

BARCODING-MCL : Traçage clonotypique haute résolution de la résistance aux inhibiteurs de BTK dans le lymphome du manteau

Preuve de concept d'une médecine de précision guidée par l'évolution clonale

Mélody Caillot^{1,2}, Luca Grumolato^{2,3}, Fabrice Jardin^{1,2,5}

¹Univ Rouen Normandie, INSERM CBG UMR 1245, Centre Henri Becquerel, Rouen, France.

²Institute for Research and Innovation in Biomedicine (IRIB), Rouen, France

³Univ Rouen Normandie, INSERM NordiC UMR 1239, Rouen, France

⁴Department of Hematology, Centre Henri Becquerel, Rouen, France.

1. Contexte scientifique

- Le lymphome du manteau (MCL) présente une **hétérogénéité clonale majeure** (Wan *et al*, 2025).
 - Les inhibiteurs de BTK (BTKi) exercent une **pression sélective**, favorisant l'émergence de clones résistants (Liu *et al.*, 2025).
 - Anticiper les rechutes nécessite des outils capables de **prédire les trajectoires évolutives**.
- ➔ *La dynamique évolutive conditionne la réponse thérapeutique.*

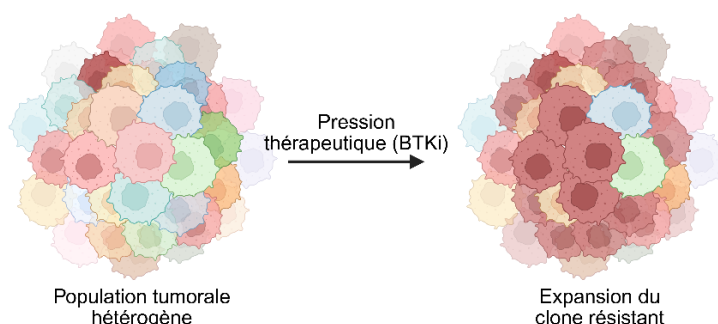


Figure 1. Trajectoires évolutives sous BTKi (réalisé avec Biorender.com)

2. Barcoding lentiviral : principe et workflow

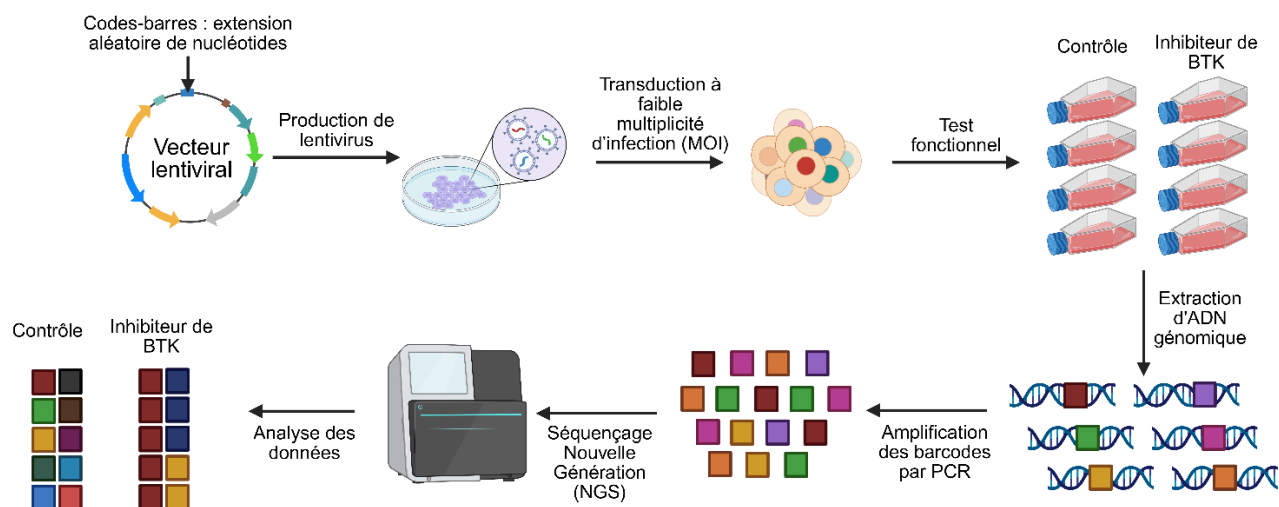


Figure 2. Workflow de marquage par lentivirus (d'après Chhouri *et al.*, 2023) (réalisé avec Biorender.com)

