

CAHIER DE  
**Formation**

**Biologie médicale**

**N°45**

2010

**Les lymphomes**



**BIOFORMA**

**FORMATION CONTINUE DES BIOLOGISTES**



*Chère Consœur, Cher Confrère,*

*Le Conseil scientifique de Bioforma, les syndicats de Biologistes et les Caisses d'Assurance Maladie ont estimé nécessaire la diffusion d'un cahier portant sur les lymphomes dans le cadre de votre formation continue conventionnelle.*

*Le Professeur SEBAHOUN (Marseille) a été choisi pour en être le coordinateur et le responsable scientifique, bien entouré d'une équipe qu'il a choisie pour sa compétence. J'ai le plaisir de vous proposer ce nouveau cahier Bioforma.*

*Dans la préface, cet éminent spécialiste du sujet indique combien il est novateur et remarquable d'avoir décidé cette étude des lymphomes qui recoupe, outre la clinique, toutes les techniques d'explorations biologiques et notamment les plus récentes.*

*C'est le rôle que nous avons toujours voulu donner à Bioforma. Une exigence scientifique, bien sûr avec des outils (ces cahiers ou les formations internet) qui n'existent pas vraiment ailleurs ou pas si complets, et diffusés à l'ensemble de la profession.*

*Avec cet ouvrage, vous disposerez, dans le détail, de tous les aspects de la virtualité des affections lymphomateuses depuis leur genèse jusqu'aux thérapies, en passant par une rigoureuse classification des différentes formes de lymphomes et des thérapies mises en œuvre pour les traiter.*

*Outre les techniques de biologie courante qui sont décrites, avec brio et érudition scientifique, vous trouverez toutes les nouvelles avancées clinicobiologiques permettant d'élucider l'oncogenèse lymphoïde, le choix et le suivi des traitements.*

*La lecture du sommaire vous en proposera davantage.*

*Concernant l'avenir et la réforme de la formation continue, les textes officiels sur le DPC ne sont pas encore finalisés. Nous en reparlerons donc avant la fin de l'année.*

*Nous vous souhaitons, Chère Consœur et Cher Confrère, une bonne lecture et le plaisir d'en savoir un peu, ou beaucoup plus en refermant ce 45<sup>ème</sup> cahier.*

**Adrien BEDOSSA**  
Président

86 rue du Cherche-Midi  
75006 Paris

Tél. 01.56.54.39.39  
Fax : 01.56.54.39.30

site internet : [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net)  
E-mail : [bioforma@wanadoo.fr](mailto:bioforma@wanadoo.fr)

Association régie par la loi de 1901  
siret : 391 155 744 00025  
code APE : 8040



# Les lymphomes

Ouvrage réalisé sous la direction  
du Professeur Gérard Sébahoun

# PRÉFACE

---

On peut être surpris que Bioforma ait sollicité pour un public de biologistes un fascicule sur les lymphomes. Si ce sujet constitue traditionnellement un pan essentiellement clinique dans le cadre des hémopathies malignes, l'évolution de ces dernières années a montré que la biologie a largement pénétré ce domaine.

Ces dernières années ont en effet amené un renouveau des outils diagnostiques dans la pathologie des lymphomes, permettant une définition plus précise des différentes variétés, une modernisation de leur classification, l'identification de facteurs pronostiques et de réponse au traitement.

Au plan diagnostique, les données histopathologiques et phénotypiques se sont enrichies des données cytogénétiques et moléculaires. La cytogénétique moléculaire a montré que les translocations résultent de réarrangements aberrants des gènes des immunoglobulines ou du TCR, entraînant une expression inappropriée de gènes au niveau des points de translocations. Les biopuces permettent déjà d'identifier les cellules lymphomateuses par leur signature transcriptionnelle.

C'est dans le domaine de la physiopathologie que la biologie des lymphomes s'est le plus développée. Des voies oncogéniques majeures ont été identifiées, impliquant BCL6, Myc, NF-kB. Des modèles de prolifération sont mis à jour, induits par stimulation antigénique. Certes la lymphomagenèse garde encore des mystères et les anomalies génétiques successives qui caractérisent la transformation maligne ne sont pas toutes identifiées. Pour l'instant la richesse des connaissances physiopathologiques sur les lymphomes ne se traduit pas encore par des thérapeutiques adaptées, mais les progrès sont inexorables et de nombreuses molécules sont en développement. La chimiothérapie est présente sur plusieurs lignes, la place des intensifications se précise, les anticorps monoclonaux ont une place démontrée, les nouvelles approches comme la radio-immunothérapie, les drogues immunomodulatrices sont en cours d'évaluation. Ces progrès procèdent de longues études coopératives au premier rang desquelles se situe le GELA (Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte).

N'oublions pas la mixité de la discipline hématologique, qui fait sa richesse même si son avenir est contesté. La biologie a toujours été un préalable nécessaire aux cliniciens, de la même façon que les biologistes souhaitent légitimement être au fait des présentations cliniques pour comprendre la prise en charge des patients.

*Professeur Gérard Sébahoun*

# Liste des auteurs

---

- **Dr BASEGGIO Lucile**  
*Laboratoire d'Hématologie Cellulaire - Centre Hospitalier Lyon Sud  
165 chemin du Grand Revoyet, 69495 Pierre-Bénite cedex - pascale.felman@chu-lyon.fr*
- **Dr BASTARD Christian**  
*Laboratoire de Génétique Oncologique - Centre Henri Becquerel  
Rue d'Amiens, 76038 Rouen cedex 1 - cbastard@rouen.fnclcc.fr*
- **Dr BATAILLE Stanislas**  
*Service de Néphrologie - Hôpital de la Conception  
147 boulevard Baille, 13385 Marseille cedex 05 - stanislas.bataille@ap-hm.fr*
- **Dr BILHOU-NABÉRA Chrystèle**  
*Service d'Hématologie Biologique - Hôpital de Bicêtre  
78 Avenue Général Leclerc, 94275 Le Kremlin-Bicêtre - chryste.le.bilhou-nabera@bct.aphp.fr*
- **Pr COIFFIER Bertrand**  
*Service d'Hématologie - Centre Hospitalier Lyon Sud  
165 chemin du Grand Revoyet, 69495 Pierre-Bénite Cedex  
bertrand.coiffier@gmail.com*
- **Dr CORNET Edouard**  
*Laboratoire d'Hématologie - Hôpital Côte de Nacre  
BP 95182, 14033 Caen cedex 5 - cornet-e@chu-caen.fr*
- **Pr COSTELLO Régis**  
*Service d'Onco-Hématologie - Hôpital de la Conception  
147 boulevard Baille, 13385 Marseille cedex 05 - regis.costello@ap-hm.fr*
- **Pr COSTES-MARTINEAU Valérie**  
*Laboratoire d'Anatomie Pathologique - Hôpital Gui de Chauliac  
80 avenue Augustin Fliche, 34295 Montpellier cedex 5  
v.costes\_martineau@chu-montpellier.fr*
- **Dr CREIDY Rita**  
*Service d'Hématologie Biologique - Hôpital de Bicêtre  
78 Avenue Général Leclerc, 94275 Le Kremlin-Bicêtre - rita.creidy@bct.aphp.fr*
- **Pr DEREURE Olivier**  
*Service de Dermatologie - Hôpital Saint Eloi  
80 avenue Augustin Fliche, 34295 Montpellier cedex 5 - o.dereure@chu-montpellier.fr*
- **Dr DUPIRE Sophie**  
*Service d'Hématologie - Centre Hospitalier Lyon Sud  
165 chemin du Grand Revoyet, 69495 Pierre-Bénite Cedex - sophie.dupire@chu-lyon.fr*
- **Dr DUPUIS Jehan**  
*Unité Hémopathies Lymphoïdes - Hôpital Henri Mondor  
51 avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil cedex  
jehan.dupuis@hmn.aphp.fr*
- **Dr FELMAN Pascale**  
*Laboratoire d'Hématologie Cellulaire - Centre Hospitalier Lyon Sud  
165 chemin du Grand Revoyet, 69495 Pierre-Bénite cedex - pascale.felman@chu-lyon.fr*
- **Pr GABERT Jean**  
*Laboratoire de Biologie Moléculaire - Hôpital Nord  
Chemin des Bourelly, 13915 Marseille cedex 20 - jean.gabert@ap-hm.fr*
- **Dr GALATEAU-SALLE Françoise**  
*Laboratoire d'Anatomopathologie - Hôpital Côte de Nacre  
BP 95184, 14035 Caen cedex 7*

- **Pr GISSELBRECHT Christian**  
Service d'Héματο-Oncologie - Hôpital Saint Louis  
1 avenue Claude Vellefaux, 75475 Paris cedex 10 - christian.gisselbrecht@gmail.com
- **Pr HAÏOUN Corinne**  
Unité Hémapathies Lymphoïdes - Hôpital Henri Mondor  
51 avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil cedex  
corinne.haïoun@hmn.aphp.fr
- **Dr LE TREUT Thérèse**  
Laboratoire d'Hématologie - Hôpital Nord  
Chemin des Bourelly, 13915 Marseille Cedex 20 - therese.letreut@ap-hm.fr
- **Pr LEBLOND Véronique**  
Service d'Hématologie Clinique - Hôpital Pitié-Salpêtrière  
47 boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris cedex 13 - veronique.leblond@psl.aphp.fr
- **Dr MALET Michèle**  
Laboratoire d'Hématologie - Hôpital Côte de Nacre  
BP 95183, 14034 Caen cedex 6 - malet-m@chu-caen.fr
- **Dr MERCIER-BATAILLE Delphine**  
Laboratoire d'Hématologie - Hôpital Nord  
Chemin des Bourelly, 13915 Marseille cedex 20 - delphine.mercier@ap-hm.fr
- **Pr MERLE-BÉRAL Hélène**  
Service d'Hématologie Biologique - Hôpital Pitié-Salpêtrière  
47 boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris cedex 13 - helene.merle-beral@psl.aphp.fr
- **Pr MOUNIER Nicolas**  
Service d'Hématologie - Hôpital de l'Archet 1  
151 route de Saint Antoine de Ginestière, 62002 Nice cedex - mounier.n@chu-nice.fr
- **Dr NADEL Bertrand**  
INSERM - Centre d'immunologie de Marseille  
Luminy, 13288 Marseille cedex 09 - nadel@ciml.univ-mrs.fr
- **Pr RAPHAËL Martine**  
Service d'Hématologie Biologique - Hôpital de Bicêtre  
78 Avenue Général Leclerc, 94275 Le Kremlin-Bicêtre - martine.raphael@bct.ap-hop-paris.fr
- **Dr SALAÛN Véronique**  
Laboratoire d'Hématologie - Hôpital Côte de Nacre  
BP 95184, 14035 Caen cedex 7 - salaun-v@chu-caen.fr
- **Pr SALLES Gilles**  
Service d'Hématologie - Centre Hospitalier Lyon Sud  
165 chemin du Grand Revoyet, 69495 Pierre-Bénite cedex - gilles.salles@chu-lyon.fr
- **Pr SÉBAHOUN Gérard**  
Service d'Onco-Hématologie - Hôpital de la Conception  
147 boulevard Baille, 13385 Marseille cedex 05 - gerard.sebahoun@ap-hm.fr
- **Dr SIBON David**  
Service d'Héματο-Oncologie - Hôpital Saint Louis  
1 avenue Claude Vellefaux, 75475 Paris cedex 10 - david.sibon@sls.aphp.fr
- **Pr THIEBLEMONT Catherine**  
Service d'Héματο-Oncologie - Hôpital Saint Louis  
1 avenue Claude Vellefaux, 75475 Paris cedex 10  
catherine.thieblemont@sls.aphp.fr
- **Pr TROUSSARD Xavier**  
Laboratoire d'Hématologie - Hôpital Côte de Nacre  
BP 95182, 14033 Caen cedex 5 - troussard-x@chu-caen.fr
- **Pr XERRI Luc**  
Département de Biopathologie - Institut Paoli- Calmette  
232 boulevard de Sainte Marguerite, 13273 Marseille cedex 9  
xerril@marseille.fnclcc.fr

# SOMMAIRE

## CHAPITRE I

***Différenciation lymphoïde et lymphomagenèse .....09***

## CHAPITRE II

***Epidémiologie des lymphomes***

***fréquence, facteurs environnementaux, agents infectieux .....21***

## CHAPITRE III

***Le diagnostic biopathologique des lymphomes.***

***Classification histopathologique et phénotypique .....31***

## CHAPITRE IV

***Cytologie ganglionnaire et dissémination sanguine des lymphomes .....45***

## CHAPITRE V

***Les outils modernes de la biologie des lymphomes :***

***cytogénétique, biologie moléculaire, transcriptome - techniques -***

***apport diagnostique et intérêt dans la surveillance .....79***

## CHAPITRE VI

***Bilan diagnostique des lymphomes malins : présentation clinique, bilan d'imagerie,***

***bilan biologique, indicateurs pronostiques, examens utiles à la surveillance .....95***

## CHAPITRE VII

***Les lymphomes B diffus à grandes cellules .....105***

## CHAPITRE VIII

***Les lymphomes lymphoblastiques et le lymphome de Burkitt .....137***

## CHAPITRE IX

***Les lymphomes à cellules du manteau .....153***

<b>CHAPITRE X</b>	
<b>Les lymphomes folliculaires</b> .....	<b>159</b>
<b>CHAPITRE XI</b>	
<b>Les lymphomes de la zone marginale</b> .....	<b>169</b>
<b>CHAPITRE XII</b>	
<b>Les lymphomes lymphocytiques et les lymphomes lympho-plasmocytaires</b> .....	<b>185</b>
<b>CHAPITRE XIII</b>	
<b>Lymphomes et déficit immunitaire</b> .....	<b>193</b>
<b>CHAPITRE XIV</b>	
<b>Les lymphomes T matures et néoplasies à cellules NK</b> .....	<b>201</b>
<b>CHAPITRE XV</b>	
<b>Les lymphomes cutanés T épidermotropes</b> .....	<b>221</b>
<b>CHAPITRE XVI</b>	
<b>Thérapeutiques ciblées dans les lymphomes :</b> <b>anticorps monoclonaux, anticorps radio-marqués, immunomodulateurs, vaccins.</b> <b>Mode d'action et applications</b> .....	<b>243</b>
<b>CHAPITRE XVII</b>	
<b>Les lymphomes hodgkiniens</b> .....	<b>257</b>

# **Différenciation lymphoïde et lymphomagenèse**

**Bertrand Nadel, Jean Gabert**

**CHAPITRE I**

## La différenciation lymphocytaire : un terrain favorable à la lymphomagenèse

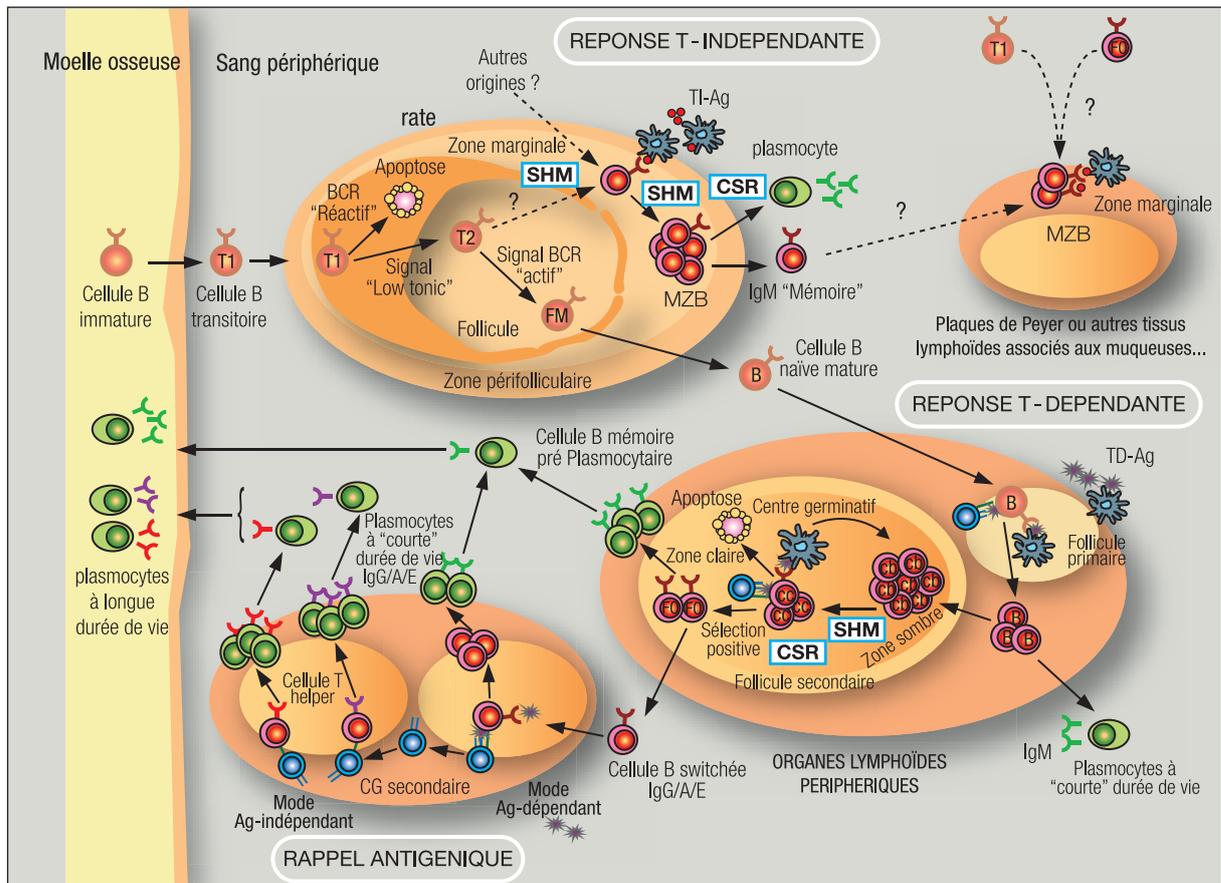
Les progrès récents de la compréhension du développement des lymphocytes ont permis d'obtenir une image plus claire des voies multi-étapes complexes impliquées dans la génération des lymphocytes T et B et une meilleure compréhension des pathologies associées. La plupart des éléments clé indispensables pour la différenciation et la survie des lymphocytes normaux sont également impliqués dans la prolifération tumorale de nombreux lymphomes B ou T matures. A pratiquement chaque étape de différenciation correspond un sous-type donné de néoplasie lymphoïde, « bloqué » par les processus de transformation maligne à une étape donnée de développement. La reconnaissance de ces étapes et du cheminement de la différenciation des lymphocytes apparait comme un élément crucial de la stratification des lymphomes. Dans ce chapitre, nous aborderons les étapes principales de la différenciation lymphocytaire B et T, et comment le détournement de certaines de ces étapes est utilisé au profit de la transformation maligne.

### Différenciation lymphocytaire B

Les lymphocytes B sont les médiateurs de l'immunité humorale et de la mémoire immunologique. Pour réaliser ces fonctions, ces cellules doivent passer par un certain nombre d'étapes de différenciation leur permettant d'acquérir un répertoire le plus divers possible de récepteurs à l'antigène (anticorps) mais néanmoins tolérants au soi. Certaines de ces étapes, impliquant un remodelage somatique de segments géniques (recombinaison V(D)J et commutation de classes) et un affinage de leur spécificité (à travers un processus d'hypermutation somatique) sont complexes, et bien que hautement régulées, non sans danger pour l'intégrité du génome.

Les premières étapes de développement des lymphocytes B se déroulent dans la moelle osseuse, et permettent l'assemblage du récepteur à l'antigène à travers le processus de recombinaison V(D)J (Fugmann 2000). Chez l'adulte, les cellules B, à cette étape encore « immatures », sortent de la moelle osseuse et rejoignent la rate, où une décision cellulaire fondamentale va orienter leur destinée soit vers une réponse T-indépendante (TI) soit vers une réponse T-dépendante (TD) (McHeyzer-Williams 2006) (**figure.1**). Cette orientation est prise en fonction du type de « signaling » mis en jeu, et auquel chaque *lymphocyte B transitionnel* est sensible de façon différentielle. Cette première bifurcation développementale donnera lieu d'une part aux *cellules B pré-activées de la zone marginale* résidant dans la zone marginale splénique, et d'autre part aux *cellules B folliculaires matures* résidant dans les follicules spléniques. Chez l'homme, l'origine des cellules B de la zone marginale est encore débattue, et ces lymphocytes pourraient ne pas provenir de ce lignage de cellules transitionnelles, mais plutôt du foie ou possiblement des tissus lymphoïdes associés aux intestins (GALT) (Weill 2009). Ces cellules B de la zone marginale sont spécifiquement éduquées pour répondre rapidement aux antigènes TI transmissibles par le sang, et produisent une première ligne de défense de type « innée » contre des pathogènes spécifiques tels que les bactéries encapsulées. Chez l'homme, la plupart (sinon tous) les lymphocytes B de la zone marginale portent des taux (bien que relativement faibles) d'hypermutations somatiques sur les régions variables de leurs récepteurs, suggérant que la diversification du récepteur peut survenir en dehors de la réponse TD classique, et avant la rencontre avec l'antigène (à la différence de la souris, mais comme chez certaines d'autres espèces comme le mouton).

**Figure 1 : Schéma de développement des lymphocytes B. SHM : hypermutation somatique ; CSR : commutation de classe ; TI-Ag : antigène T-indépendant ; TD-Ag : antigène T-dépendant ; MZB : lymphocytes B de la zone marginale ; cc : centrocyte ; cb : centroblaste.**



Lors de la stimulation antigénique, les lymphocytes B pré-activés, pré-diversifiés et pré-développés de la zone marginale migrent rapidement dans le sang soit sous forme de cellules plasmiques sécrétrices d'anticorps, soit sous forme de lymphocytes B mémoire à IgM. A contrario, les lymphocytes B folliculaires matures ne sont pas encore des cellules effectrices lorsqu'elles sortent de la rate et recirculent dans la circulation sanguine. Ces cellules B naïves n'ont en effet à ce stade pas encore rencontré leur antigène spécifique, mais elles sont en revanche « primées » pour répondre de façon fonctionnelle à une stimulation TD. Cette dernière réaction se produit dans les follicules des organes lymphoïdes secondaires. Lorsque les lymphocytes B naïfs entrent les organes lymphoïdes périphériques, ils sont dirigés vers un follicule primaire, qu'ils vont scanner pour la présence éventuelle d'un antigène suffisamment affin. Ces lymphocytes B, maintenant activés par l'antigène, relocalisent rapidement dans la zone inter-folliculaire B-T, où elles subissent une première expansion limitée sous l'impulsion du signaling résultant de l'interaction avec les cellules T (via notamment le récepteur T et le couple CD40/CD40L). Une fraction des cellules se différencie en cellules plasmiques à IgM, de courte durée de vie, ne subissant ni commutation de classe ni hypermutation somatique, mais produisant rapidement une première réponse aux pathogènes invasifs. L'autre fraction des cellules B activées initie en parallèle la formation d'un centre germinatif (CG) dans un follicule secondaire. Dans la zone sombre du centre germinatif, les cellules B activées répriment l'expression à leur surface du récepteur à l'antigène, ainsi que d'autres gènes tels que BCL2, prolifèrent de façon extensive en tant que centroblastes, et déclenchent le programme de maturation de l'affinité, consistant principalement au processus d'hypermutation

somatique des gènes des immunoglobulines. Le processus d'hypermutation somatique étant aléatoire, les mutations dans le récepteur à l'antigène résulteront dans la plupart des cas en une réduction de leur affinité pour l'antigène par lequel ces cellules ont été initialement stimulées, et seule une petite minorité se verra attribuer un récepteur plus affiné. La transition centroblaste-centrocyte s'accompagne de l'arrêt du cycle cellulaire, d'une migration dans la zone claire du CG, et d'une seconde décision cruciale pour la cellule. Le récepteur muté est en effet ré-exprimé à la surface cellulaire et « testé » par les cellules T folliculaires helper (TFh) et les cellules dendritiques (DC) présentatrices (Vinuesa 2005). En fonction de la nouvelle affinité de son récepteur pour l'antigène, le centrocyte est soit ignoré et meurt par apoptose (lorsque l'affinité est décriée), soit instruit à recommencer un cycle de mutations (lorsque l'affinité est inchangée), soit instruit à entreprendre la commutation de classe et compléter les stades finaux de maturation du CG (lorsque l'affinité est accrue).

Les cellules B folliculaires hypermutées, switchées et différenciées ré-expriment un certain nombre de gènes tels que BCL2 et sortent du CG pour une fraction en tant que *lymphocytes B mémoires switchés* exprimant une IgG, IgA ou IgE de forte affinité pour l'antigène, et pour une autre fraction ayant subi une expansion massive et une différenciation terminale en tant que cellule plasmatisque de courte durée de vie secrétant des anticorps d'isotypes IgG, IgA, ou IgE. Une fraction de ces cellules plasmatisques recircule dans des niches spécifiques de la moelle osseuse et acquiert une durée de vie plus étendue (quelques mois). Les lymphocytes B mémoires switchés quant à eux recirculent dans les organes lymphoïdes périphériques (en particulier retournent dans la rate), où ils deviennent les régulateurs clé de la réponse mémoire à long terme aux épisodes infectieux récurrents. Lors de ces rappels infectieux, deux modes de réponse prennent place : (1) dans le mode « antigène-dépendant » classique, les cellules B mémoires switchées spécifiques pour l'antigène sont réactivées via leur récepteur par les cellules T helper correspondantes et subissent un nouveau cycle d'expansion clonale massive et de différenciation en cellules plasmatisques ; (2) dans un mode « antigène-indépendant » récemment proposé, la stimulation polyclonale du pool de cellules B mémoires switchées résidente au niveau des organes lymphoïdes secondaires où le rappel antigénique prend place est simultanément stimulé de façon collatérale par une aide indirecte, antigène-indépendante des cellules T (effet dit bystander, possiblement via l'interaction CD40-CD40L et la production de cytokines). Cet effet mènerait à une prolifération (plus limitée) de cellules B mémoires portant des spécificités non-spécifiques au pathogène invasif, et à la différenciation en une nouvelle génération de cellules plasmatisques (Lanzavecchia 2006). Ces activations polyclonales récurrentes du pool global de cellules B mémoires au cours des challenges antigéniques successifs de l'histoire immunologique d'un individu pourraient rendre compte de la production à long-terme d'un large spectre d'anticorps, et donc de la maintenance d'une mémoire sérologique pendant toute la vie humaine.

## La différenciation lymphocytaire T

Les précurseurs des cellules T, issus des cellules souches hématopoïétiques de la moelle, migrent rapidement dans le thymus, où ils vont subir une grande partie des étapes de différenciation et de sélection majoritairement liées à l'acquisition d'un récepteur (TCR) compétent mais néanmoins tolérant au soi. Il est à noter que les lymphocytes Natural Killers (NK) n'ont pas de récepteur T et constituent un embranchement précoce des précurseurs thymocytaires. Ces lymphocytes non-T non-B constituent un groupe distinct de lymphocytes effecteurs de l'immunité innée, spécialisés dans la surveillance anti-infectieuse et anti-tumorale non restreinte au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) (Vivier 2008). En ce qui concerne les lymphocytes T *per se*, le processus de recombinaison génique V(D)J va générer

deux types de récepteurs T (TCR) mutuellement exclusifs,  $TCR\alpha\beta$  ou  $TCR\gamma\delta$ , qui vont participer à la réponse immunitaire adaptative et pour un sous-groupe de  $T\gamma\delta$ , également à la réponse innée. Les cellules de l'immunité innée (lymphocytes « non-conventionnels » NK,  $TCR\gamma\delta$ , et cellules dendritiques) forment la première ligne de défense de l'organisme et régulent la réponse immunitaire adaptative. Parmi les cellules de l'immunité innée, les lymphocytes non-conventionnels expriment des récepteurs activateurs et des récepteurs inhibiteurs, reconnaissant notamment les molécules du CMH. L'équilibre de la mobilisation de ces deux types de récepteurs permet la reconnaissance et la tolérance aux cellules du soi. Une stratégie d'échappement à l'immunité adaptative commune aux cellules infectées et aux cellules tumorales est la downregulation des molécules du CMH. Cette stratégie d'évasion est contrée par les lymphocytes non-conventionnels, pour lesquels l'absence ou la raréfaction du CMH (« missing self ») provoque leur activation. Une expression normale du CMH peut toutefois être contrebalancée par de puissants signaux activateurs fournis par la reconnaissance de l'antigène. Dans le sang, les lymphocytes non-conventionnels représentent de 5 à 10% des lymphocytes circulant, et une fraction significative de ces cellules peut être simultanément engagée dans la réponse à un antigène, alors que la fréquence de lymphocyte T conventionnels reconnaissant un antigène donné dépasse rarement 0,01%. Du point de vue fonctionnel, les lymphocytes non-conventionnels sont immédiatement mobilisables pour une réponse immune, et possèdent des capacités d'élimination des cibles tumorales analogues voir supérieures à celle des lymphocytes T cytotoxiques. De surcroît, ces cellules enclenchent et coordonnent la réponse immunitaire conventionnelle en produisant de nombreux médiateurs solubles. La réponse T-dépendante « conventionnelle » est médiée par les cellules T portant un récepteur  $TCR\alpha\beta$ .

C'est au cours de la différenciation thymique que les précurseurs  $T\alpha\beta$  acquièrent leurs caractéristiques fonctionnelles : T cytotoxiques ( $CD8^+$ ), principalement destinés à la lyse CMH classe I-restreinte de cellules infectées ou tumorales (immunité cellulaire), ou T helper ( $CD4^+$ ), médiateurs CMH classe II-restreints de l'immunité humorale. A leur sortie du thymus, les cellules T « naïves » vont acquérir leurs propriétés effectrices dans les organes périphériques au contact des cellules présentatrices d'antigène (APC) (King 2009). Dans la zone T des tissus lymphoïdes, les DC matures exprimant  $CD80/CD86$  présentent les complexes immuns (peptide-MHC classe II) aux TCR des cellules  $TCD4^+$  naïves exprimant  $CD28$ . Les  $TCD4^+$  « primées » produisent alors un certain nombre de cytokines (dont l'IL-21), expriment un ensemble de molécules de surface nécessaires notamment à l'interaction avec les cellules B (dont  $CD40L$ , ICOS), et engagent l'acquisition de leur « compétence cytokinique ». Les lymphocytes T ont la capacité remarquable d'identifier le type particulier de pathogène infectant l'organisme et d'y répondre à façon. Différents sous-types de cellules Th sont en effet induits par différents pathogènes, et caractérisés par un set spécifique de pattern de migration et de fonctions effectrices (Kassiotis 2009). On distingue à l'heure actuelle cinq sous-groupes de Th : les Th contrôlent classiquement l'immunité adaptative en activant d'autres cellules effectrices telles que les cellules T cytotoxiques  $CD8^+$ , les cellules B ou les macrophages. Ainsi, les sous-groupes Th1 et Th2, respectivement associés à la clairance de microorganismes intracellulaires et des helminthes, orientent en particulier la réponse humorale en induisant la commutation de classe vers  $IgG1/IgE$ , ou  $IgG2a$  via la production d'interféron (IFN)- $\gamma$ , et d'IL-4, respectivement. Les Th17 sécrètent les cytokines pro-inflammatoires IL-17 et IL-22, nécessaires à la clairance efficace de certains pathogènes (tels que les bactéries extra-cellulaires et champignons en particulier dans les muqueuses), et dont la dérégulation est associée à la prévalence de l'auto-immunité. A l'inverse de la fonction des autres Th, les T régulateurs (Treg) sont caractérisés fonctionnellement comme des cellules suppressives, permettant la régulation de la réponse immunitaire adaptative, le maintien de la tolérance, et la prévention de maladies auto-immunes. Les Th folliculaires (Tfh) constituent enfin un sous-type important de Th spécialisé dans le soutien aux réponses des cellules B. Une notion centrale dans la différenciation des  $TCD4$  est que le TCR peut transmettre divers degrés de signaux

activateurs, qui vont initier différentes fonctions effectrices. La différenciation en Tfh requiert notamment de forts signaux du TCR et/ou des interactions soutenues avec les APC. Grâce à l'expression du récepteur CXCR5, les Tfh acquièrent la capacité de migrer et homer dans les follicules B, où, à travers l'expression de molécules accessoires de surface et la sécrétion de nombreuses cytokines (IL-4, IL-10, IL-21, IL-17, IFN- $\gamma$ ), elles vont interagir avec les cellules B activées des centres germinatifs, pour contribuer à l'affinage de la spécificité de l'anticorps, à la commutation de classe, et à la différenciation terminale en plasmocytes. Il faut cependant noter qu'un certain nombre d'études récentes semblent indiquer que les TCD4 ont une plus grande plasticité fonctionnelle que ce que l'on pouvait penser jusqu'à présent, et interrogent sur la réversibilité des sous-groupes différenciés de cellules Th tels que définis actuellement, ou plus simplement sur la pertinence réelle de nos critères de classification.

## Stratification des lymphomes

Il est admis que les lymphomes sont issus de précurseurs matures des lymphocytes (post-médullaires pour les lymphocytes B et post-thymiques pour les lymphocytes T), les distinguant des leucémies lymphoïdes issues de précurseurs immatures (précurseurs B de la moelle et thymocytes). Les lymphomes touchent principalement les organes lymphoïdes : ganglions, rate, thymus, tissus lymphoïdes associés aux muqueuses, mais peuvent également avoir d'autres localisations (par ex des formes cutanées). En théorie, aucune perturbation de la formule numération n'est détectée lors du diagnostic et les cellules lymphomateuses circulantes sont absentes ou peu représentées. En fonction du type de lymphome, de l'évolution et du stade de progression, une atteinte médullaire est cependant souvent retrouvée, suggérant que la moelle constitue une niche de choix pour les lymphocytes matures recirculants. Dans certains cas, un fort taux de blastes est également observé dans le sang, et il existe des formes frontières de type « lymphomes leucémisés ».

Connaitre et reconnaître les entités pathologiques de façon différentielle a toujours été à la base du diagnostic et de la décision thérapeutique. D'abord sur des bases anatomo-pathologiques, la stratification des nombreuses entités pathologiques que constituent les lymphomes s'est enrichie progressivement de critères cytogénétiques, phénotypiques et moléculaires. Cette classification est perpétuellement en mouvement, remodelée et raffinée en fonction des nouvelles découvertes des mécanismes de lymphomagenèse et des nouvelles entités pathologiques et des progrès dans la compréhension et la description de leur contrepartie physiologique. Au cours du temps, l'identification du lymphome relativement à sa contrepartie physiologique s'est révélé le critère majeur de la stratification et du diagnostic. Cette notion est parfaitement intégrée dans la nouvelle classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (Swerdlow 2008). Cette classification fait suite aux classifications anatomo-pathologiques proposées et utilisées précédemment : classification de Rappaport utilisée jusque dans les années 70, puis la National Cancer Institut Working Formula puis la Revised European-American Lymphoma Classification (REAL). Paradoxalement, les progrès récents de stratification des lymphomes ont montré que la tumeur pouvait ne pas être au centre du diagnostic et/ou du pronostic. En effet, il est apparu clairement au cours de ces dernières années qu'une même entité pathologique pouvait évoluer différemment en fonction de son microenvironnement, et que la signature des compartiments non-tumoraux (cellules stromales et autres cellules du compartiment immun) pouvait dans certains cas constituer un meilleur critère pronostique que la signature de la tumeur elle-même (Staudt 2005). Cette observation s'est révélée quantifiable grâce à l'avènement des technologies relatives à la biologie des

systèmes, permettant d'appréhender le phénomène biologique dans sa globalité, dont le « profiling » transcriptionnel a été le fer de lance. Aujourd'hui, plusieurs études montrent le bénéfice et la puissance prédictive de ces signatures transcriptionnelles globales (pan-génomiques), et bien qu'encore freinées à l'heure actuelle par des barrières de standardisation d'expertise et de coût, il semble clair que ces informations viendront à leur tour enrichir la stratification des lymphomes dans un futur proche.

## **Mécanismes de lymphomagenèse : des translocations oncogéniques récurrentes au modèle d'oncogenèse « multi-hit »**

Dans les années 70, les cytogénéticiens ont révolutionné la reconnaissance des entités pathologiques, en démontrant que nombre d'entités jusqu'alors principalement stratifiées sur des critères morphologiques et cliniques, étaient associées à des anomalies chromosomiques spécifiques et récurrentes. En ce qui concerne les hémopathies malignes, ces anomalies se sont avérées être plus particulièrement des translocations chromosomiques. Ainsi, J Rowley montrait pour la première fois dans les années 70 que le « chromosome de Philadelphie » résultait d'une translocation, t(9;22), et était associé à la leucémie myéloïde chronique. Rapidement, d'autres translocations phares sont apparues telles que la t(14;18), étroitement associée au lymphome folliculaire, ou la t(8;14) associée au lymphome de Burkitt (Kuppers 2005). On dénombre à l'heure actuelle plusieurs centaines de translocations dont les caractéristiques et les entités pathologiques associées sont répertoriées de façon exhaustive dans de nombreux sites (voir par exemple <http://atlasgeneticsoncology.org/>), et dont certaines sont décrites plus en détail dans les autres chapitres de cet ouvrage.

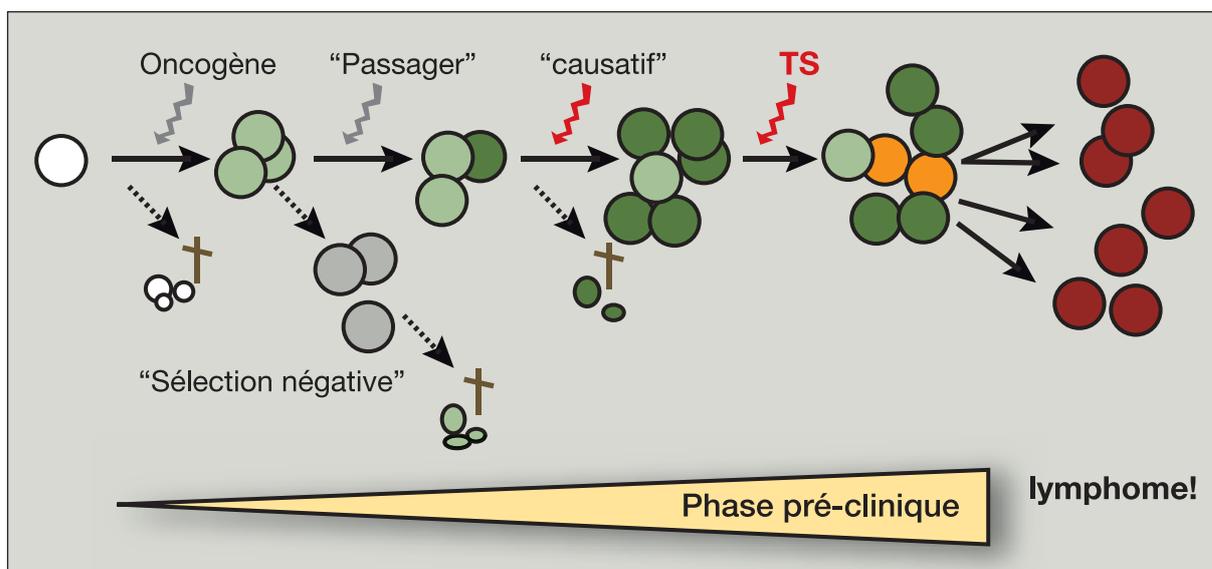
D'un point de vue clinique, la reconnaissance de ces associations a généré un excellent outil diagnostique. D'un point de vue oncogénétique, un concept fondamental a émergé de ces observations : le concept de dérégulation oncogénique fondatrice. En effet, l'hypothèse portée par l'observation de Rowley que les anomalies chromosomiques observées étaient à l'origine des hémopathies, et non pas la manifestation d'un « chaos » généralisé des cellules tumorales, a incité le clonage des points de cassure des translocations récurrentes, et permis la caractérisation des mécanismes oncogéniques associés. Deux mécanismes principaux d'activation oncogénique sont apparus comme résultant des translocations chromosomiques : 1) la fusion de deux gènes, créant une protéine de fusion avec des propriétés oncogéniques nouvelles (par exemple un domaine de liaison à l'ADN du gène 1, avec le domaine d'activation du gène 2, résultant en une activation constitutive du gène cible) ; 2) la juxtaposition de l'intégralité d'un (onco)gène avec les éléments régulateurs d'autres gènes (comme par exemple un enhancer), résultant en une activation ectopique de l'oncogène. Bien qu'opérant à travers des voies distinctes, ces deux mécanismes aboutissent à un résultat similaire : une dérégulation des programmes cellulaires normaux de différenciation, de survie, et/ou de prolifération. De nombreux oncogènes tels que BCL2, BCL1, c-MYC, ont ainsi été identifiés aux abords des translocations récurrentes, et leur activité oncogénique validée dans des modèles transgéniques murins mimant leur dérégulation. Ainsi, la t(14 ;18) à l'origine du lymphome folliculaire résulte de la dérégulation de la protéine anti-apoptotique BCL2, alors que l'expression constitutive de c-MYC via la t(8 ;14) est à l'origine du lymphome de Burkitt. Dans les lymphomes et leucémies lymphoïdes, nombre de translocations font intervenir les loci des IG et du TCR, et impliquent un mécanisme de dérégulation oncogénique plutôt que de fusion. Ceci s'explique d'une part par le fait que les éléments régulateurs des IG/TCR confèrent des taux d'expression élevés, et sont actifs tout au long du développement lymphocytaire. Ils constituent de ce fait des éléments extrêmement favorables à la dérégulation oncogénique. D'autre part, l'instabilité génomique est inhérente aux

mécanismes de réarrangements géniques, en partie parce que ces processus physiologiques ont l'unique propriété d'impliquer des cassures double-brin de l'ADN propices à l'échange de matériel génétique (Friedberg 2006). Ces processus se déroulent au cours de la différenciation lymphocytaire normale (recombinaison V(D)J pour les lymphocytes B et T, et commutation de classe et hypermutation somatique pour les lymphocytes B). De fait, la t(14 ;18) résulte d'une erreur de réparation des segments géniques du locus IGH lors de la recombinaison V(D)J dans les cellules pré-B, alors que la t(8 ;14) résulte le plus souvent en Europe d'une erreur de réparation lors de la commutation de classes. Il semble, notamment au vu du grand nombre de translocations impliquant un détournement des mécanismes de commutation de classes et d'hypermutation somatique, que l'instabilité génomique due à la maturation terminale des lymphocytes B lors de la réaction du centre germinatif constitue un environnement particulièrement propice au développement tumoral ; ceci expliquerait en partie la prépondérance de lymphome B (et en particulier de lymphomes B de type mature, ayant transité dans les centres germinatifs) par rapport aux lymphomes T. Ces processus physiologiques intervenant dans des compartiments cellulaires et des organes lymphoïdes spécifiques (moelle, thymus, centres germinatifs), et à un moment du développement lymphocytaire bien déterminé, les translocations chromosomiques impliquant les loci d'IG/TCR constituent des empreintes moléculaires importantes de l'étape de développement à laquelle l'oncogène a été activé. La commutation de classes se déroulant pendant la différenciation terminale en cellules B mémoire, ceci suggère par exemple que le lymphome de Burkitt, un lymphome du centre germinatif, a été initié in situ lors d'une erreur de commutation de classe générant la t(8 ;14). La situation peut cependant être plus complexe. En effet, bien que la translocation V(D)J se déroule dans la moelle osseuse lors du développement précoce des cellules B, le lymphome folliculaire est néanmoins une pathologie du centre germinatif. Ceci signifie que l'étape de différenciation à laquelle l'oncogène est activé peut être découplée de l'étape de différenciation à laquelle la tumeur est bloquée. Dans le cas du lymphome folliculaire, ceci s'explique principalement par le fait que BCL2 est exprimé de façon physiologique tout au long de la vie du lymphocyte B normal, hormis lors d'une fenêtre de différenciation très étroite : la maturation terminale dans le centre germinatif. Ainsi, contrairement au lymphome de Burkitt, où une expression soutenue et constitutive de c-MYC est probablement à l'origine du développement tumoral, l'activité oncogénique de BCL2 est vraisemblablement due à son expression ectopique, spécifiquement dans les centres germinatifs (Roulland 2008).

Paradoxalement, l'ensemble de ces découvertes, depuis l'observation des translocations récurrentes jusqu'à l'analyse mécanistique et cinétique de leur occurrence, a contribué à alimenter une conception « mono-oncogénique » de la lymphomagenèse, qui s'est depuis, et à quelques exceptions près, largement révélée erronée. Le concept de lymphomagenèse mono-oncogénique assume une causalité quasi-inéluctable des étapes du développement tumoral à partir d'un évènement fondateur. Dans le lymphome folliculaire, par exemple, on considère que la t(14;18) est l'évènement fondateur et initiateur, principalement parce que cette translocation constitue d'une part l'un des seuls évènements récurrents de cette entité pathologique, et d'autre part parce qu'elle prend place dans les étapes précoces du développement des cellules B. Or, il se trouve que cette translocation (comme nombre d'autres translocations supposées « fondatrices ») est détectée à faible fréquence dans le sang de nombreux individus « sains » (définis comme individus de la population générale dépourvus de signe clinique manifeste) (Roulland 2006). L'incidence du lymphome folliculaire (~6 nouveaux cas/100 000/an) étant sans commune mesure avec l'incidence de la t(14;18) dans la population générale (~50% des individus), il semble clair que seule une fraction minimale des clones t(14;18)+ donnera naissance à un lymphome, et ce dans une fraction très faible d'individus. A l'appui de cette observation, la vaste majorité des modèles transgéniques mimant l'activation d'oncogènes fondateurs tels que BCL2 ou c-MYC ne développent de tumeur qu'après une longue latence (ex : >1,5 ans pour BCL2), et avec une faible pénétrance (ex : <15%

des animaux pour BCL2). Ceci suggère que bien que nécessaires, la plupart de ces évènements pourtant considérés comme « fondateurs », ne sont ni suffisants ni causatifs, et que la transformation tumorale requiert l'accumulation d'évènements oncogéniques secondaires venant compléter un large spectre de dérégulations fonctionnelles (dont notamment apoptose/survie, cycle/prolifération, auto-renouvellement, et blocage de maturation). L'ensemble de ces observations a donné naissance à un modèle d'oncogenèse « multi-hit » qui prévaut à l'heure actuelle pour la grande majorité des lymphomes (figure.2) :

**Figure 2 : Modèle d'oncogenèse « multi-hit ». L'évolution clonale et la progression tumorale dépendent d'un processus « Darwinien » de sélection/contre-sélection de mutations aléatoires positives (oncogènes, tumeur supprimeurs, TS), négatives, ou neutres (passagères).**



Dans ce modèle, le développement tumoral suit un mode quasi-Darwinien de sélection/contre-sélection impliquant trois types possibles de mutations (dans le sens large du terme, englobant tout type de modification du génome) se produisant de façon entièrement aléatoire (Stratton 2009):

- Des mutations dites négatives, contre-sélectionnées parce qu'elles entraînent un désavantage de survie et/ou de prolifération. Celles-ci ne sont par définition jamais observées dans les tumeurs, mais pourraient néanmoins constituer une quantité non-négligeable des mutations totales. Si tel est le cas, elles pourraient constituer une voie majeure d'éradication « naturelle » des cellules portant des mutations fondatrices, en particulier dans les phases précoces du développement clonal.
- Des mutations positives ou « drivers », sélectionnées parce qu'elles confèrent un avantage de survie et/ou de prolifération : ce sont les mutations classiques affectant les oncogènes (mutations gain de fonction) et les gènes suppresseurs de tumeur (mutations perte de fonction).
- Des mutations neutres ou « passagères », qui ne confèrent ni avantage ni désavantage aux cellules qui les portent, et sont sélectionnées lors de l'acquisition ultérieure de mutations positives dans la même cellule. Ce troisième type de mutations pose un problème considérable aux analyses de réseaux oncogéniques, notamment issues d'études pan-génomiques pour lesquelles le nombre de mutations totales est élevé. Une observation intéressante est la conversion de passagers en drivers, lors d'un changement de pression de sélection. L'exemple le plus frappant est celui des mutations conférant une résistance à la thérapie. Ces mutations peuvent être déjà présentes sans produire d'avantage de

prolifération, et ne se révéler comme « drivers » que lors de la thérapie.

