-Literature Review. *Cancers* 2022;14:2412. <https://doi.org/10.3390/cancers14102412>.
- [14] D.J.Brat, D.E. Reuss, A. Von Deimling and al. Astrocytoma IDH mutant. In: WHO Classification of Tumours Editorial Board. Central nervous system tumours [Internet]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2021. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 6). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/45>. n.d. <https://tumourclassification.iarc.who.int/chaptercontent/45/5> (accessed July 1, 2023).
- [15] G. Reifenberger, D.N. Louis, D. Figarella-Branger, and al. Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted. In: WHO Classification of Tumours Editorial Board. Central nervous system tumours [Internet]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2021. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 6). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/45>. n.d. <https://tumourclassification.iarc.who.int/chaptercontent/45/6> (accessed July 1, 2023).
- [16] D. N. Louis, C. Giannini, A. Perry, et al. Glioblastoma, IDH-wildtype. In: WHO Classification of Tumours Editorial Board. Central nervous system tumours [Internet]. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2021. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 6). Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/45>. n.d. <https://tumourclassification.iarc.who.int/chaptercontent/45/7> (accessed July 1, 2023).
- [17] Weller M, van den Bent M, Tonn JC, Stupp R, Preusser M, Cohen-Jonathan-Moyal E, et al. European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Lancet Oncol* 2017;18:e315–29. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30194-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30194-8).
- [18] Mohile NA, Messersmith H, Gatson NT, Hottinger AF, Lassman A, Morton J, et al. Therapy for Diffuse Astrocytic and Oligodendroglial Tumors in Adults: ASCO-SNO Guideline. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2022;40:403–26. <https://doi.org/10.1200/JCO.21.02036>.
- [19] Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352:987–96. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043330>.
- [20] Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJB, Janzer RC, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 2009;10:459–66. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70025-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70025-7).

- [21] Wijnenga MMJ, French PJ, Dubbink HJ, Dinjens WNM, Atmodimedjo PN, Kros JM, et al. The impact of surgery in molecularly defined low-grade glioma: an integrated clinical, radiological, and molecular analysis. *Neuro-Oncol* 2018;20:103–12. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox176>.
- [22] von Deimling A, Ono T, Shirahata M, Louis DN. Grading of Diffuse Astrocytic Gliomas: A Review of Studies Before and After the Advent of IDH Testing. *Semin Neurol* 2018;38:19–23. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1636430>.
- [23] Jin K, Zhang S-Y, Li L-W, Zou Y-F, Wu B, Xia L, et al. Prognosis of Oligodendroglioma Patients Stratified by Age: A SEER Population-Based Analysis. *Int J Gen Med* 2021;14:9523–36. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S337227>.
- [24] Hartmann C, Hentschel B, Simon M, Westphal M, Schackert G, Tonn JC, et al. Long-term survival in primary glioblastoma with versus without isocitrate dehydrogenase mutations. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2013;19:5146–57. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0017>.
- [25] Karschnia P, Young JS, Dono A, Häni L, Sciortino T, Bruno F, et al. Prognostic validation of a new classification system for extent of resection in glioblastoma: A report of the RANO resect group. *Neuro-Oncol* 2023;25:940–54. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noac193>.
- [26] Mertens F, Johansson B, Fioretos T, Mitelman F. The emerging complexity of gene fusions in cancer. *Nat Rev Cancer* 2015;15:371–81. <https://doi.org/10.1038/nrc3947>.
- [27] Mitelman F, Johansson B, Mertens F. The impact of translocations and gene fusions on cancer causation. *Nat Rev Cancer* 2007;7:233–45. <https://doi.org/10.1038/nrc2091>.
- [28] Groffen J, Heisterkamp N. The BCR/ABL hybrid gene. *Baillieres Clin Haematol* 1987;1:983–99. [https://doi.org/10.1016/s0950-3536\(87\)80035-5](https://doi.org/10.1016/s0950-3536(87)80035-5).
- [29] The background, discovery and clinical development of BCR-ABL inhibitors - PubMed n.d. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23769978/> (accessed July 8, 2023).
- [30] Xu T, Wang H, Huang X, Li W, Huang Q, Yan Y, et al. Gene Fusion in Malignant Glioma: An Emerging Target for Next-Generation Personalized Treatment. *Transl Oncol* 2018;11:609–18. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2018.02.020>.
- [31] Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer (2023). Mitelman F, Johansson B and Mertens F (Eds.), <https://mitelmandatabase.isb-cgc.org> n.d. [https://mitelmandatabase.isb-cgc.org/mb\\_search](https://mitelmandatabase.isb-cgc.org/mb_search) (accessed August 3, 2023).
- [32] Schröder J, Kumar A, Wong SQ. Overview of Fusion Detection Strategies Using Next-Generation Sequencing. *Methods Mol Biol Clifton NJ* 2019;1908:125–38. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9004-7\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9004-7_9).
- [33] Heyer EE, Deveson IW, Wooi D, Selinger CI, Lyons RJ, Hayes VM, et al. Diagnosis of fusion genes using targeted RNA sequencing. *Nat Commun* 2019;10:1388. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09374-9>.
- [34] Charest A, Lane K, McMahan K, Park J, Preisinger E, Conroy H, et al. Fusion of FIG to the receptor tyrosine kinase ROS in a glioblastoma with an interstitial