Principe général

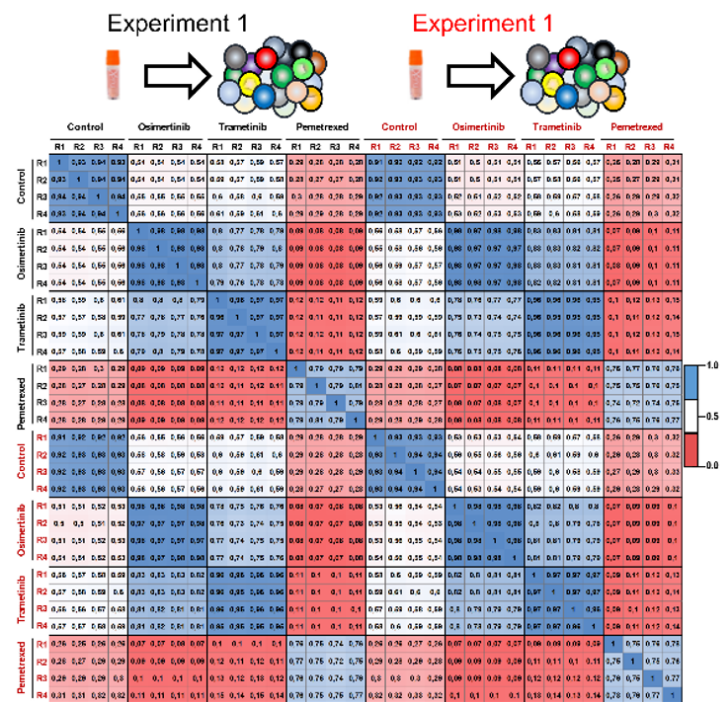
- Génération d'une librairie lentivirale barcodée (séquence aléatoire très complexe).
- Transduction des cellules tumorales à faible multiplicité d'infection (MOI) pour garantir 1 cellule = 1 code-barres.
- Exposition à des agents thérapeutiques (ex. BTKi) ou condition contrôle.
- Extraction de l'ADN génomique, PCR ciblée, séquençage de nouvelle génération (NGS) des barcodes.
- Quantification de la fréquence relative des clones.

3. Résultats attendus : robustesse et signatures clonales

A. Exemple de matrice de corrélation clonale

(illustration issue d'un modèle de cancer du poumon fourni par le Dr. L. Grumolato.)

Figure présentée à titre démonstratif pour illustrer la performance de la technologie barcoding.



Constats clés tirés de cette technique :

- Les profils clonaux générés par barcoding montrent une reproductibilité élevée entre réplicats, même après exposition à divers agents thérapeutiques.
- Chaque agent thérapeutique induit une signature clonale spécifique et stable, révélant des dynamiques évolutives distinctes.
- La méthode présente une robustesse analytique démontrée, avec une excellente stabilité des mesures. Dans BARCODING-MCL, nous ambitionnons

d'étendre cette approche afin d'en démontrer la transposabilité aux modèles hémopathologiques, en particulier au MCL.

Illustration :

Les corrélations inter-réplicats révèlent des signatures clonales spécifiques et reproductibles, soutenant la fiabilité du barcoding.

4. Perspectives et impacts

- **Atlas dynamique de la résistance aux BTKi** : cartographie multi-omique des trajectoires évolutives.
- **Co-thérapies mécanisme-guidées** : identification de co-inhibiteurs ciblant les vulnérabilités clonales.
- **Score transcriptomique prédictif** : outil de stratification préclinique.
- **Pipeline généralisable** : application potentielle au DLBCL, LLC, LAM...

Bibliographie :

- Chhour, H., Alexandre, D., & Grumolato, L. (2023). Mechanisms of Acquired Resistance and Tolerance to EGFR Targeted Therapy in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers*, 15(2), 504. <https://doi.org/10.3390/cancers15020504>
- E Liu, X., Lin, Y., Zhuang, Q., Deng, H., Liu, A., & Sun, J. (2025). BTK inhibitors resistance in B cell malignancies: Mechanisms and potential therapeutic strategies. *Blood reviews*, 71, 101273. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2025.101273>
- Wan, H., Ren, W., Yang, M., Nie, M., Wasik, A. M., Du, L., de Campos-Mata, L., Sun, R., Bai, Z., Enniful, A., Wang, Y., Berglund, M., Amini, R. M., Li, X., Yang, C., Ye, X., Yang, Z. Z., Ansell, S. M., Liu, D., van der Burg, M., ... Pan-Hammarström, Q. (2025). Tumor evolution and immune microenvironment dynamics in primary and relapsed mantle cell lymphoma. *Cell reports. Medicine*, 6(9), 102318. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2025.102318>