On ne peut néanmoins exclure que certaines mutations « drivers », à travers l'établissement d'un statut cellulaire spécifique, puissent favoriser l'occurrence d'évènements supplémentaires et donc le risque de développement tumoral (mutations causatives). Par exemple, en permettant une survie prolongée des cellules B du centre germinatif, cellules exprimant de façon constitutive la machinerie enzymatique nécessaire à l'hypermutation somatique et la commutation de classe, l'expression ectopique de BCL2 pourrait favoriser une instabilité génomique constitutive et induire l'accumulation de « hits » oncogéniques supplémentaires. La reconnaissance de cette capacité de provoquer une chaîne causative d'évènements oncogéniques est fondamentale dans l'estimation du risque de progression tumorale. Par exemple, la t(14;18) est détectée dans le sang d'individus sains avec une grande variabilité de fréquence (de moins d'une cellule t(14;18+)/million à plus d'une cellule t(14;18+)/500). De plus, il est apparu récemment que les individus de « forte fréquence » portaient des clones de cellules B activées, ayant déjà transité dans les centres germinatifs, et portant un certain nombre de marqueurs moléculaires caractérisant le lymphome folliculaire, dont des stigmates d'instabilité génomique (Agopian 2009). Parmi ces individus à forte fréquence, se retrouve notamment une population d'individus dont les données épidémiologiques montrent de plus qu'ils constituent un groupe « à risque » pour le développement de lymphomes t(14;18)+ (individus exposés aux pesticides en milieu agricole). La détermination de bio-marqueurs fiables permettant l'identification de clones précurseurs présentant un risque accru de développement tumoral, constitue à l'heure actuelle un enjeu important pour le dépistage et le développement de stratégies thérapeutiques précoces, moins agressives pour le patient. Un exemple notable illustrant le bénéfice potentiel d'un dépistage précoce et d'une intervention ciblée est celui de patients atteints de lymphomes du MALT associés à *Helicobacter Pylori*, pour lesquels l'éradication de l'agent pathogène par antibiothérapie dans les phases précoces de développement tumoral permet la régression et l'éradication du lymphome (Wotherspoon 1993). Dans les phases tardives, l'accumulation d'anomalies chromosomiques supplémentaires se substitue à la stimulation chronique par le pathogène et provoquent une résistance définitive au traitement antibiotique.

Jusqu'à très récemment, la façon d'observer les cellules tumorales, aussi bien au niveau cellulaire que moléculaire, semblait indiquer qu'une altération chromosomique, voire deux ou trois pourraient être suffisantes pour le développement de nombre de cancers. Les translocations récurrentes sont de ce fait longtemps restées au centre des modèles d'oncogenèse pour nombre d'entités pathologiques. Or, il n'y a pas de raison de penser que les altérations les plus visibles sont nécessairement les plus pertinentes. Les avancées technologiques des dix dernières années ont donné un nouvel élan à notre connaissance et notre reconnaissance des entités pathologiques distinctes que constituent les lymphomes. En particulier, les méthodes d'exploration pan-génomiques telles que la CGH array (comparative genomic hybridization), qui permettent d'analyser les gains (duplications) et les pertes (délétions) de régions du génome avec une résolution de 1 à 5 kb ont montré la présence de nombre d'anomalies récurrentes jusqu'alors insoupçonnées dans les tumeurs. Un autre pas déterminant dans cette direction est en train d'être actuellement franchi avec les progrès récents du séquençage à haut débit du génome humain. Ces nouvelles technologies permettent déjà de comparer l'ensemble des mutations présentes dans un clone tumoral par rapport aux cellules saines du patient, y compris les mutations ponctuelles jusqu'alors inaccessibles à l'échelle du génome entier. Les premières analyses sur différents types de cancers solides testés (colo-rectal, pancréas) sont sans commune mesure avec ce que l'on aurait pu imaginer jusqu'alors (Sjoblom 2006): le génome des cellules tumorales porte en moyenne une centaine de mutations, dont au moins 20% pouvant être directement impliquées fonctionnellement dans le développement malin. Dans chaque cas, la vaste majorité des altérations sont des mutations ponctuelles, invisibles aux autres

méthodes d'investigation du génome même à haute résolution. Ainsi, force est de constater que l'ensemble des données générées par le séquençage à haut débit suggère que seule une petite fraction des gènes du cancer a été analysée à ce jour, et que le nombre et le type d'altérations responsables du développement des cancers les plus communs sont toujours inconnus. Il est possible qu'une nouvelle révolution conceptuelle se profile à l'orée du séquençage des nombreuses entités pathologiques que composent les lymphomes, avec l'espoir qu'elle s'accompagne d'une innovation thérapeutique à sa mesure.

## Bibliographie

---

Agopian J., Navarro JM., Gac AC., Lecluse Y., Briand M., Grenot P., Gauduchon P., Ruminy P., Lebailly P., Nadel B., Roulland S. Agricultural pesticide exposure and the molecular connection to lymphomagenesis. *J Exp Med.* 2009 Jul 6 ; 206(7) : 1473-83.

Friedberg EC., Lieber MR. (Eds) : Special issue on Mechanisms of Chromosomal Translocation. *DNA Repair* 2006 Sept 8 ; 5(9-10).

Fugmann SD., Lee AI., Shockett PE., Villey IJ., Schatz DG. The RAG proteins and V(D)J recombination: complexes, ends, and transposition. *Annu Rev Immunol.* 2000 ; 18 : 495-527.

Kassiotis G., O'Garra A. Establishing the follicular helper identity. *Immunity.* 2009 Sep 18 ; 31(3) : 450-2.

King C. New insights into the differentiation and function of T follicular helper cells. *Nat Rev Immunol.* 2009 Nov ; 9(11) : 757-66.

Küppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. *Nat Rev Cancer.* 2005 Apr ; 5(4) : 251-62.

Lanzavecchia A., Bernasconi N., Traggiai E., Ruprecht CR., Corti D., Sallusto F. Understanding and making use of human memory B cells. *Immunol Rev.* 2006 Jun ; 211 : 303-9.

McHeyzer-Williams LJ., Malherbe LP., McHeyzer-Williams MG. Checkpoints in memory B-cell evolution. *Immunol Rev.* 2006 Jun ; 211 : 255-68.

Roulland S., Suarez F., Hermine O., Nadel B. Pathophysiological aspects of memory B-cell development. *Trends Immunol.* 2008 Jan ; 29(1) : 25-33.

Roulland S., Navarro JM., Grenot P., Millili M., Agopian J., Montpellier B., Gauduchon P., Lebailly P., Schiff C., Nadel B. Follicular lymphoma-like B cells in healthy individuals: a novel intermediate step in early lymphomagenesis. *J Exp Med.* 2006 Oct 30 ; 203(11) : 2425-31.

Sjöblom T., Jones S., Wood LD., Parsons DW., Lin J., Barber TD., Mandelker D., Leary RJ., Ptak J., Silliman N., Szabo S., Buckhaults P., Farrell C., Meeh P., Markowitz SD., Willis J., Dawson D., Willson JK., Gazdar A.F., Hartigan J., Wu L., Liu C.,

Parmigiani G., Park BH., Bachman KE., Papadopoulos N., Vogelstein B., Kinzler KW., Velculescu VE. The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science*. 2006 Oct 13 ; 314(5797) : 268-74.

Staudt LM., Dave S. The biology of human lymphoid malignancies revealed by gene expression profiling. *Adv Immunol*. 2005 ; 87 : 163-208.

Stratton MR., Campbell PJ., Futreal PA. The cancer genome. *Nature*. 2009 Apr 9 ; 458(7239) : 719-24.

Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Eds) : WHO classification of tumors of Hematopoietic and lymphoid tissues. IARC : Lyon 2008.

Vinuesa CG., Tangye SG., Moser B., Mackay CR. Follicular B helper T cells in antibody responses and autoimmunity. *Nat Rev Immunol*. 2005 Nov ; 5(11) :853-65.

Vivier E., Tomasello E., Baratin M., Walzer T., Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol*. 2008 May ; 9(5) : 503-10.

Weill JC., Weller S., Reynaud CA. Human marginal zone B cells. *Annu Rev Immunol*. 2009 ; 27 :267-85.

Wotherspoon AC., Doglioni C., Diss TC., Pan L., Moschini A., de Boni M., Isaacson PG. Regression of primary low-grade B-cell gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet*. 1993 Sep 4 ; 342(8871) : 575-7.

**Épidémiologie  
des lymphomes : fréquence,  
facteurs environnementaux,  
agents infectieux**

**Nicolas Mounier**

CHAPITRE II

# Introduction

---

Après une très forte augmentation, l'incidence des lymphomes semble se stabiliser et de nombreux facteurs favorisant leur survenue ont été isolés avec une place particulière pour les agents infectieux et environnementaux.

La classification anatomopathologique de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)[1] est restée assez stable, permettant de caractériser les entités cliniques et anatomopathologiques au sein d'une discipline que l'on appelle maintenant la pathobiologie. Les zones de recoupement entre les différentes entités de lymphomes deviennent claires, par exemple entre le lymphome de Hodgkin du médiastin et le lymphome B diffus à grandes cellules du médiastin. Le temps n'est plus très loin où le diagnostic d'un lymphome sera fait par le pathologiste qui verra les cellules et les fera décrypter par des puces diagnostiques.

La classification OMS distingue plus de vingt entités différentes dont la plupart étaient considérées comme des lymphomes non hodgkiniens (LNH) selon l'ancienne habitude nosologique. La troisième édition de la Classification Internationale des Maladies Oncologiques (ICD-O-3)[2], établie sous l'égide de l'OMS, reprend cette classification et fait actuellement référence pour les études épidémiologiques.

Nous allons nous attacher ici à présenter les données épidémiologiques globales ainsi que les facteurs de risque pour les différentes entités anatomo-cliniques, l'étiologie restant encore mal connue car dépendant fortement des interactions entre exposition et susceptibilité individuelle.

## Epidémiologie descriptive

### Données générales

Partout dans le monde, il existe une prédominance masculine des lymphomes. Le sexe ratio (H/F) est estimé à 1,5. Lorsque l'origine ethnique est prise en compte, comme aux Etats-Unis, l'incidence est plus élevée dans la population blanche que dans la population noire ([figure 1](#))[3]. L'incidence des LNH croît avec l'âge, la médiane au diagnostic est autour de 65 ans, ce qui contraste, comme le montre la [figure 2](#), avec la courbe bimodale (25 et 70 ans) du lymphome de Hodgkin (LH).

Dans les années 1980 et 90, le lymphome était le cancer dont l'incidence augmentait le plus rapidement. L'incidence ayant quasiment doublé en 20 ans, elle semble actuellement stabilisée. Le lymphome est l'hémopathie maligne la plus fréquente, au 8<sup>ème</sup> rang des cancers dans l'Union Européenne. Les incidences les plus élevées sont observées en Amérique du Nord et en Australie (plus de 17/100.000), les plus faibles sont en Asie et Amérique du Sud (5/100.000).

Figure 1 : Incidence (/100.000) des lymphomes à grandes cellules B, selon l'âge, le sexe et l'origine ethnique aux USA (1992-2001). D'après Morton *et al* [3].

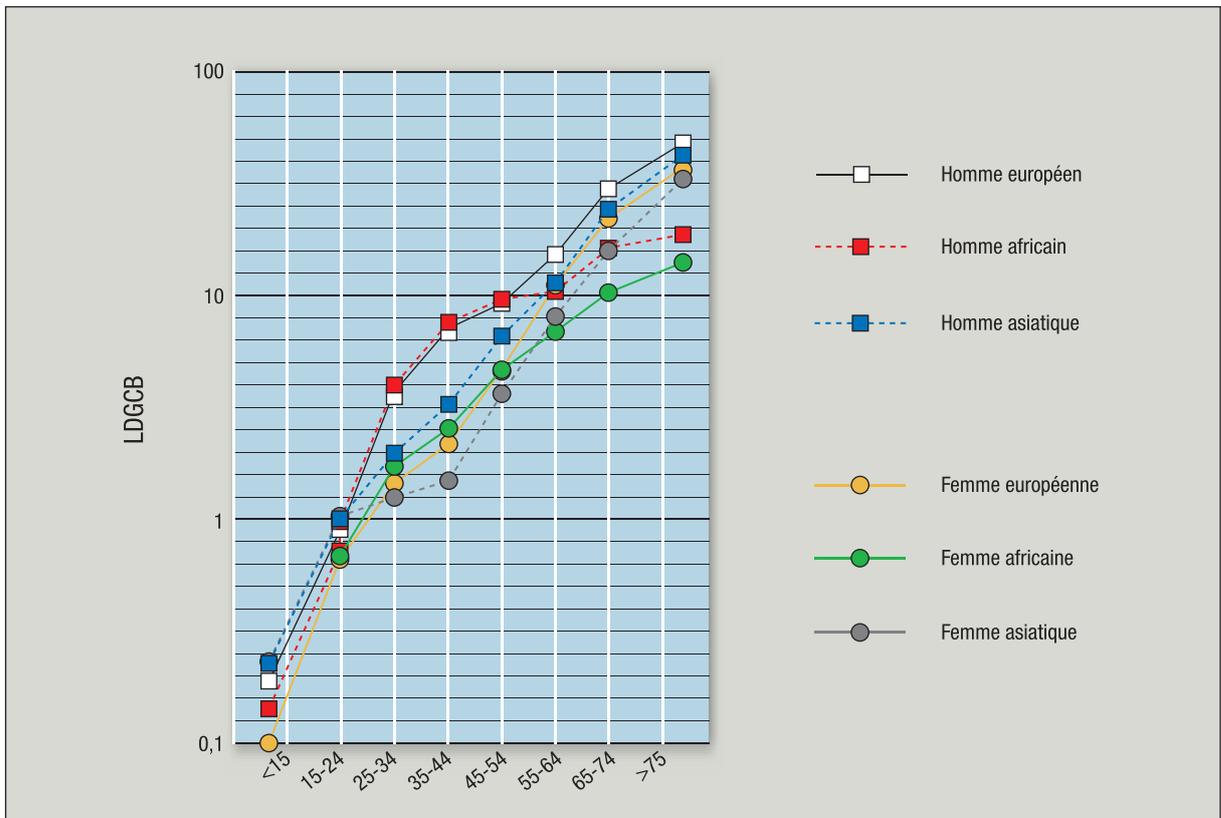
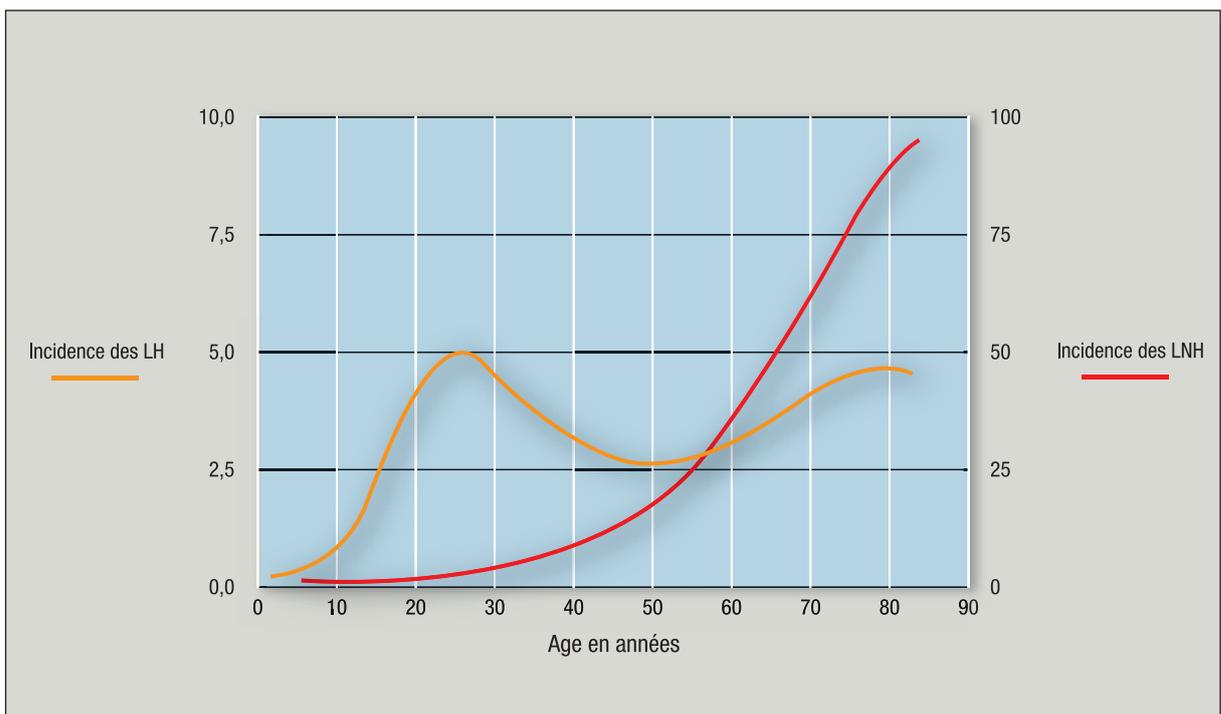


Figure 2 : Incidence (/100.000) des lymphomes non hodgkiniens (LNH, trait rouge) et des lymphomes de Hodgkin (LH, trait orange) selon l'âge aux USA (1973-2005). Noter la différence d'échelle entre LNH et LH. D'après SEER-9 registry, <http://www.cancer.gov>.

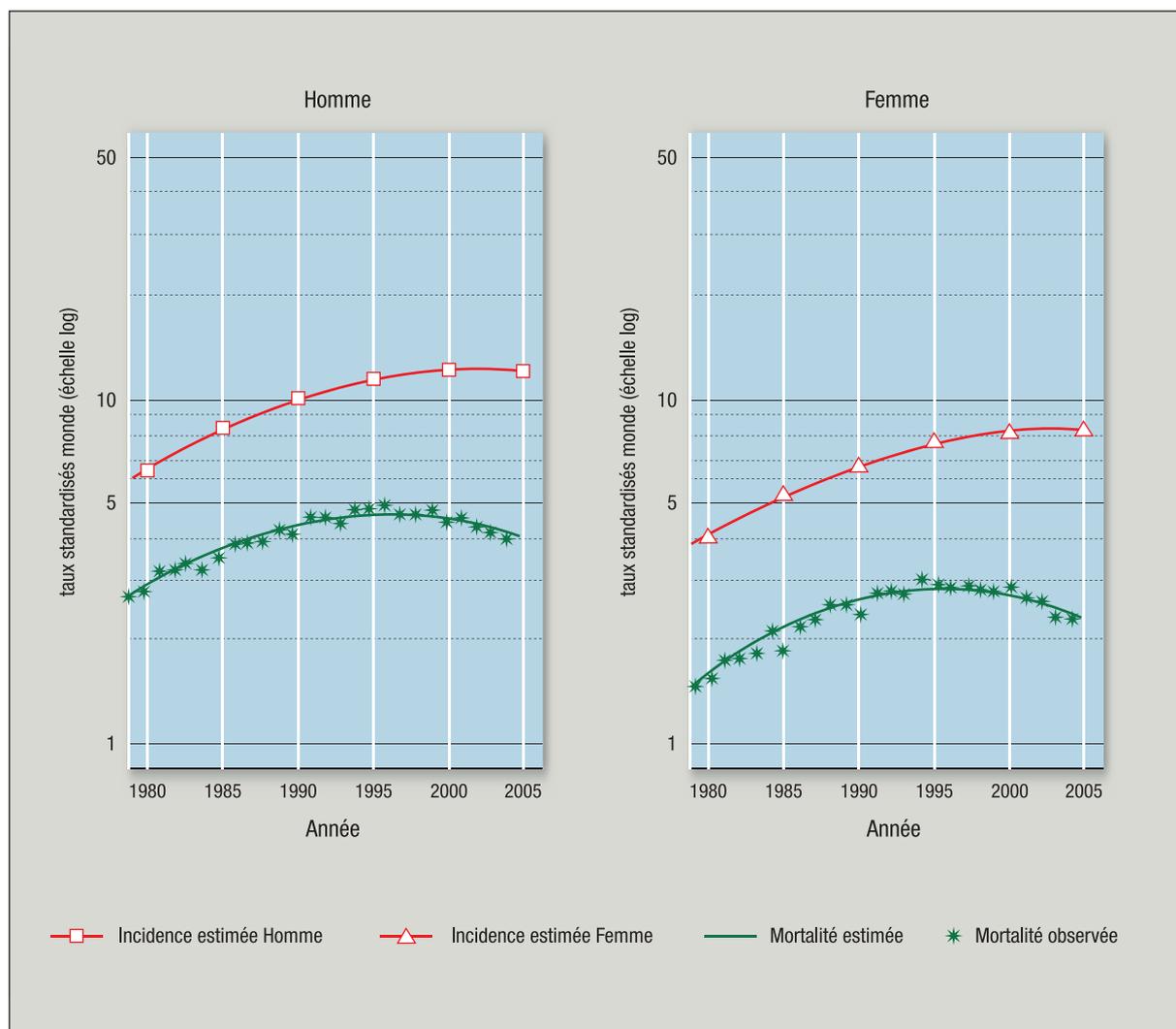


## Population française

Les données nationales de mortalité sont observées directement par l'INSEE à partir des certificats de décès. Les données d'incidence ne sont pas enregistrées au niveau national mais sont estimées à partir des données de registres départementaux qui couvrent 16 % de la population. Pour faciliter les comparaisons, les taux d'incidence sont standardisés sur la population mondiale.

En France, l'incidence des lymphomes est dans la zone intermédiaire. Ils se situent au 6<sup>ème</sup> rang chez l'homme et chez la femme, représentant un peu plus de 3% de l'ensemble des nouveaux cancers diagnostiqués chaque année. Entre 1980 et 2005, l'augmentation annuelle d'incidence des LNH était de 2,7% chez l'homme et de 2,9% chez la femme. Actuellement, les taux d'incidence sont respectivement de 12,2 et 8,2/100.000[4]. Le nombre de nouveaux cas annuels est de 10.000 (pour 320.000 nouveaux cancers) et le nombre de décès annuels (9<sup>ème</sup> rang) est de 4.000 (pour 150.000 décès par cancer)[5]. Comme le montre la **figure 3**, il semble exister une stagnation de l'incidence qui pourrait traduire une diminution de l'exposition à des facteurs de risque. À noter que les taux d'incidence du LH sont toujours restés stables, chez les hommes comme chez les femmes, respectivement de 2.5 et 2.3/100.000 (1.500 nouveaux cas, 250 décès).

**Figure 3 : Tendence chronologique de l'incidence (/100.000) des lymphomes non hodgkiniens en France (1980-2005) d'après <http://www.ivsn.sante.fr>.**

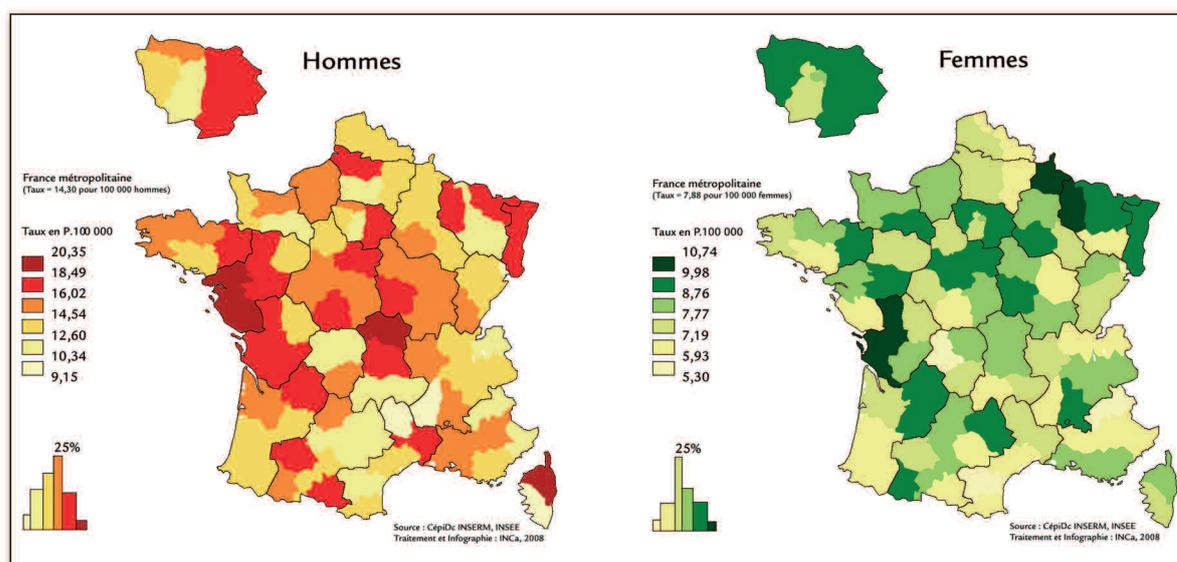


## Distribution des entités

Il existe de grandes différences de répartition géographique des différentes entités anatomo-cliniques : les lymphomes folliculaires (LF) et diffus à grandes cellules B (LDGCB) sont prédominants dans les pays occidentaux, les lymphomes T sont plus fréquents en Asie et les lymphomes de Burkitt en Afrique. La répartition des LNH est la même en Europe et aux Etats-Unis : le LDGCB est la plus fréquente des hémopathies lymphoïdes (23% des cas) suivi par la leucémie lymphoïde chronique (17%), le myélome multiple (17%) et le lymphome folliculaire (12%) [3], [6].

L'Institut National du Cancer (INCA, [www.inca.fr](http://www.inca.fr)) a publié en 2009 l'atlas de mortalité par cancer en France qui montre l'évolution de 1970 à 2004. Pour les hémopathies lymphoïdes, les écarts sont peu importants à l'échelle départementale et beaucoup moins marqués que pour les autres cancers. Ils ont tendance à diminuer au cours du temps (notamment depuis 2000), traduisant une homogénéisation dans la reconnaissance et la prise en charge de ce type de cancer. La [figure 4](#) montre cependant certaines constantes dans la distribution des taux de mortalité. Ceux-ci sont d'autant plus élevés pour les hémopathies lymphoïdes qu'ils sont faibles pour les autres cancers : bas en Bretagne ou dans le Nord de la France et plus élevés dans le Centre-Ouest. Le lien avec le niveau d'urbanisation n'apparaît pas, les taux pouvant être tantôt forts et tantôt faibles dans les départements les plus urbanisés. Deux foyers de surmortalité sont visibles : l'embouchure de la Loire et l'Alsace-Moselle. Il reste cependant difficile de mettre ces distributions spatiales en relation avec des facteurs de risque.

**Figure 4 : Mortalité (/100.000) par hémopathie lymphoïde à l'échelle départementale selon le sexe en France (2002-2004). D'après <http://www.inca.fr>.**



Afin de clarifier la distribution des différentes entités de lymphomes dans la période contemporaine, X. Troussard *et al.* ont étudié 5510 cas survenus en basse Normandie entre 1997 et 2004 [7]. Le [tableau 1](#) montre la répartition des lymphomes en parallèle avec les autres hémopathies malignes, notamment les syndromes myélodysplasiques et myéloprolifératifs qui étaient rarement colligés dans les études épidémiologiques antérieures du fait de problème de classification. Les 1784 cas de lymphomes représentent le tiers des hémopathies malignes, ils sont constitués de 33% de LDGCB, 17% de LF, 15% de LH, 14% de lymphomes à petites cellules et 9% de LNH T.

**Tableau 1 : Distribution des 5510 cas d'hémopathies malignes du registre de Basse Normandie de 1997 à 2004 d'après X. Troussard et al [7].**

HÉMOPATHIES MALIGNES	EFFECTIF	%
<b>Lymphomes non hodgkiniens (LNH)</b>	<b>1510</b>	<b>27,4</b>
Diffus grandes cellules B	599	10,9
Folliculaires	289	9
Lymphocytiques	119	9
À cellules du manteau	56	9
Zone marginale (SLVL exclus)	100	9
Spléniques à lymphocytes villeux (SLVL)	33	9
Burkitt	18	9
Autres LNH-B	126	9
LNH-T	170	9
<b>Lymphomes de Hodgkin</b>	<b>274</b>	<b>4</b>
<b>LLC et formes frontières</b>	<b>888</b>	<b>4</b>
Leucémie lymphoïde chronique	647	9
Leucémie à tricholeucocytes	58	9
Autres hémopathies lymphoïdes B	138	9
Autres hémopathies lymphoïdes T	45	9
<b>Macroglobulinémie de Waldenstrom</b>	<b>176</b>	<b>4</b>
Myélome multiple	755	9
Syndromes myélodysplasiques	703	9
Syndromes myéloprolifératifs chroniques	662	9
Leucémies aiguës	530	9
Autres	12	9
<b>Total</b>	<b>5510</b>	<b>4</b>

## Epidémiologie analytique

L'ensemble des études montre que l'augmentation d'incidence des lymphomes chez l'adulte ne peut être entièrement expliquée par l'amélioration des outils diagnostiques, les changements de classification ou l'épidémie de SIDA. A l'inverse, la distribution temporelle des lymphomes chez les enfants montre une grande stabilité (moins de 5% des cancers). Ces 2 éléments suggèrent que l'augmentation d'exposition à des facteurs de risque au cours de la vie serait liée au risque accru de lymphome à l'âge adulte.

Les facteurs de risque tels que quelques affections génétiques constitutionnelles (ataxie-télangiectasie, syndrome de Wiskott-Aldrich), l'immunosuppression (transplantation, maladies auto-immunes) et quelques infections virales particulières (HIV), représentent environ un tiers des cas. Les autres cas sont multifactoriels, issus de la conjonction d'expositions difficiles à identifier avec précision, comme le montre la richesse de la littérature [8], [9], et d'un polymorphisme génétique individuel ou familial.

Nous allons principalement détailler ici les facteurs infectieux et environnementaux pour lesquels existent des données statistiquement significatives. Puis nous élargirons aux médicaments et pathologies associées.

### Agents infectieux

Cette piste infectieuse est très étudiée dans les cancers car elle peut constituer une bonne cible pour les politiques de prévention au sens large [10].

Le plus documenté reste le cas du LH avec la responsabilité d'un virus potentiellement oncogène, le virus d'Epstein-Barr (EBV). Dans 50 % environ des cas en France et dans les pays industrialisés (la proportion est plus élevée dans les pays sous-développés), il est possible de mettre en évidence, dans les cellules malignes, le génome viral (à ADN), ainsi que des ARN et des protéines propres à l'EBV présentant un fort potentiel oncogénique (particulièrement la protéine latente de membrane ou LMP). Dans l'étude la plus importante à ce jour, une cohorte danoise de 38.000 patients, la mononucléose infectieuse a été associée à un risque relatif (RR) de LH supérieur à 2,5 [11]. Ce risque est particulièrement élevé (RR=3,5) chez les jeunes adultes et diminue lentement avec le temps sur presque deux décennies (figure 5).

Certaines autres entités de lymphomes sont également liées plus ou moins étroitement à une infection par un agent viral. Les lymphomes liés au virus de l'immunodéficience acquise humaine (VIH) sont principalement des LDGCB (de sous-type centroblastique, immunoblastique, ou anaplasique) et des lymphomes de Burkitt. Les entités clinico-biologiques plus rares (<10%) sont représentées par les lymphomes des séreuses (en co-infection avec le virus HHV-8) et les LNH plasmablastiques. Depuis 1997, l'effet bénéfique des trithérapies a permis de diminuer l'incidence des LNH compliquant le VIH et a amélioré leur pronostic. À l'inverse, cela n'a pas modifié l'incidence de LH compliquant le VIH suggérant 2 mécanismes différents de lymphomagénèse.

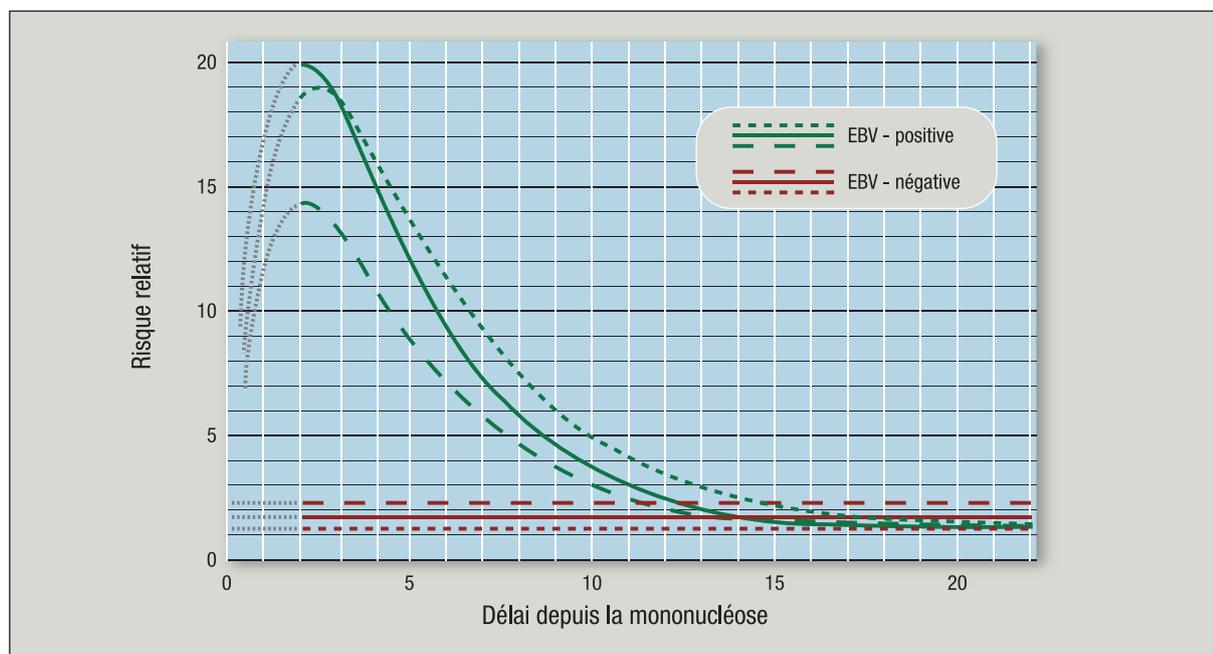
Le virus de l'hépatite C est incriminé pour différentes entités de LNH, en particulier les lymphomes lymphoplasmocytaires et les lymphomes de la zone marginale, pour lesquels le traitement par interféron permet d'obtenir la rémission du lymphome et de l'hépatite.

D'autres associations sont démontrées, notamment pour le virus d'Epstein-Barr et le lymphome de Burkitt, le virus HTLV-1 et la leucémie/lymphome T de l'adulte ou encore le virus HHV-8 et le lymphome des séreuses.

Le seul agent bactérien dont la responsabilité est assurée dans l'apparition d'un LNH est *Helicobacter Pylori*, responsable du lymphome de MALT de l'estomac. L'éradication de la bactérie entraîne d'ailleurs la régression du processus tumoral.

D'autres agents infectieux sont encore suspectés d'être des facteurs de risque de LNH mais ces associations demandent à être confirmées : chlamydia et MALT de l'œil, Borrelia et MALT cutané, voir paludisme et Burkitt.

**Figure 5 : Risque relatif (RR) de survenue d'un lymphome de Hodgkin (LH) selon le statut de l'Epstein Barr Virus (EBV) au Danemark (1968-1997). Les traits pointillés illustrent différentes méthodes d'estimation du RR. D'après Hjalgrim et al [11].**



## Agents environnementaux

Le cas des solvants industriels type benzène, (voire xylène ou toluène) [12] est bien connu par son mécanisme d'alkylation et fait figure d'exemple historique mais beaucoup d'autres agents sont incriminés.

La dioxine fait actuellement figure de suspect numéro 1. Elle entre dans la composition de certains pesticides mais surtout peut être produite par la combustion et l'incinération des ordures ménagères et donc rejetée dans l'environnement. L'étude française de Viel et al. a été la première à montrer un RR de 2,3 pour les LNH dans le voisinage d'un incinérateur [13]. Les résultats ont d'abord été critiqués mais plusieurs études récentes confirment ces résultats pour les concentrations élevées.

Les études d'exposition aux pesticides, herbicides et différents agents chimiques (professionnels comme domestiques) sont très difficiles à mener car les données sur le type d'agent, la durée d'exposition et l'intensité sont quasiment impossibles à valider. Globalement, il faut signaler, pour les professionnels, le lien entre des pesticides (diazinon et atrazine) et le LNH à petites cellules ainsi que celui entre formaldéhyde et LH.

Pour des raisons similaires, le rôle des radiations ionisantes, de l'exposition solaire et celui des champs électro-magnétiques n'a jamais pu être prouvé. Les teintures pour cheveux ne sont également plus suspectes.

Les liens avec le tabac et l'alcool ne sont pas démontrés mais un doute existe entre tabac et lymphome folliculaire. L'obésité, l'exercice physique ne sont pas non plus retrouvés en terme d'incidence.

L'alimentation pauvre en anti-oxydants peut entraîner une augmentation du risque mais nous entrons là dans les théories générales de l'oncogénèse.

## **Pathologies et médicaments**

Rappelons d'emblée que les allergies, le diabète et les transfusions font partie de la littérature médicale mais pas de celle traitant du lymphome.

L'auto-immunité est régulièrement citée en exemple (syndrome de Sjögren (RR=18), lupus (RR=7), polyarthrite rhumatoïde (RR=4)) mais son retentissement est faible sur l'incidence des lymphomes en population générale car il s'agit de pathologies très rares. La maladie coeliaque est la plus fréquente avec un RR entre 5 et 10. Les analyses par entités sont très limitées notamment par l'absence de relecture histologique: Sjogren, lupus et polyarthrite rhumatoïde semblent d'avantage associés aux LDGCB ; le Sjogren aux lymphomes de la zone marginale ; la polyarthrite rhumatoïde aux lymphomes lymphoplasmocytaires et la maladie cœliaque aux lymphomes T [14].

La thérapie immunosuppressive à l'occasion d'une transplantation d'organe occasionne une très grande augmentation du risque de LNH allant d'un RR à 15 dans la greffe de rein jusqu'à un RR de 200 dans la transplantation cardiaque. Les greffes de moelle osseuse semblent avoir un risque intermédiaire mais les interactions avec la maladie initiale et les traitements antérieurs par chimiothérapie limitent les comparaisons. Ces LNH post transplantation sont principalement des LDGCB, EBV+ dans 80 % à 90 % des cas.

De multiples médicaments ont été incriminés avec des rationnels biologiques discutables. Néanmoins, de récentes études cas-témoins sur les corticoïdes, les anti-histaminiques, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les anti-convulsivants ou encore les statines n'a pas montré d'excès de risque. À noter que 6 cas de lymphomes T hépato-spléniques ont été rapportés en 2009 chez des patients traités infliximab (anti-TNF) pour une maladie de Crohn en association à l'azathioprine ou à la 6-mercaptopurine faisant déclencher une enquête de pharmacovigilance mondiale.

## **Conclusion et perspectives**

---

Le lymphome est une maladie hétérogène au plan biologique. Il existe de surcroît des différences de distribution en fonction de l'âge, du sexe, de l'origine ethnique et de la géographie. Dans quelle mesure ces différences peuvent être en lien avec l'étiologie, reste le principal sujet des études épidémiologiques à venir, avec pour objectif final, la prévention.

Des études génétiques sont actuellement menées visant à déterminer le risque de développer un lymphome en relation avec le polymorphisme de certaines cytokines qui jouent un rôle clé dans la réponse immunitaire et inflammatoire. Ainsi certains polymorphismes du TNF et de l'interleukine 10 sont associés à un risque accru de développer un LDGCB [15].

Mais pour aller au delà dans l'étude des interactions entre le soi et les agents extérieurs, il faut impérativement développer la fiabilité et la validité des outils d'évaluation de l'exposition professionnelle, personnelle et environnementale pour le lymphome, comme pour les autres cancers. Nous ne sommes encore qu'au début du programme.

# Bibliographie

---

1. Jaffe E., Harris N., Stein H., Vardiman J. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon. IARC Press ; 2001.
2. Fritz A., Percy C., Jack A., Shanmugaratnam K., Sobin L., Parkin D., Whelans S. ed. International classification of diseases for oncology. Third Edition (ICD-O-3). Geneva ; 2000.
3. Morton LM., Wang SS., Devesa SS., Hartge P., Weisenburger DD., Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood*. 2006 ;107(1) : 265-76.
4. Belot A., Grosclaude P., Bossard N., Jouglu E., Benhamou E., Delafosse P., Guizard AV., Molinie F., Danzon A., Bara S., Bouvier AM., Tretarre B., Binder-Foucard F., Colonna M., Daubisse L., Hedelin G., Launoy G., Le Stang N., Maynadie M., Monnereau A., Troussard X., Faivre J., Collignon A., Janoray I., Arveux P., Buemi A., Raverdy N., Schvartz C., Bovet M., Cherie-Challine L., Esteve J., Remontet L., Velten M.. Cancer incidence and mortality in France over the period 1980-2005. *Rev Epidemiol Sante Publique*. 2008 ; 56(3) : 159-75.
5. Guerin S., Doyon F., Hill C. [The frequency of cancer in France in 2006, mortality trends since 1950, incidence trends since 1980 and analysis of the discrepancies between these trends]. *Bull Cancer*. 2009 ; 96(1) : 51-7.
6. Morton LM., Turner JJ., Cerhan JR., Linet MS., Treseler PA., Clarke CA., Jack A., Cozen W., Maynadie M., Spinelli JJ., Costantini AS., Rudiger T., Scarpa A., Zheng T., Weisenburger DD. Proposed classification of lymphoid neoplasms for epidemiologic research from the Pathology Working Group of the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph). *Blood*. 2007 ; 110(2) : 695-708.
7. Troussard X., Duchenet V., Cornet E., Mouchel D., Malet M., Collignon A. [Haematological malignancies : Incidence in Basse-Normandie, France, for 1997-2004.]. *Rev Epidemiol Sante Publique*. 2009 ; 57(3) : 151-8.
8. Alexander DD., Mink PJ., Adami HO., Chang ET., Cole P., Mandel JS., Trichopoulos D. The non-Hodgkin lymphomas : a review of the epidemiologic literature. *Int J Cancer*. 2007 ; 120 Suppl 12 : 1-39.
9. Landgren O., Caporaso NE. New aspects in descriptive, etiologic, and molecular epidemiology of Hodgkin's lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2007 ; 21(5) : 825-40.
10. Hjalgrim H., Engels EA. Infectious aetiology of Hodgkin and non-Hodgkin lymphomas : a review of the epidemiological evidence. *J Intern Med*. 2008 ; 264(6) : 537-48.
11. Hjalgrim H., Askling J., Rostgaard K., Hamilton-Dutoit S., Frisch M., Zhang JS., Madsen M., Rosdahl N., Konradsen HB., Storm HH., Melbye M. Characteristics of Hodgkin's lymphoma after infectious mononucleosis. *N. Engl J. Med*. 2003 ; 349(14) : 1324-32.
12. Smith MT., Jones RM., Smith AH. Benzene exposure and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007 ; 16(3) : 385-91.
13. Floret N., Mauny F., Challier B., Arveux P., Cahn JY., Viel JF. Dioxin emissions from a solid waste incinerator and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Epidemiology*. 2003 ; 14(4) : 392-8.
14. Smedby KE., Hjalgrim H., Askling J., Chang ET., Gregersen H., Porwit-MacDonald A., Sundstrom C., Akerman M., Melbye M., Glimelius B., Adami HO. Autoimmune and chronic inflammatory disorders and risk of non-Hodgkin lymphoma by subtype. *J Natl Cancer Inst*. 2006 ; 98(1) : 51-60.
15. Rothman N., Skibola CF., Wang SS., Morgan G., Lan Q., Smith MT., Spinelli JJ., Willett E., De Sanjose S., Cocco P., Berndt SI., Brennan P., Brooks-Wilson A., Wacholder S., Becker N., Hartge P., Zheng T., Roman E., Holly EA., Boffetta P., Armstrong B., Cozen W., Linet M., Bosch FX., Ennas MG., Holford TR., Gallagher RP., Rollinson S., Bracci PM., Cerhan JR., Whitby D., Moore PS., Leaderer B., Lai A., Spink C., Davis S., Bosch R., Scarpa A., Zhang Y., Severson RK., Yeager M., Chanock S., Nieters A. Genetic variation in TNF and IL10 and risk of non-Hodgkin lymphoma: a report from the InterLymph Consortium. *Lancet Oncol*. 2006 ; 7(1) : 27-38.

**Le diagnostic  
biopathologique  
des lymphomes :  
classification  
histopathologique  
et phénotypique**

**Luc Xerri**

**CHAPITRE III**

## **Tendance évolutive de la classification des lymphomes et conséquences pratiques**

Un progrès majeur dans la classification des lymphomes au cours des 20 dernières années est l'émergence d'une classification unique, celle de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [9]. Son acceptation consensuelle par l'ensemble de la communauté hématologique, biologique et anatomopathologique lui a permis de supplanter les différentes classifications controversées encore en usage à la fin du siècle dernier. Le principe fondateur de la classification OMS, qui avait été défini précédemment par la classification REAL, est de pouvoir définir des maladies « vraies » qui puissent être reconnues de façon objective par tous les pathologistes avec des techniques accessibles en routine, avec un pronostic et un traitement propre à chaque entité. Dans la plus récente version de la classification OMS datant de 2008 [9], ce principe a été actualisé et étendu à la classification des tumeurs d'origine myéloïde et histiocyttaire. L'inconvénient de cette classification unique réside dans sa complexité apparente, qui est compensée par son exhaustivité.

La définition de chaque entité est idéalement basée sur les données étio-pathogéniques, notamment sur la « cellule d'origine », c'est-à-dire l'homologue normal de la cellule lymphomateuse. Ces données étant souvent parcellaires ou sujettes à variation, la classification utilise toutes les informations disponibles générées par les analyses morphologique, (cytologique et/ou anatomopathologique), immunophénotypique, génétique et/ou moléculaire, ainsi que les données cliniques.

L'importance relative de chaque type d'analyse varie suivant les entités considérées. Pour la plupart d'entre elles, il n'existe pas d'« étalon or » pour le diagnostic mais un faisceau d'arguments qui restent sujets à l'interprétation du pathologiste, à qui incombe leur synthèse en ce qui concerne les lymphomes. Afin de pouvoir disposer d'informations suffisantes pour un diagnostic fiable, Les pathologistes ont développé des techniques phénotypiques et moléculaires sur les prélèvements biopsiques fixés en formol et inclus en paraffine, utilisés en routine pour l'analyse anatomo-pathologique. Le développement de diverses méthodes d'extraction d'ADN et de cytogénétique moléculaire (FISH) sur tissu fixé permet de s'affranchir en grande partie de la congélation systématique des biopsies, démarche souvent non réalisée en pratique en raison de sa lourdeur.

## **Stratégie du diagnostic bio-pathologique**

### **Phase pré-analytique**

Étape importante trop souvent négligée, elle conditionne pourtant l'exactitude du diagnostic histopathologique et phénotypique. En cas d'adénopathie, une biopsie chirurgicale, avec résection du ganglion en totalité, est nécessaire pour une qualité optimale du diagnostic. Dans le même but, il est souhaitable de réceptionner le matériel tissulaire à l'état frais afin de pouvoir réaliser les empreintes cytologiques, ainsi que des prélèvements pour congélation et mise en culture pour cytogénétique.

Il appartient au pathologiste de préserver une part suffisante et représentative du ganglion qui doit être rapidement fixée en formol. Malgré sa toxicité qui nécessite des mesures de protection adéquates, ce fixateur reste encore actuellement le meilleur compromis pour les analyses morphologiques, phénotypiques et moléculaires. Il faut souligner que les prélèvements de taille trop restreinte comme les

biopsies chirurgicales parcellaires, les biopsies ganglionnaires à l'aiguille ou les biopsies ostéo-médullaires peuvent être insuffisants pour permettre un diagnostic précis, notamment si l'architecture est impossible à apprécier, si le contingent de cellules tumorales est trop faible ou en cas d'artéfacts traumatiques.