- del(6)(q21q21). *Genes Chromosomes Cancer* 2003;37:58–71. <https://doi.org/10.1002/gcc.10207>.
- [35] Shah N, Lankerovich M, Lee H, Yoon J-G, Schroeder B, Foltz G. Exploration of the gene fusion landscape of glioblastoma using transcriptome sequencing and copy number data. *BMC Genomics* 2013;14:818. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-818>.
- [36] Bao Z-S, Chen H-M, Yang M-Y, Zhang C-B, Yu K, Ye W-L, et al. RNA-seq of 272 gliomas revealed a novel, recurrent PTPRZ1-MET fusion transcript in secondary glioblastomas. *Genome Res* 2014;24:1765–73. <https://doi.org/10.1101/gr.165126.113>.
- [37] Woo HY, Na K, Yoo J, Chang JH, Park YN, Shim HS, et al. Glioblastomas harboring gene fusions detected by next-generation sequencing. *Brain Tumor Pathol* 2020;37:136–44. <https://doi.org/10.1007/s10014-020-00377-9>.
- [38] Frattini V, Trifonov V, Chan JM, Castano A, Lia M, Abate F, et al. The integrated landscape of driver genomic alterations in glioblastoma. *Nat Genet* 2013;45:1141–9. <https://doi.org/10.1038/ng.2734>.
- [39] Gatalica Z, Xiu J, Swensen J, Vranic S. Molecular characterization of cancers with NTRK gene fusions. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc* 2019;32:147–53. <https://doi.org/10.1038/s41379-018-0118-3>.
- [40] Kim J, Lee Y, Cho HJ, Cho H-J, Lee Y-E, An J, et al. NTRK1 fusion in glioblastoma multiforme. *PLoS One* 2014;9:e91940. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091940>.
- [41] Gambella A, Senetta R, Collemi G, Vallero SG, Monticelli M, Cofano F, et al. NTRK Fusions in Central Nervous System Tumors: A Rare, but Worthy Target. *Int J Mol Sci* 2020;21. <https://doi.org/10.3390/ijms21030753>.
- [42] Belov AA, Mohammadi M. Molecular mechanisms of fibroblast growth factor signaling in physiology and pathology. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2013;5:a015958. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a015958>.
- [43] Dai S, Zhou Z, Chen Z, Xu G, Chen Y. Fibroblast Growth Factor Receptors (FGFRs): Structures and Small Molecule Inhibitors. *Cells* 2019;8:614. <https://doi.org/10.3390/cells8060614>.
- [44] Costa R, Carneiro BA, Taxter T, Tavora FA, Kalyan A, Pai SA, et al. FGFR3-TACC3 fusion in solid tumors: mini review. *Oncotarget* 2016;7:55924–38. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10482>.
- [45] Singh D, Chan JM, Zoppoli P, Niola F, Sullivan R, Castano A, et al. Transforming fusions of FGFR and TACC genes in human glioblastoma. *Science* 2012;337:1231–5. <https://doi.org/10.1126/science.1220834>.
- [46] Da M, Jk B, Al L, Cm V, Sr Y, Lb V, et al. Genetic and epigenetic landscape of IDH-wildtype glioblastomas with FGFR3-TACC3 fusions. *Acta Neuropathol Commun* 2020;8. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-01058-6>.
- [47] Parker BC, Annala MJ, Cogdell DE, Granberg KJ, Sun Y, Ji P, et al. The tumorigenic FGFR3-TACC3 gene fusion escapes miR-99a regulation in glioblastoma. *J Clin Invest* 2013;123:855–65. <https://doi.org/10.1172/JCI67144>.