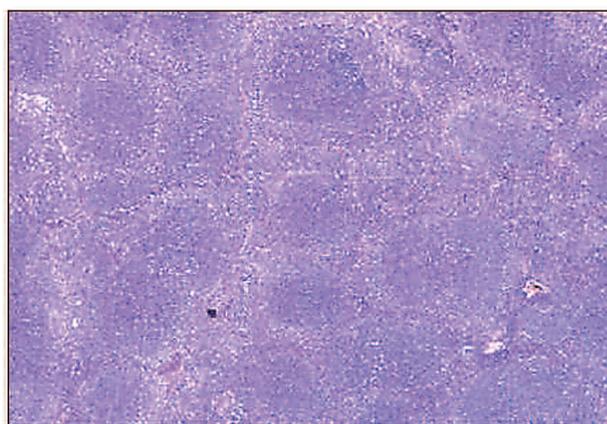
## Analyse morphologique

L'analyse anatomopathologique et cytologique représente toujours la base du diagnostic des lymphomes et apporte des critères indispensables pour une classification correcte.

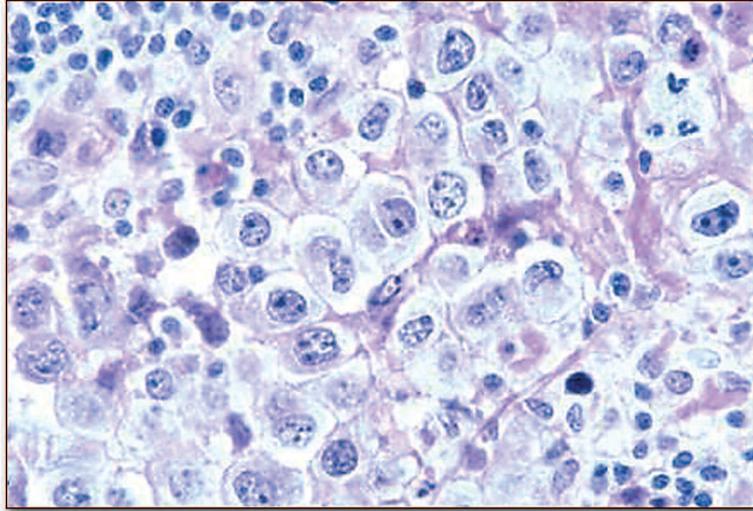
La démarche diagnostique du pathologiste repose sur 2 critères morphologiques fondamentaux : l'architecture de la prolifération et les caractères cytologiques des cellules lymphomateuses. Il existe 2 types principaux d'architecture : diffuse ou nodulaire. Ce dernier cas est surtout rencontré dans les lymphomes de type folliculaire ([figure 1](#)). Ce critère est en général facile à reconnaître et reproductible d'un pathologiste à l'autre. Dans les cas difficiles, on peut s'aider de l'immunodétection des cellules folliculaires dendritiques par le CD21 et le CD23, dont le réseau soulignera d'éventuels nodules.

L'analyse cytologique peut être faite sur coupes tissulaires ou sur empreintes. Cette dernière méthode n'est pas toujours indispensable, mais peut s'avérer précieuse dans certaines situations, notamment les biopsies médiastinales, souvent de petite taille et sensibles aux artéfacts traumatiques. L'apposition peut permettre alors de recueillir des cellules moins rétractées. Le critère cytologique principal est la taille des cellules, car il existe une opposition essentielle entre « petites » et « grandes » cellules dans la démarche diagnostique, notamment pour identifier un lymphome B diffus à grandes cellules ([figure 2](#)). Ce critère peut être difficile à estimer. On considère habituellement que le noyau des grandes cellules doit avoir un diamètre supérieur ou égal à 2 fois celui du noyau du lymphocyte normal ou supérieur à celui du noyau du macrophage [10]. Les caractères de la chromatine et du cytoplasme sont aussi des critères importants permettant une classification plus précise. Les autres critères morphologiques à prendre en compte sont l'activité mitotique, les caractères de la population cellulaire réactionnelle, l'importance de la vascularisation, de la sclérose ou de la nécrose. L'analyse du microenvironnement tumoral est particulièrement utile au diagnostic des lymphomes T, notamment de type LAI ([figures 3 et 4](#)).

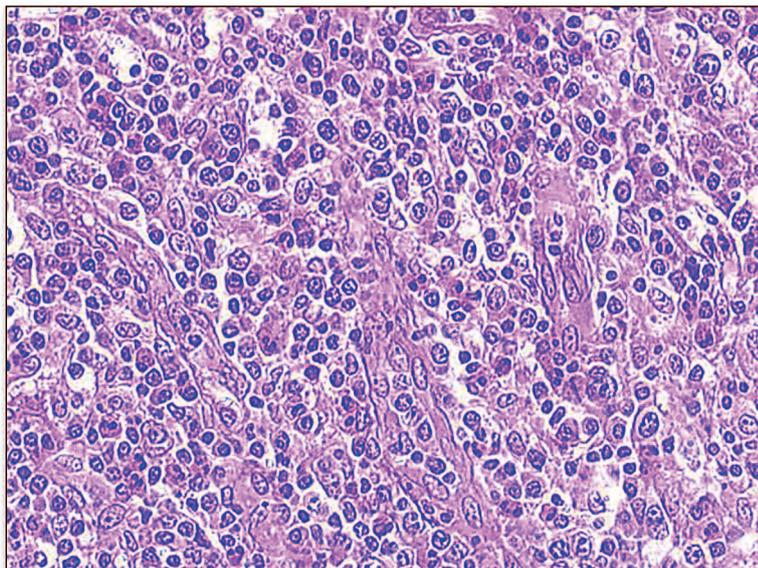
**Figure 1 : Lymphome folliculaire : aspect histologique de biopsie ganglionnaire montrant des follicules en nombre élevé et étroitement accolés. On note l'absence de centre germinatif. Les sinus vasculaires sont comblés.**



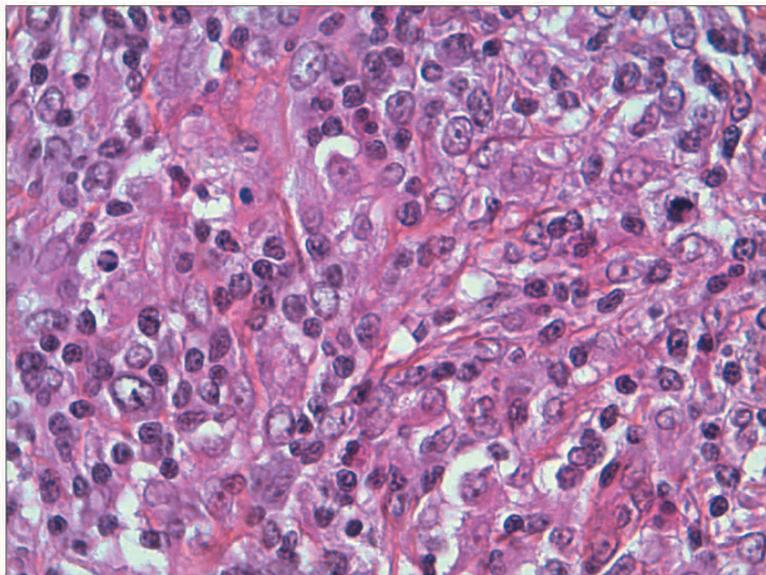
**Figure 2 :** Lymphome B diffus à grandes cellules. On note sur coupe histologique à fort grossissement la différence fondamentale de taille entre les grandes cellules néoplasiques (au centre) et les petits lymphocytes réactionnels (en haut à gauche et en bas à droite). Les cellules lymphomateuses ont une morphologie centroblastique ou immunoblastique, avec un cytoplasme assez abondant.



**Figure 3 :** Lymphome T périphérique de type LAI. Ce lymphome est caractérisé par une hyperplasie des veinules post-capillaires ainsi que par un polymorphisme de la population cellulaire. Cette dernière comporte d'assez nombreux polynucléaires et plasmocytes. Les cellules lymphomateuses sont de petite taille et en nombre souvent réduit par rapport aux cellules réactionnelles.



**Figure 4 : Lymphome T périphérique de type LAI : aspect à fort grossissement des cellules lymphomateuses. On identifie le polymorphisme cellulaire.**



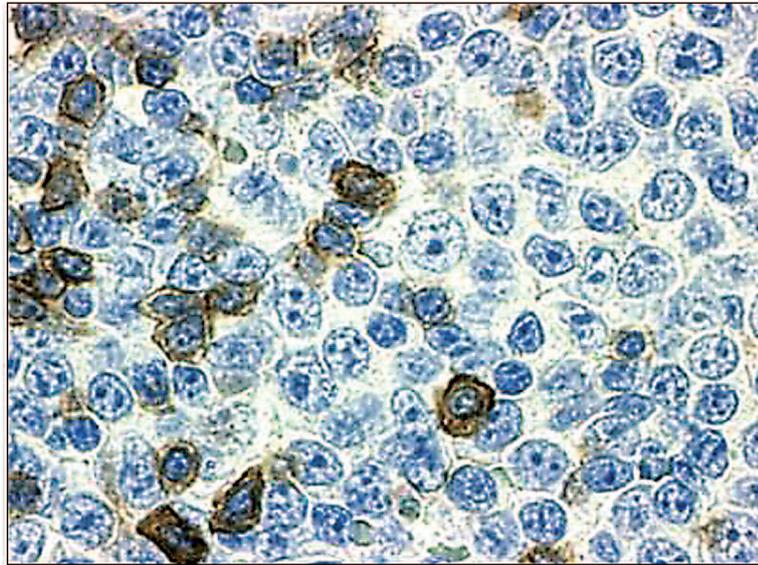
## **Analyse immunophénotypique**

### **Techniques d'analyse**

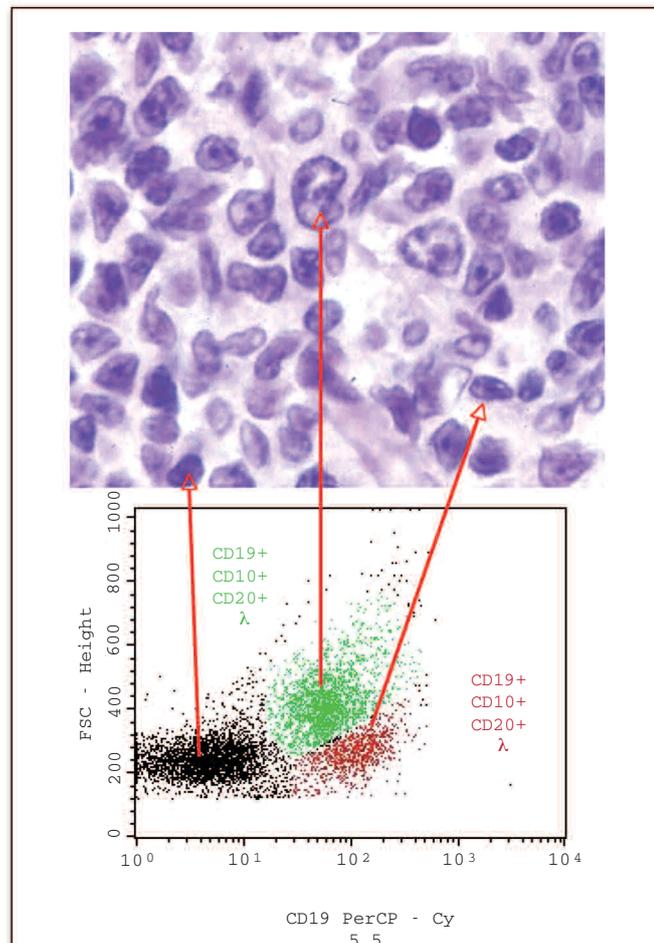
L'analyse morphologique est complétée par celle du phénotype, notamment par technique immunohistochimique sur coupe de tissu inclus en paraffine, qui a connu un fort développement en raison de la disponibilité d'un nombre croissant d'anticorps utilisables sur tissu fixé. Ces progrès techniques ont rendu pratiquement inutiles les investigations immunohistochimiques sur tissu congelé. L'analyse sur tissu fixé a l'avantage de permettre une meilleure identification des cellules positives (figure 5) et de pouvoir réaliser ces études en routine même dans le cas où aucun tissu congelé n'est disponible. Ce dernier cas est assez fréquent, notamment en cas de prélèvements de taille trop restreinte (cf supra), ou en cas de résection chirurgicale réalisée dans un centre ne disposant pas de technique de congélation. Le diagnostic étant de surcroît plus difficile sur les biopsies de taille réduite, un expert hémato-pathologiste est alors souvent sollicité pour une relecture, et ne pourra disposer que du tissu fixé pour son expertise.

L'avantage de la prise en charge directe du prélèvement biopsique en milieu hospitalier est de permettre un diagnostic plus fiable étant donné la possibilité d'accéder à un plateau technique multidisciplinaire. Cette prise en charge est idéale lorsqu'elle se fait dans un même laboratoire de « bio-pathologie » regroupant les différentes techniques morphologiques, phénotypique, cytogénétique et moléculaire, avec une synchronisation et une coordination des analyses. Dans ce contexte, la cytométrie de flux (CF) sur tissu frais dilacéré peut être utilisée comme une alternative intéressante à l'immunohistochimie dans certaines situations, notamment le diagnostic des lymphomes à petites cellules (figure 6). Dans notre expérience, la sensibilité de la CF est supérieure à celle de l'IHC, ce qui permet d'éviter certains pièges, comme la fausse négativité du CD5 qui peut survenir par technique immunohistochimique en cas d'expression faible dans les lymphomes du manteau. La CF est en revanche plus difficile à interpréter en cas de lymphome avec hétérogénéité intra-tumorale.

**Figure 5 :** Lymphome B diffus à grandes cellules : détection immunohistochimique du CD5. On distingue la positivité des cellules de petite taille, correspondant à des lymphocytes T réactionnels. On identifie les cellules lymphomateuses de grande taille qui sont négatives.



**Figure 6 :** Lymphome folliculaire : en haut, aspect histologique de biopsie ganglionnaire à fort grossissement avec une population mixte de petites et de grandes cellules clivées. En bas, résultat d'une analyse par cytométrie de flux du même prélèvement ganglionnaire. Il est possible sur cette analyse de bien distinguer les lymphocytes T réactionnels (nuage noir), les cellules lymphomateuses de grande taille (nuage vert) ainsi que les cellules lymphomateuses de petite taille (nuage rouge). Les cellules de lymphome folliculaire montrent le phénotype habituel CD19+ CD 10+ CD20+ avec une monotypie des chaînes légères Lambda.



### Interprétation des profils phénotypiques

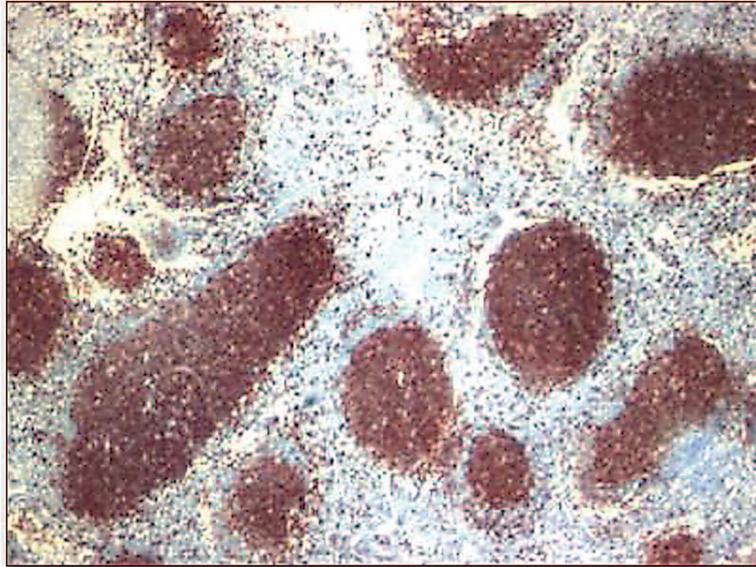
De nombreux types de lymphomes ont un profil phénotypique caractéristique ou fortement évocateur, en particulier la plupart des lymphomes B [7]. L'intérêt de l'analyse immunophénotypique est moins évident pour la classification des lymphomes de nature T [5]. L'expression des seuls antigènes CD20 ou CD3 suffit le plus souvent pour distinguer les lymphomes B des lymphomes T. Selon les données morphologiques et des hypothèses qui en découlent, on choisira une gamme de marqueurs adaptée en vue d'une classification plus précise [11]. Par exemple, en présence d'une prolifération à petites cellules d'aspect mature, une gamme rationnelle sera constituée par les antigènes CD5, CD23, CD10, Bcl2, et Cycline D1, en vue de la caractérisation d'un probable lymphome indolent (tableau 1 ; figures 7 et 8).

**Tableau 1 : Profil phénotypique des principaux types de lymphomes B matures avec un panel d'anticorps utilisable sur coupes de tissu inclus en paraffine.**

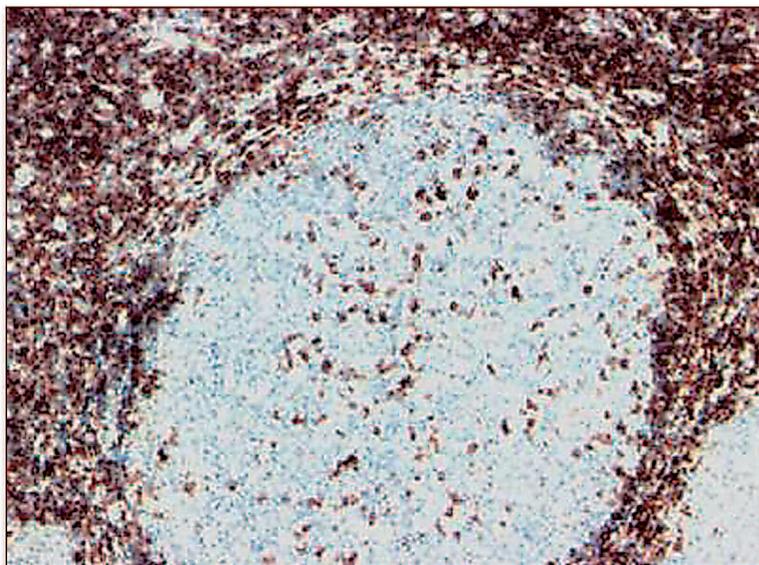
ENTITÉ OMS	CD5	CD10	CD23	CD43	BCL2	BCL6	CYCLINE D1
Lymphome Lymphocytaire /LLC	+	-	+	+	-/+	-	-
Lymphome de la zone marginale	-	-	-/+	-/+	+	-	-
Lymphome folliculaire	-	+*	-/+	-	+*	+	-
Lymphome du manteau	+	-	-	+	+	-	+
Lymphome B diffus à grandes cellules	-*	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-
Lymphome de Burkitt	-	+	-	-/+	-	+	-

\* sauf rares exceptions

**Figure 7 : Lymphome folliculaire : détection immunohistochimique du CD 20 permettant de visualiser la positivité à l'intérieur des follicules néoplasiques.**



**Figure 8 : Lymphome folliculaire : détection immunohistochimique du CD 5 permettant de visualiser la négativité des follicules néoplasiques, qui contiennent cependant des lymphocytes T réactionnels positifs en petit nombre.**



Dans tous les cas, c'est l'interprétation d'une combinaison des données morphologiques et d'un panel de marqueurs phénotypiques qui va permettre un diagnostic et une classification correcte. En effet, l'expression de certains antigènes est nécessaire dans la définition de certaines entités mais cette expression n'est souvent pas strictement spécifique. Par exemple la positivité du CD30 est indispensable pour le diagnostic de lymphome à grandes cellules anaplasiques, mais peut être aussi retrouvée dans d'autres lymphomes T ou B, ainsi que dans le lymphome hodgkinien « classique ». L'expression de CD56 est une caractéristique indispensable des lymphomes T/NK de type « nasal » mais peut être aussi observée dans d'autres types de lymphomes T ainsi que dans les proliférations plasmocytaires (tableau 2). Un autre piège diagnostique est l'existence de variations du profil phénotypique à l'intérieur d'une entité donnée. Par exemple, la plupart des lymphomes T de type « hépato-splénique » ont une expression du récepteur T  $\gamma\delta$ , mais une minorité d'entre eux peuvent exprimer le récepteur T  $\alpha\beta$ , (tableau 2). De même, On peut souligner la possibilité de lymphomes folliculaires avec un profil Bcl2- et/ou CD10-, qui sont des exceptions au profil classique CD10+ /bcl2+ de cette entité.

**Tableau 2 : Profil phénotypique des principaux types de lymphomes T matures avec un panel d'anticorps utilisable sur coupes de tissu inclus en paraffine.**

ENTITÉ	CD3	CD4	CD8	CD7	CD5	TIA1	GRB	CD30	CD56	EBV	EMA
Lymphome T /NK de type « nasal »	+*	-	-/+	-	-	+	+	-	+	+	-
Lymphome T enteropathie-associé	+	-	-/+	+	-	+	+	-/+	-/+	-	-/+
Lymphome T hépato-splénique	+**	-	-/+	+	-	+	-	-	+	-	-
Lymphome T sous-cutané pseudo-panniculite	+	-	+	+	-/+	+	+	-	+	-	-
Mycosis fongoide	+	+	-/+	-/+	-/+	-	-	-	-	-	-
Lymphome T $\gamma\delta$ cutané	+***	-	-/+	-/+	-	+	+	-	+	-	-
Lymphome T angioimmunoblastique	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+#	-
Lymphome T « non spécifié »	+	-/+	-/+	-/+	-/+	-	-	-/+	-	-	-
Lymphome anaplasique ALK+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	+	+	++	-/+	-	++
Lymphome anaplasique ALK-	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	++	-/+	-	+

\* expression uniquement intracytoplasmique du CD3 $\epsilon$  ; \*\* associé au récepteur T  $\gamma\delta$  (ou rarement T  $\alpha\beta$ ) ; \*\*\* associé au récepteur T  $\gamma\delta$  ; # concerne le contingent cellulaire réactionnel.

## Analyse cytogénétique et moléculaire

Ces analyses complémentaires ne sont indiquées que dans une minorité de cas de diagnostic difficile. Ces cas rendent souhaitable l'obtention et la conservation de tissu tumoral congelé. Ce dernier est en effet exploitable à visée moléculaire de façon plus fiable que le tissu fixé, malgré les progrès réalisés dans les techniques d'extraction des acides nucléiques. Pour cette raison, les lymphomes sont considérés par l'Institut National du Cancer comme une des rares pathologies justifiant la constitution de tumorothèques à visée sanitaire.

Les anomalies génétiques qui participent à la définition d'un type de lymphome ne sont souvent pas strictement spécifiques. C'est le cas par exemple des réarrangements du gène de la Cycline D1 dans les lymphomes du manteau, de MYC dans les lymphomes de Burkitt, ou de BCL2 dans les lymphomes folliculaires. Ces anomalies sont donc à interpréter en fonction de la morphologie et de l'immunophénotype.

## Limitations des analyses

La totalité des informations biologiques peut s'avérer insuffisante pour classer certaines entités. Ces cas particuliers nécessitent l'apport complémentaire de données cliniques telles que l'âge, la localisation ganglionnaire ou extra ganglionnaire, la localisation anatomique dans certains sites spécifiques ainsi que les antécédents de thérapie notamment immunosuppressive.

Il faut aussi souligner le manque de critères précis ou clairement identifiés pour classer certaines entités. Une originalité de la classification OMS est d'admettre ces entités imprécises tout en les qualifiant de « provisoires ». Dans la dernière version 2008, une autre catégorie d'entités particulières dites « inclassables » a été créée. Elle concerne des types de LNH qui montrent entre eux des chevauchements et des similitudes. Le lien de parenté entre la cellule de Sternberg et les cellules lymphoïdes B explique l'existence de lymphomes présentant des caractéristiques intermédiaires entre lymphome hodgkinien et lymphome B [3]. L'autre entité « inclassable » est constituée par des lymphomes montrant à la fois des critères de lymphome de Burkitt et de lymphome B diffus à grandes cellules [2], [3]. Ces entités posent le problème de leur prise en charge thérapeutique, qui n'est pas encore codifiée. Les entités « provisoires » ou « inclassables » impliquent la nécessité de remettre régulièrement à jour la classification OMS en fonction des nouvelles données scientifiques.

## Taxonomie et principales subdivisions et de la classification OMS

Dans la classification OMS, les lymphomes sont considérés comme issus de la transformation d'un lymphocyte normal figé dans sa différenciation qui représente la contrepartie physiologique de la cellule maligne. Ceci donne lieu à une distinction majeure de la classification entre les lymphomes suivant leur nature supposée B, T/NK, Hodgkinien ou histiocytaires.

### Lymphomes B et Lymphomes T

Pour les lymphomes B ou T, une autre subdivision importante est faite entre les lymphomes lymphoblastiques, issus de précurseurs immatures et les lymphomes « périphériques » issus de cellules lymphoïdes matures. A l'intérieur des néoplasies lymphoïdes matures, les entités sont séparées en

premier lieu suivant la cellule d'origine supposée lorsque celle-ci peut-être définie.

Pour des entités ayant une cellule d'origine commune ou inconnue, une importance particulière est donnée dans la classification OMS aux données cliniques, notamment la présentation (disséminée, leucémique, extra-nodale, indolente ou agressive). Certains types comme le lymphome de la zone marginale sont classées en plusieurs entités distinctes en fonction de sa localisation ganglionnaire, splénique et ou des tissus lymphoïdes annexés aux muqueuses (MALT) [1]. De même, le lymphome B du médiastin représente une entité distincte par rapport aux autres lymphomes B à grandes cellules. L'importance de la localisation est également très grande à l'intérieur des lymphomes T.

Il faut souligner que l'évolution clinique plus ou moins agressive n'est pas un critère essentiel de la classification OMS, qui ne permet pas de définir des lymphomes de « bas grade » ou de « haut grade » comme dans les classifications antérieures. Une des raisons de l'abandon du « grade » comme critère de classification est la possibilité de progression clinique d'un lymphome au cours du temps. Cette progression vers une agressivité clinique s'accompagne de modifications histologiques et phénotypiques, souvent corrélées à une évolution clonale avec acquisition d'anomalies génétiques additionnelles. Plus rarement, l'évolution se fait sur un mode moins grave que la tumeur initiale, essentiellement pour les patients avec un lymphome B à grandes cellules qui peuvent rechuter sous forme d'un lymphome folliculaire indolent.

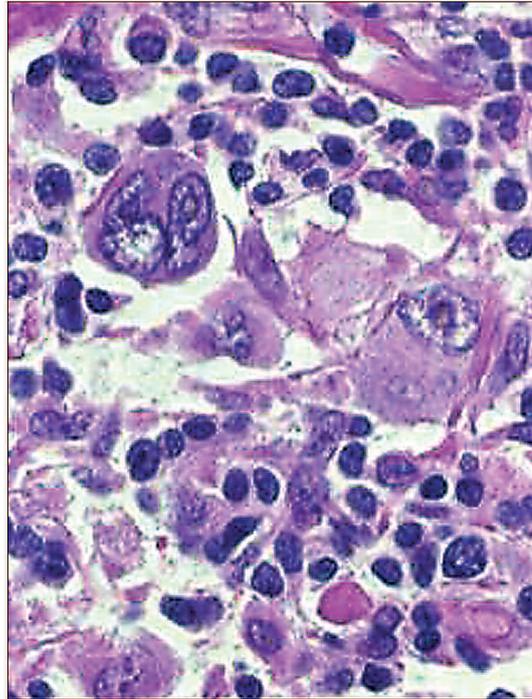
Quelques récentes entités reconnues dans la quatrième édition (2008) de la classification OMS sont issues des progrès des techniques phénotypiques et de génétiques. Ces techniques ont conduit à la détection de populations clonales infimes, notamment dans le cadre de la leucémie lymphoïde chronique (lymphocytose B monoclonale) ou des lymphomes folliculaires (lymphome folliculaire in situ). Dans ces cas particuliers, il n'est pas encore possible de déterminer s'il s'agit d'un envahissement très précoce par une lymphoprolifération, d'une lésion prédisposante ou d'un phénomène accidentel sans conséquence.

## **Lymphomes hodgkiniens**

Les lymphomes hodgkiniens (appellation maintenant conseillée à la place de celle de « maladie de Hodgkin ») représentent une catégorie distincte dans la classification OMS. Cette distinction par rapport aux lymphomes B peut sembler illogique étant donné qu'il est démontré que la quasi-totalité des lymphomes hodgkiniens sont issus de cellules B. Elle est cependant nécessaire en raison des particularités de la prise en charge thérapeutique, du pronostic et de l'évolution clinique des lymphomes hodgkiniens ainsi que des problèmes diagnostiques spécifiques qu'ils peuvent poser [6], [8].

La classification des lymphomes hodgkiniens résulte de l'accumulation de données cliniques et biologiques permettant de séparer 2 entités principales : le lymphome hodgkinien « nodulaire à prédominance lymphocytaire » et le lymphome hodgkinien de forme « classique ». Ces 2 entités diffèrent dans leur aspect clinique, leur évolution ainsi que dans leurs caractéristiques phénotypiques [6], [8]. Les lymphomes hodgkiniens « classiques » sont scindés en 4 types, qui incluent les anciens types « sclérose nodulaire » et « cellularité mixte » et ont en commun une même cellule tumorale, la cellule de Sternberg (figure 9). L'immunophénotype est identique dans les 4 types, dont la distinction, essentiellement histopathologique, reste accessoire par rapport à celle des 2 entités principales.

**Figure 9 : Lymphome hodgkinien de forme classique. On distingue au centre une cellule de Sternberg et une cellule de Hodgkin. Ces deux cellules néoplasiques sont entourées par un important contingent cellulaire réactionnel composé d'éléments lymphocytaires, histiocytaires et plasmocytaires.**



## **Lymphomes histiocytaires**

Les lymphomes d'origine histiocytaires sont les plus rares, moins de 1% des tumeurs du tissu lymphoïde. Leur nombre s'est encore restreint depuis que certains lymphomes B ou T qui avaient été considérés comme histiocytaires sur des critères morphologiques purs ont été reclassés grâce aux progrès du phénotype. La contre-partie cellulaire physiologique des lymphomes histiocytaires est constituée par des macrophages dérivés de la moelle osseuse ou des cellules dendritiques issues de précurseurs médullaires. Dans certains cas, il est possible de préciser la différenciation de la tumeur en raison de la détection d'antigènes spécifiques des cellules de Langerhans, de cellules dendritiques interdigitées, de cellules dendritiques folliculaires ou de cellules dendritiques plasmocytoïdes [4]. En raison de leur rareté, ces tumeurs demeurent mal connues.

## **Conclusion**

---

La précision du diagnostic histopathologique des lymphomes est influencée par plusieurs facteurs cruciaux. Le temps chirurgical exige une grande rigueur incluant le choix d'un ganglion (ou d'un autre tissu tumoral) de taille suffisante, l'absence de traumatisme des tissus, un délai d'envoi bref au

laboratoire (ou à défaut une fixation immédiate dans un fixateur adapté en quantité suffisante). La prise en charge bio-pathologique doit se dérouler dans un laboratoire disposant de techniques multiples, anatomo-pathologiques et biologiques, dont la hiérarchisation sera adaptée en fonction de la difficulté du diagnostic. L'expérience de l'hémato-pathologiste reste cruciale dans les cas difficiles, dont le diagnostic repose encore sur une interprétation subjective des différentes données. Ce dernier point a conduit récemment l'Institut National du Cancer à identifier un réseau de relecture anatomo-pathologique des lymphomes afin de permettre à tous les patients de bénéficier d'une relecture de lames dans un centre d'expertise agréé.

## Bibliographie

---

1. Arcaini L., Lucioni M., Boveri E., Paulli M. Nodal marginal zone lymphoma : current knowledge and future directions of an heterogeneous disease. *Eur J. Haematol.* 2009 ; 83 : 165-74.
2. De Leval L., Hasserjian RP. Diffuse large B-cell lymphomas and burkitt lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009 ; 23 : 791-827.
3. Hasserjian RP, Ott G., Elenitoba-Johnson KS., Balague-Ponz O., de Jong D., de Leval L. Commentary on the WHO classification of tumors of lymphoid tissues (2008) : "Gray zone" lymphomas overlapping with Burkitt lymphoma or classical Hodgkin lymphoma. *J. Hematop.* 2009 ; 2 : 89-95.
4. Lim MS. Commentary on the WHO 2008 classification of neoplasms arising from histiocytic and other accessory cells. *J. Hematop.* 2009 ; 2 : 75-76.
5. Lim MS., de Leval L., Quintanilla-Martinez L. Commentary on the 2008 WHO classification of mature T- and NK-cell neoplasms. *J. Hematop.* 2009 ; 2 : 65-73.
6. Mani H., Jaffe ES. Hodgkin lymphoma : an update on its biology with new insights into classification. *Clin Lymphoma Myeloma.* 2009 ; 9 : 206-16.
7. Ott G., Balague-Ponz O., de Leval L., de Jong D., Hasserjian RP, Elenitoba-Johnson KS. Commentary on the WHO classification of tumors of lymphoid tissues (2008) : indolent B cell lymphomas. *J. Hematop.* 2009 ; 2 : 77-81.
8. Schnitzer B. Hodgkin lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009 ; 23 : 747-68.
9. Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Stein H., Pileri AS., Stein H., Thiele J., Vardiman JW., eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4 th Edition. IARC Press : Lyon, France 2008.
10. Xerri L. Lymphomes B à grandes cellules : aspects histologiques. Dans "Lymphomes malins non Hodgkiniens" 3<sup>ème</sup> Edition, Frison -Roche Ed. Paris 1997 ; 219-229.
11. Xerri L., Brousse N. Arbre décisionnel en hématopathologie : pour une rationalisation du diagnostic histo-phéno-génotypique. *Ann Pathol* 1998, 18 : 343-360.



# **Cytologie ganglionnaire et dissémination sanguine des lymphomes**

**Pascale Felman, Lucile Baseggio**

**CHAPITRE IV**

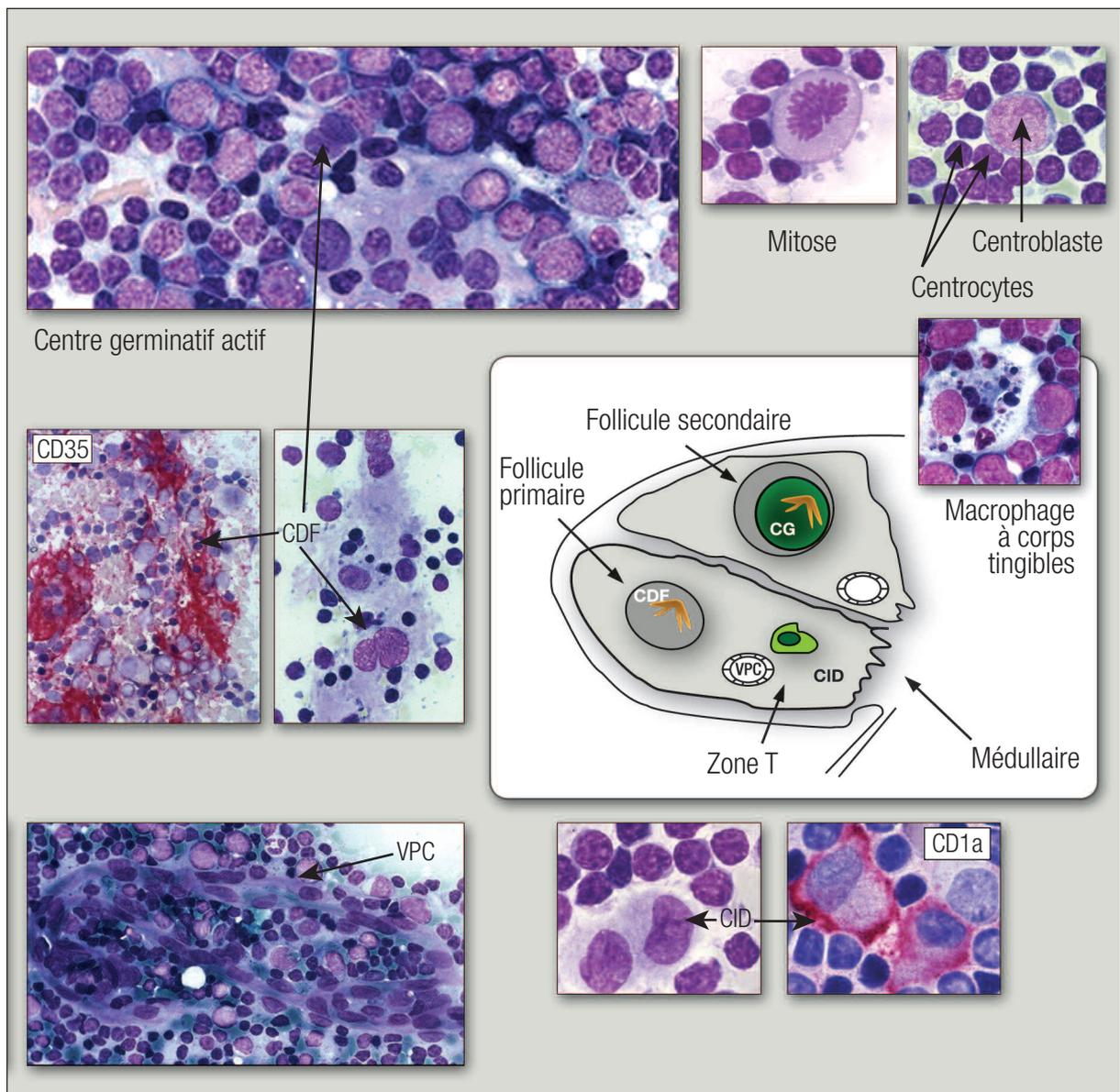
Les lymphomes malins représentent un groupe de pathologies hétérogènes et complexes tant du point de vue biologique que clinique et pronostique. Si le diagnostic initial repose avant tout sur la biopsie ganglionnaire, le cytologiste peut être amené à reconnaître des cellules lymphomateuses dans le sang circulant, la moelle osseuse ainsi que dans le ganglion. En effet la ponction ganglionnaire superficielle ou profonde sous contrôle d'une technique d'imagerie garde toute sa place, en raison de sa facilité d'exécution et de la rapidité de l'analyse, dans le dépistage des lymphomes comme dans la surveillance des patients, permettant de confirmer la rechute, de détecter une éventuelle transformation ou au contraire de proposer le diagnostic d'une autre pathologie comme une infection ou un second cancer. A côté de la ponction, il faut souligner l'apport de l'analyse des empreintes de biopsie ganglionnaire dans l'orientation très rapide du diagnostic, dans la reconnaissance précise de certains types cellulaires (plasmocytes, centrocytes, cellules de Burkitt, cellules de Sternberg), la confrontation cyto-histologique régulière représentant par ailleurs un outil précieux d'apprentissage et de perfectionnement. L'interprétation d'un échantillon de cytologie ganglionnaire demande de connaître la traduction cytologique des différents compartiments anatomiques et fonctionnels du tissu ganglionnaire normal et réactionnel (**figure 1**), (d'après Felman *et al*, Arnette 1997).

Nous envisagerons successivement les lymphomes B matures, le lymphome lymphoblastique, et les lymphomes T/NK matures, en excluant les entités habituellement d'emblée leucémiques (LLC, leucémie à tricholeucocytes, leucémie prolymphocytaire T ...). La maladie de Hodgkin, sans traduction sanguine, sera envisagée en raison de la spécificité des images cytologiques.

Si le diagnostic peut être évoqué plus ou moins fortement sur les seules caractéristiques cytologiques, l'analyse immunologique est indispensable pour le confirmer, aider éventuellement de l'analyse cytogénétique conventionnelle et/ou de la recherche d'anomalies récurrentes caractéristiques des différents types de lymphomes malins .

En pratique au laboratoire, il faut privilégier l'étude du *sang périphérique*, de loin préférable à celle du myélogramme tant sur le plan de l'analyse des caractéristiques cellulaires que pour la facilité de réalisation de l'immunophénotypage par cytométrie en flux (CMF). Il est donc nécessaire d'examiner la lame de sang, dont la qualité de l'étalement est primordiale, chez tout patient suspect de présenter un lymphome, et de demander un phénotype devant des cellules atypiques même en faible pourcentage. Le myélogramme n'a alors d'intérêt diagnostique que dans les cas où la dissémination sanguine est absente ou trop faible pour permettre de faire un diagnostic formel. Une analyse cytologique rigoureuse est particulièrement indispensable dans le domaine des lymphomes à petites cellules, où la reconnaissance des différents types cellulaires va reposer sur des caractéristiques cellulaires parfois subtiles, incluant en particulier la texture de la chromatine (fine, dispersée, épaisse, mottée), le type d'encoches (étroite ou large, profonde ou non..), l'intensité de la basophilie (faible, modérée, intense), le contour cytoplasmique et l'aspect des irrégularités éventuelles, la combinaison des différents critères permettant souvent de proposer une orientation diagnostique sur la seule cytologie, en permettant de reconnaître des types cellulaires caractéristiques (centrocyte, cellule du manteau, lymphocyte de type LL/LLC, lymphocyte villeux, cellule de Sézary...). En effet il est souhaitable d'utiliser la terminologie de référence (définie en histopathologie) la plus précise possible, en ayant conscience que des termes purement descriptifs peuvent désigner des cellules appartenant à des entités distinctes, ainsi en est-il du terme de cellule clivée, pouvant désigner des cellules centro-folliculaires, des cellules de leucémie lymphoïde chronique (LLC) ou des cellules marginales. Ces termes doivent être réservés aux cas où aucune orientation diagnostique ne peut être prise. Si l'immunophénotype est l'outil indispensable venant soutenir, affiner, parfois infirmer le diagnostic, il n'est pas toujours suffisant, voire même trompeur, et la confrontation cytologie-phénotype est un élément essentiel à l'établissement d'un diagnostic correct, avec l'addition si nécessaire du caryotype.

**Figure 1 : Représentation schématique illustrée des territoires ganglionnaires (empreintes de ganglions, MGG x800 ou 1000)** (d'après Felman *et al*). Les CDFs (cellules dendritiques folliculaires) sont les cellules présentatrices de l'antigène dans les follicules, et sont reconnaissables à un fréquent noyau en doublet et à leur abondant cytoplasme mal limité à longs prolongements, branchés en réseaux, ce qui est bien visible après marquage par le CD21 ou le CD35. Avant stimulation antigénique, la zone B du ganglion est organisée en follicules primaires, associant petites cellules lymphoïdes et réseau lâche de CDFs. Après stimulation antigénique, apparaissent les centres germinatifs (CG) caractérisés par un réseau dense de CDFs, par la présence des cellules B centro-folliculaires que sont les centroblastes et les centrocytes associées à des lymphocytes T et des macrophages phagocytant les cellules apoptotiques (macrophages à corps tingibles). En périphérie du CG persiste la structure du follicule primaire constituant la zone du manteau. Les CID ou cellules interdigitantes sont les cellules présentatrices de l'Ag des zones T, elles ont des noyaux à chromatine fine, souvent plissés et un cytoplasme d'abondance modérée au contour hérissé de prolongements courts s'insinuant entre les lymphocytes. Elles sont caractérisées par l'expression du CD1a. Les lymphocytes migrent à travers l'endothélium des veinules post-capillaires (VPC) de la circulation sanguine vers le cortex profond.



## Lymphomes à cellules B matures

Les lymphomes à cellules B matures représentent 90% environ de l'ensemble des lymphomes malins, et donc l'essentiel des entités qu'un biologiste peut être amené à diagnostiquer dans le sang, la moelle ou dans un échantillon ganglionnaire. Si pratiquement toutes les catégories de lymphomes B ganglionnaires peuvent avoir une diffusion sanguine à un moment ou un autre de leur évolution, la grande majorité des cas présents dans le sang au diagnostic, phénomène décrit sous le nom de phase leucémique (qu'il y ait ou non hyperlymphocytose), correspond à des lymphomes à petites cellules développés à partir des différents compartiments des follicules lymphoïdes, lymphome folliculaire (LF), lymphome des cellules du manteau (LCM), lymphome de la zone marginale (LZM), rarement lymphome lymphocytaire (LL) ; leur identification n'est pas toujours aisée en l'absence d'hyperlymphocytose en particulier dans le LF et le LZM, dont les cellules ne seront alors pas détectées par les automates de numération formule sanguine, et leur caractérisation va reposer sur les critères classiques cytologiques et phénotypiques, parfois cytogénétiques ou moléculaires. En effet, si l'analyse du statut mutationnel des gènes codant pour la région variable des chaînes lourdes des immunoglobulines (statut IGHV), ainsi que l'analyse génomique par les techniques de transcriptome, ont apporté des données nouvelles concernant la physiopathologie et le pronostic, les retombées diagnostiques restent pour l'instant limitées à quelques nouveaux marqueurs, non accessibles à la pratique hématologique. A la différence des lymphomes T, il n'est le plus souvent pas nécessaire de compléter par une analyse de la clonalité B pour affirmer la présence d'un envahissement lymphomateux à l'exception des cas où une restriction isotypique des chaînes légères des immunoglobulines ne peut être mise en évidence (infiltration trop faible et/ou persistance de cellules lymphoïdes B normales). Nous envisagerons d'une part les principaux lymphomes à petites cellules B dont le diagnostic est accessible à l'analyse cytologique et d'autre part les lymphomes diffus à grandes cellules B (LDGCB) représentant avec le LF l'une des entités les plus fréquemment observées (tableau 1).

**Tableau 1 : Lymphomes à cellules B matures d'après la classification OMS 2008 en regroupant les entités par groupe de gravité clinique et pronostique.**

<b>1. LYMPHOMES INDOLENTS (BAS GRADE DE MALIGNITÉ)</b>
Lymphome lymphocytaire/Leucémie lymphoïde chronique*
Lymphome Folliculaire
Lymphome de la zone marginale extra-ganglionnaire du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT)
Lymphome de la zone marginale splénique
Lymphome de la zone marginale ganglionnaire
Lymphome splénique inclassable : <i>Lymphome splénique de la pulpe rouge (SRPL)</i>
Lymphome lympho-plasmocytaire
Leucémie à tricholeucocytes *
<b>2. LYMPHOMES AGRESSIFS (HAUT GRADE DE MALIGNITÉ)</b>
Lymphome des cellules du manteau
Lymphome diffus à grandes cellules B
Lymphome médiastinal à grandes cellules B*
Lymphome à grandes cellules B intra-vasculaires*
<b>3. LYMPHOME TRÈS AGRESSIFS (TRÈS HAUT GRADE DE MALIGNITÉ)</b>
Lymphome de Burkitt

\* Entités non abordées dans le texte.

## Lymphome lymphocytaire

Lymphome lymphocytaire et LLC font partie de la même entité dans la classification OMS, partageant en effet les mêmes caractéristiques cytologiques, histologiques, immunophénotypiques et génétiques, la LLC présentant par définition un envahissement sanguin plus marqué. Un taux absolu de lymphocytes sanguins supérieur à  $5 \times 10^9/l$  a été utilisé pour les distinguer, mais tend actuellement à être remplacé par celui des lymphocytes B monotypiques, un taux inférieur à  $5 \times 10^9/l$  définissant le LL (Swerdlow *et al*, classification OMS 2008), dont le diagnostic requiert, outre bien sûr la présence d'adénopathie(s), l'absence de cytopénies par envahissement médullaire selon les recommandations de l'IWCLL (Hallek *et al*, Blood 2008). De rares cas ne présentent pas d'envahissement médullaire au diagnostic. L'évolution du LL peut rester essentiellement ganglionnaire pendant des années, bien que de nombreux cas présentent dans un délai plus ou moins long une dissémination sanguine franche supérieure à  $10 \times 10^9/l$ . La présentation cytologique et le profil phénotypique du LL que ce soit au niveau du ganglion ou du sang n'apparaissent pas différents de ceux de la LLC.

### Cytologie

- **Au niveau du ganglion (PLANCHE 1 - figure 2)**, la tumeur apparaît comme une nappe diffuse et monomorphe de petits lymphocytes, émaillée de cellules plus grandes et nucléolées, prolymphocytaires ou paraimmunoblastiques, en nombre variable selon les cas. Les petits lymphocytes présentent des noyaux arrondis, à chromatine condensée en blocs plus ou moins réguliers, le cytoplasme est peu abondant, faiblement basophile. Les cellules peuvent parfois présenter des noyaux encochés et/ou un aspect lymphoplasmocytoïde. Les cellules dendritiques folliculaires ne sont habituellement pas visibles ou très rares en coloration optique. Les mitoses sont très rares, et l'indice de prolifération au Ki-67 en règle inférieur à 5%.

Le diagnostic de lymphome doit être porté avec prudence dans ce cadre ne comportant pas d'atypies cellulaires manifestes : il est alors impératif de disposer d'un matériel suffisamment riche pour être réellement représentatif du tissu ganglionnaire dans son ensemble.

- **Au niveau du sang**, les cellules lymphomateuses sont identiques à celles de la LLC, correspondant en majorité à des petits lymphocytes à chromatine mottée et au cytoplasme peu abondant, et à de rares prolymphocytes. La présence de lymphocytes atypiques (chromatine moins condensée, encoches nucléaires, cytoplasme plus abondant et basophile) est possible et apparaît plus fréquente dans les formes avec anomalies cytogénétiques autres que la délétion en 13q. Si un myélogramme est réalisé dans le cadre du bilan d'extension, il montre le plus souvent une infiltration dont les caractéristiques sont identiques à ce qui peut être observé dans la LLC.

### Immunophénotype

Réalisé au niveau du ganglion ou du sang il montre un profil immunophénotypique superposable à la LLC avec coexpression des CD5 et CD23, et dans le sang un score de Matutes le plus souvent de 4 à 5. Une augmentation de fréquence de la trisomie 12 et l'utilisation biaisée du segment IgVH3-21 ont été rapportés dans le LL comparé à la LLC classique, de même qu'un pronostic plus sombre que celui de la LLC stade A, sous réserve de validation dans d'autres séries (Daudignon *et al*, 2010)).

## Lymphome folliculaire

Il s'agit d'un lymphome fréquent (20 à 35% des lymphomes de l'adulte), souvent disséminé dès le diagnostic, avec adénopathies périphériques, et une évolution longtemps indolente, émaillée de rechutes

multiples après traitement, souvent évaluées par la ponction ganglionnaire. L'envahissement sanguin est rare au diagnostic, ne dépassant pas 10% des cas, et le degré d'infiltration est souvent faible, une hyperlymphocytose  $> 4 \times 10^9/l$  étant rare et le plus souvent modérée. Les centrocytes ne sont pas détectés par les automates à hémogramme usuels, et ne seront donc identifiés que par une analyse microscopique systématique, les formes sans hyperlymphocytose ne présentant pas habituellement de cytopénies.

### Cytologie

- **Au niveau du ganglion (PLANCHE 1 - figures 3 à 5)**, le LF, représentant l'équivalent néoplasique du centre germinatif, est typiquement composé des 2 types de cellules B normalement présentes dans les centres germinatifs, les centrocytes (petites cellules clivées) généralement majoritaires, et les centroblastes (grandes cellules basophiles non clivées). La présence de nombreuses cellules dendritiques folliculaires (CDFs) en amas et en réseaux, et le regroupement cohésif des cellules lymphomateuses permettent de reconnaître la topographie nodulaire du lymphome. Il n'y a pas de macrophages contenant des débris cellulaires, à la différence de ce que l'on observe dans les hyperplasies folliculaires. Le nombre de centroblastes est à la base du *grading* histologique en 3 groupes mais dont la reproductibilité reste médiocre. La majorité des LF correspond à des grades 1-2 comportant une population très prédominante de petites cellules (80-90%, OMS 2008), leur conférant un aspect assez monomorphe, au contraire des follicules réactionnels, tandis que les LF de grade 3 dont le pronostic est plus agressif comportent un nombre significatif de grandes cellules. Cependant, si un cytologiste expérimenté peut adapter le *grading* histologique à l'analyse des empreintes, l'échantillon obtenu par ponction est de trop petite taille pour pouvoir être considéré comme sûrement représentatif de l'agressivité de la tumeur. Une différenciation plasmocytaire est possible, parfois marquée. Les centroblastes peuvent présenter des noyaux multilobés.
- **Au niveau du sang périphérique (PLANCHE 1 - figure 6)**, la population lymphomateuse est représentée essentiellement par des centrocytes, dont le noyau un peu plus grand que celui d'un lymphocyte normal, présente une encoche étroite et profonde, parfois réduite à un simple coup d'ongle encochant le profil, et une chromatine très compacte mais non mottée, sans nucléole visible. Le cytoplasme faiblement basophile est très peu abondant et parfois visible uniquement dans l'échancrure du noyau ; ces centrocytes sont différents des lymphocytes encochés parfois présents dans les LL/LLC, dont les encoches sont larges et peu profondes, la chromatine mottée, le cytoplasme régulièrement visible, et sont également distincts des cellules du manteau ou des cellules de la zone marginale (PLANCHE 2 ET 3 - figures 9 et 15). Il n'y a par ailleurs pas d'ombres de Gumprecht.
- **Au niveau de la moelle osseuse (PLANCHE 1 - figure 7)**, l'envahissement est souvent sous-estimé, voire méconnu au niveau du myélogramme, même au niveau de grumeaux étalés, en raison de la topographie juxta-trabéculaire et du caractère fibrosant des nodules lymphomateux, alors que sa fréquence sur coupes de biopsies de moelle varie de 40 à 70% selon les séries. Sur les étalements, en dehors des formes hyperlymphocytaires où l'infiltration médullaire est diffuse, l'infiltration prédomine au niveau de la trame où les cellules sont regroupées en nodules cohésifs plus ou moins volumineux, et paraissent souvent en majorité un peu altérées, rétractées et difficiles à distinguer de noyaux nus. Il faut rechercher alors quelques cellules mieux étalées dont les clivages sont suffisamment nets pour permettre d'affirmer leur nature centrocytique, parfois seulement de la suspecter en l'absence de contexte connu de lymphome folliculaire.

### Immunophénotype

Les cellules tumorales expriment une immunoglobuline de surface monoclonale, le plus souvent une IgM, parfois une IgG, plus rarement une IgA, les marqueurs pan-B : CD19 (d'intensité souvent faible), CD22,

CD20, CD79, ainsi que le CD10, marqueur des cellules centro-folliculaires en pathologie lymphoïde mature. A noter que sa détection par CMF est dans quelques cas prise en défaut (~5% dans notre série), ce qui ne doit pas faire éliminer le diagnostic si la cytologie est typique, mais peut conduire à un diagnostic erroné de lymphome de la zone marginale si les centrocytes sont atypiques, avant que l'analyse cytogénétique/moléculaire sanguine ou la biopsie ganglionnaire ne rétablissent un diagnostic correct. Elles sont également CD5-, CD23+/-, CD38+, CD43- (Tableau 2). Elles expriment dans la plupart des cas la protéine BCL2, anti-apoptotique, ce qui peut être utile pour distinguer les follicules tumoraux de follicules réactionnels.

Dans les cas de diagnostic difficile, la t(14;18) peut être recherchée par des techniques de cytogénétique classique ou d'hybridation in situ sur noyaux métaphasiques (FISH, plus sensible et spécifique), cette dernière pouvant être réalisée sur les échantillons cytologiques (étalements cyto-centrifugés de suspensions cellulaires, adénogramme, empreinte) ou au niveau moléculaire en PCR par la mise en évidence d'un réarrangement clonal du gène de fusion IgH-BCL2.

**Tableau 2 : Caractéristiques immunologiques des lymphomes à cellules B matures.**

	LL/LLC	LF	LCM	LZMS/ SLVL	SRPL	HCL	BURKITT
<b>IgS</b>	+ faible	+ forte	+ forte	+ forte	+ forte	+ forte	+ forte
<b>CD19</b>	+	+ faible	+	+	+	+	+
<b>CD5</b>	+	-	+	-/+ (25%)*	-/+ (25%)*	-	-
<b>CD23</b>	+	+/-	-	-/+ (30%)*	-	-	-
<b>Fmc7</b>	+ faible	+	+	+	+	+	+
<b>CD22</b>	+ faible	+	+	+	+ forte	++ forte	+
<b>CD79B</b>	+ faible	+	+	+	+	+	+
<b>CD43</b>	+ forte	-	+ faible	-	-	-	+
<b>CD10</b>	-	+	-	-	-	-	+
<b>CD38</b>	-/+	+	+	-/+	-	-	+
<b>CD20</b>	+ faible	+	+	+	+ forte	++ forte	+
<b>CD25</b>	+ faible	-/+	-	-/+	-/+	+	-
<b>CD103</b>	-	-	-	-	-/+	+	-
<b>CD123</b>	-	-	-	-	-/+	+	-
<b>CD11c</b>	+/-	-/+	-	-/+ faible	+ forte	++ forte	-
<b>CD76</b>	ND	ND	ND	-/+ faible	+ forte	++ forte	ND

+ : positif dans plus de 90% des cas, - : négatif dans plus de 90% des cas, +/- : positif dans plus de 50% des cas.

-/+ : positif dans moins de 50% des cas, \* : % de positivité dans nos séries, ND : non déterminé

## **Lymphomes des cellules de la zone marginale**

Ce terme regroupe trois entités ayant des caractéristiques morphologiques, immunophénotypiques et cytogénétiques communes, mais également des caractéristiques, en particulier cytogénétiques, propres à chaque entité. Il s'agit du lymphome de la zone marginale splénique (LZMS), du lymphome de la zone marginale extra-ganglionnaire du MALT (tissu lymphoïde associé aux muqueuses), et du lymphome de la zone marginale ganglionnaire (LZMG). Il existe des formes disséminées dont le point de départ muqueux, ganglionnaire ou splénique ne peut être établi que s'il existe une anomalie cytogénétique caractéristique d'une localisation donnée. A l'opposé, il existe des formes sanguines ou médullo-sanguines isolées dites « leucémiques » sans localisation tumorale évidente, pouvant correspondre à des formes spléniques débutantes (Berger *et al*, 2000). Le manque fréquent de signature cytologique de ces lymphomes dans le sang explique les difficultés du diagnostic, qui sera généralement facilité par le phénotype immunologique dit 'négatif', les cellules marginales étant CD5, CD23 et CD43 négatives, ainsi que par la mise en évidence en cytogénétique d'anomalies récurrentes communes aux 3 types de LZM : trisomie 3 partielle ou complète, trisomie 18 et anomalies de structure en 1q. Au niveau des échantillons tissulaires, une infiltration débutante localisée à la zone marginale peut échapper à l'analyse cytologique et immunophénotypique en raison du mélange de cellules B normales ou réactionnelles et de cellules lymphomateuses.

Nous nous limiterons à l'étude du LZMS en raison de la fréquente diffusion sanguine, souvent inaugurale, bien qu'il n'y ait pas d'atteinte ganglionnaire initiale, ainsi qu'à celle du lymphome diffus de la pulpe rouge splénique (SRPL) avec lymphocytes villeux typiques.

**Le lymphome de la zone marginale splénique (LZMS)** est une entité récemment décrite, dont l'individualité a été confirmée par une signature moléculaire spécifique démontrée par la réalisation des profils transcriptionnels (Thieblemont *et al*, 2004). Sa fréquence (évaluée à moins de 1% de l'ensemble des lymphomes dans la classification OMS) est sûrement sous-estimée pour des raisons multiples : évolution longtemps indolente avec envahissement sanguin fréquent mais souvent faible, sans hyperlymphocytose, absence de caractéristiques cytologiques et de marqueurs immunophénotypiques spécifiques, absence de données moléculaires découlant de la dérégulation d'oncogènes spécifiques, ceci expliquant la difficulté à le distinguer aisément des autres syndromes lymphoprolifératifs à petites cellules B que sont le lymphome lymphocytaire/LLC, le lymphome folliculaire, et le lymphome du manteau. Si dans la plupart des cas actuellement, les données cyto-immunologiques amènent à proposer le diagnostic de LZM, dans un certain nombre de cas, en particulier les cas CD5 positifs, c'est la mise en évidence d'anomalies cytogénétiques récurrentes comme les anomalies du 7, du 3 ou du 18 et l'absence de t(11;14) qui vont permettre d'éliminer une LLC atypique ou un LCM. La splénectomie ne constitue plus alors qu'un geste thérapeutique si nécessaire, sans justification diagnostique. Dans notre expérience, le LZMS représente 25% des syndromes lymphoprolifératifs leucémiques.

Les patients présentent habituellement une splénomégalie clinique ou échographique, souvent associé à un envahissement sanguin dont la fréquence varie selon les séries de 40 à 90% (Chacon *et al*, 2002, Thieblemont *et al*, 2002), ce qui peut s'expliquer au moins en partie par l'absence possible d'hyperlymphocytose et de toute anomalie des paramètres de l'hémogramme, les cellules lymphomateuses n'étant détectées que par l'examen au microscope de la lame de sang. Une hyperlymphocytose de découverte fortuite est à l'inverse souvent le mode de révélation d'une maladie indolente qui peut être très bien supportée pendant des années. Un composant monoclonal sérique, le plus souvent IgM, parfois IgG est présent dans 20 à 40% des cas. Une anémie et une thrombopénie modérée sont fréquentes, par hypersplénisme ou plus rarement par mécanisme auto-immun. Il n'y a que

rarement une neutropénie et en règle pas de monocytopenie.

Il est préférable d'utiliser le terme histologique de LZMS plutôt que celui de lymphome splénique à lymphocytes villeux (SLVL), utilisé habituellement par les hématologistes (Melo *et al*, 1987, Troussard *et al*, 1996), car les lymphocytes villeux (LV) bien que fréquemment rencontrés, sont inconstants, souvent peu typiques (discrètes irrégularités du contour cytoplasmique) et non entièrement spécifiques.

### Cytologie

- **Au niveau de la rate (PLANCHE 2 - figure 8)**, la topographie typique de type zone marginale (dite aussi biphasique) présente sur coupes, avec une zone périphérique claire élargie entourant une zone centrale plus sombre et parfois des follicules résiduels n'est pas accessible sur empreintes, où on observe une infiltration lymphoïde plus ou moins importante, parfois massive. Une topographie nodulaire est généralement plus visible au niveau des empreintes du ganglion du hile splénique, souvent envahi par le lymphome. Les cellules lymphomateuses peuvent avoir différents aspects, souvent associés, le type prédominant étant représenté à ce niveau surtout par de petites cellules lymphocytaires banales ; une différenciation plasmocytaire plus ou moins marquée est possible, une composante à cytoplasme assez abondant et clair "monocytoïde" est rare, parfois plus évidente voire prédominante au niveau du ganglion du hile.
- **Au niveau du sang périphérique**, la population lymphoïde (PLANCHE 2 - figure 9) apparaît hétérogène, et le mélange de différents types cellulaires, peu ou non spécifiques, est en soi informatif bien qu'il manque souvent d'images caractéristiques : si la présence de cellules *lymphoplasmocytaires* (présentant un noyau à chromatine compacte, avec possibles petites densifications irrégulières, excentré dans un cytoplasme plus ou moins abondant mais dont la basophilie est celle du plasmocyte), voire *plasmocytaires*, ou plus rarement de cellules « *B monocytoïdes* » au cytoplasme en couronne abondant et clair, au noyau plus rarement encoché, peuvent permettre d'évoquer d'emblée le diagnostic, le plus souvent il s'agit de cellules *lymphocytaires* d'aspect banal (dites lymphocyte-like en histopathologie), ou de cellules *lymphoplasmocytoïdes*, différant des cellules lymphoplasmocytaires par le caractère plus modéré de la basophilie cytoplasmique. Il existe fréquemment un nombre modéré de cellules comportant de fines et courtes villosités, évocatrices mais non spécifiques, assez rarement des cellules à noyau encoché ou irrégulier simulant des centrocytes (dites centrocyte-like en histopathologie), et de rares lymphocytes villeux vrais. L'absence d'ombres de Gumprecht, la présence de rouleaux d'hématies sont des arguments en faveur du LZM, mais non formels, car parfois présents dans des LLC atypiques.
- **Au niveau de la moelle osseuse**, l'infiltration est habituelle, interstitielle et intrasinusoidale et/ou nodulaire, parfois massive, mais peut être difficile à distinguer d'une lymphocytose physiologique ou réactionnelle (liée à une pathologie auto-immune en particulier) lorsque l'infiltration est faible (< 30%), et sans atypies très significatives, et que le LZM est seulement suspecté. Il faut souligner que les atypies éventuelles sont en général plus évidentes au niveau du sang dont l'analyse doit toujours être privilégiée. L'infiltration est rarement lympho-plasmocytaire, posant alors un problème de diagnostic différentiel avec la maladie de Waldenström. L'aspect "monocytoïde" parfois observé sur coupes n'est en général pas manifeste au niveau du myélogramme où les cellules présentent des atypies moins caractérisées.

### Immunophénotype

Les cellules tumorales sont IgM +/- D, rarement IgG ou IgA. En l'absence de marqueur spécifique actuellement disponible, un profil « négatif » est évocateur du diagnostic : CD5-, CD10-, CD23-, CD43-. La positivité du CD23 habituellement d'intensité faible est présente dans 30% des cas, le CD43 est habituellement négatif (tableau 2). Dans notre série de LZMS diagnostiqués dans le sang, le CD5 étudié

par cytométrie en flux est positif dans 20 à 25% des cas et ce aussi bien au niveau de l'échantillon de sang périphérique que du tissu splénique (Basseggio *et al*, 2010). En dehors de l'expression du CD5, ces cas diffèrent du groupe CD5 négatif par une lymphocytose plus importante au diagnostic. Quelle que soit l'expression du CD5, le score de Matutes est en règle < 3.

Le CD11c est souvent exprimé mais faiblement, le CD76 est partiellement exprimé, les marqueurs tricholeucocytaires CD25, CD103 ou CD123 sont habituellement négatifs.

### Génétique

Des anomalies clonales vont être mises en évidence dans la très grande majorité des cas (plus de 80% des cas), les plus fréquentes étant représentées par les délétions en 7q, la trisomie 3, la trisomie 18 et la trisomie 12 (complètes ou partielles) ; parmi ces anomalies, la délétion en 7q apparaît caractéristique des formes spléniques au sein des LZM. La signification pronostique de la trisomie 3 ou de la délétion en 7q reste controversée (Chacon *et al*, 2002, Callet-Bauchu *et al*, 2005).

### Lymphome de la pulpe rouge splénique (SRPL)

Bien que rare, cette entité récemment définie (Traverse-Glehen *et al*, 2008) mérite d'être citée car sa définition est avant tout sanguine, reposant sur la présence au niveau du sang périphérique de lymphocytes villeux typiques à un taux significatif (supérieur à 20% de la population lymphomateuse) et par une infiltration splénique diffuse au niveau de la pulpe rouge. Dans la classification OMS 2008, elle constitue une entité provisoire, considérée comme un lymphome/leucémie à cellules B spléniques, inclassable, à côté de la forme variante de leucémie à tricholeucocytes. Sur le plan clinique, les patients sont en moyenne plus âgés que dans le LZMS classique (97% de patients de plus de 60 ans contre 59%) et présentent une splénomégalie sans adénopathies périphériques. Une lymphocytose modérée peut être observée. Les cytopénies sont rares et sont habituellement dues à un hypersplénisme. La survie sans progression est significativement plus longue que dans le LZMS.

### Cytologie

La population lymphoïde se distingue du lymphome marginal classique par son homogénéité, dans le sang comme dans la rate, et d'un patient à un autre. Les caractéristiques cellulaires du lymphocyte villeux typique dans le sang périphérique incluent un noyau rond à chromatine mottée et un cytoplasme basophile d'abondance variable le plus souvent moyenne, présentant des villosités franches réparties en un ou plusieurs pôles (PLANCHE 2 - figure 10). La présence de ces villosités est très dépendante de l'étalement, et peut disparaître en cas de sur-étalement ; elles seront également moins visibles au niveau du myélogramme et des empreintes de rate où il faudra les rechercher dans les zones hémorragiques. Dans les zones sur-étalées, comme sur coupes de biopsie ostéo-médullaire (BOM) et de rate, les villosités sont peu ou non visibles, le cytoplasme apparaissant abondant, disposé en couronne, de basophilie faible ; cet aspect, associé à une topographie principalement intra-sinusoidale dans la BOM, et dans la rate à une localisation préférentielle dans la pulpe rouge avec atrophie de la pulpe blanche peut simuler une leucémie à tricholeucocytes. Ces lymphocytes villeux se distinguent également des cellules décrites dans la forme variante de leucémie à tricholeucocytes (HCL-v) par l'absence de nucléole proéminent.

### Immunophénotype

Les cellules lymphomateuses sont habituellement CD5, CD23 et CD43 négative et diffèrent du LZMS classique par une expression plus forte des CD11c, CD22 et CD76 ainsi que par l'expression assez

fréquente du CD103 (25% des cas) ([tableau 2](#)). La négativité des CD123, CD25 et de l'annexine A1 les distinguent des leucémies à tricholeucocytes.

### Génétique

Le caryotype ne met en évidence d'anomalies que dans 1/3 des cas, ce qui est un autre élément qui le distingue du LZMS. Par contre les anomalies retrouvées sont celles observées dans les LZMS (délétion en 7q, trisomie 18 et trisomie 3 partielle).

Les gènes IGHV sont fréquemment mutés (79%) avec un biais d'utilisation des segments VH3-23 et VH4-34.

Au total, cette entité présente des aspects clinico-biologiques distincts mais partage également des caractéristiques communes avec le LZMS d'une part, la leucémie à tricholeucocytes d'autre part, et il existe un important chevauchement sinon une communauté totale avec la forme variante de leucémie à tricholeucocytes ([PLANCHE 2 - figure 11](#)).

## Lymphome lymphoplasmocytaire et maladie de Waldenström

Le lymphome lymphoplasmocytaire (LPL) correspond à une prolifération clonale de lymphocytes, de cellules lymphoplasmocytoïdes et de plasmocytes, envahissant le plus souvent la moelle osseuse, quelquefois les ganglions ([PLANCHE 2 - figure 12](#)) et la rate, et qui ne remplit pas les critères des autres lymphomes à petites cellules B qui peuvent avoir une différenciation plasmocytaire, au premier rang desquels le LZM.

La maladie de Waldenström (MW) est définie comme un LPL avec envahissement médullaire et composant monoclonal IgM quelle que soit sa concentration. Elle constitue une entité clinico-biologique particulière avec atteinte médullaire exclusive ou prédominante (Berger *et al*, 2005), mais il existe un chevauchement important avec le LZM avec différenciation plasmocytaire, les contours de chaque entité restant à préciser. Dans sa forme typique, le tissu myéloïde apparaît plutôt hypoplasique, siège d'une infiltration nodulaire, diffuse et/ou interstitielle constituée en majorité de lymphocytes à chromatine partiellement mottée, mêlés à un nombre variable de plasmocytes et de cellules en voie de différenciation plasmocytaire et à un nombre variable de mastocytes ([PLANCHE 2 - figure 13](#)). Un envahissement sanguin est possible, souvent faible, constitué essentiellement de cellules lymphocytaires ou lymphoplasmocytoïdes, parfois lymphoplasmocytaires. Les cellules lymphomateuses sont IgM+, rarement IgG+ ou IgA+, CD5-/+, CD10-, CD23-/+, et expriment fréquemment le CD25 et le CD38. Un score de 3 n'est pas rare. Une aide au diagnostic différentiel avec les autres lymphomes B peut être apportée par la cytogénétique quand elle met en évidence une trisomie 4 (20% des cas), caractéristique de la MW, ou une délétion en 6q, évocatrice, présente dans 50% des cas, mais non spécifique. On peut retrouver certaines des anomalies récurrentes des LZM comme une trisomie 3 ou une trisomie 18.

Il existe un chevauchement important entre LPL ganglionnaire ou splénique et LZM, en cours d'étude.

## Lymphome des cellules du manteau

Le lymphome des cellules du manteau (LCM) est une entité rare (6% des lymphomes de l'adulte) survenant chez des sujets âgés (médiane 60 ans) avec nette prépondérance masculine. Ce lymphome est dans la plupart des cas d'emblée généralisé, avec des adénopathies disséminées, une splénomégalie fréquente et des signes généraux. L'atteinte médullaire est habituelle (80% des cas) et la diffusion sanguine fréquente (50 à 80%), mais d'importance très variable, une hyperlymphocytose étant présente chez 30 à 50% des patients.

## Cytologie

- **Au niveau du ganglion** l'infiltration se présente dans la *forme classique* comme une nappe diffuse, souvent vaguement nodulaire, de cellules monomorphes, non ou peu cohésives, de taille petite à moyenne, dont les irrégularités nucléaires sont souvent peu visibles, en particulier sur empreintes, et toujours moins marquées que sur coupes (PLANCHE 3 - figure 14). La présence de mitoses, en nombre inhabituel pour un lymphome à petites cellules est un élément important du diagnostic différentiel avec les autres types de lymphomes à petites cellules. Les formes blastiques ou pléomorphes apparaissent plus agressives, tandis que les formes à petites cellules semblent plus indolentes. Le degré de prolifération cellulaire évalué par le nombre de mitoses ou l'index de prolifération par un marquage au Ki-67 a une signification pronostique statistiquement significative, ce qui est concordant avec la très forte signification pronostique de la signature de prolifération observée en analyse transcriptomique.

- **Au niveau du sang périphérique**, dans la forme typique ou forme *classique* de la classification OMS (PLANCHE 3 - figure 15), qui représente la majorité des cas, la population cellulaire apparaît homogène à faible grandissement, avec une certaine hétérogénéité de taille et de forme nucléaire à fort grandissement ; les cellules petites à moyennes mais de toute façon un peu plus grandes que le lymphocyte normal, présentent des noyaux plus ou moins irréguliers, une chromatine dispersée, un nucléole de petite taille bien visible, un cytoplasme faiblement basophile et peu étendu. Plusieurs variantes morphologiques sont décrites, et peuvent poser des problèmes de diagnostic différentiel avec les autres types de lymphomes à petites cellules B ; (1) la variante à *petites cellules* avec des *noyaux ronds* à chromatine compacte non ou peu mottée, qui pose un problème de diagnostic différentiel avec une LLC atypique ou un lymphome des cellules de la zone marginale, sera reconnue grâce aux investigations complémentaires mais est heureusement rare; il est en effet plus fréquent d'observer le mélange d'une population de petites cellules rondes et d'une population typique ; (2) la variante *pléomorphe* plus fréquente, correspond à une population hétérogène de cellules moyennes à grandes, avec des noyaux parfois irréguliers, une chromatine variable dispersée ou au contraire très compacte, ce qui témoigne d'une hyperploïdie démontrée par le caryotype ; lorsque les grandes cellules ont une chromatine fine « blastique » le diagnostic différentiel peut se poser avec des blastes myéloïdes, mais le caractère discret des cytopénies, et la faible basophilie cytoplasmique doivent servir de garde-fou. Dans de tels cas l'immunophénotypage permet d'affirmer ou de redresser rapidement le diagnostic, les cellules lymphomateuses exprimant fortement le CD45, tous les marqueurs B et en particulier fortement le CD20, ainsi que les IgS. La variante à grandes cellules est en elle-même évocatrice du diagnostic de lymphome du manteau, car les lymphomes diffus à grandes cellules B, dont le cytoplasme est en général plus basophile, ne diffusent que très rarement dans le sang au diagnostic.

- **Au niveau de la moelle osseuse** (PLANCHE 3 - figure 15), l'infiltration très fréquente est de diagnostic aisé en cytologie, probablement en raison du caractère peu cohésif de l'infiltration, nodulaire +/- interstitielle, et des caractéristiques cellulaires très reconnaissables, en général identiques à celles du sang, permettant la détection des cellules du manteau même en petit nombre. Le myélogramme est aussi informatif, voire plus, que l'histologie médullaire, en particulier dans le suivi où l'infiltration résiduelle est faible et dispersée.

## Immunophénotype

Les cellules du manteau expriment une immunoglobuline de surface IgM souvent associée à une IgD, plus souvent  $\lambda$  que  $\kappa$ . Elles expriment les marqueurs pan-B CD19, CD20, CD22, CD79, de même que le CD5 et le CD43 mais sont CD10 négatives (tableau 2). L'absence d'expression du CD23, la forte expression des CD22, CD79b et la faible expression du CD43 permettent de les distinguer de la LLC et

du lymphome de la zone marginale CD5 positif (PLANCHE 3 - figure 16). Des phénotypes aberrants (absence d'expression du CD5 ou du CD43, expression du CD10) ont été décrits en particulier dans les variants blastiques/pléomorphes.

### Génétique

La mise en évidence de la translocation t(11;14) par des techniques de cytogénétique conventionnelle et/ou de FISH, ou l'hyperexpression du gène codant pour la cycline D1 par des techniques de RT-PCR est utilisée comme confirmation dans les cas typiques ou comme aide dans les cas difficiles. Toutefois l'absence de la t(11;14) ou de l'hyperexpression de la cycline D1 ne permet pas d'éliminer le diagnostic de LCM dans des cas cytologiquement et phénotypiquement typiques, car il a été démontré récemment qu'un petit nombre de cas cycline D1 négatifs présentaient la même signature de prolifération en profil transcriptionnel que les LCM cycline D1 positifs (Fu *et al*, 2005).

## Les lymphomes diffus à grandes cellules B (LDGCB)

Nous n'envisagerons que la forme la plus fréquente, décrite dans la classification OMS comme les LDGCB sans autre spécification, à l'exclusion des sous-types et autres formes distinctes par leurs caractéristiques moléculaires, phénotypiques ou cliniques. C'est le lymphome le plus fréquent (30 % environ des lymphomes de l'adulte), dont la médiane d'âge se situe dans la 7<sup>ème</sup> décennie, mais qui peut se voir à tout âge y compris chez l'enfant. Ces lymphomes surviennent soit de novo soit par transformation d'un lymphome de bas grade de malignité (lymphome folliculaire, lymphome marginal, lymphome lymphocytaire/LLC). Un contexte d'immunosuppression (patients transplantés, ou HIV+) représente un facteur de risque significatif, bien que la majorité des cas surviennent en dehors de tout déficit immunitaire connu et dans ce dernier cas le taux d'infection à l'EBV est d'environ 10%. L'origine peut être centro-folliculaire ou post-centro-folliculaire, avec 2 signatures transcriptionnelles distinctes, à grande valeur pronostique, la signature centro-folliculaire (GCB-like) ayant une valeur de bon pronostic par rapport à la signature de lymphocytes B activés (ABC-like). La plupart des cas présentent des gènes VH mutés. L'envahissement médullaire est présent dans 1/3 des cas environ, et l'envahissement sanguin est rare.

### Cytologie

- **Au niveau du ganglion** (ou d'un tissu extra-ganglionnaire), l'infiltration généralement diffuse est constituée de cellules moyennes et grandes majoritaires (PLANCHE 4 - figure 17), le plus souvent polymorphes, avec des signes plus ou moins marqués de prolifération (mitoses nombreuses) et de mort cellulaire (macrophages à corps tingibles). L'aspect le plus fréquent est celui d'un mélange de grandes cellules de type centroblastes (noyau arrondi, parfois irrégulier à chromatine fine, comportant 1 à plusieurs nucléoles de taille moyenne, cytoplasme en couronne assez étroite modérément basophile), et d'immunoblastes (nucléole proéminent, surtout cytoplasme plus abondant et plus basophile), des variantes *centroblastiques* et *immunoblastiques* monomorphes étant possibles mais rares. Le regroupement en amas cohésifs des cellules lymphomateuses décrit dans la variante *anaplasique* peut poser des problèmes de diagnostic différentiel avec une métastase carcinomateuse. Il n'a pas été établi de relation certaine entre les caractéristiques morphologiques d'une grande cellule basophile et son origine, centro-folliculaire ou non centro-folliculaire, en dehors des cellules multilobées qui correspondent le plus souvent à des cellules centro-folliculaires. En l'absence de critères associés comme la présence d'une composante de bas grade reconnaissable, ce sont les analyses complémentaires immunophénotypiques, cytogénétiques ou de biologie moléculaire qui permettront de préciser la cellule d'origine.

• **Au niveau de la moelle osseuse**, l'infiltration, évaluée à 25-30% par l'analyse histologique, est sous-estimée en cytologie, apparaissant souvent faible, parfois seulement suspectée devant quelques grandes cellules dispersées faisant hésiter avec des précurseurs myéloïdes. Elle est par contre facile à affirmer quand elle se présente sous forme d'îlots cohésifs de taille variable, localisés plus souvent en périphérie des étalements (**PLANCHE 4 - figure 18**), qui ne doit pas faire porter à tort le diagnostic de métastase d'une tumeur non lymphoïde. La grande taille des cellules, la densité de la chromatine, l'intense basophilie du cytoplasme, l'absence habituelle de chevauchements nucléaires sont autant d'éléments inhabituels dans une métastase qui doivent orienter correctement le diagnostic et faire compléter par un phénotype (la réalisation d'un marquage par le CD20 et le CD3 est possible sur des lames blanches restantes) et/ou sur une biopsie de moelle. Ces amas cohésifs correspondent dans une minorité de cas à une entité rare, *le lymphome à grandes cellules B intra-vasculaires* (**PLANCHE 4 - figure 19**), dont la topographie ne peut être reconnue que par l'analyse histologique, et qui se traduit cliniquement par des signes liés à l'obstruction des petits vaisseaux dans des organes variés (rein, cerveau, poumon, peau en particulier). Un syndrome d'activation macrophagique est souvent associé (Allory *et al*, 2001). Plus rarement (ou moins bien détectée), l'infiltration lymphomateuse apparaît peu cohésive. Dans un certain nombre de cas, il existe une population de petites cellules lymphomateuses, isolée ou associée à une composante de grandes cellules (**PLANCHE 4 - figure 20**), permettant d'affirmer que le lymphome à grandes cellules, présent ou non dans la moelle osseuse, correspond à une transformation d'un lymphome à petites cellules, dont le type peut être évident sur l'aspect cytologique ou demandera à être précisé par des analyses complémentaires immunologiques, cytogénétiques ou moléculaires.

• **au niveau du sang périphérique**, la diffusion est possible mais rare, par une population le plus souvent polymorphe en taille et en aspect (**PLANCHE 4 - figure 18**) difficilement classable, l'analyse immunophénotypique facile à mettre en œuvre venant préciser ou confirmer l'origine cellulaire du lymphome.

### **Immunophénotype**

Les cellules lymphomateuses expriment différents marqueurs B (CD19, CD20, CD22 et CD79b) dont l'un ou l'autre peut à l'occasion manquer. Elles sont porteuses d'Ig de surface dans 50-75% des cas, et la présence d'Ig intra-cytoplasmique est habituelle en cas de différenciation plasmocytaire. Une expression du CD10 est observée dans 25 à 50% des cas mais son absence ne permet pas d'éliminer une origine centro-folliculaire. La détection des protéines BCL6 et MUM-1 dont l'utilisation est proposée sur coupes pour caractériser l'origine centro-folliculaire (CD10+, BCL6+, MUM1-, parfois CD10- BCL6+ MUM1-) ou non centro-folliculaire d'un lymphome (CD10-, BCL6+/-, MUM1+) n'est actuellement pas applicable par CMF ou en immunocytochimie. Le CD5 est exprimé par 10% des cas correspondant à des lymphomes de *novo* plus souvent qu'à des lymphomes de bas grade transformés. La protéine BCL2 est présente dans 30-50% des cas, ce qui est un critère de mauvais pronostic dans les lymphomes non centro-folliculaires ; le CD30 est exprimé essentiellement dans les lymphomes B anaplasiques. L'index de prolifération au Ki-67 est généralement supérieur à 40%.

A noter que l'analyse par CMF peut échouer à identifier au niveau de la moelle osseuse les cellules lymphomateuses, en cas de cohésion cellulaire marquée ou de trop petit nombre. L'identification morphologique préalable doit pousser à réaliser dans ces cas un marquage immunocytochimique sur étalements cyto-centrifugés de la suspension cellulaire ou sur étalements directs, avec comme but prioritaire de confirmer la nature B de la population tumorale.

## Génétique

Une translocation t(14;18) est retrouvée dans 20-30% des cas. Des anomalies du gène BCL6 situé en 3q27 sont présentes dans 30% des cas, qu'il s'agisse d'un réarrangement découlant d'une translocation t(3;14) ou plus fréquemment de mutations. Un réarrangement du gène MYC est observé dans 10% des cas et est souvent associé à d'autres altérations génétiques.

## Le lymphome de Burkitt

Il s'agit d'un lymphome hautement agressif, développé à partir d'une cellule B centro-folliculaire ou post-centrofolliculaire. Il se présente souvent au niveau de sites extra-ganglionnaires, ou en phase leucémique et demande une approche thérapeutique urgente et spécifique, sa très grande sensibilité au traitement conduisant souvent à un syndrome de lyse tumorale. Il est plus fréquent chez l'enfant (1/3 des lymphomes pédiatriques chez les non-Africains) et il est rare chez l'adulte (1%) où il est souvent associé à un déficit immunitaire. Chez les patients avec forte masse tumorale, l'atteinte médullaire est fréquente, et la diffusion sanguine non rare, tandis qu'il est rare d'observer une présentation purement médullo-sanguine considérée dans la classification OMS comme une variante 'leucémie à cellules de Burkitt' (LAL3 de l'ancienne classification FAB).

Cette tumeur très agressive a vu son pronostic transformé par les traitements polychimiothérapeutiques actuels, plus particulièrement chez l'enfant, avec un taux de rémissions de 90% dans les formes localisées, de 60 à 80% dans les formes à un stade avancé, l'atteinte de la moelle osseuse ou du SNC constituant des facteurs de mauvais pronostic.

## Cytologie

Il est admis que les caractéristiques cellulaires sont mieux évaluées en cytologie qu'en histologie, cependant il est actuellement recommandé de s'appuyer sur un ensemble de techniques (morphologiques, immunophénotypiques ou génétiques) pour affirmer le diagnostic.

- **Au niveau du ganglion** il existe une infiltration habituellement diffuse et massive par une population homogène de cellules de taille moyenne dont les noyaux arrondis présentent 2 à 3 petits nucléoles périphériques au sein d'une chromatine condensée en petits blocs irréguliers, et dont le cytoplasme en couronne assez étroite est intensément basophile et souvent vacuolisé (**PLANCHE 4 - figure 21**). A fort grandissement il existe un certain degré d'hétérogénéité tenant à une variation de taille (petite à grande), et à la présence d'une proportion de cellules en voie de différenciation plasmocytaire, habituellement faible. Il est actuellement admis que le spectre morphologique du lymphome de Burkitt (LB) est relativement large, avec dans certains cas une différenciation plasmocytoïde de la majorité des cellules (décrite auparavant comme variante plasmocytoïde), ou une population plus hétérogène avec présence d'une proportion de centroblastes ou d'immunoblastes (décrite antérieurement comme variante Burkitt atypique), ces variantes présentant en fait la même signature génique que le LB typique. Les mitoses et les macrophages ayant phagocyté des cellules tumorales apoptotiques sont particulièrement nombreux, l'ensemble donnant un aspect « en ciel étoilé ». Une cohésion cellulaire nette est de règle.
- **Au niveau de la moelle osseuse**, (**PLANCHE 4 - figure 22**) l'infiltration en % variable présente les mêmes caractéristiques générales (cohésion cellulaire, mitoses, apoptose) et cellulaires. Les échantillons peuvent être pauvres, en raison de la présence d'une fibrose.
- **Au niveau du sang périphérique**, l'infiltration est habituellement faible, la population apparaissant plus polymorphe qu'au niveau de la moelle ou du ganglion, mais les caractéristiques cellulaires de taille, de

basophilie cytoplasmique, de texture chromatinienne associées à la présence de cellules en apoptose, amènent à proposer le diagnostic de cellules de Burkitt même sans contexte connu (PLANCHE 4 - figure 22) .

### **Immunophénotype**

Les cellules tumorales sont IgM, CD10, CD43, CD19, CD20, CD79a positives, et CD5, CD23 et TdT négatives. Les expressions du CD10 et du CD38 sont d'intensité forte par cytométrie en flux, et distinctes de celles observées dans les lymphomes diffus à grandes cellules B centro-folliculaires. Les cellules n'expriment pas la protéine BCL2.

### **Génétique**

Ce lymphome présente une translocation caractéristique t(8;14)(q24;q32) ou une de ses variantes t(2;8) (p12;q24) ou t(8;22)(q24;q11) entraînant un réarrangement et une dérégulation de l'oncogène c-myc situé sur le chromosome 8. La t(8;14) peut être recherchée en FISH sur échantillons cytologiques. Le lymphome de Burkitt est caractérisé par une signature transcriptionnelle spécifique et distincte des LDGCB (Hummel *et al*, 2006).

## **Lymphome dérivé des précurseurs lymphoïdes (lymphome lymphoblastique)**

### **Lymphome/leucémie lymphoblastique B (LAL/LBL B)**

Il se présente dans la majorité des cas comme une leucémie aiguë envahissant la moelle et le sang, et de façon occasionnelle comme une tumeur solide avec envahissement primitif de ganglions ou de sites extra-ganglionnaires. Par convention, un seuil de 25% de blastes médullaires définit la leucémie. Le lymphome lymphoblastique B ne constitue que 10% environ des lymphomes lymphoblastiques. En l'absence de corrélation précise entre la morphologie et la lignée B ou T des précurseurs lymphoïdes, (hormis la présence de grosses granulations azurophiles présentes dans 10% environ des lymphoblastes B), l'aspect cytologique sera étudié avec le lymphome lymphoblastique T (LBL T) représentant la très grande majorité des cas observés.

- **Immunophénotype** : les cellules tumorales expriment faiblement le CD45, le plus souvent plusieurs marqueurs pan-B : CD19, CD22 cytoplasmique ou membranaire, CD79a cytoplasmique, et de façon variable le CD20, le CD10, le CD34, la TdT, les chaînes lourdes  $\mu$  intra-cytoplasmiques, selon différentes combinaisons traduisant leur degré de différenciation défini en 4 stades par la classification EGIL (Béné *et al*, 1995). Elles peuvent exprimer des marqueurs myéloïdes aberrants comme le CD13 ou le CD33, mais n'expriment jamais de myéloperoxydase intra-cytoplasmique.

### **Lymphome/leucémie lymphoblastique T**

A l'inverse des LAL/LBL B, l'entité LAL/LBL T se présente le plus souvent comme un lymphome (blastés médullaires inférieurs à 25%), sous forme d'une masse tumorale développée le plus souvent à partir du thymus, à croissance rapide, et pouvant donner lieu à des envahissements pleuraux.

- **Cytologie ganglionnaire** : les lymphomes lymphoblastiques présentent un aspect comparable à celui des leucémies aiguës lymphoïdes (PLANCHE 5 - figure 23) : nappe très dense, toujours diffuse, de cellules petites (mais un peu plus grandes que les lymphocytes normaux) ou moyennes, avec un noyau le plus

souvent arrondi, parfois irrégulier, voire convoluté, une chromatine fine, un nucléole de petite taille le plus souvent mal visible et un cytoplasme peu abondant modérément basophile. A fort grandissement une hétérogénéité de taille est en fait fréquente, avec un contingent de grandes cellules habituellement minoritaires. La distinction des formes convolutées et non convolutées sur la base de variations minimales de la forme nucléaire, est difficile à évaluer sur empreintes en raison de l'aplatissement des noyaux lié à la technique même, et n'a pas de signification particulière immunologique, clinique et pronostique. Les mitoses sont nombreuses, parfois groupées, se détachant souvent mal sur le fond cellulaire dense. Leur reconnaissance représente un élément fondamental du diagnostic, permettant d'éliminer aisément celui de lymphome folliculaire à petites cellules, parfois évoqué lorsque les lymphoblastes ont une chromatine plus épaisse. De rares formes atypiques (noyau nucléolé, cytoplasme assez abondant faiblement basophile) peuvent poser un problème de diagnostic différentiel avec un lymphome du manteau blastique.

• **Immunophénotype** : les cellules sont habituellement CD3 + cytoplasmique ou membranaire, TdT+ et expriment de façon variable les CD2, CD5, CD1a, CD4 et CD8, selon leur niveau de différenciation défini en 4 stades par la classification EGIL. Elles peuvent exprimer le CD13 ou le CD33, mais n'expriment pas le MPO non plus que les Ig ou les antigènes pan-B. Des marqueurs NK peuvent être occasionnellement exprimés. Les cellules expriment ou non les hétérodimères du TCR  $\alpha\beta$  ou  $\gamma\delta$ .

## Lymphomes à cellules T/NK matures

Les lymphomes à cellules T matures dérivent des cellules T post-thymiques, dites souvent 'périphériques' ; il est habituel de considérer en même temps les lymphomes dérivés des cellules NK, qui partagent des propriétés immunophénotypiques et fonctionnelles communes avec les cellules T.

Globalement, la fréquence des lymphomes T/NK apparaît stable, alors que celle des lymphomes B est en expansion continue.

Dans son ensemble, ce groupe d'affections est de mauvais pronostic, en raison d'une réponse médiocre aux traitements existants, et d'un diagnostic réalisé à un stade clinique souvent avancé ; la survie est inférieure à celle des lymphomes B, exception faite des lymphomes à grandes cellules anaplasiques (LCGA).

L'approche multi-paramétrique de la classification OMS reste en défaut pour les lymphomes T/NK. En effet les paramètres usuels manquent de spécificité, qu'il s'agisse des critères morphologiques en raison du spectre étendu d'aspects possibles au sein d'une même entité et du chevauchement morphologique existant d'une entité à une autre, ou des critères immunophénotypiques ne permettant pas de définir des profils spécifiques de chaque entité. Contrairement aux lymphomes B, il n'y a par ailleurs pas de marqueur immunophénotypique de monoclonalité bien que la présence d'un phénotype aberrant puisse être utilisée comme tel. Si l'utilisation préférentielle de certaines familles Vbeta de la région variable des gènes du récepteur des cellules T (TCR) peut également être utilisée comme un indice de monoclonalité, son étude reste limitée en pratique par le coût de l'analyse nécessitant au moins 24 anticorps distincts. Si nécessaire, la présence d'un réarrangement clonal des gènes du TCR pourra être recherchée par PCR en biologie moléculaire. De plus, des anomalies cytogénétiques spécifiques n'ont été mises en évidence que pour de rares entités, comme le lymphome à grandes cellules anaplasiques dont le marqueur cytogénétique est représenté par la t(2;5) et ses variantes, entraînant la formation d'un gène de fusion et la production d'une protéine anormale intervenant dans la lymphomagenèse.

Tout ceci explique que les paramètres cliniques jouent un rôle majeur dans la définition des différentes entités, la localisation apparaissant particulièrement déterminante dans le comportement biologique de la maladie. On distingue ainsi 3 catégories selon la présentation clinique la plus habituelle ([tableau 3](#)), les formes à présentation disséminée ou leucémique prédominante, les formes essentiellement extra-ganglionnaires au sein desquelles les lymphomes cutanés forment un groupe distinct, et les formes ganglionnaires.

Nous envisagerons ici d'une part les lymphomes ganglionnaires, d'autre part les lymphomes extra-ganglionnaires présentant au niveau des tissus un aspect cytologique distinctif ou /et donnant lieu à une dissémination sanguine.

**Tableau 3 : Lymphomes à cellules T/NK périphériques de l'adulte d'après la classification OMS 2008 en regroupant les entités en fonction de la présentation clinique.**

<b>LEUCÉMIQUE/DISSÉMINÉ*</b>
Leucémie polymphocytaire T*
Leucémie à grands lymphocytes à grains*
Leucémie agressive à cellules NK*
Syndrome lymphoprolifératif à cellules NK*
Leucémie/lymphome T de l'adulte*
<b>EXTRA-GANGLIONNAIRE</b>
Lymphome T/NK extra-ganglionnaire, de type nasal
Lymphome T intestinal associé à une entéropathie*
Lymphome T hépato-splénique*
Lymphome T sous-cutané simulant une panniculite*
<b>CUTANÉ</b>
Syndrome de Sézary
Mycosis*
Lymphome cutané à cellules T CD30 positive*
Lymphome cutané à cellules T gamma delta*
<b>GANGLIONNAIRE</b>
Lymphome T angio-immunoblastique
Lymphome T périphérique, sans spécification
Lymphome à grandes cellules anaplasiques ALK positives
Lymphome à grandes cellules anaplasiques ALK négatives

\* Entités non abordées dans le texte.