- [48] Di Stefano AL, Fucci A, Frattini V, Labussiere M, Mokhtari K, Zoppoli P, et al. Detection, Characterization, and Inhibition of FGFR-TACC Fusions in IDH Wild-type Glioma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2015;21:3307–17. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2199>.
- [49] Bielle F, Di Stefano A-L, Meyronet D, Picca A, Villa C, Bernier M, et al. Diffuse gliomas with FGFR3-TACC3 fusion have characteristic histopathological and molecular features. *Brain Pathol Zurich Switz* 2018;28:674–83. <https://doi.org/10.1111/bpa.12563>.
- [50] Di Stefano AL, Picca A, Saragoussi E, Bielle F, Ducray F, Villa C, et al. Clinical, molecular, and radiomic profile of gliomas with FGFR3-TACC3 fusions. *Neuro-Oncol* 2020;22:1614–24. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noaa121>.
- [51] Lasorella A, Sanson M, Iavarone A. FGFR-TACC gene fusions in human glioma. *Neuro-Oncol* 2017;19:475–83. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now240>.
- [52] Frattini V, Pagnotta SM, Tala null, Fan JJ, Russo MV, Lee SB, et al. A metabolic function of FGFR3-TACC3 gene fusions in cancer. *Nature* 2018;553:222–7. <https://doi.org/10.1038/nature25171>.
- [53] Asuzu DT, Desai B, Maggio D, Mandell J, Ray-Chaudhury A, Abdullaev Z, et al. FGFR1-TACC1 fusion associated with malignant transformation in a primary spinal cord glioma: a case report. *J Spine Surg Hong Kong* 2021;7:434–8. <https://doi.org/10.21037/jss-21-24>.
- [54] Polivka J, Svajdler M, Priban V, Mracek J, Kasik P, Martinek P, et al. Oncogenic Fusions in Gliomas: An Institutional Experience. *Anticancer Res* 2022;42:1933–9. <https://doi.org/10.21873/anticancer.15671>.
- [55] Georgescu M-M, Islam MZ, Li Y, Traylor J, Nanda A. Novel targetable FGFR2 and FGFR3 alterations in glioblastoma associate with aggressive phenotype and distinct gene expression programs. *Acta Neuropathol Commun* 2021;9:69. <https://doi.org/10.1186/s40478-021-01170-1>.
- [56] Granberg KJ, Annala M, Lehtinen B, Kesseli J, Haapasalo J, Ruusuvoori P, et al. Strong FGFR3 staining is a marker for FGFR3 fusions in diffuse gliomas. *Neuro-Oncol* 2017;19:1206–16. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox028>.
- [57] Lassman AB, Sepúlveda-Sánchez JM, Cloughesy TF, Gil-Gil MJ, Puduvalli VK, Raizer JJ, et al. Infigratinib in Patients with Recurrent Gliomas and FGFR Alterations: A Multicenter Phase II Study. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2022;28:2270–7. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-2664>.
- [58] Assistance Publique - Hôpitaux de Paris. A Phase I/II, Open-Label, Multicentre Study to Assess The Safety, Tolerability, Pharmacokinetics and Clinical Efficacy of AZD4547 in Patients With Relapsed/Refractory Glioma Positive for an FGFR Fusion. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2019.
- [59] Janssen Research & Development, LLC. A Phase 2 Study of Erdafitinib in Subjects With Advanced Solid Tumors and FGFR Gene Alterations. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2023.
- [60] Janssen Scientific Affairs, LLC. Expanded Access Program (EAP) for Patients With Advanced Cancers and FGFR Genetic Alterations Who Have Exhausted All Treatment Options. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2019.