## Les lymphomes à localisation essentiellement ganglionnaire

Ils constituent le groupe le plus fréquent, avoisinant 7.5% de l'ensemble des lymphomes. Deux catégories présentent une physionomie particulière, le lymphome T angio-immunoblastique (LTAI) et le lymphome à grandes cellules anaplasiques (LGCA ALK positif ou ALK négatif), considérés comme de véritables entités anatomo-cliniques, les autres cas étant regroupés sous le terme de lymphomes T périphériques sans caractéristiques particulières, que nous désignerons ici sous le terme de lymphome T commun (LTC). L'infiltration médullaire est fréquente au diagnostic dans le LTC comme dans le LTAI, mais peut être difficile à diagnostiquer quand elle est faible à modérée, car dispersée et de topographie interstitielle au sein d'un tissu myéloïde inflammatoire hypercellulaire. Un syndrome d'activation macrophagique peut être présent. L'infiltration sanguine est rare au diagnostic, mais peut-être sous-estimée, et est par contre fréquente au cours de l'évolution, et alors généralement péjorative à court terme.

### Le lymphome T angio-immunoblastique

Le LTAI touche en majorité des sujets de plus de 60 ans sans prédominance de sexe, et représente vraisemblablement le sous-type le plus fréquent au sein des lymphomes ganglionnaires, sa fréquence étant sous-estimée en raison des difficultés du diagnostic morphologique. Il s'agit d'une maladie très disséminée dès la phase initiale, avec diffusion médullo-sanguine quasi-constante.

### Cytologie

- **Au niveau du ganglion**, l'aspect est évocateur lorsqu'il existe une infiltration diffuse par une population cellulaire particulièrement pléomorphe en taille (depuis des petites cellules jusqu'à des immunoblastes) et en basophilie, avec un mélange de cellules à cytoplasme clair et à cytoplasme intensément basophile, et un contingent net de plasmocytes ([PLANCHE 5 - figure 24](#)). Il existe habituellement un granulome associant cellules épithélioïdes, histiocytes et granuleux éosinophiles. Des grandes cellules pseudo-Sternberg peuvent être observées. Des aspects moins typiques (comportant par exemple une population très minoritaire de cellules B) sont possibles. Les atypies cytologiques peuvent être modérées, ce qui explique les problèmes fréquents de diagnostic différentiel en particulier avec des adénites (virales ou auto-immunes), la maladie de Hodgkin, certains lymphomes B à grandes cellules. Un diagnostic formel repose sur les analyses complémentaires immunophénotypiques, cytogénétiques et biologiques moléculaires.
- **Au niveau de la moelle osseuse**, l'infiltration est difficile à affirmer car elle est souvent faible, représentée par quelques cellules petites à moyennes au cytoplasme assez faiblement basophile noyées dans un tissu myéloïde inflammatoire, la réaction plasmocytaire pouvant être au premier plan. Le regroupement de ces cellules par 3 ou 4 doit attirer l'attention, surtout dans un contexte clinico-biologique évocateur, et pousser à analyser la lame de sang à la recherche d'arguments supplémentaires.
- **Au niveau du sang périphérique**, une hyperéosinophilie généralement modérée a été rapportée dans 40% des cas environ (Dogan *et al*, 2003), et une tendance lymphopénique est courante. Dans le contexte clinique associant fièvre, baisse de l'état général, polyadénopathies, hépato-splénomégalie, rashes cutanés, la présence de quelques cellules lymphoïdes intensément basophiles d'aspect lymphoplasmocytaire ou plasmocytaire associée à une formation en rouleaux peut amener à suspecter un lymphome T angio-immunoblastique, et ce d'autant plus si l'on a connaissance de la présence d'une hypergammaglobulinémie polyclonale ; l'examen attentif de la lame de sang permet de découvrir quelques cellules atypiques au cytoplasme faiblement à modérément basophile, parfois micro-vacuolisé, correspondant vraisemblablement aux cellules T lymphomateuses ([PLANCHE 5 - figure 25](#)). Néanmoins la dissémination sanguine peut se réduire aux seules cellules T, difficiles à reconnaître si elles sont peu

nombreuses. Une infiltration sanguine plus évidente avec hyperlymphocytose est possible mais rare au moment du diagnostic et plus fréquente en cours d'évolution.

### Immunophénotype

Les cellules tumorales sont T CD3+, CD7+, CD5+, CD2+, CD4+ (tableau 4). Il existe un contingent variable souvent important de cellules B polytypiques ainsi qu'un contingent minoritaire de cellules T CD8+. La présence d'anomalies phénotypiques détectées par CMF telles un défaut d'expression du CD3 membranaire ou du CD7 peut être utilisée comme un argument en faveur d'un lymphome T (Serke *et al*, 2000), mais le marqueur caractéristique du LTAI est représenté par l'expression du CD10 par les cellules T CD4 (Attygalle *et al*, 2002), facilement accessible à l'analyse cytométrique (Baseggio *et al*, 2006) (PLANCHE 5 - figure 26), tandis que les autres critères du diagnostic histologique comme la localisation d'amas de CDFs dans les zones T ou la présence de l'EBV dans les cellules B ne sont pas utilisables sur matériel cytologique. La présence d'une population T co-exprimant CD4 et CD10, minoritaire mais très distincte, est également très fréquente dans le sang et la moelle des patients atteints de LTAI, observée dans 85% de nos cas étudiés, et représente donc un véritable marqueur de la maladie.

**Tableau 4 : Caractéristiques immunologiques des lymphomes à cellules T matures.**

	T-LAI	L TC	L GCA	L NK TYPE NASAL	SYNDROME DE SÉZARY
<b>CD3</b>	+/-	+	+/-	- (CMF) + cyt (IHC)	+
<b>CD4</b>	+	+/-	+/-	-	+
<b>CD8</b>	-	-/+	-/+	+	-
<b>CD7</b>	+/-	-/+	-/+	-	-/+
<b>CD5</b>	+	-/+	+/-	-	+
<b>CD2</b>	+	+	+/-	+	+
<b>CD56</b>	-	-/+	+/-	+	-
<b>CD16</b>	-	-	-	-	-
<b>CD57</b>	-	-	-	-	-
<b>CD10</b>	+(-)	-	-	-	-
<b>TIA1</b>	-	-/+	+/-	+	-
<b>GrB7/Perf</b>	-	-/+	+/-	+	-
<b>CD26</b>	+	+	ND	ND	-
<b>CD30</b>	-	-/+	+	-	-

+ : positif dans plus de 90% des cas, - : négatif dans plus de 90% des cas, +/- : positif dans plus de 50% des cas, -/+ : positif dans moins de 50% des cas, CMF : expression négative (S+C) en cytométrie, cyt : positivité intracytoplasmique en immunohistochimie, T-LAI : Lymphome T angio-immunoblastique, L TC : Lymphome T commun, LGCA : Lymphome à grandes cellules anaplasiques T.

## Génétique

Des anomalies clonales sont présentes chez 70% des patients environ, constituant une aide au diagnostic de malignité ; les anomalies récurrentes les plus fréquentes sont représentées par une trisomie 3, une trisomie 5 et un chromosome X supplémentaire ; si elles constituent un critère supplémentaire du diagnostic de lymphome T, elles ne peuvent être considérées comme spécifiques de l'entité.

### Le lymphome T commun (sans caractéristiques particulières)

Ce groupe rassemble tous les cas de lymphomes T ne pouvant être catégorisés au sein de l'une ou l'autre des entités clairement identifiées. Ce regroupement de types morphologiques variés (petites cellules, petites et grandes cellules, grandes cellules) apparaît justifié par l'absence de reproductibilité des sous-classifications morphologiques, et par l'absence de corrélation clinico-biologique précise. Ces LTC représentent un groupe de lymphome agressif. Dans notre expérience, le LTC est plus rare que le LTAI.

## Cytologie

- **Au niveau du ganglion**, la présentation est très hétérogène d'un cas à l'autre. Il existe une infiltration diffuse par une population de cellules petites, moyennes et grandes en pourcentage variable, comportant des noyaux souvent irréguliers et un cytoplasme abondant soit clair soit modérément basophile le plus souvent agranuleux (PLANCHE 5 - figure 27). Parfois cependant, les cellules lymphomateuses présentent des grains azurophiles permettant de présumer de leur nature cytotoxique. Il existe souvent une réaction granulomateuse associant cellules épithélioïdes, éosinophiles, histiocytes et plasmocytes. La variante dite lymphome de Lennert associe une population de petites cellules majoritaires à un abondant contingent de cellules épithélioïdes en petits amas. Quelques formes à grandes cellules simulent un lymphome B par l'homogénéité cellulaire, la nette basophilie du cytoplasme et l'absence de granulome associé (PLANCHE 5 - figure 28).
- **Au niveau de la moelle osseuse**, l'infiltration est assez fréquente, mais son identification sera malaisée si elle est faible.
- **Au niveau du sang périphérique**, l'infiltration est plus souvent présente en cours de l'évolution qu'au diagnostic, et sa nature T peut être évoquée, avant la réalisation de l'immunophénotypage, devant la présence d'irrégularités nucléaires fréquentes et marquées, associées à une chromatine dense mais non mottée, des nucléoles de petite taille, un cytoplasme assez abondant et modérément basophile. Les cas avec granulations azurophiles doivent être distingués des syndromes mononucléosiques par la faible abondance et la basophilie au contraire plus marquée du cytoplasme (PLANCHE 6 - figure 29). La variabilité des aspects d'un cas à l'autre et la rareté des cas ne permettent pas de proposer des critères plus précis de diagnostic.

## Immunophénotype

Les cellules tumorales sont T, CD3+, en majorité CD4+. Quelques cas dérivent des cellules T cytotoxiques (CD8+ TIA1+, granzyme B et perforine +) (tableau 4), ou apparaissent double positifs CD4+ CD8+ ou double négatifs (CD4- CD8-). Un phénotype aberrant, assez fréquent, est utile comme marqueur de malignité (défaut d'expression du CD7, du CD5, du CD3). Ces LTC se distinguent habituellement du T-LAI par l'absence d'expression du CD10.

## Génétique

Si des anomalies chromosomiques de nombre et de structure sont fréquentes, elles sont variées et il n'y a pas d'anomalie récurrente décrite.

## Lymphome à grandes cellules anaplasiques T ou Nulles (LGCA)

Ce lymphome identifié au départ par l'expression du CD30 représente 3% environ des lymphomes de l'adulte et 10-30% des lymphomes de l'enfant, avec une prépondérance masculine nette chez l'adulte jeune. Si 2 entités aux signatures moléculaires distinctes sont actuellement identifiées dans la classification OMS 2008 sur la base de la présence ou non d'une anomalie génétique impliquant le gène ALK, évaluée en pratique diagnostique par la présence immunohistochimique de la protéine ALK, le LGCA ALK-positif survenant chez les enfants et jeunes adultes, de bon pronostic (80% de survie à 5 ans), et le LGCA ALK-négatif survenant chez les sujets âgés, de mauvais pronostic (48% de survie à 5 ans), elles ne peuvent être distinguées sur des bases morphologiques et ne seront donc pas décrites séparément.

### Cytologie

- **Au niveau du ganglion**, le LGCA se présente dans la forme commune comme une tumeur composée de grandes et très grandes cellules d'aspect hyperploïde, dont les noyaux présentent de fréquentes anomalies de forme, et dont le cytoplasme abondant est modérément basophile, le plus souvent agranulaire bien qu'il s'agisse de cellules T cytotoxiques (les granulations seraient plus souvent visibles chez l'enfant) (PLANCHE 6 - figure 30). L'aspect diffère de celui des cellules de Sternberg par le caractère plus compact de la chromatine et l'absence ou la petite taille des nucléoles. Par ailleurs, les cellules sont souvent regroupées en amas cohésifs simulant une métastase carcinomateuse, le diagnostic différentiel reposant, en plus des caractéristiques cellulaires, sur l'absence de chevauchements nucléaires, les cellules étant en fait juxtaposées. Une érythrophagocytose par les cellules tumorales est possible mais rare. Des histiocytes et/ou des éosinophiles peuvent être présents. Les 2 variantes principales, la variante lympho-histiocytaire (10% des cas) et la variante à petites cellules (5 à 10% des cas), plus fréquentes chez l'enfant et difficiles à identifier sous l'angle morphologique, seront reconnues grâce au marquage immuno-histochimique ou immuno-cytochimique avec les Acs des CD30 et ALK et/ou les molécules cytotoxiques. Dans la première variante, les cellules tumorales sont souvent méconnues, masquées par la prolifération histiocytaire réactionnelle, tandis que dans la seconde, les cellules tumorales de petite taille aux noyaux très irréguliers associées à un contingent minoritaire de grandes cellules pseudo-immunoblastiques font classer en premier lieu ce lymphome en lymphome T commun. Le marquage immunologique résout la quasi-totalité des problèmes de diagnostic différentiel (en particulier LGCA ALK-négatif et lymphome de Hodgkin).

- **Au niveau de la moelle osseuse**, l'envahissement est rare (10% des cas) mais le plus souvent méconnu car présent sous forme de cellules isolées, plus facilement identifiées par l'immunohistochimie sur coupes, l'incidence pouvant atteindre alors 30%.

- **Au niveau du sang périphérique**, la dissémination est exceptionnelle. Des formes leucémiques franches, très rares, sont associées à la variante à petites cellules (Bayle *et al*, 1999). Ces petites cellules ont des noyaux très irréguliers, parfois en fleur, et n'expriment pas ou très faiblement le CD30 (qui est néanmoins exprimé au niveau du ganglion, mais essentiellement dans les grandes cellules).

### Immunophénotype

Quelle que soit l'expression de la protéine ALK, moins accessible en immunocyto- qu'en immunohisto- chimie, les cellules tumorales sont fortement CD30+ et CD25+, tandis que l'expression du CD45 est variable et celle du CD3 absente dans plus de 75% des cas (surtout dans les formes ALK-positives). L'expression de CD2 et CD4 est fréquente, mais parfois il n'y a pas de marqueur T identifiable (tableau 4). Néanmoins, la plupart des cas possèdent les molécules des cellules cytotoxiques TIA1,

granzyme B et/ou perforine . Il est fréquent de détecter des marqueurs myéloïdes aberrants, comme le CD13, voire le CD33. Les cellules sont négatives pour l'EBV.

### Génétique

A côté de la translocation t(2;5)(p23;q35), présente dans 70-80% des LGCA ALK-positifs, des variantes impliquant un autre chromosome partenaire (chromosome 1, 3, 17 ou X) ont été identifiées, aboutissant à la production de protéines de fusion variantes dont la distribution subcellulaire est différente selon la protéine de fusion mais aboutit toujours à l'activation inappropriée de la protéine ALK.

Dans le LGCA ALK-négatif, il n'existe pas d'anomalies récurrentes décrites.

### Analyse de clonalité

Environ 90% des LGCA ALK-positif ou ALK-négatif présentent un réarrangement clonal des gènes du TCR, qu'ils expriment ou non des marqueurs T. Chez les 10% restants, il n'y a pas non plus de réarrangement des gènes des Ig.

## Les lymphomes extra-ganglionnaires

Dans ce groupe incluant des entités variées et dans l'ensemble peu fréquentes dans nos contrées, dérivant de différentes catégories de cellules cytotoxiques T ou de cellules NK, peu accessibles à l'analyse cytologique au niveau des tissus, qui sont rarement ponctionnés et s'apposent mal, nous n'envisagerons que le lymphome NK/T de type nasal.

### Lymphome NK/T de type nasal

Ce sous-type sera envisagé pour 2 raisons : tout d'abord, même si la maladie est souvent localisée au moment du diagnostic (nez et région faciale, mais aussi tube digestif, peau, tissus mous, testicule), une dissémination médullo-sanguine est fréquente en cours d'évolution, par ailleurs le diagnostic de cellules cytotoxiques est généralement facile à porter sur la seule cytologie devant la présence de granulations azurophiles, qui ne sont pas visibles sur coupes histologiques, l'immunophénotypage par CMF permettant rapidement, lorsqu'il est possible, de préciser la nature exacte de la cellule cytotoxique (notamment par la recherche de l'expression intra-cytoplasmique des protéines perforine et granzyme B7).

### Cytologie

- **Au niveau des tissus**, le spectre cytologique est large, les cellules tumorales pouvant être petites, moyennes ou grandes, et présentant dans un cytoplasme d'abondance modérée, et de basophilie faible à moyenne, des granulations azurophiles variables en taille et en nombre (**PLANCHE 6 - figure 31**), permettant de faire le diagnostic de cellules cytotoxiques tandis que la caractéristique principale sur coupes d'angio-centricité et d'angio-destruction n'est évidemment pas accessible. Une nécrose et des corps apoptotiques sont habituels, attribués aux protéines cytolytiques présentes dans les granules, ainsi qu'à l'action de chimiokines et cytokines présentes en excès dans le site. Les mitoses sont nombreuses quelle que soit la taille cellulaire.
- **Au niveau de la moelle osseuse**, l'envahissement est rare au moment du diagnostic, plus fréquent en cours d'évolution et alors souvent à la phase terminale de la maladie. Un syndrome d'activation macrophagique (SAM) apparaît comme une complication fréquente, observée en phase initiale plus souvent dans les formes de localisation extra-nasale, de mauvais pronostic. Néanmoins, dans les pays occidentaux, un lymphome B agressif est plus souvent la cause d'un SAM qu'un lymphome de type nasal (Allory *et al*, 2001).

- **Au niveau du sang périphérique**, l'infiltration est rare et quand elle existe, se superpose à la leucémie agressive à cellules NK.

### **Immunophénotype**

Les cellules tumorales sont en majorité NK, CD3 -, CD2+, CD8-/faible, CD4-, CD56+, CD16-, CD57- (tableau 4). Elles possèdent les protéines associées aux granules cytotoxiques TIA1, perforine, granzyme B. Alors que le CD3 intra-cytoplasmique est habituellement négatif avec les Acs monoclonaux destinés à la cytométrie en flux, il existe sur coupes une positivité avec le CD3 polyclonal reconnaissant les chaînes  $\epsilon$  du CD3 présentes dans les cellules NK, ce qui impose alors l'étude du TCR en biologie moléculaire pour préciser la lignée NK ou T. Il existe en effet un nombre minoritaire de cas dérivant des cellules T cytotoxiques, CD3+, CD8+, CD56-/+

### **Génétique**

Des anomalies cytogénétiques diverses ont été rapportées, mais il n'a pas été identifié de translocation spécifique. L'anomalie la plus courante est représentée par une délétion des bras longs du chromosome 6.

## **Lymphomes cutanés**

Au sein des lymphomes cutanés, nous ne citerons que les lymphomes épidermotropes, qui comprennent 2 entités cliniques distinctes, le mycosis fungoïdes, fréquent, longtemps localisé à la peau, se manifestant sous forme de macules, de plaques voire de nodules, avec possible dissémination tardive dans le sang, et le syndrome de Sézary, rare, caractérisé par la triade érythrodermie prurigineuse, polyadénopathies et dissémination sanguine nette, dont le degré n'est pas encore consensuel (valeur au moins égale à  $1 \times 10^9/l$ , ou supérieure à 10% ou rapport CD4/CD8 supérieur à 10). Quelle que soit l'entité, la traduction cytologique dans le sang est identique, avec présence de cellules de Sézary.

### **Aspect cytologique des cellules de Sézary**

On distingue 2 types selon leur taille (PLANCHE 6 - figure 32), petite (8-10 $\mu$ ) ou grande (15-20 $\mu$ ), voire très grande, caractérisées par une chromatine dense, sans nucléole visible, et des replis ou des sillons étroits et profonds leur donnant un aspect en patte d'oie ou cérébriforme, sans qu'il y ait d'irrégularités marquées du contour nucléaire. Le rapport nucléo-cytoplasmique est élevé, avec un cytoplasme de basophilie faible, agranuleux. Si les grandes cellules sont faciles à reconnaître comme tumorales, les sillons étant généralement bien visibles, les petites cellules peuvent être difficiles à distinguer de cellules lymphoïdes au noyau irrégulier non spécifiques, présentes au cours de dermatoses inflammatoires, et disparaissant rapidement lors de la guérison des lésions cutanées. La présence de 10% de telles cellules chez un malade ayant un tableau clinique évocateur apparaît nécessaire pour retenir le diagnostic de cellules de Sézary.

### **Immunophénotype**

Les cellules de Sézary ont dans la majorité des cas un phénotype de cellules T mémoires CD2+, CD3+, CD4+, CD5+, CD8- (tableau 4). L'expression du CD8 est possible mais rare. La présence d'anomalies phénotypiques (défaut ou perte d'expression des CD2, CD3, CD4, CD5, ou plus souvent du CD7, et de façon plus caractéristique du CD26) sont des éléments utiles au diagnostic, de même que la présence d'un rapport CD4/CD8 supérieur ou égal à 10.

## Cytogénétique

Les anomalies chromosomiques de nombre et de structure sont habituelles, sur de multiples chromosomes, mais sans qu'il ait été identifié de marqueur cytogénétique caractéristique.

## Maladie de Hodgkin

Cette entité décrite dès 1832 par Hodgkin est dénommée actuellement dans la classification OMS sous le terme de lymphomes de Hodgkin, justifié par l'origine lymphoïde B prouvée des cellules tumorales. Ces lymphomes partagent une présentation morphologique particulière associant le plus souvent un nombre faible de cellules tumorales dispersées au sein d'un infiltrat cellulaire hétérogène de cellules inflammatoires non spécifiques et de cellules accessoires.

Ils comprennent 2 entités distinctes sur le plan clinique, l'aspect morphologique et immunophénotypique : le lymphome de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire et le lymphome de Hodgkin classique. Nous n'envisagerons ici que la maladie de Hodgkin classique, vu la rareté du lymphome de Hodgkin nodulaire et les difficultés de son identification cytologique.

### Maladie de Hodgkin classique

Elle représente 95% des lymphomes de Hodgkin et correspond le plus souvent à une prolifération B monoclonale, qui peut être liée à l'EBV. Le matériel concerné correspond soit à des adénogrammes de ponction lors du dépistage de la maladie ou lors du suivi, soit à des empreintes de ganglion biopsié.

## Cytologie

**L'aspect typique du lymphome de Hodgkin classique en cytologie** associe :

- Un critère majeur représenté par la présence de cellules de Sternberg, volumineuses, caractéristiques par un noyau de très grande taille bi- ou pluri-lobé, présentant un énorme nucléole "à l'emporte pièce" dans chaque lobe, ou plus irrégulièrement dessiné dans une chromatine fine, très aérée, comme œdématiée (PLANCHE 6 - figure 33). Le cytoplasme est abondant de basophilie variable, souvent faible à moyenne. Fragiles, elles sont souvent réduites à l'état de noyaux nus en particulier sur les étalements de ponction, mais sont le plus souvent néanmoins très reconnaissables, imposant la biopsie diagnostique. Sur matériel biopsique, elles sont habituellement plus faciles à distinguer quand elles sont rares sur empreintes que sur coupes. Elles peuvent à l'inverse être nombreuses, en plages plus ou moins étendues.
- Un ou plusieurs critères mineurs représentés par :
  - \* des cellules tumorales moins typiques, avec des nucléoles plus petits et multiples, ou ressemblant à de grands immunoblastes atypiques par la taille du nucléole, souvent dénommées cellules de Hodgkin, ne pouvant être considérées comme diagnostiques à elle seules.
  - \* un granulome associant de façon variable granuleux éosinophiles, granuleux neutrophiles, cellules épithélioïdes et plasmocytes (PLANCHE 6 - figure 34).
  - \* une pauvreté cellulaire le plus souvent sans fibroblastes visibles traduisant la présence d'une sclérose le plus souvent nodulaire.

Les différents sous-types décrits en histologie (avec sclérose nodulaire, à cellularité mixte, riche en lymphocytes ou avec déplétion lymphocytaire) peuvent être identifiés en cytologie en particulier sur

empreintes, mais avec une précision certes inférieure à l'analyse histologique tenant en particulier à l'impossibilité de distinguer valablement sclérose nodulaire et diffuse, la première étant de loin la plus fréquente.

En pratique sur étalements de ponction, la présence de cellules de Sternberg est très évocatrice mais non totalement spécifique, un aspect similaire pouvant être observé dans de rares lymphomes B et d'encore plus rares carcinomes. C'est donc l'association de cellules caractéristiques à un granulome même peu important (valeur de la présence de 1 ou 2 granuleux éosinophile, de quelques cellules épithélioïdes) qui doit orienter le diagnostic vers une maladie de Hodgkin.

### **Immunophénotype**

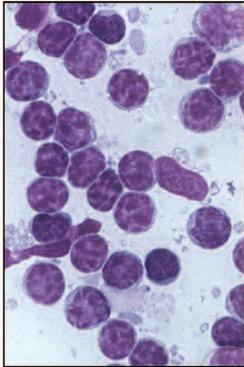
Les cellules tumorales de Hodgkin et de Sternberg sont caractérisées par une expression quasi constante du CD30 et très fréquente du CD15, ce dernier étant peu accessible à l'analyse immunocytochimique classique. Elles sont généralement CD45 négatives, et le CD20 quand il est exprimé n'est présent que dans une minorité de cellules tumorales.

## **Conclusion**

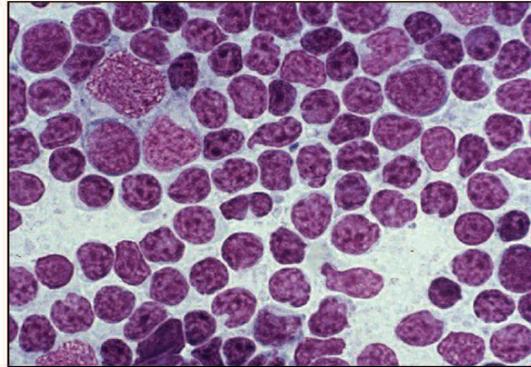
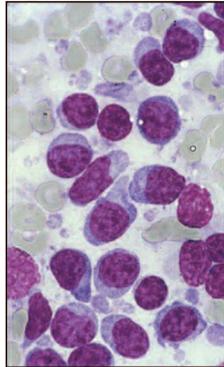
---

La prise en charge thérapeutique optimale des lymphomes malins passe par une identification multidisciplinaire d'entités très précises dont le biologiste peut être amené à faire le diagnostic, au niveau du sang, de la moelle osseuse, ou des ganglions. Le développement des techniques immunologiques par cytométrie en flux multi-couleurs, l'apport des techniques cytogénétiques et génétiques moléculaires ont considérablement modifié et enrichi l'interprétation des analyses morphologiques en particulier cytologiques, et l'analyse précise des cellules sanguines circulantes doit se développer, en raison de la richesse possible de ses informations et de l'amélioration considérable des techniques d'investigation. Il est probable que nos capacités diagnostiques vont continuer à s'affiner avec la mise à disposition de nouveaux marqueurs identifiés par les analyses transcriptionnelles qui ont d'ores et déjà amélioré nos connaissances de la pathogénie de ces maladies et révélé des signatures caractéristiques de la plupart des entités permettant d'en préciser les contours.

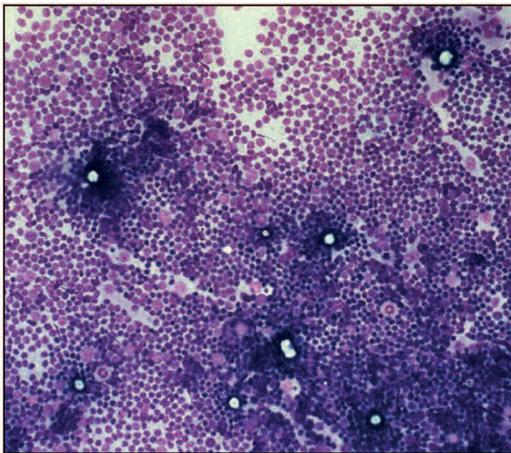
PLANCHE 1 :



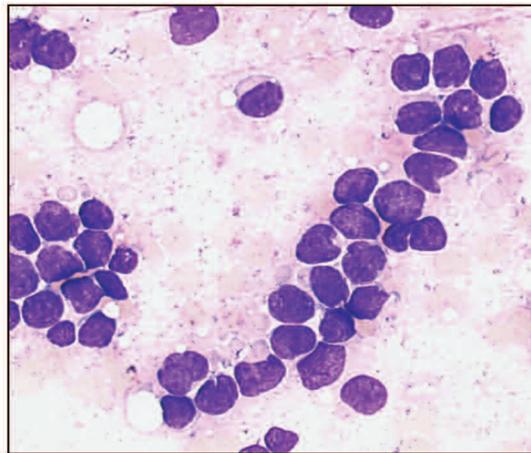
**Figure 2 : Lymphome lymphocytaire.** A gauche aspect typique de petits lymphocytes à chromatine mottée. Empreinte x 100 ; à droite aspect lymphoplasmocytoïde, adénogramme x 100.



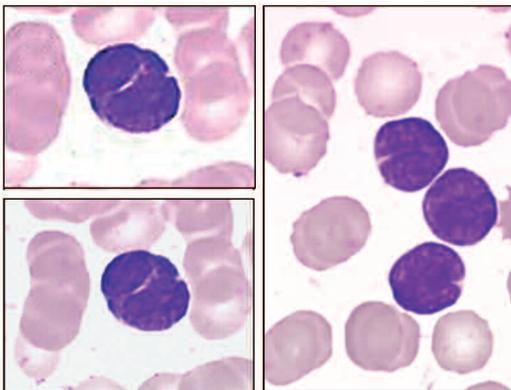
**Figure 3 : Lymphome folliculaire.** Composition cellulaire typique associant centrocytes, quelques centroblastes, à droite 1 CDF au noyau en doublet. Empreinte de biopsie, x 63.



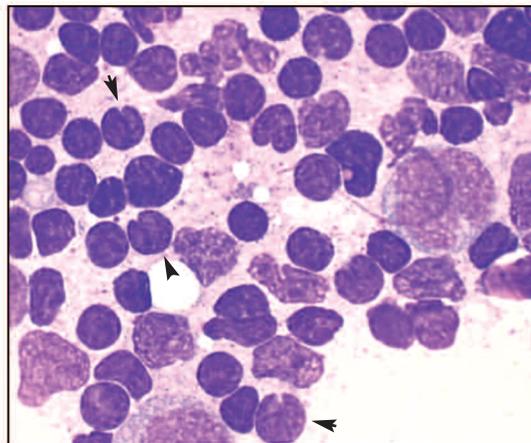
**Figure 4 : Lymphome folliculaire.** Organisation en réseau des CDFs apparaissant sous forme de travées claires en partie anastomosées sillonnant le follicule. Adénogramme, x 20.



**Figure 5 : Lymphome folliculaire.** Regroupement cohésif des centrocytes. Adénogramme x 40 (MGG).



**Figure 6 : Lymphome folliculaire.** Centrocytes nettement clivés, sang périphérique x 100.



**Figure 7 : Lymphome folliculaire.** Envahissement médullaire par des centrocytes à chromatine très dense et au noyau irrégulier. Quelques formes typiques (flèches). Myélogramme x 1000.

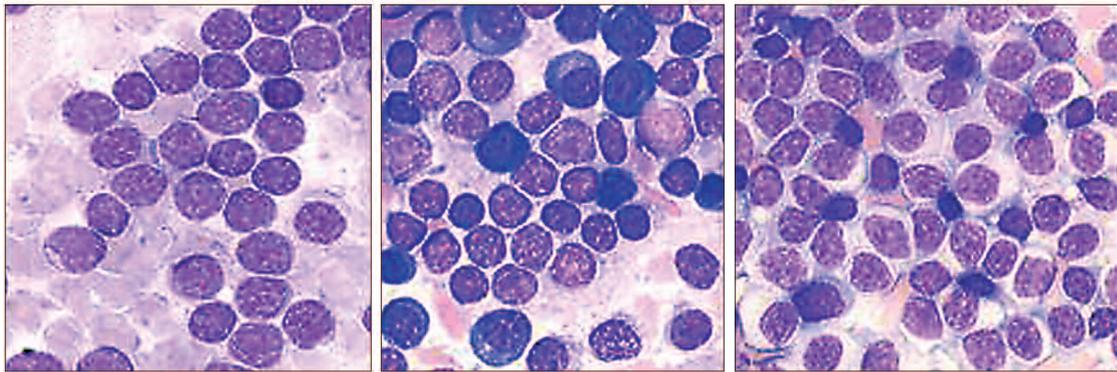


Figure 8 : Lymphome des cellules de la zone marginale splénique. À gauche, aspect lymphocyte-like. Au centre aspect lymphoplasmocytaire. A droite aspect monocytoïde. Empreintes de tissu splénique x 63.

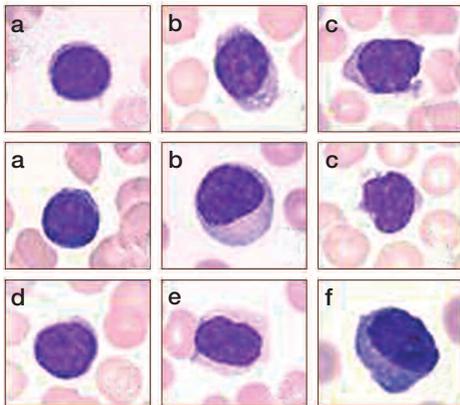


Figure 9 : Lymphome des cellules de la zone marginale splénique. Hétérogénéité des cellules lymphomateuses circulantes avec (a) des petites cellules lymphoïdes (lymphocyte-like), (b) des cellules lymphoplasmocytoides, (c) des cellules avec de fines villosités, (d) des cellules à noyau replié, (e) des cellules à cytoplasme clair ou monocytoides et (f) des cellules plasmocytaires ; sang périphérique x 100 .

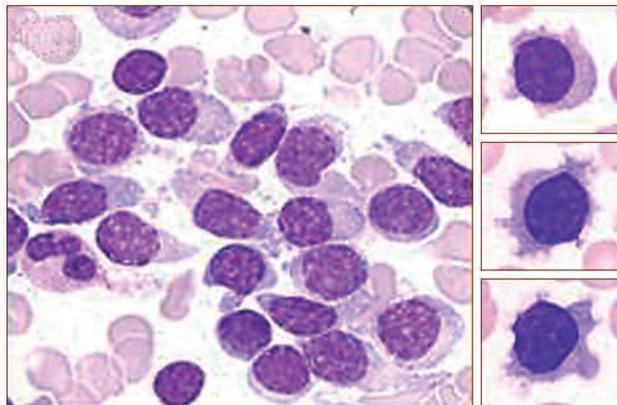


Figure 10 : Lymphome diffus de la pulpe rouge splénique. A gauche empreinte de tissu splénique et à droite lymphocytes vilveux typiques circulants, x 100.

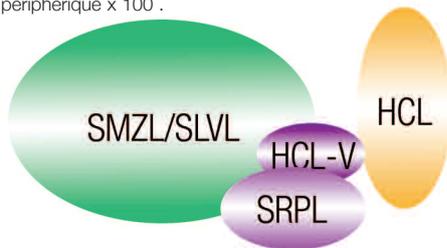


Figure 11 : Représentation schématique du lien existant entre les principaux types de lymphomes à petites cellules présentant des projections cytoplasmiques. (D'après Traverse-Glehen *et al*, 2008). SMZL/SLVL : lymphome de la zone marginale splénique/lymphome splénique à lymphocytes vilveux, HCL-V : forme variante de leucémie à tricholeucocytes, SRPL : lymphome diffus de la pulpe rouge splénique, HCL : leucémie à tricholeucocytes.

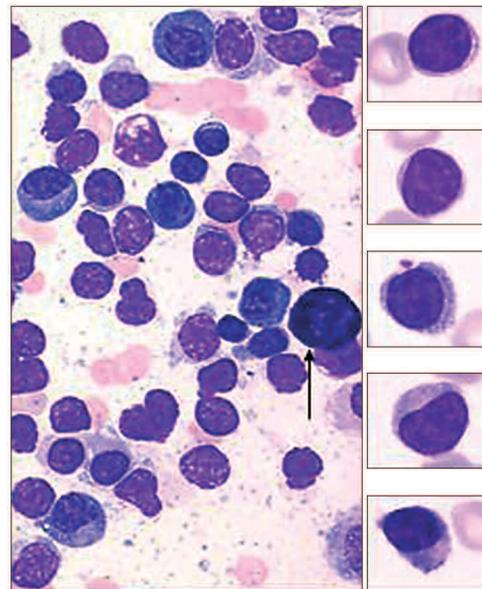


Figure 13 : Maladie de Waldenström. A gauche infiltrat médullaire typique associant lymphocytes, plasmocytes et mastocytes (flèche), x 63, à droite cellules lymphomateuses circulantes, x100.

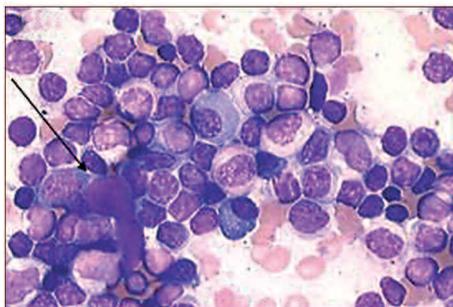
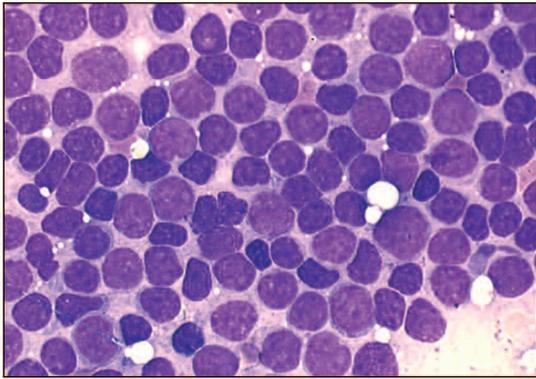
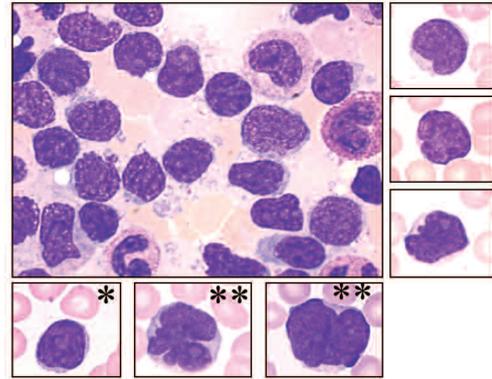


Figure 12 : Lymphome lympho-plasmocytaire. Présence de dépôts amyloïdes (flèche). Empreinte de ganglion x 63.

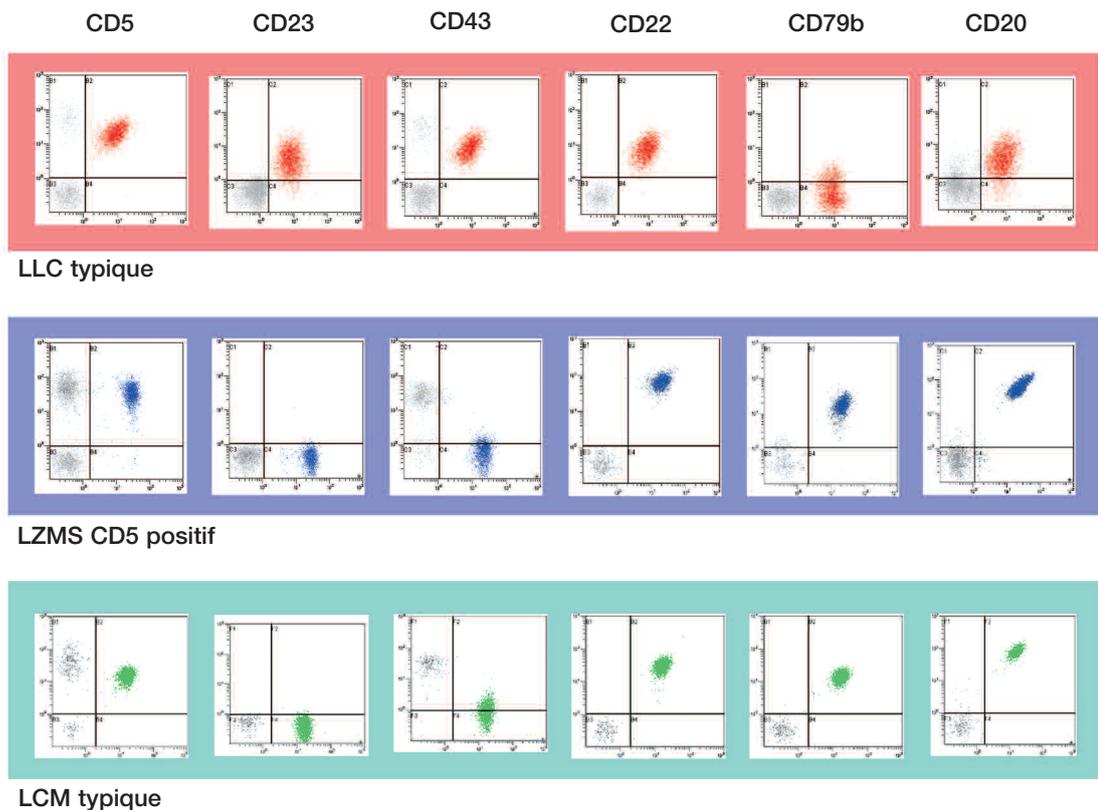
PLANCHE 3 :



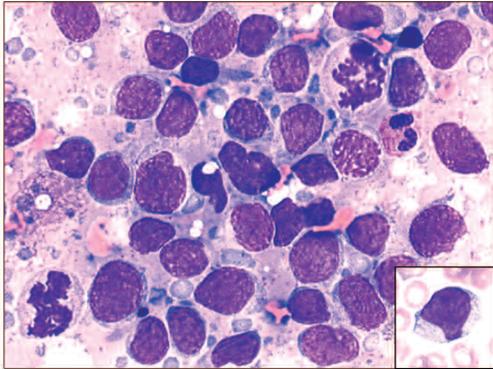
**Figure 14 : Lymphome des cellules du manteau.** Infiltration diffuse par une population monomorphe de petites cellules à chromatine dispersée, laissant souvent voir un petit nucléole. Empreinte de biopsie ganglionnaire x 63.



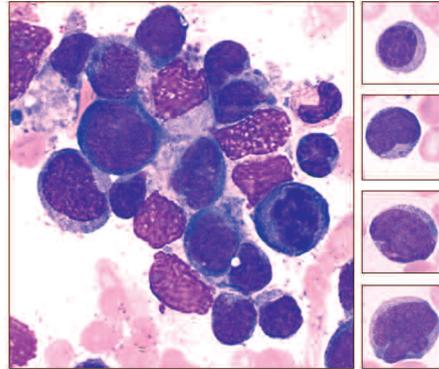
**Figure 15 : Lymphome des cellules du manteau.** En haut à gauche infiltration médullaire par des cellules du manteau typiques (noyau irrégulier à chromatine dispersée, nucléolées, au cytoplasme peu abondant faiblement basophile). Moelle osseuse x 10 ; à droite, cellules circulantes typiques, en bas variantes : petites cellules\* et grandes cellules\*\*. Sang x 100.



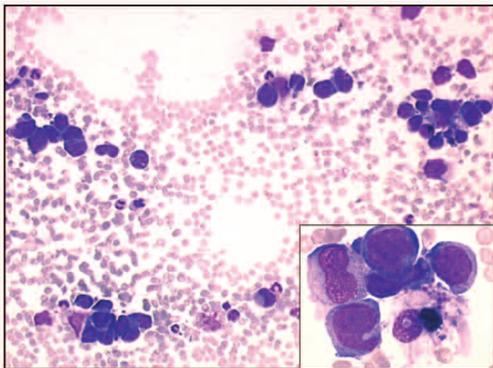
**Figure 16 : Comparaison des caractéristiques phénotypiques par cytométrie en flux dans la LLC, le LZM et le LCM.** Graphiques représentant les expressions des CD5, CD23, CD43, CD22, CD79b et CD20 des populations lymphomateuses CD19+ d'une LLC, d'un LZMS et d'un LCM .



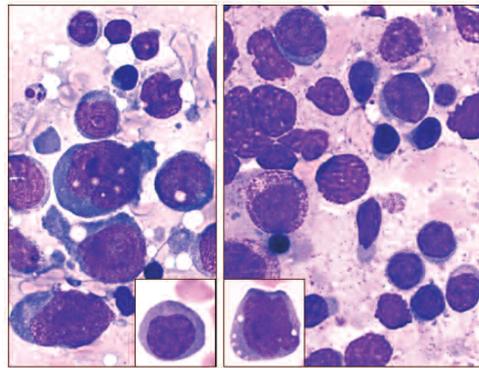
**Figure 17 : Lymphome diffus à grandes cellules B.** Adéno gramme. En insert, cellule circulante, x 63.



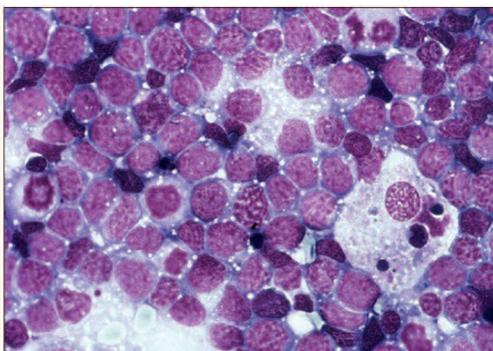
**Figure 18 : Lymphome diffus à grandes cellules B.** Amas cohésif de cellules lymphomateuses polymorphes, moelle osseuse x 63.



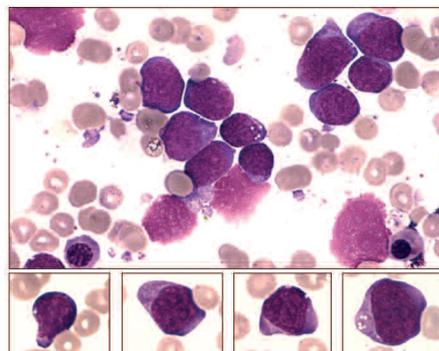
**Figure 19 : Lymphome diffus à grandes cellules B.** Myélogramme : plusieurs amas de cellules lymphomateuses ; insert : macrophage hémophagocytant (il s'agit d'un lymphome B intra-vasculaire démontré par l'histologie) x 63.



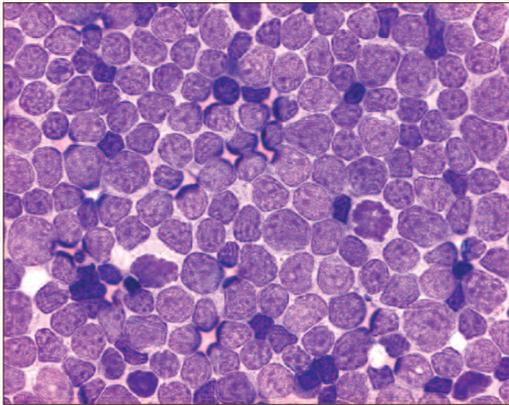
**Figure 20 : Lymphome diffus à grandes cellules B par transformation d'un lymphome de bas grade.** Myélogramme : à gauche grandes cellules majoritaires, à droite petites cellules majoritaires, insert : cellules lymphomateuses circulantes x 63 .



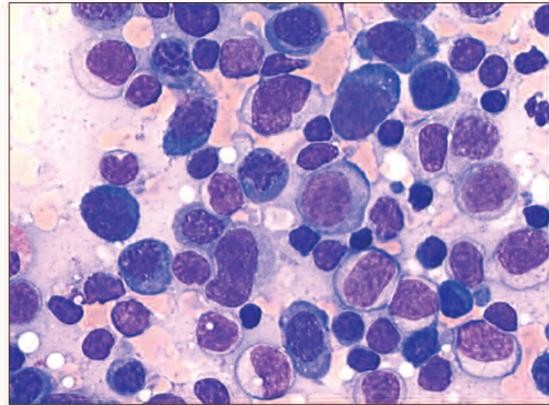
**Figure 21 : Lymphome de Burkitt.** Aspect typique de cellules moyennes monomorphes, à chromatine ponctuée, au cytoplasme en couronne étroite basophile ; noter les nombreuses mitoses. Empreinte de biopsie ganglionnaire, x 63.



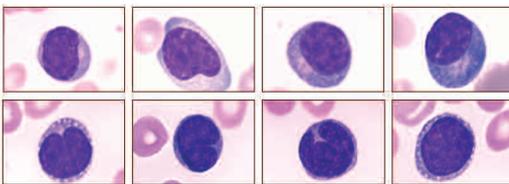
**Figure 22 : Lymphome de Burkitt, phase leucémique.** en haut infiltration médullaire en îlots cohésifs de l'ordre de 60%, en bas dissémination sanguine estimée à 7%, nombreuses localisations tumorales (ganglions, rate, plèvre).



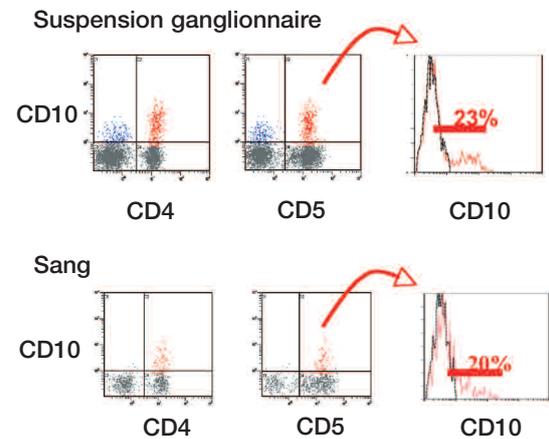
**Figure 23 : Lymphome lymphoblastique T.** Nappe homogène de petites cellules majoritaires à chromatine fine, noter les nombreuses mitoses (flèches). Empreinte x 63.



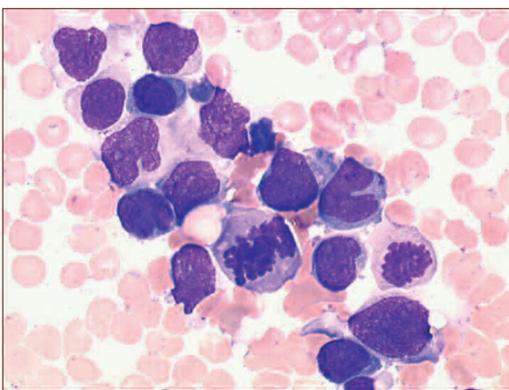
**Figure 24 : Lymphome T angio-immunoblastique.** Aspect typique avec mélange de cellules claires et hyper-basophiles. Empreinte de ganglion x 63.



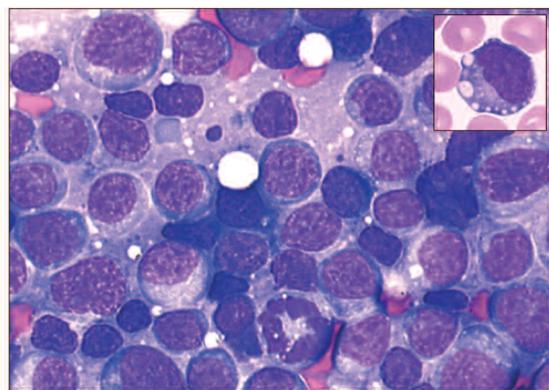
**Figure 25 : Lymphome T angio-immunoblastique, dissémination sanguine.** En haut forme typique avec lymphopénie, mélange de cellules T atypiques et de cellules B en voie de différenciation plasmocytaire ; en bas forme hyperleucocytaire, cellules T atypiques. Sang x 100.



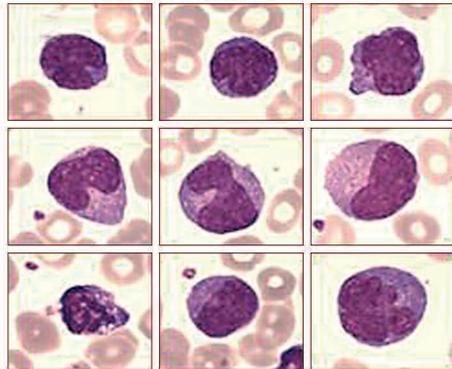
**Figure 26 : Immunomarquage par Cytométrie en flux.** (6 couleurs). Détection au niveau de la suspension ganglionnaire comme au niveau du sang périphérique (lymphopénie) de cellules T CD4+ exprimant le CD10 (23% et 20% des CD4+, respectivement).



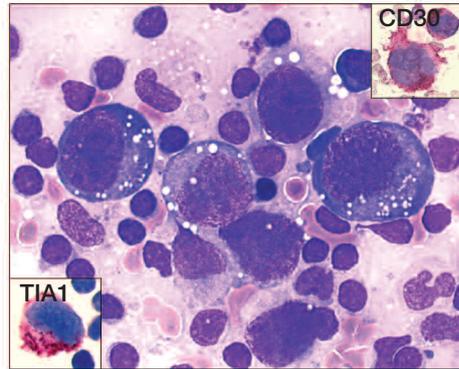
**Figure 27 : Lymphome T à grandes cellules.** Aspect polymorphe, nombreuses mitoses. Adénogramme x 63).



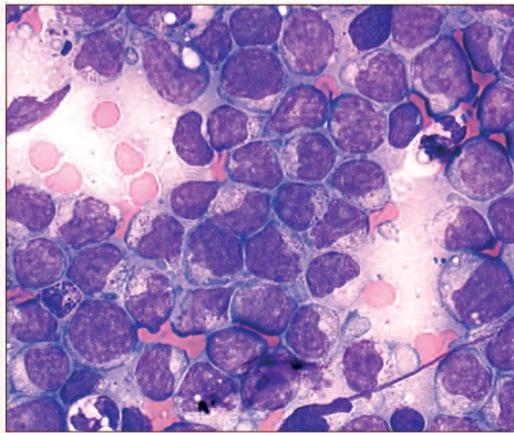
**Figure 28 : Lymphome T à grandes cellules, CD4+, aspect inhabituel simulant un lymphome B avec différenciation plasmocytaire.** Empreinte de ganglion ; Insert : cellule lymphomateuse dans le sang périphérique (forme d'emblée leucémique), x 63.



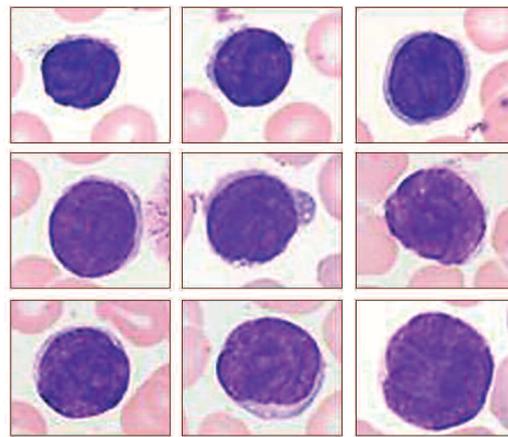
**Figure 29 : Lymphome T ganglionnaire à grandes cellules cytotoxiques CD8+.** Cellules polymorphes atypiques intensément basophiles contenant souvent des grains azurophiles. Lymphocytes  $1.86 \times 10^9/l$ , cellules atypiques 50%. Sang x 100.



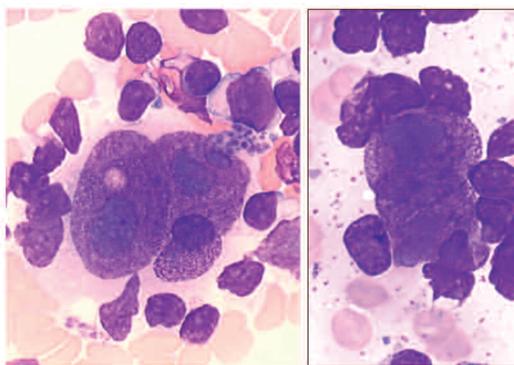
**Figure 30 : Lymphome à grandes cellules T anaplasiques CD3.** En insert cellules CD30+, TIA1+ technique APAAP. Empreinte de ganglion x 63.



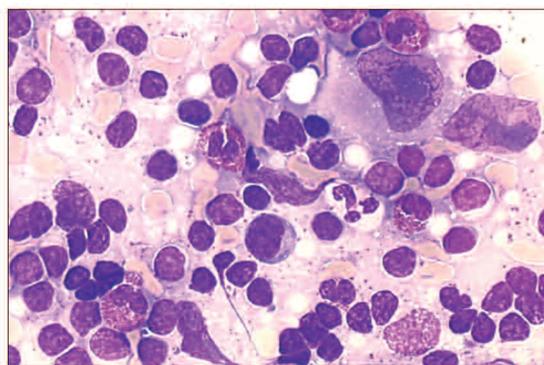
**Figure 31 : Lymphome nasal à cellules NK,** dont les granules cytotoxiques sont très visibles. Empreinte de tumeur du cavum x 63.



**Figure 32 : Cellules de Sézary.** Petites, moyennes ou grandes. Sang x 100.



**Figure 33 : Maladie de Hodgkin.** Cellules de Sternberg typiques, au cytoplasme faiblement basophile à gauche, réduite à l'état de noyau nu à droite qui reste caractéristique. Adénogrammes x 100.



**Figure 34 : Maladie de Hodgkin.** Aspect typique associant sur un fond lymphoïde banal avec net granulome éosinophile 2 cellules tumorales fortement nucléolées. Empreinte x 40.

# Bibliographie

---

Allory Y., Challine D., Haioun C., Copie-Bergman C., Delfau-Larue M.H., Boucher E., Charlotte F., Fabre M., Michel M., Gaulard P., Bone marrow involvement in lymphomas with hemophagocytic syndrome at presentation : a clinicopathologic study of 11 patients in a Western institution. *Am J Surg Pathol*, 2001, 25 : 865-874.

Attygalle A., Al-Jehani R., Diss T.C., Munson P., Liu H., Du M.Q., Isaacson P.G., Dogan A., Neoplastic T cells in angioimmunoblastic T-cell lymphoma express CD10. *Blood*, 2002, 99 : 627-633.

Baseggio L., Berger F., Morel D., Delfau-Larue M.H., Goedert G., Salles G., Magaud JP., Felman P. Identification of circulating CD10 positive T cells in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Leukemia*. 2006, 20(2) : 296-303.

Baseggio L., Traverse-Glehen A., Petinataud F., Bauchu E.C., Berger F., Ffrench M., Courtis MF., Thieblemont C., Morel D., Coiffier B., Salles G., Felman P. CD5 expression identifies a subset of splenic marginal zone lymphomas with higher lymphocytosis : a clinico-pathologic, cytogenetic and molecular study of 24 cases. *Haematologica*, 2010, 95 : 604-612.

Bayle C., Charpentier A., Duchayne E., Manel A.M., Pages M.P., Robert A., Lamant L., Dastugue N., Bertrand Y., Dijoud F., Emile J.F., Machover D., Brugieres L., Delsol G., Leukaemic presentation of small cell variant anaplastic large cell lymphoma: report of four cases. *Br J Haematol*, 1999, 104 : 680-688.

Bene MC., Castoldi G., Knapp W., Ludwig WD., Matutes E., Orfao A., van't Veer MB. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological haracterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia*. 1995 Oct ; 9(10) : 1783-6.

Berger F., Felman P., Thieblemont C., Pradier T., Baseggio L., Bryon PA., Salles G., Callet-Bauchu E., Coiffier B., Non-MALT marginal zone B-cell lymphomas: a description of clinical presentation and outcome in 124 patients. *Blood*, 2000, 95 : 1950-1956.

Berger F., Traverse-Glehen A., Felman P., Callet-Bauchu E., Baseggio L., Gazzo S., Thieblemont C., Ffrench M., Magaud JP., Salles G., Coiffier B., Clinicopathologic features of Waldenström's macroglobulinemia and marginal zone lymphoma : are they distinct or the same entity ? *Clin Lymphoma*, 2005, 5 : 220-224.

Callet-Bauchu E., Baseggio L., Felman P., Traverse-Glehen A., Berger F., Morel D., Gazzo S., Poncet C., Thieblemont C., Coiffier B., Magaud JP., Salles G., Cytogenetic analysis delineates a spectrum of chromosomal changes that can distinguish non-MALT marginal zone B-cell lymphomas among mature B-cell entities: a description of 103 cases. *Leukemia*, 2005, 19 : 1818-1823.

Chacon JI., Mollejo M., Munoz E., Algara P., Mateo M., Lopez L., Andrade J., Carbonero IG., Martinez B., Piris MA., Cruz MA., Splenic marginal zone lymphoma: clinical characteristics and prognostic factors in a series of 60 patients. *Blood*, 2002, 100 : 1648-1654.

Daudignon A., Poulain S., Morel P., Penther D., Parmentier F., Bouchindhomme B., Fernandes J., Duthilleul P., Bastard C. Increased trisomy 12 frequency and a biased IgVH3-21 gene usage characterize small lymphocytic lymphoma. *Leuk Res*, 2010, 34 : 580-584.

Dogan A., Attygalle A.D., Kyriakou C.,Angio-immunoblastic T-cell lymphoma. Br J. Haematol, 2003, 121 : 681-691.  
Felman P., Gentilhomme O., Atlas de cytopathologie ganglionnaire, Arnette, Paris, 1997.

Fu K., Weisenburger DD., Greiner TC., Dave S., Wright G., Rosenwald A., Chiorazzi M., Iqbal J., Gesk S., Siebert R., De Jong D., Jaffe ES., Wilson WH., Delabie J., Ott G., Dave BJ., Sanger WG., Smith LM., Rimsza L., Brazier RM., Muller-Hermelink HK., Campo E., Gascoyne RD., Staudt LM., Chan WC. ; Lymphoma/Leukemia Molecular Profiling Project, Cyclin D1-negative mantle cell lymphoma : a clinicopathologic study based on gene expression profiling. Blood, 2005, 106 : 4315-4321.

Hallek M., Cheson BD., Catovsky D., Caligaris-Cappio F., Dighiero G., Döhner H *et al* International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Guidelines for the diagnosis and the treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. Blood. 2008 Jun 15 ; 111(12) : 5446-5456.

Hummel M., Bentink S., Berger H., Klapper W., Wessendorf S., Barth TF. *et al*. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. N Engl J. Med, 2006, 8 : 2419-2430.

Melo JV., Hegde U., Parreira A., Thompson I., Lampert IA., Catovsky D., Splenic B cell lymphoma with circulating villous lymphocytes : differential diagnosis of B cell leukaemias with large spleens. J. Clin Pathol, 1987, 40 : 642-651.

Serke S., van Lessen A., Hummel M., Szczepek A., Huhn D., Stein H. Circulating CD4+ T lymphocytes with intracellular but no surface CD3 antigen in five of seven patients consecutively diagnosed with angioimmunoblastic T-cell lymphoma. Cytometry, 2000, 42 : 180-187.

Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW., World Health Organisation classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, IARC, WHO Press ; 2008.

Thieblemont C., Felman P., Berger F., Dumontet C., Arnaud P., Hequet O., Arcache J., Callet-Bauchu E., Salles G., Coiffier B. Treatment of splenic marginal zone B-cell lymphoma : an anlysis of 81 patients. Clin Lymphom, 2002, 3 : 41-47.

Thieblemont C., Nasser V., Felman P., Leroy K., Gazzo S., Callet-Bauchu E., Loriod B., Granjeaud S., Gaulard P., Haioun C., Traverse-Glehen A., Baseggio L., Bertucci F., Birnbaum D., Magrangeas F., Minvielle S., Avet-Loiseau H., Salles G., Coiffier B., Berger F., Houlgatte R., Small lymphocytic lymphoma, marginal zone B-cell lymphoma, and mantle cell lymphoma exhibit distinct gene-expression profiles allowing molecular diagnosis. Blood, 2004, 103 : 2727-2737.

Traverse-Glehen A., Baseggio L., Bauchu EC., Morel D., Gazzo S., Ffrench M., Verney A., Rolland D., Thieblemont C., Magaud JP., Salles G., Coiffier B., Berger F., Felman P. Splenic red pulp lymphoma with numerous basophilic villous lymphocytes : a distinct clinicopathologic and molecular entity ? Blood, 2008, 111 : 2253-2260.

Troussard X., Valensi F., Duchayne E., Garand R., Felman P., Tulliez M., Henry-Amar M., Bryon PA., Flandrin G., Splenic lymphoma with villous lymphocytes: clinical presentation, biology and prognostic factors in a series of 100 patients. Groupe Francais d'Hematologie Cellulaire (GFHC). Br J. Haematol, 1996, 96 : 731-736.

**Les outils modernes de la  
biologie des lymphomes :  
Cytogénétique, biologie moléculaire,  
transcriptome – techniques –  
apport diagnostique et intérêt  
dans la surveillance**

**Christian Bastard**

Ce n'est pas un hasard si la classification OMS 2001 des hémopathies malignes portait comme sous titre : pathology and genetics [1]. En effet, la cytogénétique d'abord, la biologie moléculaire ensuite ont joué un rôle majeur dans le démembrement de groupes de pathologies très hétérogènes en entités discrètes bien définies en termes de génétique mais aussi de physiopathologie. Cela est vrai, en premier lieu, pour les leucémies aiguës et les lymphomes malins non-Hodgkiniens (LNH), mais aussi pour les syndromes myéloprolifératifs, le myélome ou la leucémie lymphoïde chronique.

En matière de lymphomes la première anomalie identifiée l'a été en 1972 [2], dès que les techniques de marquage chromosomiques ont permis l'identification précise de chaque chromosome. Depuis cette époque, le nombre des outils disponibles s'est considérablement accru. La cytogénétique conventionnelle s'est enrichie de nouvelles techniques de marquage et de synchronisation, mais c'est l'avènement de la biologie moléculaire qui va ouvrir largement le champ des possibilités.

Cette dernière va en effet permettre :

- le développement de la cytogénétique moléculaire - hybridation *in situ* et techniques dérivées, hybridation génomique comparative (CGH) en particulier
- le développement de techniques permettant l'analyse directe de l'ADN et de l'ARN, lourdes dans les années 80 – technique de Southern, northern blot – puis plus faciles à mettre en œuvre avec l'arrivée de la polymérase chain réaction (PCR). Plus récemment, depuis que le génome humain a été entièrement séquencé, sont apparues les techniques permettant une analyse pangénomique, couvrant l'ensemble des gènes et l'ensemble de leurs transcrits. Techniquement, de nos jours, la séquence d'un génome entier peut être réalisée en trois jours.

Nous limiterons ce tour d'horizon aux techniques utilisables soit en pratique courante, cytogénétique conventionnelle, hybridation *in situ* fluorescente (FISH), PCR et RT-PCR, soit pour des applications de recherche, CGH, étude du transcriptome.

## Les outils

### Cytogénétique conventionnelle

La cytogénétique conventionnelle reste aujourd'hui encore l'outil d'analyse pangénomique le plus facile à mettre en œuvre.

Le prélèvement le plus informatif est en général une biopsie ganglionnaire. Lorsque le lymphome s'accompagne d'une phase leucémique, un prélèvement sanguin peut également être informatif. En cas de localisation extraganglionnaire isolée (lymphomes du malt, lymphomes cutanés) l'analyse doit porter sur le matériel tumoral. Sauf envahissement important, la moelle est la plupart du temps non-informative. La technique d'analyse dépend du prélèvement. S'il s'agit d'une biopsie, la première étape sera une mise en suspension des cellules, le plus souvent après dissociation mécanique de la tumeur. La mise en culture se fait en général à raison de 1 million de cellules par ml, en RPMI 1640 additionné de glutamine, de sérum de veau fœtal et d'un antibiotique à large spectre. Dans notre expérience, la culture la plus informative pour la plupart des lymphomes est une culture d'une nuit en présence de colchicine.

Au terme de cette culture, le milieu de culture est décanté après centrifugation, et remplacé par un milieu hypotonique, habituellement KCl 0,075 M préchauffé à 37°, pendant 20 à 30 minutes. Ce choc hypotonique est suivi de trois fixations, le plus souvent dans un mélange méthanol acide acétique glacial 3 :1. La technique d'étalement est très variable selon les laboratoires.

Les techniques de marquage chromosomique sont nombreuses. Habituellement, les bandes G sont obtenues par digestion à l'aide d'enzymes protéolytiques (trypsine), les bandes R par dénaturation thermique ménagée à 88°, soit dans une solution de Earle, soit dans du phosphate monosodique molaire. Le colorant utilisé est en général le Giemsa.

Les images numérisées et les analyseurs d'images ont remplacé la photographie argentique et les ciseaux dans la plupart des laboratoires.

Une fois les images analysées, les résultats sont exprimés en utilisant la nomenclature internationale : ISCN : international system for chromosome nomenclature.

Les résultats de cette analyse sont plus ou moins complexes, selon le type de LNH. Ils permettent de distinguer des anomalies dites primaires :

- initiales ou précoces
- spécifiquement associées à un type de lymphome particulier
- fournissant une information physiopathologique
- permettant éventuellement un suivi.

C'est le cas par exemple de la translocation  $t(14;18)(q32;q21)$ , associée majoritairement aux lymphomes folliculaires, ou de la  $t(11;14)(q13;q32)$ , associée aux lymphomes du manteau.

A côté de ces anomalies primaires, il est habituel de rencontrer des anomalies dites secondaires :

- qui peuvent ne pas être présentes au moment du diagnostic de la maladie
- non spécifiques, mais non-aléatoires
- parfois associées au pronostic de la maladie.

Au terme de l'analyse, celle-ci peut avoir mis en évidence une anomalie fortement évocatrice, ou parfois spécifique d'un diagnostic précis : translocation 2 ; 5 d'un lymphome anaplasique à grandes cellules, par exemple, ou  $t(11;18)(q21;q21)$  d'un lymphome du MALT. Au contraire, il peut arriver que l'analyse permette seulement d'affirmer que le caryotype est compatible avec un diagnostic de lymphome, sans être capable d'orienter vers un type particulier.

L'informativité de la cytogénétique conventionnelle dépend du type de lymphome et des types de culture pratiqués. Supérieure à 85% des cas dans les lymphomes diffus à grandes cellules (LDGC) ou les lymphomes folliculaires, elle peut être mise en défaut dans d'autres types de lymphomes, lymphomes du manteau par exemple.

Les limites de cet examen sont bien connues :

- faible proportion de cellules tumorales
- faible croissance tumorale
- matériel insuffisant ou non adapté.

## **L'hybridation in situ fluorescente ou FISH**

Cette technique repose sur le fait qu'un ADN simple brin, obtenu par dénaturation d'un ADN double brin, va, si les conditions dénaturantes sont suspendues, se réassocier avec son brin complémentaire. Ici, un ADN marqué (sonde) va s'hybrider à une séquence cible complémentaire après dénaturation, simultanée ou non, de la sonde et de la cible. Actuellement, les marqueurs employés sont presque toujours des fluorochromes ou des mélanges de fluorochromes et les sondes utilisées peuvent être de plusieurs types :

- peintures chromosomiques identifiant la totalité d'un chromosome
- sondes centromériques utilisées essentiellement pour le comptage ou l'identification d'un chromosome

- sondes locus-spécifiques, identifiant le plus souvent en hématologie un gène impliqué dans une translocation.

Celles-ci sont de deux types :

- sondes de fusion, identifiant les deux partenaires d'une translocation, séparées chez un sujet normal et fusionnées lorsqu'il y a translocation
- ou sondes dites break apart, constituées de deux sondes marquées par des fluorochromes différents entourant un point de cassure récurrent, fusionnées chez un sujet normal et séparées lorsque le gène qu'elles entourent est engagé dans une translocation (figure 1). Ces dernières sondes sont particulièrement utiles pour affirmer le réarrangement d'un gène à partenaires multiples, puisqu'elles indiqueront qu'il y a réarrangement quel que soit le partenaire.

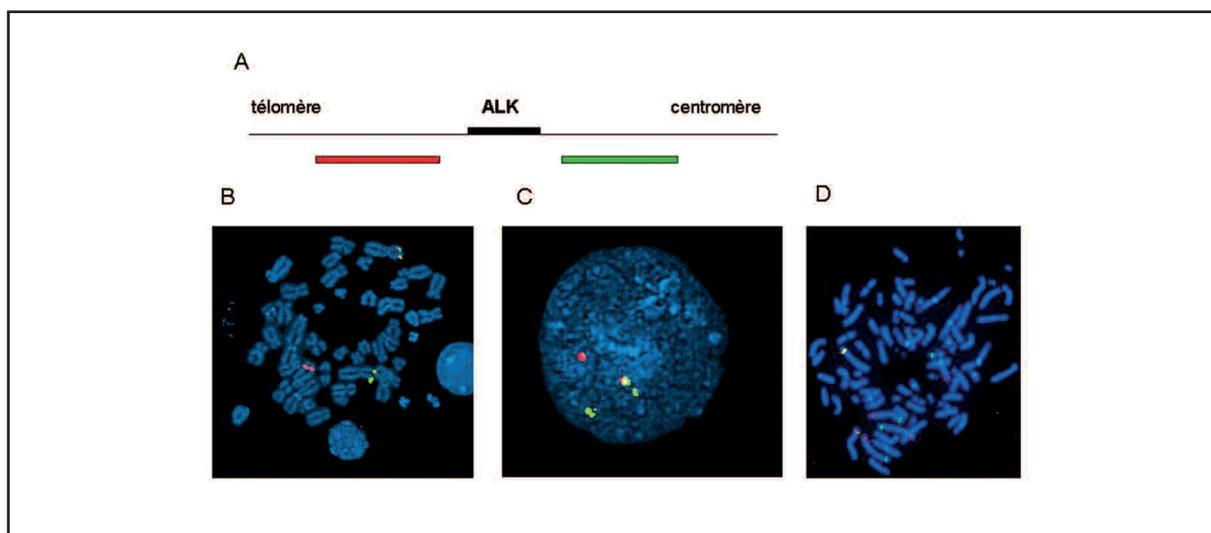
Il faut encore signaler les sondes de multifish ou de sky, mélange de sondes marquant de façon différentes les 22 autosomes et les chromosomes sexuels (figure 2).

Enfin, depuis que la séquence du génome est disponible, il est possible de se procurer auprès de différentes banques des fragments d'ADN complémentaires de n'importe laquelle des régions du génome, sous formes de BAC (bacterial artificial chromosome) ou de fosmidés. Il est également possible de préparer, par PCR, des ADN génomiques amplifiés utilisables comme sonde, essentiellement pour des applications de recherche.

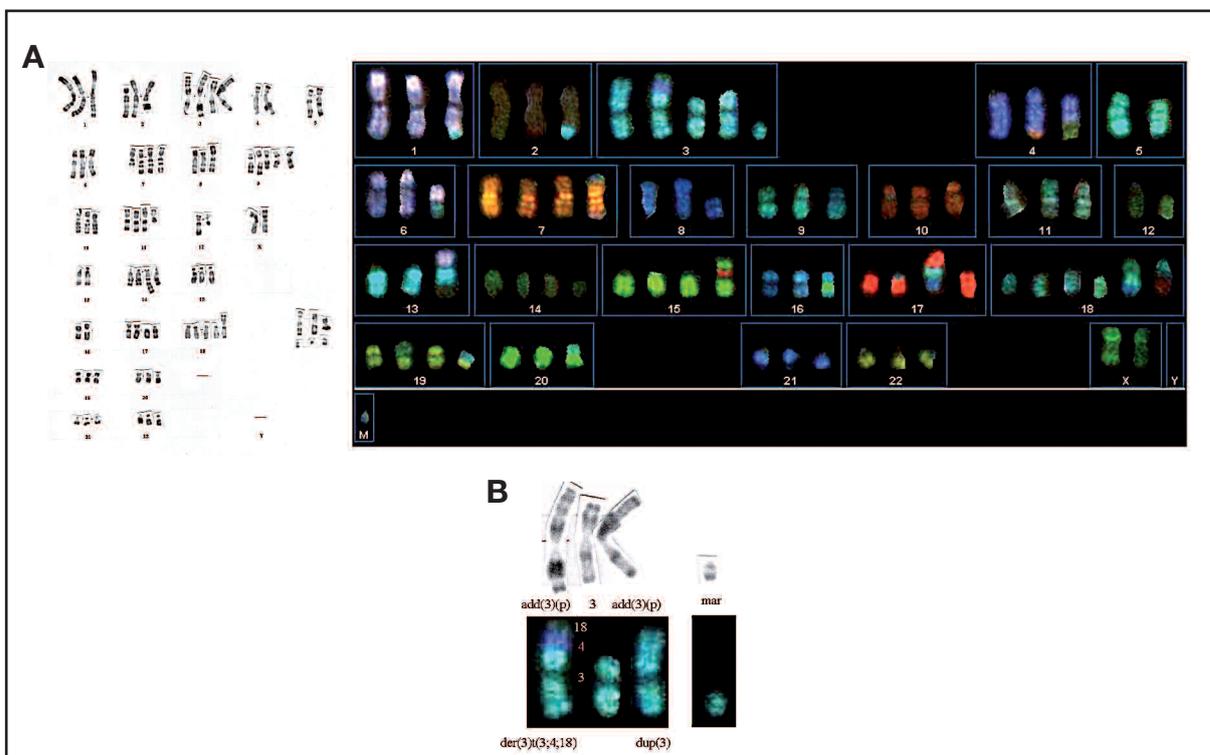
Les techniques de FISH sont utilisables soit sur des métaphases, soit sur des noyaux interphasiques rendant possible la détection d'un réarrangement alors même qu'aucune mitose n'a pu être obtenue.

La limite essentielle de cette technique est qu'elle ne peut répondre qu'à la question posée : y a-t-il ou non réarrangement de l'unique gène cible.

**Figure 1 : Analyse par hybridation in situ fluorescente de translocations impliquant le gène ALK dans différents lymphomes anaplasiques à grandes cellules.** A / représentation schématique de la sonde break apart ALK. B / translocation  $t(2;5)(p23;q35)$  montrant le déplacement de la sonde télomérique rouge sur le bras long du chromosome 5, alors que la sonde centromérique verte reste sur le bras court du chromosome 2. Le chromosome 2 normal reste porteur des deux signaux, rouge et vert. C / noyau interphasique du même patient montrant la séparation des signaux rouge et vert signant un réarrangement ALK. D / métaphase d'un patient porteur d'un réarrangement rare de ALK,  $inv(2)(p23q35)$ . On peut voir sur cette image deux chromosomes 2 normaux et quatre chromosomes 2 porteurs de l'inversion péri-centrique responsable de l'activation de ALK.



**Figure 2 : Caryotype d'un patient porteur d'un lymphome diffus à grandes cellules.** A / bandes R et multi-FISH. B / détail des chromosomes 3 : là où la cytogénétique conventionnelle ne voit qu'un réarrangement non identifiable ou un marqueur, la multi-FISH peut décrire une translocation 3;4;18, ou un réarrangement n'impliquant que du matériel provenant du chromosome 3.



## Biologie moléculaire

### Techniques conventionnelles

La plupart des analyses de biologie moléculaire utilisées actuellement pour la prise en charge des lymphomes reposent sur une technique de PCR.

Il peut s'agir d'analyses non-spécifiques d'un sous-type particulier, essentiellement recherche d'un réarrangement monoclonal des gènes d'immunoglobulines (Ig) ou des gènes du récepteur T à l'antigène (TCR) [3], ou au contraire d'analyses recherchant un réarrangement spécifique d'un type donné, essentiellement recherche d'une translocation spécifique par PCR - t(14;18), t(11;14) - ou RT-PCR - t(11;18), t(2;5). Il peut aussi s'agir de la recherche de l'hyper expression d'un gène particulier, essentiellement cycline D1 dans les lymphomes du manteau.

### Techniques pangénomiques

#### Hybridation génomique comparative

L'hybridation génomique comparative est une technique dérivée de l'hybridation in situ dans laquelle l'ADN génomique du patient est marqué et mélangé à un ADN normal, marqué avec un fluorochrome différent. La sonde complexe constituée par ce mélange d'ADN est ensuite hybridée, initialement sur une préparation chromosomique, actuellement sur des micro arrays. Pour chaque segment du génome, il y a compétition pour cette hybridation entre les deux ADN. Si pour une région cible donnée ils sont

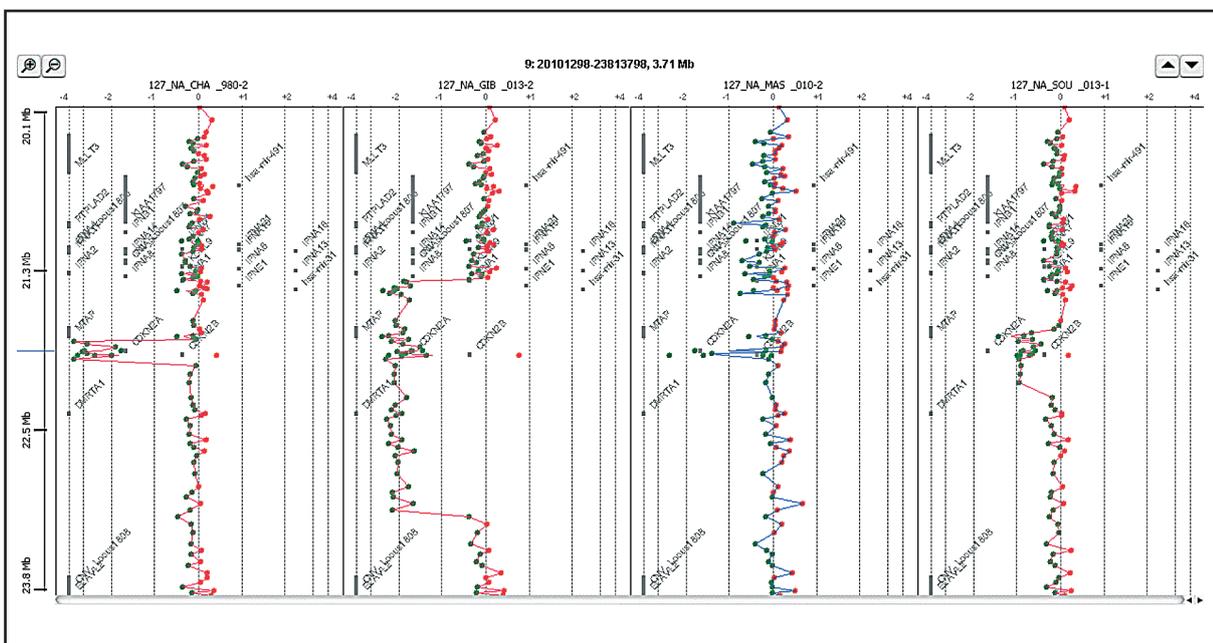
présents en quantité égale, les signaux des deux fluorochromes auront une intensité égale. Si la tumeur est porteuse d'un gain, le signal du fluorochrome marquant la tumeur sera plus intense, il sera plus faible si la tumeur est le siège d'une délétion.

Actuellement, les micro arrays utilisées en CGH sont constituées d'oligo-nucléotides de synthèse, et portent selon les fabricants de 100 000 à 1 million de cibles permettant une résolution de l'ordre de quelques kilobases.

Cette technique pangénomique permet donc d'analyser avec une très grande précision les gains et pertes de matériel chromosomique. Elle est en revanche incapable de montrer un réarrangement de structure chromosomique – translocation - dès lors que celui-ci est équilibré.

**Figure 3 : Profils de CGH observés chez quatre patients porteurs de lymphomes diffus à grandes cellules.**

L'image représente le profil d'hybridation sur une région de 3,7 mégabases dans la région 9p21, contenant les gènes CDKN2A et CDKN2B codant les protéines p14,p15 et p16. les trois premiers patients sont porteurs d'une délétion bi-allélique de taille variable, limitée au seul gène CDKN2A pour le 3ème. Le quatrième patient est porteur d'une délétion mono allélique impliquant CDKN2A et CDKN2B.



**Les SNP arrays**

Cet outil, développé plus récemment, prend avantage du fait que les génomes – et donc le génome humain – comporte un grand nombre de polymorphismes – plus précisément de polymorphismes limités à un nucléotide d'où leur nom de single nucleotide polymorphisms ou SNP -. Ces polymorphismes sont répartis plus ou moins régulièrement sur la totalité du génome, distants de quelques bases à quelques kilobases. Pour un individu donné, la probabilité que tous les SNP présents dans une région soient identiques sur les deux allèles – l'allèle d'origine paternelle et l'allèle d'origine maternelle – est nulle. La technique utilisée pour ce type d'analyse consiste donc à hybrider le génome à analyser sur une array sur laquelle sont représentés les deux allèles possibles pour chaque SNP. Pour un SNP donné, un individu peut être homozygote AA, homozygote BB ou hétérozygote AB. L'analyse porte à la fois sur le nombre de copies des gènes et sur le pourcentage d'hétérozygotie présent dans la région analysée. En plus des gains et pertes tels qu'indiqués par la CGH, cette technique est capable de dépister un événement connu sous le nom de disomie uniparentale, définie comme un nombre normal de copie de gène associé à une perte d'hétérozygotie. Ces disomies peuvent être constitutionnelles, résultant de

déséquilibres survenus lors de l'appariement des chromosomes homologues au cours de la méiose, ou acquis, liés alors au processus pathologique. Ce dernier caractère ne peut être évalué qu'en comparant le profil de la tumeur à celui d'un échantillon non tumoral du même patient. Dans le cas d'une disomie acquise, (perte d'un allèle/segment chromosomique et duplication de l'allèle restant), si l'allèle restant est lui-même pathologique – muté par exemple, ou porteur d'une délétion – le profil résultant correspondra à celui d'une mutation/délétion bi-allélique/homozygote. Ce mécanisme a été parfaitement décrit dans le cadre des syndromes myéloprolifératifs avec mutation de JAK2 [4].

## **L'analyse du transcriptome**

L'analyse du transcriptome repose sur le même principe : hybridation simple ou compétitive d'un ADN complémentaire sur une micro array sur laquelle sont représentées les séquences codantes de l'ensemble des gènes connus. Cette technique fournit une information sur le niveau d'expression des gènes, et les résultats ne peuvent être interprétés que par comparaison avec le niveau d'expression de ces mêmes gènes dans le tissu normal contrepartie du tissu tumoral [5].

Ces trois dernières techniques, pan génomiques et à haute résolution fournissent dans ce type de tumeur un nombre très élevé d'informations dont toutes n'ont pas la même pertinence. L'interprétation des résultats obtenus doit en outre tenir compte de ce que l'on appelle false discovery rate : dès lors que l'on génère un nombre de résultats compris entre 30 000 et 1 million, avec des seuils statistiques à 5%, 5% des résultats qui dépassent ces seuils les dépassent « par hasard » et les valeurs correspondantes n'ont pas de réelle signification.

Le coût élevé de ces techniques, la difficulté d'interprétation de certains résultats ont amené à définir, en utilisant les données les plus solides, des signatures propres à chaque type de tumeur, signatures qui peuvent être recherchées à l'aide de techniques plus conventionnelles, non-pangénomiques, en pratique des techniques de PCR quantitatives ciblant un nombre limité de gènes, ou d'immunohistochimie pour ce qui concerne l'expression génique, des techniques de PCR multiplexe quantitatives pour ce qui concerne l'exploration du nombre de copies de gènes.

## **Les principaux résultats**

### **Apport de la cytogénétique conventionnelle**

L'abord cytogénétique s'est montré très informatif dans les lymphomes de phénotype B. En revanche, les connaissances concernant les lymphomes T et NK restent très parcellaires.

Dans les lymphomes B, la cytogénétique couplée à la caractérisation moléculaire de différents réarrangements chromosomiques récurrents a permis de mettre en évidence un mécanisme impliqué dans la genèse et/ou la progression de plusieurs types de lymphomes, mécanisme qualifié par Dalla Favera de « substitution de promoteur » [6] : la translocation d'un gène potentiellement transformant au voisinage d'un gène exprimé dans le tissu lymphoïde normal a pour conséquence la perte, par l'oncogène, de ses séquences régulatrices et leur remplacement par les séquences régulatrices du gène partenaire, le plus souvent un gène codant les chaînes lourdes des immunoglobulines. Les autres gènes impliqués dans ces substitutions peuvent être les gènes de chaînes légères des Ig, ou par exemple, les très nombreux gènes impliqués dans différentes translocations avec BCL6 ou MYC.

Ce mécanisme peut intervenir en tant qu'anomalie primaire, mais également en tant qu'anomalie

secondaire. Ainsi, la translocation t(8;14)(q24;q32) peut représenter l'évènement initial d'un lymphome de Burkitt ou l'évènement responsable de la transformation d'un lymphome folliculaire par ailleurs porteur d'une translocation t(14;18)(q32;q21). Il en va de même pour la plupart des translocations de BCL6 en 3q27, ou de c-MYC en 8q24 qui peuvent être primaires ou secondaires.

Les gènes cibles de ces translocations peuvent être des gènes impliqués :

- dans la régulation du cycle cellulaire comme MYC, ou CCND1 codant la cycline D1
- dans la différenciation cellulaire comme BCL6 ou PAX5
- ou dans le contrôle de l'apoptose comme BCL2.

Dans tous les cas, la translocation a pour conséquence l'expression de ce gène dans un tissu ou à un moment où il ne devrait pas être exprimé.

Dans les lymphomes T, seuls de rares réarrangements récurrents ont pu être caractérisés : t(2;5)(p23;q35) et variantes impliquant ALK dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules, exceptionnelles translocations t(14;19)(q11;q13) impliquant le TCR dans les lymphomes T périphériques, lymphadénopathie angio-immunoblastique ou lymphome T périphérique non spécifié [7].

### **La translocation t(8;14)(q24;q32) et ses variantes**

La présence d'un chromosome marqueur identifié comme le chromosome 14 est la première anomalie récurrente décrite dans un lymphome, associée dès 1972 aux lymphomes de Burkitt [2]. En 1976, l'implication du chromosome 8 dans cette translocation se trouve confirmée [8]. En 1979 et 1981 sont décrites les translocations variantes, t(8;22)(q24;q11), et t(2;8)(p13;q24) [9], [10]. L'identification de ces translocations sera suivie de la constatation, à la même époque, de la restriction de l'expression des chaînes légères des immunoglobulines,  $\kappa$  et  $\lambda$ , associées respectivement aux translocations impliquant les chromosomes 2 et 22 [11]. Cette constatation amènera à formuler l'hypothèse selon laquelle la localisation précise des gènes d'Ig, chaînes lourdes ou chaînes légères, pourrait correspondre à la localisation des points de cassure de ces trois translocations, avec pour corollaire l'idée que ces mêmes gènes d'Ig pourraient jouer un rôle direct dans le développement du lymphome [12]. Peu de temps après, les différentes translocations des lymphomes de Burkitt vont être clonées, montrant l'implication du gène c-MYC, les mécanismes moléculaires sous jacents vont être décryptés (plus ou moins) [13], et l'homologie des modèles homme/souris démontrée par les groupes de Carlo Croce, Peter Leder, Jean Claude Kaplan... [14], [16]. Emerge alors, dans les lymphomes, le concept de translocation gène d'immunoglobuline-oncogène.

Si la translocation MYC-Ig fait partie de la définition du lymphome de Burkitt, il faut garder en mémoire que tous les lymphomes porteurs d'une translocation 8 ; 14 ne sont pas des lymphomes de Burkitt, mais qu'il peut s'agir aussi de lymphomes folliculaires transformés ou de lymphomes diffus à grandes cellules. Là encore, la cytogénétique conventionnelle peut contribuer au diagnostic différentiel : toujours simple dans le lymphome de Burkitt – translocation 8;14 isolée, ou associée à quelques rares réarrangements, essentiellement duplication 1q ou anomalies 13q – elle est toujours accompagnée d'une translocation 14;18 dans les lymphomes folliculaires transformés, et toujours complexe dans les LDGC.

MYC est un facteur de transcription impliqué dans la croissance et la différenciation cellulaire, et jouant un rôle dans le contrôle de la transition G1-S et de l'apoptose. Placé sous le contrôle d'un promoteur de gène d'Ig, dans un lymphocyte B dont le rôle est de produire une immunoglobuline, la production de MYC devient quantitativement plus importante et permanente alors qu'elle est normalement régulée en fonction de la phase du cycle. On peut ajouter que, au cours de ce processus, il arrive que le gène MYC soit le siège de mutations ayant pour conséquence la stabilisation du transcrit, et participant ainsi à l'accumulation de la protéine à l'intérieur de la cellule.

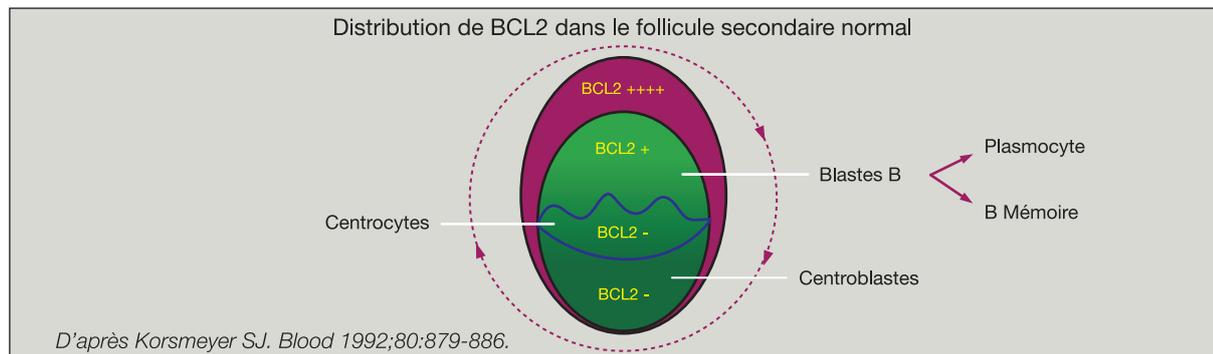
### **La translocation t(11;14)(q13;q32)**

Les premiers points de cassure de la translocation 11;14, identifiée en 1979, ont été clonés dès 1984 sous le nom de BCL1 pour B cell lymphoma 1 [17], [18]. Pourtant, le gène dérégulé par cette translocation, PRAD1/CCND1 codant la cycline D1, ne sera identifié qu'en 1991, par deux équipes s'intéressant à une tumeur bénigne de la parathyroïde... [19], [20]. Ce gène est réarrangé dans les lymphome du manteau, mais également dans un certain nombre de leucémies prolymphocytaires et dans environ 15% des myélomes. Là encore, les réarrangements moléculaires diffèrent légèrement d'une pathologie à l'autre. La variabilité des points de cassure sur le chromosome 11, fait que seuls 40% des réarrangements peuvent être facilement amplifiés à partir de l'ADN génomique. C'est pour cette raison que le marqueur le plus fréquemment utilisé de cette translocation est l'amplification de l'expression de la cycline D1, recherchée soit par une technique de RT-PCR compétitive D1/D2/D3 [21] soit par une technique de RT-PCR quantitative.

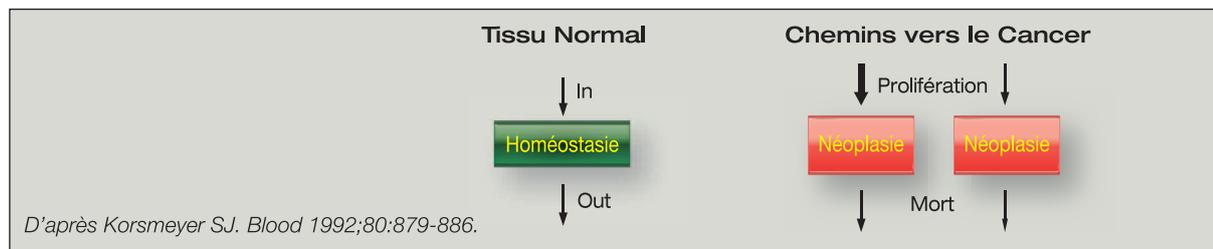
### **La translocation t(14;18)(q32;q21)**

Cette translocation initialement décrite par les équipes de Croce, Korsmeyer et Cleary [22], [25] implique les gènes de chaînes lourdes des Ig d'une part et le gène BCL2 d'autre part. Le point de cassure dans le gène d'Ig est localisé dans la région J, La translocation surviendrait donc à un stade précoce de la différenciation B, au moment du réarrangement VDJ dans la moelle hématopoïétique, et serait due à une erreur des recombinaisons [26]. C'est le clonage du gène BCL2 impliqué dans cette translocation qui a permis d'en identifier la fonction : BCL2 joue un rôle majeur dans la régulation de l'apoptose, et représente le chef de file des protéines anti apoptotiques. Dans le centre germinatif, BCL2 est indispensable à la différenciation lymphocytaire B, en protégeant les lymphocytes sélectionnés au cours du processus de maturation d'affinité de la mort cellulaire que devrait provoquer les cassures double brin de l'ADN générées par les processus d'hypermutation somatique et de commutation de classe [27] (figure 4). La production permanente de la protéine par les lymphocytes porteurs de la translocation les rend « immortels » et leur permet d'échapper à cette sélection. La translocation n'est toutefois pas suffisante pour provoquer la transformation cellulaire et le développement d'un lymphome dont elle ne représente qu'une étape précoce. Les cellules porteuses de la translocation, protégées contre la mort cellulaire, vont s'accumuler jusqu'à la survenue d'un événement secondaire transformant et l'on peut noter que de telles cellules peuvent être mises en évidence à l'aide de techniques sensibles chez un pourcentage important des individus de la population générale. La découverte du rôle de BCL2 va permettre à l'équipe de Korsmeyer de décrire la nouvelle classe d'oncogènes que représente les inhibiteurs de la mort cellulaire [27] (figure 5). La recherche de protéines possédant des homologies avec BCL2 va permettre l'identification de la plupart des protéines appartenant à cette classe : BCLX, BAD, BAX, MCL1, BID... [28]. Là encore, deux translocations variantes, impliquant les gènes de chaînes légères  $\kappa$  et  $\lambda$ , vont être identifiées, renforçant le modèle impliquant gènes d'Ig et oncogènes [29]. Les translocations impliquant BCL2 sont retrouvées dans environ 80% des lymphomes folliculaires et dans 20% des lymphomes diffus à grandes cellules. Au niveau moléculaire, les points de cassure dans les gènes des immunoglobulines sont localisés dans les gènes de jonction, surtout J5 et J6. Les cassures sur le chromosome 18 sont réparties dans 4 clusters principaux, MBR (65%), mcr (15%), 3'MBR et 5'mcr. Ces translocations peuvent être amplifiées à partir de l'ADN génomique chez la plupart des patients [3].