- [61] National Cancer Institute (NCI). A Phase 2 Study of Erdafitinib in Patients With Recurrent or Progressive IDH-Wild Type Glioma With an FGFR-TACC Gene Fusion. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2023.
- [62] Debiopharm International SA. A Phase II Basket Study of the Oral Selective Pan-FGFR Inhibitor Debio 1347 in Subjects With Solid Tumors Harboring a Fusion of FGFR1, FGFR2 or FGFR3. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022.
- [63] Incyte Corporation. A Phase 2, Open-Label, Single-Arm, Multicenter Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Pemigatinib in Participants With Previously Treated Glioblastoma or Other Primary Central Nervous System Tumors Harboring Activating FGFR1-3 Alterations (FIGHT-209). [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2023.
- [64] Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-Oncol* 2021;23:1231–51. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab106>.
- [65] Mitelman F, Johansson B, Mertens F. The impact of translocations and gene fusions on cancer causation. *Nat Rev Cancer* 2007;7:233–45. <https://doi.org/10.1038/nrc2091>.
- [66] Yushkevich PA, Piven J, Hazlett HC, Smith RG, Ho S, Gee JC, et al. User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability. *NeuroImage* 2006;31:1116–28. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.01.015>.
- [67] Métails A, Tauziède-Espariat A, Garcia J, Appay R, Uro-Coste E, Meyronet D, et al. Clinico-pathological and epigenetic heterogeneity of diffuse gliomas with FGFR3::TACC3 fusion. *Acta Neuropathol Commun* 2023;11:14. <https://doi.org/10.1186/s40478-023-01506-z>.
- [68] St-Germain JR, Taylor P, Zhang W, Li Z, Ketela T, Moffat J, et al. Differential regulation of FGFR3 by PTPN1 and PTPN2. *Proteomics* 2015;15:419–33. <https://doi.org/10.1002/pmic.201400259>.
- [69] CGNL1 cingulin like 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI n.d. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/84952#summary> (accessed August 27, 2023).
- [70] Neckles C, Sundara Rajan S, Caplen NJ. Fusion transcripts: Unexploited vulnerabilities in cancer? *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2020;11:e1562. <https://doi.org/10.1002/wrna.1562>.
- [71] Palande V, Siegal T, Detroja R, Gorohovski A, Glass R, Flueh C, et al. Detection of gene mutations and gene-gene fusions in circulating cell-free DNA of glioblastoma patients: an avenue for clinically relevant diagnostic analysis. *Mol Oncol* 2022;16:2098–114. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.13157>.

# Annexes

## 1 Annexe 1



### INFORMATION ET CONSENTEMENT SUR LA CONSERVATION, L'UTILISATION DES DONNEES MEDICALES, D'IMAGERIE ET DES PRELEVEMENTS BIOLOGIQUES



IDENTIFIANT DU  
PATIENT (étiquette)

Madame, Monsieur,

Dans le cadre de votre prise en charge au sein de notre établissement, vous allez bénéficier (ou vous avez bénéficié) d'actes médicaux diagnostiques et/ou thérapeutiques. Ces actes médicaux ainsi que le recueil des données médicales et d'imagerie et le recueil de prélèvements biologiques vous concernant font partie de la prise en charge habituelle et servent à établir le diagnostic de votre maladie, la réalisation et le suivi de votre traitement. Ils sont réalisés dans votre intérêt, afin de vous dispenser les meilleurs soins possibles.

Toutes vos données sont centralisées et informatisées selon une procédure approuvée par la Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL) garantissant leur confidentialité.

Votre dossier pourra être étudié en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire (RCP). Cette réunion regroupe des médecins de différentes spécialités afin de vous proposer une prise en charge optimale.

Dans la région, la gestion des RCP d'oncologie est informatisée, les données de santé sont centralisées sur une base de données régionale du réseau ONCO Hauts de France. Cette base est hébergée auprès d'un hébergeur agréé de santé.

Vos données seront archivées 20 ans après la fin de votre prise en charge conformément à la réglementation en vigueur et pourront par la suite être conservées de façon anonymisée à des fins statistiques.

Pour réaliser des études de recherche médicale ou scientifique dans le domaine des pathologies tumorales, nous avons besoin de pouvoir disposer de données biologiques, cliniques et d'imagerie contenues dans votre dossier médical. Ces données médicales recueillies seront informatisées et pseudoanonymisées, vous ne pourrez en aucun cas être identifié. Elles pourront également, dans les conditions assurant leur confidentialité, être transmises aux autorités de santé et aux équipes de recherche.

De plus, avec votre consentement **une partie** des prélèvements biologiques, qui seront/ont été effectués dans le cadre du soin, pourra être utilisée pour la réalisation de ces travaux par des équipes de recherche académiques régionales, nationales internationales et éventuellement par des industriels, en France ou à l'étranger.