**Figure 4 : Représentation schématique de la distribution de BCL2 dans le centre germinatif secondaire.** L'expression de la protéine dans la seule partie apicale de la zone claire montre que BCL2 est impliqué dans la survie des lymphocytes B dans le centre germinatif.



**Figure 5 : Représentation schématique du maintien de l'homéostasie.** Dans un tissu normal la quantité de cellules entrant dans un compartiment cellulaire (résultant de la prolifération de précurseurs) est égale à la quantité de cellules quittant ce compartiment cellulaire (mort cellulaire programmée ou apoptose). L'expansion d'un compartiment cellulaire et le développement tumoral peuvent résulter soit d'une prolifération accrue soit d'un défaut des mécanismes apoptotiques.



### La translocation 3;14 et le gène BCL6

Alors que les translocations variantes de la t(3;14)(q27;q32) avaient été décrites dès 1985 [30] et 1989 [31], la translocation 3;14 elle-même n'a été reconnue que plus tardivement, en raison de son caractère très télomérique sur les deux chromosomes partenaires [32]. C'est d'ailleurs l'existence de translocations récurrentes impliquant les gènes de chaînes légères et une région commune du chromosome 3 qui nous a incité à chercher une t(3;14) par analogie avec ce qui était déjà connu pour les LNH de Burkitt et pour les LNH folliculaires. La reconnaissance de cette translocation devait permettre le clonage du gène LAZ3-BCL6 [33], [34], acteur majeur de la différenciation B et de la lymphomagenèse. BCL6 est un répresseur transcriptionnel indispensable à la formation du centre germinatif ganglionnaire et à la différenciation terminale du lymphocyte B [35]. La protéine BCL6 est capable d'interagir directement avec plusieurs gènes clé de l'oncogénèse lymphoïde, en particulier Tp53, MYC et BCL2.

Plusieurs mécanismes sont susceptibles de déréguler l'expression de BCL6 :

- translocations avec les gènes d'Ig, mais aussi avec d'autres gènes partenaires dont une vingtaine au moins ont été identifiés
- mutations du premier exon
- mutations ou délétions de la région 5' non codante.

Ces différents réarrangements vont être à l'origine d'une expression persistante du gène à un moment où la différenciation des lymphocytes en lymphocytes B mémoire ou en plasmocytes suppose une extinction de l'expression de BCL6 qui réprime d'autres facteurs de transcription indispensables à cette différenciation terminale.

Les réarrangements impliquant BCL6 sont présents dans environ 35% des LDGC [36]. Pour sa part, la

translocation 3;14 est retrouvées dans environ 15 % des cas. Elle peut également être retrouvée dans un petit groupe de lymphomes folliculaires – environ 10% - sans translocation 14 ;18, il s'agit alors de folliculaire de grade 3B. Nous avons montré que le réarrangement moléculaire est différents dans ces deux situations, translocation switch  $\mu$  - BCL6 dans les lymphomes diffus, translocation switch  $\gamma$  – BCL6 dans les lymphomes folliculaires [37].

### Les autres translocations impliquant les Ig

Beaucoup plus rares, mais relevant du même mécanisme, d'autres translocations joignent un gène transformant à un gène d'immunoglobulines :

- translocation t(9;14)(p13;q32) initialement rapportée dans les lymphomes lymphoplasmocytaires [38] et impliquant PAX5, gène impliqué lui aussi dans la différenciation terminale du lymphocyte B
- translocation t(14;19)(q32;q13) impliquant le gène BCL3 [39]
- translocation t(14;18)(q32;q21) impliquant le gène MALT1 dans les lymphomes du MALT [40].

### Les translocations impliquant ALK

Première translocation récurrente décrite dans les lymphomes T, la translocation t(2;5)(p23;q32) [41] a pour conséquence la genèse d'un transcrite de fusion NPM1-ALK activant de façon constitutive la kinase ALK (anaplastic lymphoma kinase). Plusieurs autres partenaires sont susceptibles d'activer cette kinase – MSM en Xq11, TPM3 en 1q25, ATIC en 2q35, TFG en 3q12, CLTC en 17q23, ALO17 en 17q25 ou MYH9 en 22q12 [42], cette activation se traduisant toujours par une réaction positive avec l'anticorps anti ALK en immunohistochimie.

Le tableau 1 résume la liste des principaux réarrangements moléculaires, contreparties des réarrangements détectables par cytogénétique et/ou FISH, qui peuvent être mis en évidence à l'aide des PCR ou RT-PCR les plus couramment utilisées.

**Tableau 1 : Translocations récurrentes détectables par PCR ou RT-PCR.**

<b>LNH B</b>		
BCL2-JH	t(14;18)	90% des folliculaires, 20% des LDGC
BCL6-Switch $\mu/\gamma$	t(3;14)	LDGC (S $\mu$ ), rares folliculaires (S $\gamma$ )
BCL1-JH	t(11;14)	Lymphomes du manteau
API2-MALT1	t(11;18)	MALT
<b>LNH T</b>		
NPM-ALK	t(2;5)	ALCL

Les réarrangements de MYC ou de ALK lorsqu'il ne s'agit pas de la translocation 2 ; 5 ne sont pas détectables par PCR et relèvent de la FISH.

Nous avons, avec le GFCH, proposé des recommandations pour la prise en charge cytogénétique des LNH au diagnostic. Cette démarche diagnostique ne se conçoit que dans un abord pluridisciplinaire,

impliquant cliniciens, anatomopathologistes et généticiens. Elle suppose, dans l'idéal, que le laboratoire de génétique/cytogénétique reçoive un fragment de tumeur non fixé à partir duquel pourront être préparés les suspensions cellulaires nécessaires à l'analyse cytogénétique et les acides nucléiques – ADN, ARN – nécessaires aux analyses moléculaires.

Cette démarche est résumée dans le tableau 2.

**Tableau 2 : Prise en charge cytogénétique d'un LNH au diagnostic.**

<b>CARYOTYPE CONVENTIONNEL</b>			
<b>Lymphomes B</b>		<b>Lymphomes T</b>	
<b>Caryotype « informatif » (Anomalies de structure récurrentes)</b>	<b>Caryotype non ou peu informatif (échec, normal, anomalie de nombre, anomalie non récurrente)</b>	<b>Caryotype « informatif » (Anomalies de structure récurrentes)</b>	<b>Caryotype non ou peu informatif (échec, normal, anomalie de nombre, anomalie non récurrente)</b>
t(14;18)(q32;q21) t(11;14)(q13;q32) t(8;14)(q24;q32) et variantes : t(2;8)(p12;q24), t(8;22)(q24;q11) t(3;14)(q27;q32) et 3q27 non Ig t(9;14)(p13;q32) del(14)(q23q32) t(11;18)(q21;q21) autres anomalies récurrentes <b>Pas d'indication de FISH</b>	<b>FISH guidée par la morphologie</b> Folliculaire <i>Recherche t(14;18) puis t(3;14)</i> Burkitt et proches <i>Recherche réarrangement 8q24 (sonde MYC)</i> Grandes cellules <i>Recherche réarrangement 3q27 (sonde BCL6)</i> manteau <i>Recherche réarrangement BCL1-IgH</i> add(14) <i>Recherche réarrangement IgH</i> <b>Biologie Moléculaire Réarrangement IgH Translocations diverses</b>	t(2;5) et variantes t(10;11) t(8;14)(q24;q11) i(7)(q10)  <b>Pas d'indication de FISH</b>	<b>FISH guidée par la morphologie</b>  ALK positif <i>Recherche réarrangement 2p23 (sonde ALK)</i>  LNH $\gamma\delta$ <i>Recherche i(7)(q10)</i>  <b>Biologie Moléculaire Réarrangement TCR Translocations diverses</b>

## Apport des techniques pan-génomiques

L'apport principal concerne les LDGC pour lesquels l'analyse du transcriptome a montré, dès 2000, que ce groupe hétérogène pouvait être scindé en au moins deux groupes, l'un dit « germinal centre like » (GC) et l'autre dit « activated B cell like » (ABC), plutôt référé aujourd'hui comme non-GC [5]. A partir de ces données, divers algorithmes ont été proposés pour identifier ces groupes en s'appuyant non plus sur le transcriptome, mais sur un immunomarquage sur coupe. Le plus connu est l'algorithme décrit par Hans, à partir des résultats des marquages CD10, BCL6 et MUM1 [43]. Les populations identifiées à l'aide de ces algorithmes ne recouvrent toutefois que partiellement celles définies par le profil d'expression

génique. Après l'avoir proposé, le même groupe a largement critiqué l'algorithme de Hans et vient de rapporter un nouvel algorithme dont la fiabilité serait meilleure [44]. Par ailleurs, différentes signatures associées au pronostic ont été proposées dans différents types de lymphomes, en particulier LDGC [45], [46] et LNH folliculaires [47]. A ce jour, les essais de transfert des signatures décrites à partir des données de transcriptome en PCR quantitative se sont révélés décevants, et ces techniques ne sont pas utilisées pour l'évaluation du pronostic en pratique courante.

### **La CGH à haute résolution**

a permis de montrer que les anomalies génomiques associées aux lymphomes sont plus nombreuses que ne le laissait supposer l'analyse cytogénétique, et qu'il existe en particulier des amplifications géniques susceptibles de générer un nombre important de copies d'un oncogène, et des délétions mono ou bialléliques cryptiques conduisant à la perte d'un/plusieurs gènes suppresseurs de tumeur (figure 3). Ces amplifications ou délétions peuvent avoir un impact pronostic. A partir du moment où elles sont correctement caractérisées, leur détection peut également se faire à l'aide de techniques ciblées de PCR quantitative [48], [49].

### **Les SNP arrays**

ont par ailleurs montré qu'en plus des pertes de copies résultant des délétions pouvaient exister des anomalies qualitatives du génome, pertes d'allèles sans pertes de copies, dont certaines pourraient influencer le pronostic [50].

## **Intérêt dans la surveillance**

Quel que soit les moyens mis en œuvre pour les rechercher, ces anomalies génétiques vont permettre de suivre l'évolution de la maladie : disparaissant en rémission elles vont réapparaître en cas de reprise évolutive du processus malin. Quelques anomalies primaires constituent des cibles efficaces pour un suivi moléculaire, en particulier les translocations BCL2-JH des lymphomes folliculaires, les translocations BCL1-JH des lymphomes du manteau et les translocations NPM-ALK des lymphomes anaplasiques ALK+, permettant un suivi de la maladie résiduelle comparable à ce qui peut être proposé dans les leucémies. Toutefois, alors que l'on pensait que la persistance d'une translocation 14;18 pouvait représenter un facteur pronostique prédictif de ré-évolution d'un lymphome folliculaire, il a été montré récemment que la reprise évolutive du lymphome, au moins lorsqu'elle est tardive, ne se fait pas de façon linéaire à partir de la poussée précédente mais met souvent en jeu un précurseur ancestral commun aux diverses poussées, cellule « souche » ou « précurseur » du lymphome [51]. Il faut aussi rappeler ici que cette même translocation 14;18 peut être mise en évidence chez une proportion importante de sujets indemne de lymphome, chez lesquels elle pourrait caractériser un compartiment « pré lymphome folliculaire » confirmant que si cette translocation est indispensable au développement du lymphome, elle ne suffit pas à la transformation du lymphocyte qui en est porteur en lymphocyte malin.

# Conclusion

---

Si l'on se réfère à la classification OMS des hémopathies, la caractérisation génétique fait aujourd'hui partie intégrante du diagnostic des lymphomes malins non Hodgkiniens.

Au-delà de son rôle dans le démembrement des pathologies complexes que représentent les lymphomes en entités mieux définies, cette caractérisation nous a beaucoup appris sur les mécanismes physiopathologiques aboutissant au développement de ces tumeurs. Ceux-ci sont multiples, et récapitulent de façon exemplaire les différents modèles d'oncogénèse :

- activation d'un gène engageant la cellule dans le cycle cellulaire et prolifération
- dérégulation d'un gène impliqué dans la différenciation et blocage de celle-ci
- dérégulation d'un gène clé du contrôle de la mort cellulaire et accumulation de cellules protégées de l'apoptose.

Les techniques d'analyses pangénomiques, CGH et analyse du transcriptome, ont apporté récemment un nombre important de données permettant de mieux comprendre les voies de signalisation cellulaires mises en jeu. Pour autant, elles n'ont pas fondamentalement modifié les concepts et les pratiques issues des données de l'analyse chromosomique.

Pour s'en convaincre, il suffit de relire, par exemple, l'article publié par Klein en 1979 [52]. On y trouve déjà :

- l'idée d'une cellule immortelle pré-néoplasique
- l'idée d'une spécificité de l'anomalie génétique, liant physiopathologie et diagnostic
- l'idée de la nécessité de l'acquisition d'anomalies secondaires pour l'obtention d'un phénotype néoplasique complet
- l'idée du développement de la tumeur en « contrepartie » d'une cellule/d'un tissu normal, et l'on comprend aujourd'hui qu'à chaque fonction lymphocytaire peut correspondre un type particulier de lymphome.

# Bibliographie

---

1. Harris NL., Jaffe ES., Diebold J. *et al.* World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting-Airlie House, Virginia, November 1997. *J. Clin Oncol.* 1999 ; 17 : 3835-3849.
2. Manolov G., Manolova Y. Marker band in one chromosome 14 from Burkitt lymphomas. *Nature.* 1972 ; 237 : 33-34.
3. Van Dongen JJ., Langerak AW., Bruggemann M. *et al.* Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations : report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia.* 2003 ; 17 : 2257-2317.
4. Gondek LP., Tiu R., O'Keefe CL. *et al.* Chromosomal lesions and uniparental disomy detected by SNP arrays in MDS, MDS/MPD, and MDS-derived AML. *Blood.* 2008 ; 111 : 1534-1542.
5. Alizadeh AA., Eisen MB., Davis RE. *et al.* Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature.* 2000 ; 403 : 503-511.

6. Ye BH., Chaganti S., Chang CC. *et al.* Chromosomal translocations cause deregulated BCL6 expression by promoter substitution in B cell lymphoma. *EMBO J.* 1995 ;14:6209-6217.
7. Almire C., Bertrand P., Ruminy P. *et al.* PVRL2 is translocated to the TRA@ locus in t(14;19)(q11;q13)-positive peripheral T-cell lymphomas. *Genes Chromosomes Cancer.* 2007 ; 46 : 1011-1018.
8. Zech L., Haglund U., Nilsson K., Klein G. Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid-cell lines from patients with Burkitt and non-Burkitt lymphomas. *Int J. Cancer.* 1976 ; 17 : 47-56.
9. Berger R., Bernheim A., Weh HJ. *et al.* A new translocation in Burkitt's tumor cells. *Hum Genet.* 1979 ; 53 : 111-112.
10. Bernheim A., Berger R., Lenoir G. [Translocations t(2;8) and t(8;22) in continuous cell lines of African Burkitt's lymphoma]. *C R Seances Acad Sci D.* 1980 ; 291 : 237-239.
11. Lenoir G., Preud'homme JL., Bernheim A., Berger R. [Correlation between variant translocation and the expression of immunoglobulin light chains in Burkitt-type lymphomas and leukemias]. *C R Seances Acad Sci III.* 1981 ; 293 : 427-429.
12. Lenoir GM., Preud'homme JL., Bernheim A., Berger R. Correlation between immunoglobulin light chain expression and variant translocation in Burkitt's lymphoma. *Nature.* 1982 ; 298 : 474-476.
13. Haluska FG., Finver S., Tsujimoto Y., Croce CM. The t(8;14) chromosomal translocation occurring in B-cell malignancies results from mistakes in V-D-J joining. *Nature.* 1986 ; 324 : 158-161.
14. Dalla-Favera R., Bregni M., Erikson J. *et al.* Human c-myc onc gene is located on the region of chromosome 8 that is translocated in Burkitt lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982 ; 79 : 7824-7827.
15. De la CA., Lenoir G., Boue J. *et al.* Lambda Ig constant region genes are translocated to chromosome 8 in Burkitt's lymphoma with t(8;22). *Nucleic Acids Res.* 1983 ; 11 : 1133-1142.
16. Taub R., Kirsch I., Morton C. *et al.* Translocation of the c-myc gene into the immunoglobulin heavy chain locus in human Burkitt lymphoma and murine plasmacytoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1982 ; 79 : 7837-7841.
17. Tsujimoto Y., Jaffe E., Cossman J. *et al.* Clustering of breakpoints on chromosome 11 in human B-cell neoplasms with the t(11;14) chromosome translocation. *Nature.* 1985 ; 315 : 340-343.
18. Tsujimoto Y., Yunis J., Onorato-Showe L. *et al.* Molecular cloning of the chromosomal breakpoint of B-cell lymphomas and leukemias with the t(11;14) chromosome translocation. *Science.* 1984 ; 224 : 1403-1406.
19. Motokura T., Bloom T., Kim HG. *et al.* A novel cyclin encoded by a bcl1-linked candidate oncogene. *Nature.* 1991 ; 350 : 512-515.
20. Seto M., Yamamoto K., Iida S. *et al.* Gene rearrangement and overexpression of PRAD1 in lymphoid malignancy with t(11;14)(q13;q32) translocation. *Oncogene.* 1992 ; 7 : 1401-1406.
21. Uchamaru K., Taniguchi T., Yoshikawa M. *et al.* Detection of cyclin D1 (bcl-1, PRAD1) overexpression by a simple competitive reverse transcription-polymerase chain reaction assay in t(11;14)(q13;q32)-bearing B-cell malignancies and/or mantle cell lymphoma. *Blood.* 1997 ; 89 : 965-974.
22. Bakhshi A., Jensen JP., Goldman P. *et al.* Cloning the chromosomal breakpoint of t(14;18) human lymphomas: clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18. *Cell.* 1985 ; 41 : 899-906.
23. Cleary ML., Sklar J. Nucleotide sequence of a t(14;18) chromosomal breakpoint in follicular lymphoma and demonstration of a breakpoint-cluster region near a transcriptionally active locus on chromosome 18. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985 ; 82 : 7439-7443.
24. Tsujimoto Y., Finger LR., Yunis J., Nowell PC., Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science.* 1984 ; 226 : 1097-1099.
25. Tsujimoto Y., Cossman J., Jaffe E., Croce CM. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science.* 1985 ; 228 : 1440-1443.
26. Tsujimoto Y., Gorham J., Cossman J., Jaffe E., Croce CM. The t(14;18) chromosome translocations involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ joining. *Science.* 1985 ; 229 : 1390-1393.
27. Korsmeyer SJ. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood.* 1992 ; 80 : 879-886.
28. Yang E., Korsmeyer SJ. Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL2 family and cell death. *Blood.* 1996 ; 88 : 386-401.
29. Tsujimoto Y., Bashir MM., Givol I. *et al.* DNA rearrangements in human follicular lymphoma can involve the 5' or the 3' region of the bcl-2 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987 ; 84 : 1329-1331.

30. Takeuchi J., Ochi H., Han T. *et al.* Clonal chromosome abnormalities in prison-acquired lymphoproliferative syndrome. *Cancer Genet Cytogenet.* 1985 ; 15 : 7-16.
31. Offit K., Jhanwar S., Ebrahim SA. *et al.* t(3;22)(q27;q11) : a novel translocation associated with diffuse non-Hodgkin's lymphoma. *Blood.* 1989 ; 74 : 1876-1879.
32. Bastard C., Tilly H., Lenormand B. *et al.* Translocations involving band 3q27 and Ig gene regions in non-Hodgkin's lymphoma. *Blood.* 1992 ; 79 : 2527-2531.
33. Kerckaert JP., Deweindt C., Tilly H. *et al.* LAZ3, a novel zinc-finger encoding gene, is disrupted by recurring chromosome 3q27 translocations in human lymphomas. *Nat Genet.* 1993 ; 5 : 66-70.
34. Ye BH., Lista F., Lo C.F. *et al.* Alterations of a zinc finger-encoding gene, BCL-6, in diffuse large-cell lymphoma. *Science.* 1993 ; 262 : 747-750.
35. Ye BH., Cattoretti G., Shen Q. *et al.* The BCL-6 proto-oncogene controls germinal-centre formation and Th2-type inflammation. *Nat Genet.* 1997 ; 16 : 161-170.
36. Bastard C., Deweindt C., Kerckaert JP. *et al.* LAZ3 rearrangements in non-Hodgkin's lymphoma: correlation with histology, immunophenotype, karyotype, and clinical outcome in 217 patients. *Blood.* 1994 ; 83 : 2423-2427.
37. Ruminy P., Jardin F., Picquenot JM. *et al.* Two patterns of chromosomal breakpoint locations on the immunoglobulin heavy-chain locus in B-cell lymphomas with t(3;14)(q27;q32) : relevance to histology. *Oncogene.* 2006 ; 25 : 4947-4954.
38. Offit K., Parsa NZ., Filippa D., Jhanwar SC., Chaganti RS. t(9;14)(p13;q32) denotes a subset of low-grade non-Hodgkin's lymphoma with plasmacytoid differentiation. *Blood.* 1992 ; 80 : 2594-2599.
39. Michaux L., Mecucci C., Stul M. *et al.* BCL3 rearrangement and t(14;19)(q32;q13) in lymphoproliferative disorders. *Genes Chromosomes Cancer.* 1996 ; 15 : 38-47.
40. Streubel B., Lamprecht A., Dierlamm J. *et al.* T(14;18)(q32;q21) involving IGH and MALT1 is a frequent chromosomal aberration in MALT lymphoma. *Blood.* 2003 ; 101 : 2335-2339.
41. Mason DY., Bastard C., Rimokh R. *et al.* CD30-positive large cell lymphomas ('Ki-1 lymphoma') are associated with a chromosomal translocation involving 5q35. *Br J. Haematol.* 1990 ; 74 : 161-168.
42. Huret JL., Senon S. ALK (anaplastic lymphoma kinase). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* August 2003 .
43. Hans CP., Weisenburger DD., Greiner TC. *et al.* Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood.* 2004 ; 103 : 275-282.
44. Choi WW., Weisenburger DD., Greiner TC. *et al.* A new immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy. *Clin Cancer Res.* 2009 ; 15 : 5494-5502.
45. Shipp MA., Ross KN., Tamayo P. *et al.* Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med.* 2002 ; 8 : 68-74.
46. Lenz G., Wright G., Dave SS. *et al.* Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. *N Engl J Med.* 2008 ; 359 : 2313-2323.
47. Dave SS., Wright G., Tan B. *et al.* Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. *N Engl J Med.* 2004 ; 351 : 2159-2169.
48. Jardin F., Ruminy P., Kerckaert JP. *et al.* Detection of somatic quantitative genetic alterations by multiplex polymerase chain reaction for the prediction of outcome in diffuse large B-cell lymphomas. *Haematologica.* 2008 ; 93 : 543-550.
49. Jardin F., Picquenot JM., Parmentier F. *et al.* Detection of gene copy number aberrations in mantle cell lymphoma by a single quantitative multiplex PCR assay: clinicopathological relevance and prognosis value. *Br J. Haematol.* 2009 ; 146 : 607-618.
50. O'Shea D., O'Riain C., Gupta M. *et al.* Regions of acquired uniparental disomy at diagnosis of follicular lymphoma are associated with both overall survival and risk of transformation. *Blood.* 2009 ; 113 : 2298-2301.
51. Ruminy P., Jardin F., Picquenot JM. *et al.* S(mu) mutation patterns suggest different progression pathways in follicular lymphoma : early direct or late from FL progenitor cells. *Blood.* 2008 ; 112 : 1951-1959.
52. Klein G. Lymphoma development in mice and humans: diversity of initiation is followed by convergent cytogenetic evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979 ; 76 : 2442-2446.

**Bilan diagnostique  
des lymphomes malins :  
présentation clinique,  
bilan d'imagerie, bilan biologique,  
indicateurs pronostiques,  
examens utiles à la surveillance.**

**Jehan Dupuis, Corinne Haïoun**

La présentation clinique des lymphomes peut-être **extrêmement variable**. Elle va dépendre essentiellement d'une part du caractère **agressif ou indolent** de la maladie, qui conditionne la rapidité d'apparition des symptômes, ainsi que d'autre part des **sites touchés par la maladie** : Ainsi, un lymphome cérébral primitif va pouvoir être révélé par un déficit neurologique focal, tandis qu'un lymphome de localisation gastrique pourra être révélé par une hématurie. En dehors des signes et symptômes attribuables à la tumeur elle-même, certains lymphomes peuvent s'accompagner de signes généraux (baptisés « **symptômes B** » depuis la classification d'Ann Arbor – cf. plus loin) : Fièvre (prédominant souvent en début de soirée – dite alors « vespérale »), sueurs nocturnes, perte de poids. Il faut savoir que le site lésionnel est parfois pris en compte dans la classification des lymphomes : Un lymphome diffus à grandes cellules B médiastinal primitif comporte par définition une atteinte médiastinale prédominante, de même qu'un lymphome T de type entéropathie touche par définition de façon prédominante l'intestin grêle...

Il n'est pas inutile de rappeler que le diagnostic de lymphome, quel que soit le degré de suspicion clinique, doit toujours reposer sur l'analyse **histologique** de la **biopsie** d'un ganglion ou d'un site tumoral extra-ganglionnaire. Cette biopsie peut être réalisée de façon chirurgicale conventionnelle ou par ponction-biopsie guidée sous scanner ou échographie lorsque la tumeur n'est pas facilement accessible chirurgicalement. Le prélèvement doit être de **taille suffisante** pour permettre l'application de toutes les techniques permettant de réunir les critères de diagnostic et, dans toute la mesure du possible, il faut s'efforcer de pouvoir disposer d'un fragment **congelé** nécessaire à la réalisation de certaines analyses (biologie moléculaire, certains marqueurs immuno-histochimiques).

## Quels examens avant de débiter un traitement ?

L'**anamnèse** est fondamentale au moment de l'évaluation du patient avant de déterminer le traitement le plus approprié : Evaluation des co-morbidités, recueil des antécédents (y compris familiaux). L'**examen clinique** recherche les localisations de la maladie accessibles, consigne sur un schéma daté le siège et la taille des adénopathies superficielles, le débord d'une hépatomégalie et d'une splénomégalie. **Lorsqu'une irradiation est envisagée, il est souhaitable que le radiothérapeute puisse examiner le malade à la phase initiale de la maladie.** L'**état général** peut être apprécié de façon semi-quantitative grâce à l'échelle simple élaborée par l'ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) pour mesurer le retentissement de la maladie sur l'activité baptisée « Performance Status » (**tableau 1**). La présence ou l'absence de **symptômes B** (**voir plus haut**) intervient également dans l'appréciation de l'état général.

**Tableau 1 : Echelle d'activité de l'Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) (mesure du Performance Status).**

Performance Status	Définition
0	Activité normale
1	Capable de réaliser des petits travaux
2	Incapable de travailler, capable de s'occuper de lui-même, debout plus de 50% du temps
3	Confiné au lit ou dans un fauteuil plus de 50% du temps
4	Confiné au lit, incapable de s'occuper de lui-même

## Bilan sanguin

Le bilan initial comporte en règle les examens suivants :

- hémogramme à la recherche d'éventuelles cytopénies ou de cellules lymphomateuses circulantes
- LDH,  $\beta$ 2microglobuline
- Ionogramme, créatininémie, uricémie dans les lymphomes agressifs présentant un risque important de lyse tumorale
- bilan d'hémostase
- bilan hépatique
- électrophorèse des protéines sériques et immunofixation à la recherche d'un composant monoclonal circulant, albuminémie.

## Bilan d'extension

Les examens complémentaires vont, une fois le diagnostic posé, avoir essentiellement pour but de définir le plus précisément possible le degré d'extension de la maladie. Celui-ci est important à connaître à plus d'un titre :

- le degré d'extension guide souvent la stratégie thérapeutique (cf lymphome de Hodgkin par exemple)
- le nombre d'atteintes viscérales ou ganglionnaires ainsi que le stade interviennent dans le calcul de certains index pronostiques ([voir plus loin](#))
- la découverte de certaines atteintes entraîne des particularités dans la prise en charge (ex : localisations au niveau du système nerveux central).

Le bilan d'extension est fondé classiquement sur la réalisation d'un scanner thoraco-abdomino-pelvien et d'une biopsie ostéo-médullaire. L'IRM est essentielle pour l'évaluation des lymphomes cérébraux. En dehors de ces lymphomes, elle n'a qu'un rôle de complément du scanner dans certains cas particuliers, notamment les localisations osseuses.

## Biopsie ostéo-médullaire (BOM)

Elle est réalisée sous anesthésie locale et/ou sous mélange d'oxygène et protoxyde d'azote, au niveau de l'os iliaque, à la recherche d'une infiltration lymphomateuse. Le type cellulaire médullaire peut différer de celui observé dans les ganglions, le plus souvent il s'agit de la présence de petites cellules sur la BOM réalisée pour le bilan d'extension d'un LNH à grandes cellules. Souvent, le phénotypage des lymphocytes est nécessaire pour vérifier l'appartenance ou non de l'infiltrat au processus lymphomateux. Il peut être utile dans certains cas de réaliser en plus de la BOM elle-même des prélèvements de moelle sur anticoagulant dans le but de réaliser éventuellement des analyses moléculaires ou immunophénotypiques.

Certains examens ne sont réalisés que dans des circonstances particulières, ou sur point d'appel (liste non limitative) :

- étude du liquide céphalo-rachidien par ponction lombaire : Elle est réalisée systématiquement, souvent de façon contemporaine à l'administration de chimiothérapie intrathécale, dans les formes histologiques à haut risque (lymphomes de Burkitt, lymphomes à grandes cellules B avec facteurs de risque,...) ou en cas de point d'appel clinique. Le liquide examiné au microscope après centrifugation, recueil du culot cellulaire et coloration reste un examen peu sensible dans la détection des atteintes neuro-méningées asymptomatiques. L'utilisation de la cytométrie de flux permet sans doute d'améliorer la sensibilité de cet examen [1]

- la réalisation d'examens endoscopiques digestifs est réservée aux formes avec point d'appel digestif. La réalisation d'une endoscopie digestive haute et basse systématique dans les lymphomes à cellules du manteau est discutée, cette maladie ayant en effet une fréquence importante de ce type d'atteinte au diagnostic. Elle est recommandée par certains de façon systématique en cas d'atteinte ORL.

## Tomographie par Emission de Positons au <sup>18</sup>Fluorodéoxyglucose

La Tomographie par Emission de Positons au <sup>18</sup>Fluorodéoxyglucose (TEP-<sup>18</sup>FDG) est une technique d'imagerie métabolique corps entier reposant sur la détection d'un isotope analogue du glucose et émetteur de positons à l'aide d'une caméra dédiée, le plus souvent couplée à un scanner standard. Cet isotope est préférentiellement capté par les tissus à forte activité métabolique, et en particulier les tumeurs. Deux maladies sont actuellement considérées comme des indications consensuelles de l'examen au moment du bilan pré-thérapeutique : les lymphomes diffus à grandes cellules B et les lymphomes de Hodgkin classiques [2]. L'utilisation dans les autres types histologiques de lymphomes demeure pour l'essentiel du domaine de la recherche. L'intérêt de l'examen est lié en particulier à son potentiel de détection d'un nombre plus élevé de lésions que le scanner (par exemple lésions osseuses dans les lymphomes hodgkiniens), mais surtout l'examen pré-thérapeutique pourra servir de référence pour l'interprétation des TEP ultérieures réalisées pour évaluer la réponse au traitement ([voir plus loin](#)).

A l'issue de l'ensemble de ces examens pourra être déterminé le degré d'extension de la maladie, pour lequel est utilisée la classification d'Ann Arbor, dans sa version dite de Costwolds, développée d'abord pour le bilan d'extension des lymphomes hodgkiniens puis généralisée à l'ensemble des lymphomes ([tableau 2](#)) :

**Tableau 2 : Classification d'Ann Arbor.**

Stade	Définition
Stade I	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atteinte d'une seule aire ganglionnaire</li> <li>• IE : atteinte localisée d'un seul territoire Extra ganglionnaire</li> </ul>
Stade II	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atteinte de deux ou plusieurs aires ganglionnaires du même côté du diaphragme</li> <li>• IIE : atteinte Extra ganglionnaire unique avec une ou plusieurs aires ganglionnaires du même côté du diaphragme</li> </ul>
Stade III	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atteinte ganglionnaire des deux côtés du diaphragme</li> <li>• IIIS : avec atteinte Splénique</li> <li>• IIIE : avec atteinte Extra ganglionnaire localisée</li> </ul>
Stade IV	Atteinte diffuse d'une ou de plusieurs aires extra ganglionnaires (foie, poumon, moelle, os) avec ou sans atteinte ganglionnaire.*

\* Par extension, les atteintes localisées mais volumineuses (non inclusibles dans un champ d'irradiation unique) sont souvent considérées comme des stades IV.

Plusieurs symboles peuvent être utilisés pour préciser encore cette classification :

- la lettre A ou B majuscule indique qu'il existe (« B ») ou non (« A ») des symptômes B, tandis que la lettre b minuscule indique la présence (et « a » l'absence) d'un syndrome inflammatoire biologique (augmentation de la vitesse de sédimentation globulaire)
- la lettre X indique la présence d'une maladie « Bulky » (ie de forte masse tumorale) définie au niveau du médiastin comme la présence d'un rapport médiastino-thoracique > 0,33, et dans les autres sites par

la présence d'une masse de plus de 10 cm. Cette masse tumorale revêt une importance pronostique notamment dans les formes supra-diaphragmatiques de lymphomes hodgkiniens.

Ainsi, un lymphome cervico-médiastinal de forte masse tumorale, accompagné d'un syndrome inflammatoire biologique, mais sans signes généraux d'évolutivité sera classifiée Stade IIAbX.

## Les examens pré-thérapeutiques

Le contrôle de la **fraction d'éjection du ventricule gauche** est nécessaire avant l'emploi d'anthracyclines, l'une des classes médicamenteuses les plus efficaces dans les lymphomes agressifs.

- Les chimiothérapies conventionnelles peuvent être à l'origine d'une stérilité et d'une ménopause précoce chez la femme. Les patientes doivent être prévenues de ce risque. Chez l'homme jeune, une cryoconservation de sperme doit être proposée. Chez la femme jeune, une contraception est nécessaire avec toute chimiothérapie ou une mise au repos des ovaires par progestatifs (l'emploi d'analogue de la LHRH est en cours d'évaluation). Une éventuelle autoconservation d'ovocytes, ou de cortex ovarien fait partie de protocoles de recherche, seule la congélation d'embryons est validée mais elle prend environ 3 semaines.
- Sérologie vis à vis du VIH et des virus des hépatites B et C : ces virus peuvent favoriser la survenue de lymphomes, et nécessiter la mise en route d'un traitement inhibant la répllication virale.

## Quels examens pour évaluer le pronostic ?

Le bilan disponible à l'issue de l'ensemble de ces examens va permettre de disposer d'informations ayant une valeur pronostique qui permettront éventuellement d'adapter la stratégie thérapeutique à la gravité de la maladie. L'établissement d'index pronostiques aisément applicables et reproductibles, calculés à partir de critères simples, nécessite de disposer d'un nombre important de patients. Ainsi, dans le domaine des LNH agressifs, un large effort coopératif international a abouti en 1993 à l'élaboration d'un index pronostique international des lymphomes agressifs (IPI) encore utilisé aujourd'hui [3] :

**Tableau 3 : Index Pronostique International des lymphomes agressifs.**

Facteur	Score = 0	Score = 1
Age	< 60	≥ 60
Nombre d'ENS	< 2	≥ 2
Taux de LDH sérique	Normal	Elevé
Performance Status (ECOG)	0 – 1	> 1
Stade Ann Arbor	I – II	III – IV

**Tableau 4 : Survies à 5 ans selon l'IPI ou l'aalPI.**

Groupes à risques	Nombre de facteurs	Survie sans récurrence à 5 ans (%)	Survie globale à 5 ans (%)
<b>Index (tout âge)</b>			
Faible	0 ou 1	70	73
Faible intermédiaire	2	50	51
Haut intermédiaire	3	49	43
Haut	4 ou 5	40	26
<b>Index age-adjusted</b>			
Faible	0	86	83
Faible intermédiaire	1	66	69
Haut intermédiaire	2	58	46
Haut	3	53	32

L'index simplifié dit index ajusté sur l'âge (« age-adjusted IPI » ou « aalPI ») ne prend en compte dans un groupe d'âge donné (< 60 ou ≥ 60 ans) que les trois facteurs suivants : taux de LDH, stade et performance status. Plus récemment, un IPI « révisé » a été proposé qui sépare les patients en seulement trois groupes selon qu'ils présentent 0, 1 à 2 ou 3 à 5 facteurs de risque [4]. Cet index serait plus performant que l'IPI classique chez les patients traités par immuno-chimiothérapie selon les modalités actuelles.

De la même façon, des index pronostiques spécifiques ont été établis qui s'appliquent spécifiquement à d'autres sous-types de lymphomes :

- formes étendues de lymphomes de Hodgkin avec l'index dit d'Hasenclever ou International Prognostic Score [5]
- lymphomes folliculaires avec le Follicular Lymphoma International Prognostic Index ou FLIPI dont la deuxième mouture vient d'être publiée [6]
- lymphome du manteau avec le MIPI, etc ...

Même si la plupart de ces scores pronostiques ont été validés de façon indépendante, leur utilisation pour stratifier la stratégie thérapeutique en fonction de la gravité demeure limitée à certains sous-types histologiques (lymphomes diffus à grandes cellules B essentiellement).

## Quels examens pour la surveillance ?

### Evaluation de la réponse au traitement

En fin de traitement, et de plus en plus souvent en cours de traitement, l'évaluation de la réponse aux thérapeutiques administrées revêt une importance primordiale. Celle-ci se fonde classiquement sur la comparaison des tailles des masses tumorales avant et après traitement. Un groupe d'experts a défini en 1999 des critères uniformes de réponse largement acceptés par la communauté internationale

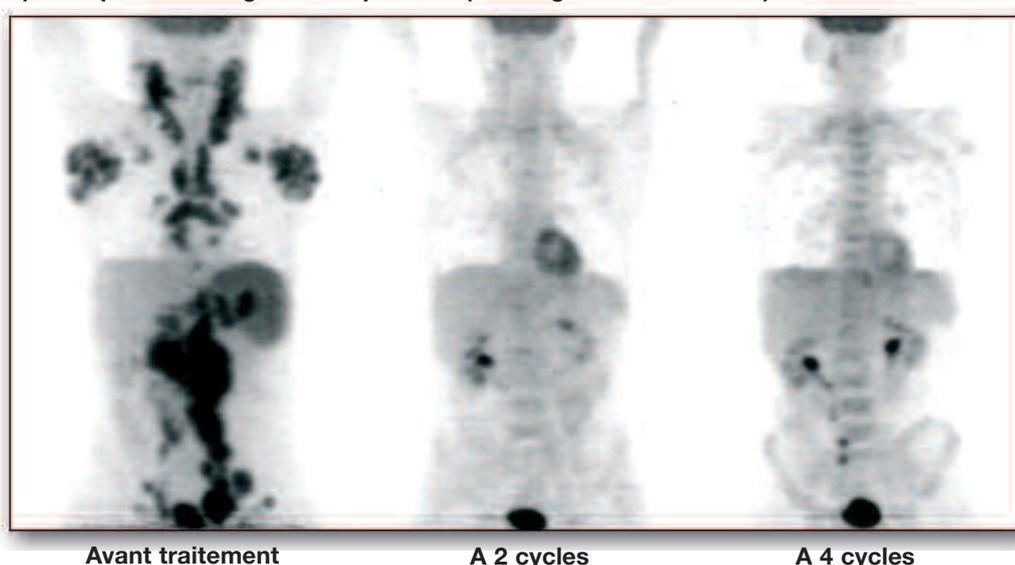
depuis lors : Il s'agit des International Workshop Criteria ou critères de Cheson [9]. Ces critères sont essentiellement basés sur l'utilisation du scanner classique permettant de réaliser des mesures objectives des tailles tumorales, qui sont effectuées par convention dans les 2 plus grands diamètres en coupes coronales. Selon ces critères, une disparition complète des masses tumorales présentes au diagnostic est qualifiée de réponse complète, tandis qu'une diminution de 50% et plus est qualifiée de réponse partielle. La présence fréquente de masses résiduelles correspondant à des « cicatrices » inactives de la maladie a fait établir une catégorie qualifiée de « réponse complète incertaine » (Unconfirmed Complete Response des anglo-saxons, ou CRu), qui correspond à une réduction de plus de 75% des volumes tumoraux initiaux.

L'introduction récente de la TEP-18FDG a permis d'affiner cette classification, la TEP permettant en théorie de distinguer une masse résiduelle inactive d'une masse ayant significativement réduit de volume mais restant métaboliquement active sur la base d'une captation de glucose marqué. Des critères de réponse « révisés » ont ainsi été proposés, dans lesquels la catégorie de réponse complète incertaine a été supprimée grâce à l'apport de la TEP [2].

Récemment, le TEP scanner a été proposé comme méthode d'évaluation précoce de la réponse tumorale au traitement, l'objectif étant de détecter de façon la plus précoce possible d'une part les patients bons répondeurs (disparition de la fixation de glucose marqué, même en l'absence de réduction significative du volume tumoral) pour lesquels le traitement entrepris est a priori approprié et d'autre part les patients mauvais répondeurs, pour lesquels une intensification thérapeutique peut être envisagée. Dans certains types de lymphomes (Hodgkin, grandes cellules B), le rôle pronostique de l'évaluation précoce de la réponse tumorale par TEP scanner est aujourd'hui clairement établi. Ainsi, la disparition de toute fixation pathologique d'après seulement quelques cures de chimiothérapie a été associée à un pronostic très favorable dans ces affections [7], [8]. Ainsi, dans une étude dans laquelle une TEP était réalisée après seulement 2 cures de chimiothérapie chez des patients porteurs de lymphomes agressifs, les patients ayant une TEP négative après 2 cures avaient une survie sans événement à 2 ans de 82% versus 43% pour les patients gardant des anomalies à la TEP (figure 1). Plusieurs équipes à travers le monde testent aujourd'hui des approches thérapeutiques basées sur la stratification des patients en fonction des résultats d'une TEP précoce.

**Figure 1 : TEP réalisées avant traitement et après 2 et 4 cycles de chimiothérapie.**

**a) exemple d'une négativation précoce (LNH à grandes cellules B)**



b) exemple d'une persistance d'une maladie active à 2 cycles avec progression à 4 cycles (LNH à grandes cellules B).



## Surveillance post-thérapeutique

Les objectifs de la surveillance post-thérapeutique vont grandement varier en fonction de la pathologie considérée : si une forme localisée sans facteur de risque de lymphome de Hodgkin classique et en RC a un risque de rechute faible (inférieur à 5%), il en va différemment d'un patient traité pour lymphome du manteau chez lequel la rechute est systématique.

Dans un cas, le suivi aura principalement pour but de prévenir, détecter et prendre en charge de façon précoce les complications tardives des traitements ; dans l'autre il aura pour but de diagnostiquer si possible précocement une récurrence.

## Evaluation des complications post-thérapeutiques

Le suivi régulier de la fonction ventriculaire gauche par échographie ou par méthode isotopique peut permettre de détecter une atteinte cardiaque infra-clinique, même si le pronostic de cette dernière est mal connu [10]. Le profil de complications attendues varie grandement en fonction du type de traitement reçu. On retiendra par exemple l'intérêt d'une surveillance régulière de la TSH chez les patients ayant reçu une irradiation cervicale et également l'intérêt de la réalisation d'un suivi mammographique chez les patientes ayant été irradiées sur la région mammaire.

## Evaluation du risque de récurrence

Même si certaines données plaident en faveur d'un bénéfice à la détection précoce de la rechute [11] dans les lymphomes agressifs, le rythme optimal de surveillance n'est pas connu avec précision pour un type de maladie donné. L'habitude veut que l'on réalise en général une surveillance au minimum clinique et biologique assortie à intervalles réguliers d'un scanner, à un rythme s'espacant progressivement (par exemple : 4 consultations par an les deux premières années, puis 2 par an pendant 3 ans, puis une consultation annuelle).

# Bibliographie

---

1. Kraan J., Gratama JW., Haioun C. *et al.* Flow cytometric immunophenotyping of cerebrospinal fluid. *Curr Protoc Cytom* 2008 ; Chapter 6 : Unit 6 25.
2. Cheson BD., Pfistner B., Juweid ME. *et al.* Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. *J. Clin Oncol* 2007 ; 25 : 579-586.
3. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *N Engl J. Med* 1993 ; 329 : 987-994.
4. Sehn LH., Berry B., Chhanabhai M. *et al.* The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood* 2007 ; 109 : 1857-1861.
5. Hasenclever D., Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J. Med* 1998 ; 339 : 1506-1514.
6. Federico M., Bellei M., Marcheselli L. *et al.* Follicular lymphoma international prognostic index 2 : a new prognostic index for follicular lymphoma developed by the international follicular lymphoma prognostic factor project. *J. Clin Oncol* 2009 ; 27 : 4555-4562.
7. Gallamini A., Hutchings M., Rigacci L. *et al.* Early interim 2-[18F] fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography is prognostically superior to international prognostic score in advanced-stage Hodgkin's lymphoma : a report from a joint Italian-Danish study. *J. Clin Oncol* 2007 ; 25 : 3746-3752.
8. Haioun C., Itti E., Rahmouni A. *et al.* [18F] fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography (FDG-PET) in aggressive lymphoma : an early prognostic tool for predicting patient outcome. *Blood* 2005 ; 106 : 1376-1381.
9. Cheson BD., Horning SJ., Coiffier B. *et al.* Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J. Clin Oncol* 1999 ; 17 : 1244.
10. Hequet O., Le QH, Moullet I. *et al.* Subclinical late cardiomyopathy after doxorubicin therapy for lymphoma in adults. *J Clin Oncol* 2004 ; 22 : 1864-1871.
11. Liedtke M., Hamlin PA., Moskowitz CH., Zelenetz AD. Surveillance imaging during remission identifies a group of patients with more favorable aggressive NHL at time of relapse: a retrospective analysis of a uniformly-treated patient population. *Ann Oncol* 2006 ; 17 : 909-913.



# **Lymphomes diffus à grandes cellules B**

**Sophie Dupire, Bertrand Coiffier**

**CHAPITRE VII**

Les lymphomes diffus à grandes cellules B (LDGCB ou DLBCL) sont la forme la plus fréquente des lymphomes malins non hodgkiniens. Ils représentent environ un tiers de l'ensemble des lymphomes. Cette entité regroupe des formes anatomopathologiques variées. Outre cette variété histologique, l'étude en biologie moléculaire des gènes exprimés dans les LDGCB a permis d'extraire et d'isoler des profils d'expression génique spécifiques à des sous groupes de LDGCB.

## **Hétérogénéité clinique et morphologique des lymphomes à grandes cellules B**

Ces lymphomes sont caractérisés par une prolifération diffuse de grandes cellules effaçant l'architecture ganglionnaire normale et par une évolution spontanément agressive. Les aspects cytologiques et la présentation clinique peuvent être très variables. Sous le terme global de lymphomes B diffus à grandes cellules, il est possible de distinguer diverses variantes.