Aucun prélèvement supplémentaire par rapport à votre prise en charge médicale habituelle ne sera effectué à cette fin.

Aucun examen des caractéristiques génétiques identifiantes ne sera réalisé sans votre consentement écrit spécifique. Celui-ci pourra vous être demandé par la suite si nécessaire.

Vous serez informés des différents projets d'étude et pourrez faire valoir votre droit d'opposition. Cette information se fera soit par courrier soit en vous rendant à l'adresse [www.chu-lille.fr/rgpd-recherche](http://www.chu-lille.fr/rgpd-recherche).

Vos prélèvements seront conservés pour votre bénéfice au sein de la Tumorothèque ALLIANCE CANCER au Centre de BiologiePathologie Pierre-Marie DEGAND du CHU de Lille.

« Conformément à la loi, les prélèvements ne pourront être cédés à titre commercial ni donner lieu à une rémunération à votre bénéfice. Ils pourront être utilisés pour des recherches effectuées par un ou plusieurs organismes publics ou privés »

N'hésitez pas à poser toutes les questions qui vous semblent nécessaires sur l'utilisation et les modalités de conservation des prélèvements en vous adressant au secrétariat de la Tumorothèque au 03 20 44 49 85.



« Conformément à la loi n°78-17 dite informatique et libertés du 6 janvier 1978, modifiée par la loi n° 2018-493 du 20 juin 2018, et conformément au Règlement Général sur la Protection des Données du 25 mai 2018, vous disposez à leur égard d'un droit d'accès, de rectification et de retrait ou limitation du traitement. »

Vous avez le droit de refuser ou de retirer votre consentement à tout moment, sans avoir à en expliquer les raisons et sans que votre décision influence la qualité des soins que vous recevrez.

Si vous souhaitez exercer ces droits et obtenir communication des informations vous concernant, veuillez-vous adresser au délégué à la protection des données du Groupement Hospitalier Territorial Lille Métropole Flandres Intérieur à l'adresse suivante : dpo@chru-lille.fr. Si vous considérez que vos droits n'ont pas été respectés, vous avez également la possibilité de saisir la Commission Nationale de l'Informatique des Libertés (CNIL) directement via son site internet : www.cnil.fr.

Pour la partie concernant la conservation et l'utilisation des échantillons biologiques, ainsi que la diffusion des données clinicobiologiques associées pseudoanonymisées à des fins de recherche médicale et scientifique dans le domaine des pathologies tumorales : à l'Institut de Pathologie, Centre de Biologie-Pathologie, Tumorothèque, CHU de Lille, 2 avenue Oscar Lambret, 59037 Lille cedex ou par fax au 03 20 44 47 27 ou par e-mail : tumorotheque@chru-lille.fr

Ce document est à réaliser en 2 exemplaires : un à remettre au patient, un à conserver dans le dossier médical

Au vu de ces informations transmises par le Docteur : \_\_\_\_\_ le : \_\_\_\_\_

**Cochez la case correspondant à votre choix :**

- J'accepte de donner mon consentement à l'informatisation, le partage, l'hébergement de mes données personnelles et d'imagerie dans le cadre d'une prise en charge pluridisciplinaire :  OUI  NON

- J'accepte de donner mon consentement pour la conservation et l'utilisation de mes prélèvements biologiques, ainsi que la diffusion des données clinico-biologiques et d'imagerie associées pseudoanonymisées à des fins de recherche médicale et scientifique dans le domaine des pathologies tumorales :  OUI  NON

Fait à : \_\_\_\_\_ , le : \_\_\_\_\_

Nom, Prénom du patient : \_\_\_\_\_

Signature :

## 2 Annexe 2



**DIRECTION GENERALE**  
**DEPARTEMENT DES RESSOURCES NUMERIQUES**

N/Réf : DEC22-183

*BOUZIDI Anthony*  
*Délégué à la protection des données*

*CALMELET Louise*  
*Adjointe au Délégué à la protection des données*

*Secrétariat Direction des Ressources Numérique*  
*Tél. 03.20.44.44.26*  
*Fax : 03.20.44.58.59*

### **Attestation de déclaration d'un traitement informatique**

Je soussigné, Monsieur BOUZIDI Anthony, en qualité de Délégué à la Protection des Données du GHT Lille Métropole Flandre intérieure atteste que le fichier de traitement ayant pour finalité : **Etude descriptive rétrospective sur les caractéristiques cliniques, radiologiques, immunohistochimiques et de biologie moléculaire de patients atteints d'un glioblastome porteur d'un transcrits de fusion impliquant FGFR3**, mis en œuvre en 2021, a bien été déclaré par Marine CURTI.

La déclaration est intégrée dans le registre de déclaration normale du Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille.

Attestation réalisée pour valoir ce que de droit.

Fait à LILLE, le 26/09/2022

**BOUZIDI Anthony**

*Toute correspondance devra être adressée à :*  
CHRU de Lille  
Département Ressources Numériques  
ex Clinique Fontan - 2<sup>ème</sup> étage – rue du Professeur Laguesse  
59037 LILLE Cedex

**AUTEUR : Nom :** Curti **Prénom :** Marine

**Date de Soutenance :** 25/09/2023

**Titre de la Thèse :** Gliomes de haut grade présentant un transcrite de fusion impliquant FGFR : une étude rétrospective multicentrique

**Thèse - Médecine - Lille 2023**

**Cadre de classement :** Spécialité médicale, Neurologie

**DES + FST ou option :** Neurologie, FST cancérologie adulte

**Mots-clés :** Glioblastome, transcrits de fusion, FGFR3

### **Résumé :**

**Contexte :** Les gliomes sont les tumeurs primitives malignes du système nerveux central les plus fréquentes. La biologie moléculaire constitue un élément clé de leur diagnostic intégré. Parmi les anomalies moléculaires en cours de caractérisation, les transcrits de fusion impliquant FGFR constituent une cible d'intérêt. Nous avons conduit cette étude afin d'évaluer le pronostic des gliomes présentant un transcrite de fusion impliquant FGFR, et d'assurer leur caractérisation clinique, radiologique, immunohistochimique et moléculaire.

**Matériel et Méthodes :** Nous avons conduit une étude rétrospective multicentrique avec les CHU de Lille, Caen et le centre Henri Becquerel de Rouen. Nous avons identifié tous les patients atteints de gliome présentant un transcrite de fusion impliquant FGFR, et constitué une cohorte contrôle à partir des patients atteints de gliomes de haut grade pour lesquels la recherche s'est avérée négative. Nous avons recueilli leurs survies sans progression et globale, la présentation clinique et radiologique au diagnostic, les données immunohistochimiques (notamment FGFR3) et les données de biologie moléculaire.

**Résultats :** Nous avons inclus 52 patients : 36 contrôles et 16 patients présentant un transcrite de fusion impliquant FGFR : 14 patients FGFR3-TACC3, et deux transcrits atypiques : 1 patient FGFR3-CGNL1 et 1 patient FGFR2-TACC2. Tous les patients présentant un transcrite de fusion étaient porteurs d'un glioblastome. L'âge moyen au diagnostic était significativement plus élevé dans le groupe FGFR (54.38 ans contre 43.72 ans,  $p = 0.015$ ). Il n'y avait pas de différence significative concernant la survie globale (HR = 0.70, IC95% [0.268-1.865],  $p=0.48$ ) ou la survie sans progression (HR=0.975, IC95% [0.475-2.004],  $p=0.95$ ) entre les deux groupes. La présentation clinique au diagnostic était similaire entre les deux groupes et la présentation la plus fréquente était épileptique. La sensibilité et la spécificité de l'immunohistochimie FGFR3 pour les transcrits de fusion impliquant FGFR3 étaient respectivement de 92 et 94%.

**Conclusion :** Tous les patients présentant un transcrite de fusion impliquant FGFR semblent atteints de glioblastome selon la classification OMS 2021. Nous n'avons pas retrouvé d'argument en faveur d'un meilleur pronostic de ces glioblastomes. Cette étude nous a permis de décrire 2 cas de patients présentant des transcrits de fusion inhabituels.

### **Composition du Jury :**

**Président :** Monsieur le Professeur Nicolas Reynolds

**Assesseurs :** Monsieur le Professeur Luc Defebvre, Monsieur le Professeur Claude Alain Maurage, Madame le Docteur Enora Vauléon

**Directeur :** Madame le Docteur Apolline Monfilliette