Variante évolutive d'une part : en effet ce lymphome peut être primitif (majorité des cas) mais peut aussi se développer durant l'évolution d'un lymphome dit indolent tel que le lymphome folliculaire, le lymphome de la zone marginale, ainsi qu'au cours de l'évolution d'une leucémie lymphoïde chronique (syndrome de Richter). En général ces hémopathies moins agressives sont déjà connues, voire déjà traitées, mais il arrive que le diagnostic de LDGCB lié à la transformation d'un lymphome indolent soit établi d'emblée chez un patient « naïf » lorsque l'on retrouve les 2 composantes cellulaires sur la pièce anatomopathologique.

Variante morphologique d'autre part :

La classification OMS des lymphomes mise à jour en 2008 reconnaît 11 sous types [1] :

### **- Lymphome diffus à grandes cellules B « unspecified » :**

- 3 variants morphologiques communs : centroblastique, immunoblastique et anaplasique
- variants morphologiques rares
- sous groupes moléculaires (ils seront détaillés un peu plus loin) : type centre germinatif « GC like » et type lymphocyte B activé « ABC like »
- sous groupes immunohistochimiques : LDGCB CD5+, GC like ou non GC like.

### **- Lymphomes de sous types spécifiques :**

- lymphome primitif du système nerveux central
- lymphome B riche en lymphocytes T : infiltration par un petit nombre de grandes cellules B associées à un infiltrat réactionnel de lymphocytes T et d'histiocytes, qui peut poser un problème de diagnostic différentiel avec la maladie de Hodgkin.
- lymphome cutané primitif
- lymphome EBV + du sujet âgé.

### **- Lymphome diffus à grandes cellules B du médiastin (thymique) :**

Il a pour origine les cellules B intrathymiques. Ce lymphome touche les sujets jeunes et sous forme de tumeur médiastinale antérieure. Il a une signature moléculaire distincte des autres lymphomes.

### **- Lymphome à grandes cellules B de type intravasculaire :**

(souvent un piège diagnostique) : il s'accompagne de symptômes cutanés et neurologiques et se caractérise par la présence de grands lymphocytes B dans les petits vaisseaux (sinus, sinusoides et capillaires).

**- LDGCB associés à une inflammation chronique :**

le prototype en est le lymphome secondaire à un pyothorax (infection pulmonaire chronique, notamment à bacille de Koch). On trouve aussi dans cette catégorie les lymphomes consécutifs à une ostéomyélite chronique, à une inflammation chronique sur implant.

**- Granulomatoses lymphomatoïdes :**

il donne souvent des localisations extranodales (extraganglionnaires) notamment pulmonaires.

**- LDGCB alk + (exprimant le gène alk)**

**- Lymphome plasmablastique :**

ce lymphome présente une différenciation plasmocytaire avec une expression du CD138 en immunohistochimie. Il est fréquemment CD20-. C'est une forme assez fréquente de lymphome chez les sujets VIH +. Il touche la cavité orale dans 50 % des cas et est associé à une infection par l'EBV.

**- Lymphome à grandes cellules B associé à l'Human Herpès Virus 8 et à une maladie de Castleman multicentrique**

**- Lymphome B primitif des séreuses :** il se développe préférentiellement dans les cavités pleurales, péricardiques, abdominales et diffère des extensions secondaires des LDGCB. Il touche souvent les sujets immunodéprimés et est souvent associé à une infection HHV8.

**- Lymphomes frontières** avec le lymphome de Burkitt ou avec la maladie de Hodgkin.

## Hétérogénéité biologique et génétique

La maturation lymphocytaire passe par différentes étapes. Parmi celles-ci, le passage dans le centre germinatif est une étape majeure. Elle met en présence les lymphocytes B et l'antigène. A l'intérieur d'un centre germinatif, les lymphocytes prennent des aspects morphologiques et expriment des marqueurs membranaires différents selon la destinée qui leur est réservée. Il s'agit de modifications phénotypiques « macroscopiques ». Ces modifications ont un pendant génomique, avec des remaniements géniques spécifiques selon le devenir du lymphocyte. Parmi ceux-ci, les hypermutations somatiques sont un événement qui témoigne du passage dans le centre germinatif et de la sélection du lymphocyte par l'antigène. Il s'agit de mutations ponctuelles intéressant les régions codant les domaines variables des immunoglobulines. Elles visent à augmenter l'affinité antigène-anticorps pour le lymphocyte candidat.

La caractérisation des cellules lymphomateuses passe par la recherche de marqueurs membranaires ou d'expression de gènes qui permettent d'établir un « air de famille » entre la cellule lymphomateuse et un stade précis de la maturation lymphocytaire normale (la contrepartie normale).

En ce qui concerne les lymphomes à grandes cellules B, les premières études cytogénétiques ont permis de mettre en évidence des translocations chromosomiques récurrentes dans environ 50 % des cas. Les 3 gènes les plus fréquemment dérégulés, bcl-6, bcl-2 et cMYC, partagent un mécanisme commun par lequel la translocation chromosomique place ce gène sous le contrôle inapproprié d'un élément régulant la production des immunoglobulines. Ceci provoque une surexpression du gène transloqué à l'origine d'un emballement de la prolifération et/ou d'une dérégulation de l'apoptose, participant au développement du phénotype tumoral.

Le **Tableau 1** ci-dessous résume les évènements génétiques retrouvés les plus fréquemment dans les lymphomes à grande cellule B [2].

Gène défectueux	Fréquence	Localisation	Rôle normal	Mécanisme de dérégulation
Bcl-6	35-40 %	3q27	Répresseur de transcription Inhibiteur d'apoptose	Translocation (3 ; xx) Hypermutations somatiques (HMS)
Bcl-2	t (14;18) : 13 % amplification : 24%	18q21	Antiapoptotique	Translocation Amplification
cMYC	15 %	8q24	Proto oncogène	Translocation (8;xx)
FAS (CD95)	20 %	10q24	Antiapoptotique	Mutation du domaine de mort HMS
Hypermutations somatiques	45 %		Générateur de diversité pour les anticorps	Instabilité chromosomique
p53	16%	17p	Gardien de l'intégrité du génome	Mutation, délétion

Les évolutions des méthodes de biologie moléculaire ont permis durant la dernière décennie, de passer de la recherche de la dérégulation de quelques gènes tels que ceux décrits précédemment à des méthodes de screening plus complet avec détermination de la signature moléculaire des tumeurs, ou profil d'expression génique. Ces études ont différents buts :

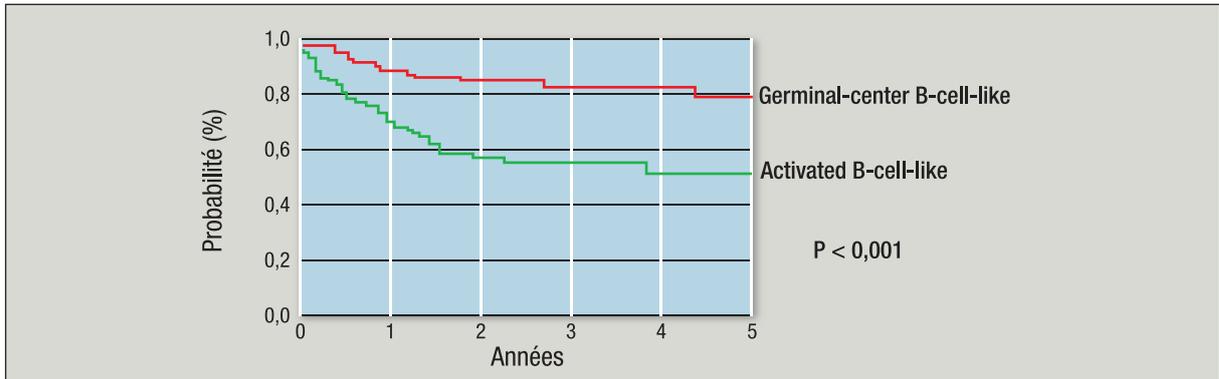
mettre en évidence des similarités entre des sous groupes de tumeurs et les cellules B normales, identifier des catégories de LDGCB à profil évolutif défavorable et décrypter leur signature transcritomique.

Pour ce qui est de l'origine cellulaire de sous type de LDGCB, deux catégories ont été initialement identifiées, basées sur des similarités d'expression de 375 gènes dans les tumeurs et les cellules normales du centre germinatif [3]. Les lymphomes « centre germinatif like » (dits GC-like) et les lymphomes type « lymphocytes B activé like » (dits ABC-like). Les lymphomes « GC-like » présentent des profils d'expression génique semblable aux lymphocytes B normaux des centres germinatifs. Les lymphomes « ABC-like » expriment en majorité des gènes également exprimés lors de l'activation in vitro des cellules B périphériques. Des études ultérieures ont permis de restreindre le panel de gène, à 100 [4], puis 27 avec identification de 3 catégories les GC-like, les ABC like et les autres [5].

A noter que les lymphomes ABC like expriment bien plus souvent les gènes cibles de la voie NF-kB que les autres, ce qui fournit une base à l'utilisation préférentielle des inhibiteurs de NFkB dans ces sous types, ouvrant la voie d'une « thérapie à la carte ».

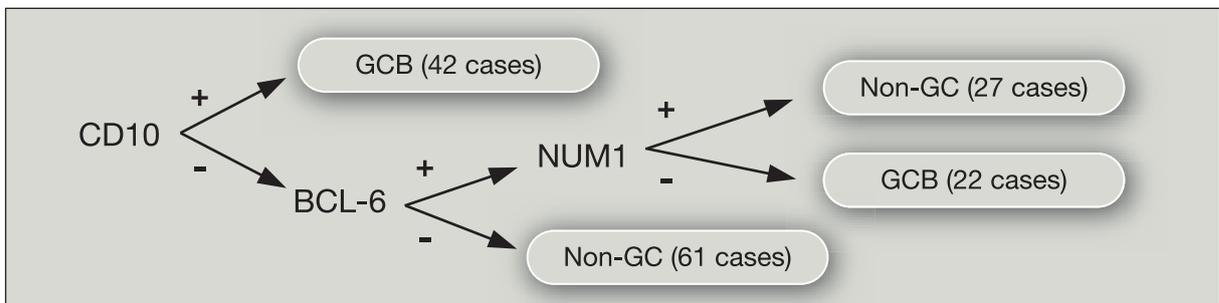
Cette répartition des lymphomes en fonction du profil d'expression génique a une répercussion pronostique. Avec les régimes de chimiothérapie classique, le sous type GC-like avait un meilleur pronostic en terme de survie sans progression et de survie globale (**figure 1**). Cette différence pronostique reste valable à l'ère de l'immunochimiothérapie avec l'avènement du Rituximab [6].

**Figure 1 :** Probabilité de survie globale en fonction du profil d'expression génique chez 200 patients ayant reçu une chimiothérapie de type R-CHOP (107 de profil génique GC et 93 de profil génique ABC), tiré de Lenz N Engl J Med 2008).

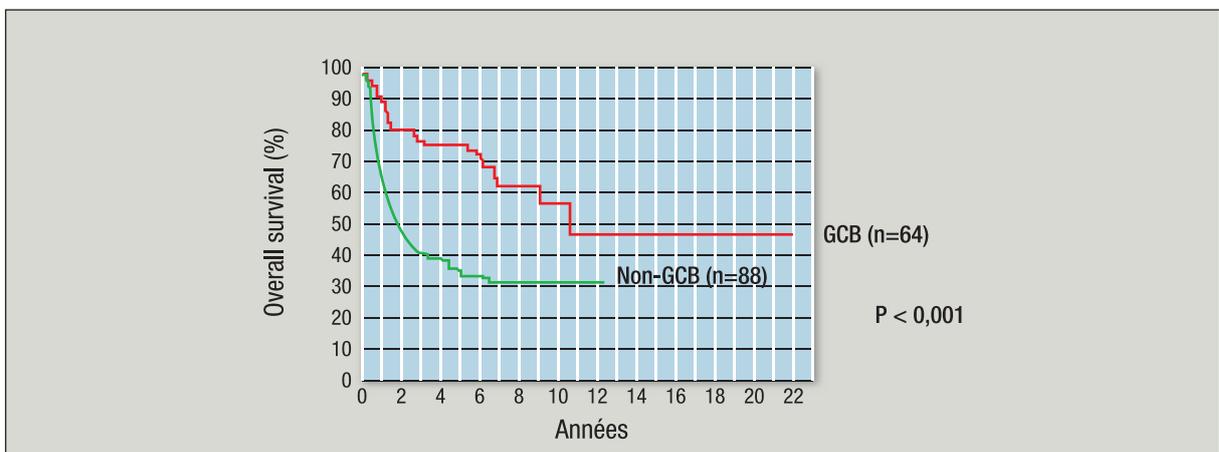


L'applicabilité en routine des méthodes de profil d'expression génique est actuellement difficile, car elle nécessite la disponibilité d'une plateforme pour réaliser des microarrays. Or l'installation d'une telle plateforme n'est possible que dans les grands centres et le rendu des résultats peut être long. Ceci ne permet pas de réaliser ce test avant la décision thérapeutique. C'est pourquoi d'autres classifications, telles que la classification de Hans [7], ont été établies à partir de panels immunohistochimiques simples permettant d'identifier des lymphomes de type centre germinatif versus les autres ayant une évolution différente. Le diagramme ci-après résume cette classification (figures 2 et 3).

**Figure 2 :** Etablissement de sous groupes type GC et non GC dans les lymphomes diffus à grandes cellules B en fonction de 3 marqueurs (CD10, Bcl 6 et Mum 1) en immunohistochimie (tiré de Hans Blood 2003).



**Figure 3 :** Profil évolutifs des 2 sous groupes GC et non GC (tiré de Hans Blood 2003).



Ce panel immunohistochimique a été testé ensuite par d'autres groupes, avec des résultats variables en terme de pronostic, 8 publications confirmant sa valeur pronostique, 6 publications ne la retrouvant pas. Parmi les multiples publications des équipes réalisant du profil d'expression génique dans les LDGCB, nous en retiendrons trois essentielles dont les données sont résumées dans les [Tableaux 2, 3 et 4](#) suivants :

**Tableau 2 : La première est celle de Rosenwald [4] qui distingue 4 signatures géniques**

Signature génique	Gènes représentatifs	Pronostic (risque relatif de décès)
Centre germinatif	Bcl-6	Favorable (0,69)
Complexe majeur d'histocompatibilité classe II	HLA DP $\alpha$ , DR $\alpha$ et $\beta$ , DQ $\alpha$	Favorable (0,69)
Ganglion (cellules non malignes réactionnelles de la biopsie)	Alpha actine Fibronectine Collagène III $\alpha$ 1	Favorable (0,72)
Prolifération	c-MYC	Défavorable (1,63)

**Tableau 3 : La deuxième est celle Monti [5] qui distingue 3 signatures :**

Signature génique	Types de gènes
Phosphorylation oxydative	Fonction mitochondriale Transport d'électron Régulation d'apoptose Degrémentation protéasomique
Récepteur cellulaire B (BCR)/prolifération	Gènes de régulation du cycle cellulaire, de réparation de l'ADN Composante du signal issu du BCR Facteurs de transcription spécifique des cellules B (Bcl6, MYC)
Réponse inflammatoire de l'hôte	TCR Cellules NK Protéines du complément Récepteurs aux cytokines Activateur des monocytes/macrophages Protéines liées au TNF Molécules d'adhésion (Similarités avec le sous type de hodgkin dit à prédominance lymphocytaire)

Tableau 4 : La troisième est celle de Lenz [6] : signature stromale

Signature génique	Type	Pronostic	Thérapeutique ciblée potentielle
Centre germinatif			
Stromale 1	Gène de composants de la matrice extracellulaire (fibronectine, osteonectine, collagène, laminine, thrombospondine) Cytologiquement : infiltration histiocytaire, monocytaire		Anticorps ciblant les cellules myéloïdes
Stromale 2	Gènes marqueurs de cellules endothéliales et régulateurs clé de l'angiogénèse Cytologiquement : haute densité vasculaire	Défavorable	Anti VEGF (vascular endothelial growth factor)

## Prise en charge thérapeutique des lymphomes diffus à grandes cellules B

### Rôle de l'index pronostic international (IPI) pour guider le traitement

Comme nous l'avons vu précédemment, les lymphomes diffus à grandes cellules B sont une entité hétérogène en terme d'aspect morphologique, de profil d'expression génique, ce qu'on peut appeler les caractéristiques intrinsèques du lymphome. Mais leur mode de présentation clinique initiale (localisée à quelques aires ganglionnaires ou plus diffus, avec atteinte éventuelle d'autres organes), le type de sujets qu'ils touchent sont également hétérogènes. Contrairement aux lymphomes dits indolents et du fait de leur caractère agressif avec une cinétique répliquative élevée, l'attitude habituelle est l'instauration d'un traitement très rapidement après le diagnostic. Pour guider le choix du traitement de première ligne, il faut tenir compte des caractéristiques intrinsèques et extrinsèques du lymphome, c'est-à-dire de son agressivité, son extension initiale et l'état clinique, l'âge, les comorbidités du patient qui va le recevoir. C'est dans ce but que des facteurs pronostiques correspondant à certaines caractéristiques clinicobiologique de la maladie au diagnostic ont été recherchés. De l'ensemble des études visant à établir des index pronostics, celle qui a fait l'objet d'un consensus international et sert à stratifier le traitement est celle qui a permis d'établir l'Index Pronostic International (IPI) en 1993 [8].

L'index pronostic international (IPI) pour les lymphomes à grandes cellules B prend en compte les 5 paramètres suivants : âge, stade de la maladie, performance status, taux de LDH et nombres de sites extraganglionnaires avant traitement, établissant un index de 0 à 5. Le performance status correspond à la fatigabilité du patient, allant de 0 (patient ayant une activité normale) à 4 (patient alité 100% du temps). Dans le tableau suivant sont précisés les paramètres ayant un caractère péjoratif.

**Tableau 5 : Définition des paramètres de l'index pronostic international**

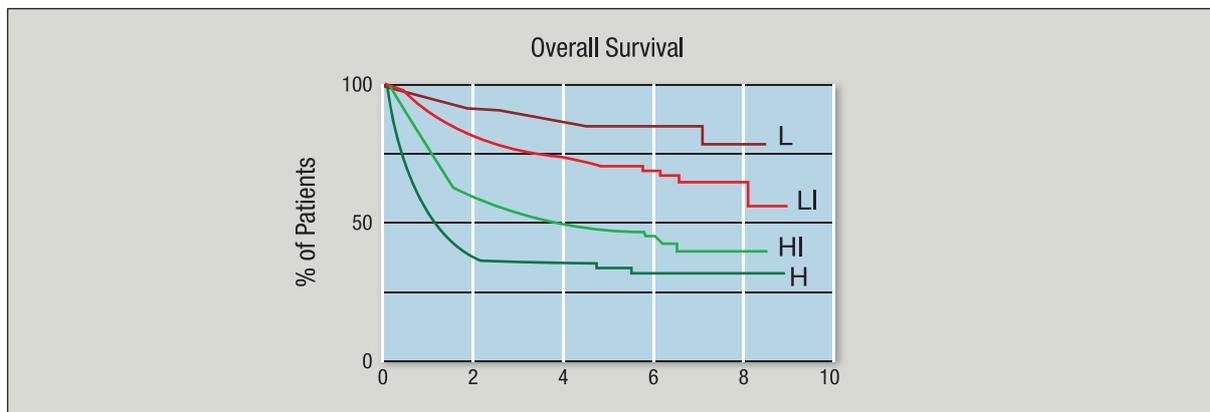
<b>Facteur pronostique</b>	(= 1 point)
<b>Stade</b>	III (atteinte sus et sous diaphragmatique) ou IV (atteinte extra-ganglionnaire : foie, os, moelle, organe)
<b>Âge</b>	> 60 ans
<b>LDH</b>	> normale
<b>Performance status</b>	≥ 2 (nécessité de se reposer dans la journée)
<b>Sites extra ganglionnaires</b>	≥ 2

On utilise plus classiquement maintenant l'IPI ajusté à l'âge (aalPI) qui ne retient que les paramètres stade, taux de LDH et performance status, établissant un index de 0 à 3 avec des taux de survie dépendant du groupe d'âge ( $\leq 60$  ans ou  $> 60$  ans).

**Tableau 6 : Devenir des patients en fonction de l'IPI et de l'IPI ajusté à l'âge**

Index pronostique	Nombre de facteurs de risque	Distribution des patients	Taux de rémission complète après chimiothérapie	Survie globale	
				à 2 ans	à 5 ans
<b>IPI (N=2031)</b>					
Bas	0 - 1	35 %	87 %	84 %	73 %
Intermédiaire bas	2	27 %	67 %	66 %	51 %
Intermédiaire haut	3	22 %	55 %	54 %	43 %
Haut	4 - 5	16 %	44 %	34 %	26 %
<b>aalPI &lt; 60 ans N= 1271</b>					
Bas	0	22 %	92 %	90 %	83%
Intermédiaire bas	1	32 %	78 %	79%	69%
Intermédiaire haut	2	32 %	57 %	59%	46%
Haut	3	14 %	46 %	37%	32%
<b>aalPI &gt; 60 ans N=761</b>					
Bas	0	18 %	91 %	80 %	56 %
Intermédiaire bas	1	31 %	71 %	68 %	44%
Intermédiaire haut	2	35 %	56 %	48 %	37 %
Haut	3	16 %	36 %	31 %	21 %

**Figure 4 : Courbes de survie en années chez les sujets de moins de 60 ans en fonction de l'IPIaa (tiré du N Engl J Med 1993). L : aalPI = 0 ; LI : aalPI = 1 ; HI : aalPI = 2 ; H : aalPI = 3.**



La stratification en groupes pronostiques issus de l'aalPI est la condition essentielle à l'orientation thérapeutique des patients de moins de 60 ans dans les protocoles actuels de traitement. On sépare classiquement les groupes dits de faible risque (aalPI 0 ou 1) des groupes dits de risque élevé (aalPI 2 ou 3).

### **Le CHOP comme traitement historique, et l'avènement du rituximab**

Depuis la publication de Fisher [9], le CHOP était considéré comme le traitement de référence de 1<sup>ère</sup> ligne des lymphomes B diffus à grandes cellules (LDGCB). Il associe les cytotoxiques suivants : Cyclophosphamide (agent alkylant) : 750 mg/m<sup>2</sup> à J1, Adriablastine (anthracycline) : 50 mg/m<sup>2</sup> à J1, Oncovin (poison du fuseau cellulaire) : 1,4 mg/m<sup>2</sup> à J1, Prednisone (corticoides) : 40 mg/m<sup>2</sup> de J1 à J5. Chaque cycle est espacé de 21 jours. Le nombre de cycles réalisés est variable en fonction de la gravité du lymphome (généralement 6 ou 8).

Le Rituximab est un anticorps monoclonal dirigé contre le CD20, marqueur membranaire commun aux lymphocytes B. L'idée d'une immunothérapie, c'est-à-dire l'utilisation thérapeutique d'anticorps contre des cellules cancéreuses remonte au milieu des années 70 avec le développement de la technique des hybridomes par Kohler et Milstein, permettant pour la première fois la production de masse d'immunoglobulines spécifiques, dirigées contre des protéines membranaires définies. Les premiers essais cliniques d'immunothérapie ont eu lieu en 1992. Le rituximab a été le premier anticorps monoclonal ciblant un marqueur membranaire spécifique à avoir démontré une efficacité thérapeutique dès 1994. Compte tenu de sa toxicité modérée, l'idée de l'associer à la chimiothérapie a rapidement fait son chemin, et la supériorité de l'association du rituximab plus CHOP (R-CHOP) sur le CHOP seul dans les lymphomes diffus à grandes cellules B a été démontrée au début des années 2000 pour faire du R-CHOP le traitement actuel de référence de 1<sup>ère</sup> ligne de ces lymphomes [10], [11].

### **Les acquis concernant la prise en charge des sujets jeunes (moins de 60 ans)**

#### **Traitement de 1<sup>ère</sup> ligne des patients jeunes de faible risque (IPI=0)**

Pour les patients ayant des stade I- II non « bulky », c'est-à-dire sans volumineuse masse tumorale, l'association de 3 CHOP suivis d'une irradiation des aires initialement atteintes (« involved fields ») est

devenu le standard après l'étude du SWOG (South West Oncology Group) [12]. La question du bénéfice d'un traitement ayant une dose intensité plus forte a été posée avec l'essai du Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA) (LNH 93-1) comparant le traitement R-CHOP plus radiothérapie (traitement de référence) à un traitement associant 3 ACVBP plus consolidation séquentielle [13].

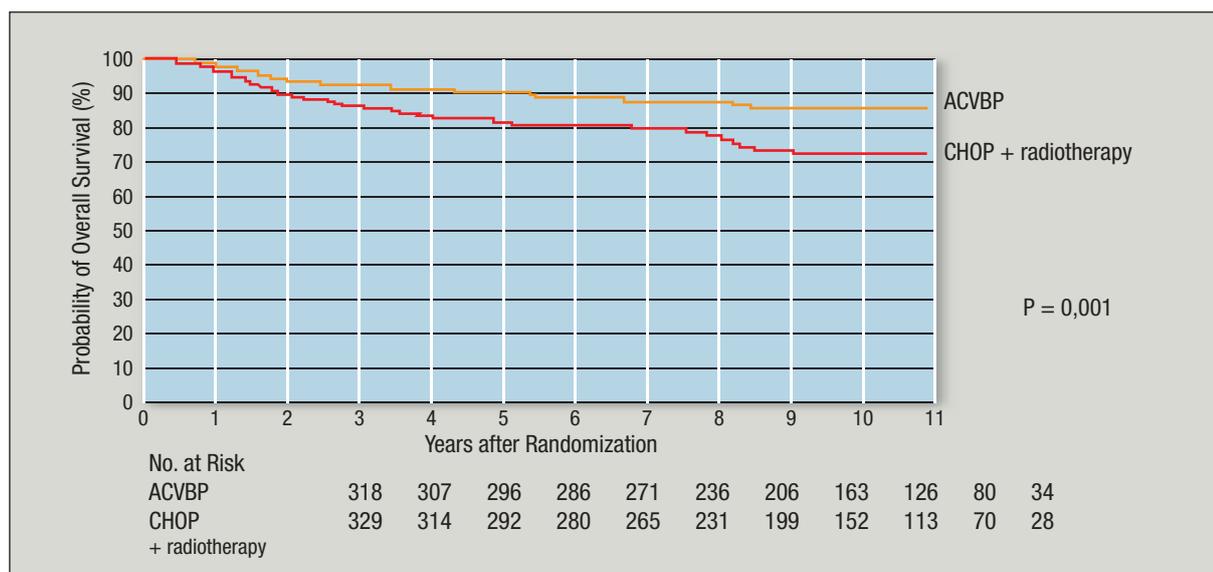
Le schéma ACVBP a démontré sa supériorité en terme de survie globale (OS) et de survie sans évènement (EFS).

Les résultats sont résumés dans le [Tableau 7](#) suivant :

**Tableau 7 : Résultats de l'étude comparant 3 CHOP puis radiothérapie à 3 ACVBP puis consolidation séquentielle (tiré de Reyes N Engl J Med 2005).**

N	Caractéristiques lymphome	Suivi	Bras	EFS 5 ans	OS 5 ans
647	Stade I ou II Et IPI=0	7,7 ans	CHOP + Radiothérapie 40 grays	75 %	82%
			ACVBP	81 %	90 %

**Figure 5 : Courbes de survie globale de l'essai comparant 3 CHOP puis radiothérapie à 3 ACVBP puis consolidation séquentielle (tiré de Reyes N Engl J Med 2005).**



Avec la publication de cette étude l'ACVBP, bien que plus toxique, a été reconnu comme une polychimiothérapie alternative au CHOP chez les sujets jeunes. Il est actuellement, en association avec le rituximab, un schéma très employé en France.

Une fois confirmé en 2002 la supériorité du R-CHOP sur le CHOP chez les sujets âgés, des études comparant chimiothérapie seule et chimiothérapie + rituximab ont été réalisées chez les sujets jeunes avec les mêmes résultats en faveur de l'association Rituximab-chimiothérapie. Chez les sujets de moins de 60 ans ayant un IPI à 0 ou 1, les données de l'étude MInT [14] ont confirmé la supériorité du R-CHOP sur le CHOP.

Le [Tableau 8](#) suivant résume ses caractéristiques.

**Tableau 8 : Résultats de l'étude MinT chez le sujet jeune (tiré de Pfreundschuh Lancet Oncol. 2006).**

N	Caractéristiques lymphome	Suivi	Bras	EFS 3 ans	OS 3 ans
824 patients	IPI 0 ou 1 et	34 mois	6 CHOP21	59 %	84 %
18-59 ans	Stade I bulky ou Stade II-IV		6 RCHOP21	79 %	93 %

### **Traitement de 1<sup>ère</sup> ligne des patients jeunes de risque intermédiaire (IPIaa 1)**

Dans l'étude allemande MinT, plus de la moitié des sujets avaient un aalPI=1. Le traitement de type R-CHOP (6 cures) a démontré sa supériorité sur le CHOP et peut donc être considéré comme un standard thérapeutique. Toutefois les patients aalPI=1 avaient un taux de rechute à 2 ans presque 20% supérieur aux aalPI=0, ce qui pose la question de l'intérêt d'une dose intensité plus forte chez ce type de patients. L'étude LNH 03-2B menée par le GELA comparant 4 cures de R-ACVBP puis consolidation séquentielle à 8 cures de R-CHOP, chez les sujets de moins de 60 ans ayant un aalPI = 1 est en cours d'analyse et pourra apporter des éléments de réponse à cette question.

### **Traitement de 1<sup>ère</sup> ligne des patients jeunes de stade avancé (IPIaa 2 ou 3)**

Comme nous l'avons vu précédemment, chez ces patients avant l'ère du rituximab, le pronostic était mauvais avec une survie globale à 5 ans inférieure à 50%. La principale discussion chez ces patients est celle de l'indication d'une intensification thérapeutique après quelques cures de chimiothérapie d'induction de type R-CHOP ou R-ACVBP. Cette intensification est composée d'une chimiothérapie de conditionnement, en général de type BEAM (bicnu, étoposide, aracytine, melphalan) pendant 6 jours suivie d'une réinjection de cellules souches périphériques, le recueil de cellules souches par cytophérèse ayant été réalisé quelques semaines auparavant. Cette procédure, appelée autogreffe, a pour but de délivrer une chimiothérapie très intense dite de conditionnement pour éradiquer ce qui reste encore de la maladie après les cures dites d'induction. Sans un support consécutif de cellules souches, cette chimiothérapie de conditionnement provoquerait une toxicité médullaire majeure avec l'installation définitive d'une aplasie médullaire et les risques infectieux mortels qui en découleraient. Le réinjection de cellules souches est donc indispensable à une bonne reprise de l'activité médullaire après la chimiothérapie de conditionnement.

De nombreuses études ont comparé l'efficacité en 1<sup>ère</sup> ligne d'un régime de chimiothérapie dit standard à celle d'une autogreffe dans les lymphomes agressifs. Une méta-analyse a été réalisée et publiée en 2008 [15]. Le tableau ci-dessous en présente les principaux résultats, en sachant que bien souvent ces patients n'étaient pas sélectionnés par rapport à l'index pronostic international (mélange de patients bas et haut risque), et que différentes histologies de lymphomes agressifs sont retrouvées (et non pas uniquement les LDGCB).

**Tableau 9 : Résumé des principales études comparant les résultats de la chimiothérapie standard et de l'autogreffe de cellules souches périphériques en 1<sup>ère</sup> ligne dans les lymphomes. L : aalPI = 0 ; LI : aalPI =1 ; HI : aalPI = 2 ; H : aalPI = 3.**

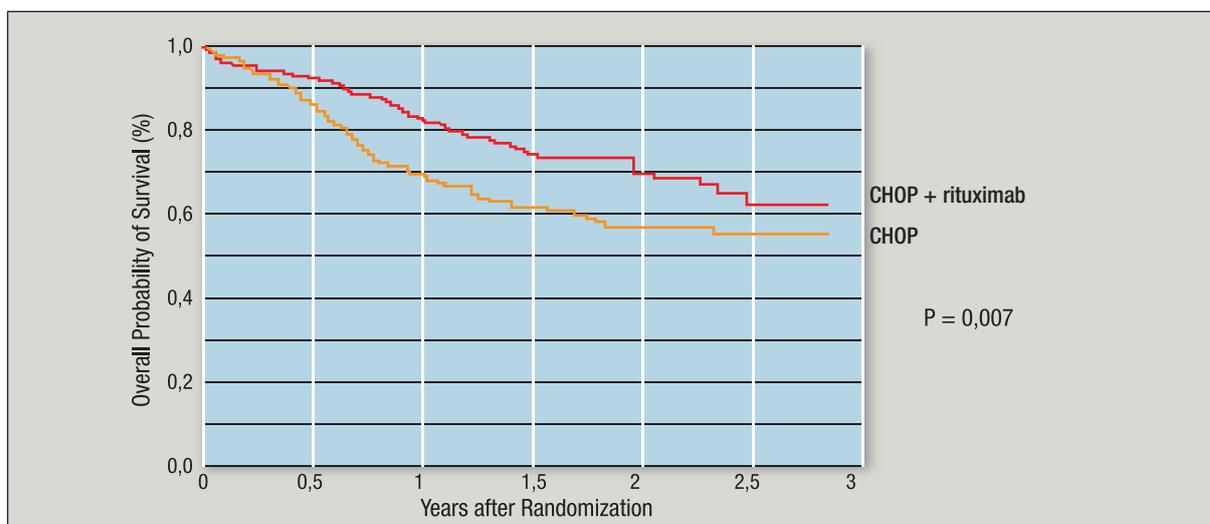
Réf.	IPI	Estimation à X ans	Schéma standard pour la chimiothérapie	Conditionnement autogreffe	OS Standard (nombre de patients)	OS Autogreffe (nombre de patients)	p (conclusion étude)
Martelli JCO 2003	I, HI	5 ans	MACOP B	BEAC	65 % (75)	64 % (75)	NS
Gianni NEJM 1997	Tous	7 ans	MACOP B	TBI (irradiation corporelle totale) melphalan Ou Mitoxantrone melphalan	55 % (50)	81 % (48)	S Pour auto
Gisselbrecht LNH 93-3 JCO 2002	LI I HI	5 ans	ACVBP	BEAM	60 % (181)	46 % (189)	S Contre auto mais Induction pré auto insuffisante
Haioun LNH 87-2 JCO 1997	Haut	8 ans	ACVB ou NCVB	CBV	49 % (111)	64 % (189)	S Pour auto
Intratumtonchori JCO 2000	H HI	4 ans	CHOP	TBI ou Carmustine etoposide aracytine	30 % (25)	51 % (23)	NS
Kaiser JCO 2002	L H HI	3 ans	CHOEP	BEAM	63 % (154)	62 % (103)	NS
Kluin nelemans EORTC JNCI 2001	Tout	5 ans	CHVmP-BV	BEAC	77 %	68 %	NS
Milpied NEJM 2004	Tout	5 ans	CHOP	BEAM	44 % (99)	74 % (98)	S Pour auto
Olivieri NHLCSG Annals oncol 2005	Tout	7 ans	VACOP B (cross over auto)	BEAM	60 % (106)	57,8 % (117)	NS
Verdonck NEJM 1995	Réponse partielle Après 3 CHOP	4 ans	CHOP	Endoxan + ICT	85 %	56 %	NS
Betticher MISTRAL Annals oncol 2006	tout	3 ans	CHOP		53 %	46 %	NS

La conclusion de cette métaanalyse est que seuls les groupes dits de risque élevé pourraient tirer bénéfice de l'autogreffe en 1<sup>ère</sup> ligne.

## Traitement de 1<sup>ère</sup> ligne chez les sujets de 65 à 80 ans

Chez ces patients, à condition que les comorbidités et l'état cardiaque permettent l'utilisation des anthracyclines, le R-CHOP est le traitement de référence depuis la publication du protocole LNH 98.5 11.

**Figure 6 : Courbes de survie globale dans l'essai comparant 8 RCHOP et 8 CHOP chez les sujets âgés (tiré de Coiffier B, NEJM 2002).**



Le nombre de cure délivré dépend de l'IPI. Dans les stades localisés (I,II) non bulky avec un IPI à 0, on peut réaliser 4 cures de R-CHOP. Dans les stades localisés avec une composante bulky ou un IPI=1, les recommandations du GELA sont la réalisation de 6 cures de R-CHOP espacées de 21 jours. Dans les stades avancés (IPI 2 ou 3), on aura tendance à proposer la réalisation de 8 cures de R-CHOP, toutefois, comme nous le verrons plus tard, ces propositions peuvent être reconsidérées suite à l'étude RICOVER 60.

## Traitement des sujets très âgés

Au delà de 80 ans, l'accumulation des comorbidités et l'appauvrissement des réserves médullaires rend difficile la bonne conduite d'un traitement standard de type R-CHOP chez la majorité de ces patients. Toutefois, les quelques études publiées dans cette population sans cesse croissante montrent que la mortalité chez ces patients, est liée bien plus au lymphome qu'à la toxicité de la chimiothérapie [16]. C'est pourquoi il est très important d'identifier au sein de cette population, les groupes de patients ayant peu de comorbidités et un bon état général afin de leur faire bénéficier de ce standard. Pour les autres, il peut s'envisager un traitement type R-CHOP à doses réduites (ou R miniCHOP). Celui-ci est en cours d'évaluation dans le protocole LNH 03-7B du GELA.

### Les questions qui restent en suspens à l'heure actuelle

- La question de la supériorité du R-ACVBP sur le R-CHOP chez les sujets jeunes a déjà été abordée précédemment, et les essais en cours permettront prochainement d'y répondre.
- intérêt de la réduction du délai intercure pour augmenter la dose intensité chez le sujet jeune.

Une étude allemande menée chez 710 patients dont près de 98 % ayant un IPI<sub>aa</sub> ≤ 1, avait pour objet de comparer un traitement standard par 6 cures de CHOP21, à un traitement plus intense : 6 cures de CHOP14 (cures espacées de 14j) et l'effet de l'adjonction de l'étoposide au CHOP (protocole CHOEP21 et CHOEP14) [17]. Dans cette population étaient mélangées différentes catégories de lymphomes agressifs dont environ 60% de LDGCB. L'adjonction d'étoposide a un impact significatif sur la survie sans événements mais pas sur la survie globale. Le raccourcissement du délai intercure a un impact significatif (p= 0,05 en analyse univarié) sur la survie globale mais pas sur la survie sans événements.

Le tableau suivant résume les principaux résultats de l'étude :

**Tableau 10 : Comparaison de l'efficacité des 4 régimes de chimiothérapie chez les sujets jeunes (95% d'IPI 0-1, 6 cures pour chaque schéma) (tiré de Pfreundschuh, Blood 2004).**

Régime	CHOP 21	CHOP 14	CHOEP 21	CHOEP 14
N	176	172	185	177
Taux de RC	80,1 %	78,5 %	84,9 %	90,4 %
EFS 5 ans	54,7 %	60,8 %	69,2 %	69,4 %
OS 5 ans	74,9 %	85 %	83,3 %	85,1%

Chez les sujets âgés, une étude allemande menée chez 689 sujets âgés de 61 à 75 ans compare également les 4 régimes CHOP 21, CHOP14, CHOEP 21, CHOEP 14 avec une répartition sensiblement identique entre les IPI 1, IPI 2, IPI 3 et IPI 4-5, 71 % de LDGCB. 50,8% avaient un stade III/IV [18]. Le traitement par CHOP14, au prix d'une plus grande toxicité, apporte un bénéfice significatif sur la survie globale et la survie sans événement par rapport au CHOP21.

Le tableau suivant résume les principaux résultats de l'étude :

**Tableau 11 : Comparaison de l'efficacité et de la tolérance des 4 régimes de chimiothérapie chez les sujets âgés) (tiré de Pfreundschuh, Blood 2004).**

Régime	CHOP 21	CHOP 14	CHOEP 21	CHOEP 14
N	178	172	170	169
Taux de RC	60,1 %	76,1 %	70 %	71,6 %
EFS 5 ans	32,5 %	43,8%	41,1 %	40,2 %
OS 5 ans	40,6 %	53,3 %	45, 8%	49,8 %
Mortalité liée au traitement	3,4%	2,9 %	5,3 %	7,7 %
Thrombopénie grade 3-4	4,7 %	15,1 %	28, 4%	50 ,8 %
Infection grade 3-4	8 %	10,6 %	13,2 %	24,1 %

Les conclusions de cette étude doivent être reconsidérées à l'ère du rituximab. Suite à cette publication, le R-CHOP14 devient une association séduisante pour traiter les sujets de plus de 60 ans, et l'étude RICOVER 60 a confirmé la supériorité du R-CHOP14 sur le CHOP14 dans cette population, et également montré que la réalisation de 8 cures de R-CHOP14 n'apportait pas plus de bénéfice que de s'arrêter à 6 cures de R-CHOP14 [19]. Toutefois, des études comparatives récentes ont montré l'absence de supériorité du R-CHOP14 par rapport au standard R-CHOP21.

### Traitement des rechutes

#### Chez les sujets jeunes ou éligibles pour une intensification par autogreffe

Chez ces patients, l'autogreffe demeure le traitement de choix de la rechute depuis la publication de l'étude du PARMA 20 qui a comparé de façon randomisée l'autogreffe précédée de 2 cures de chimiothérapie de rattrapage (protocole DHAP (dexaméthasone, aracytine, cisplatine) suivi d'une autogreffe conditionnée par BEAC (bicnu, etoposide, aracytine, cyclophosphamide) +/- radiothérapie à un traitement conventionnel par 6 cures de DHAP +/- radiothérapie.

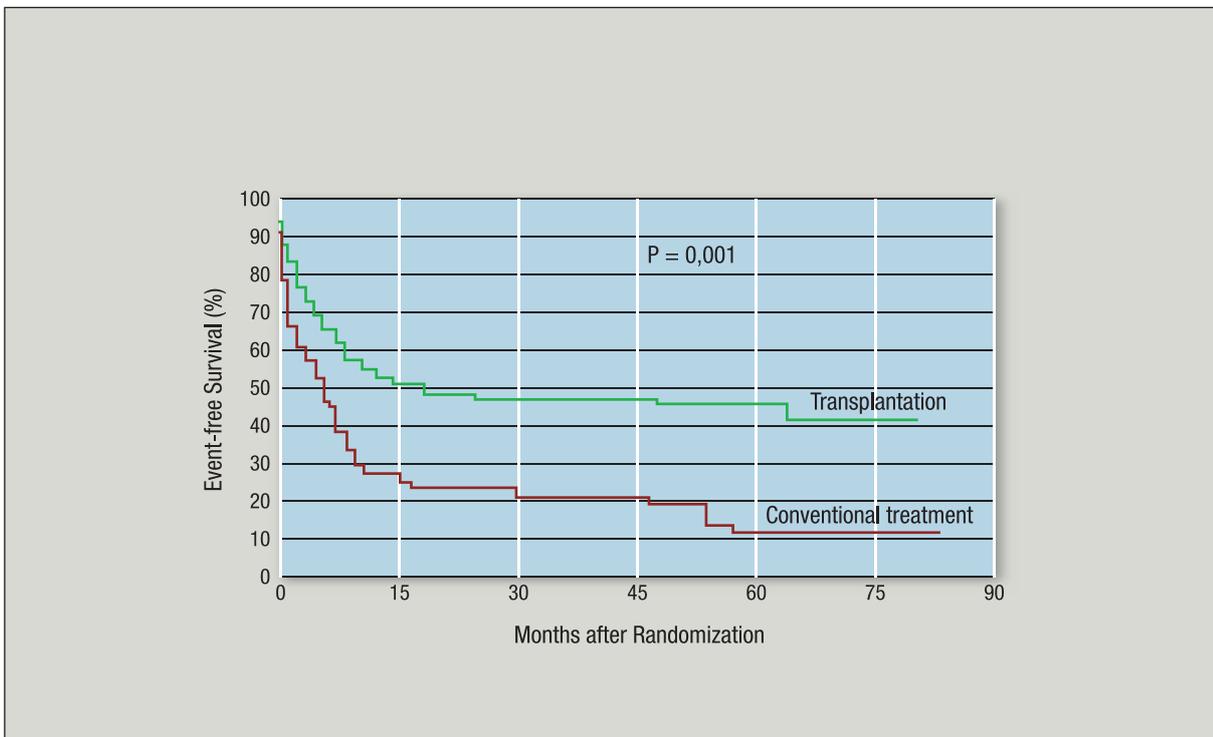
Le tableau suivant résume ses caractéristiques :

**Tableau 12 : Résultats de l'étude du PARMA comparant rattrapage conventionnel à l'autogreffe (tiré de Philip N Engl J Med 1995).**

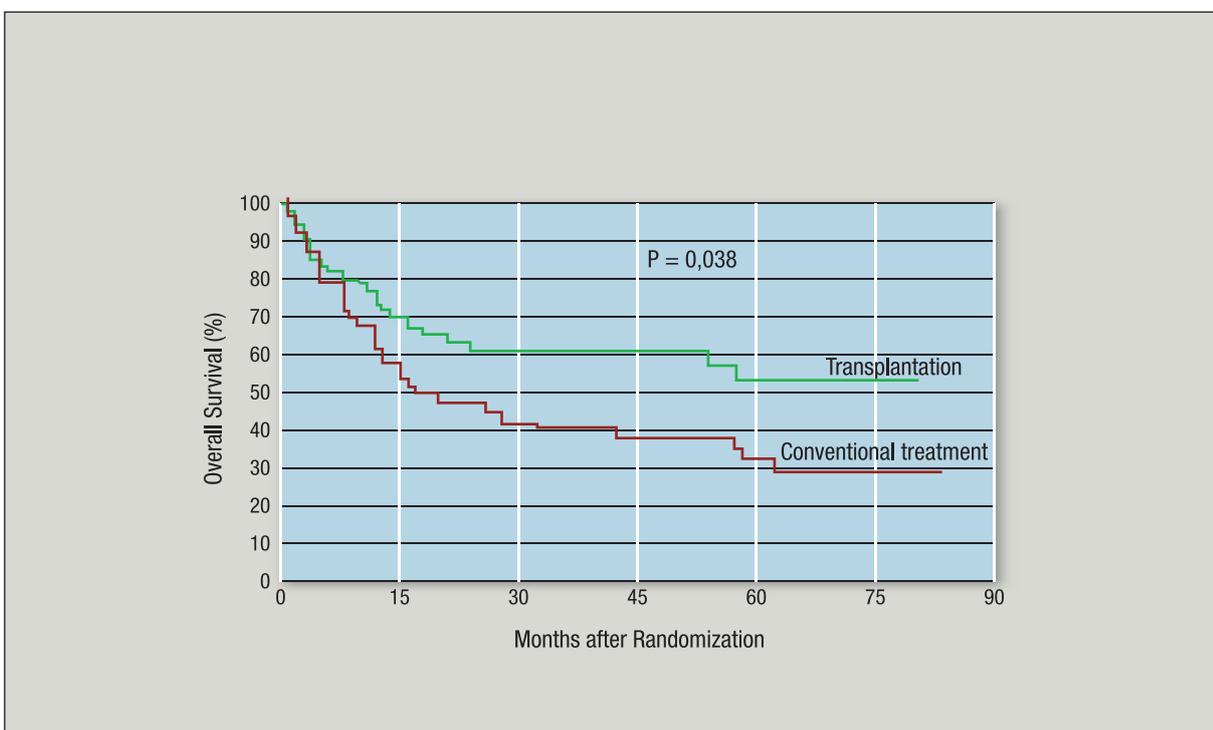
Régime	2 DHAP+ auto	6 DHAP
<b>N</b>	55	54
<b>Taux de réponse</b>	84 %	44 %
<b>EFS 5 ans</b>	46 %	12 %
<b>OS 5 ans</b>	53 %	32 %

On peut voir que chez les sujets autogreffés, la différence entre l'EFS et l'OS est très faible comparativement à ceux traités par chimiothérapie conventionnelle. Ceci signifie que si l'autogreffe fonctionne, la guérison est la règle. Ce qui amène à souligner la nécessité d'obtenir la meilleure réponse possible au traitement initial dans cette pathologie.

**Figure 7 : Survie sans événement pour les patients rattrapés par une chimiothérapie conventionnelle et les patients rattrapés par autogreffe (tiré de Philip, N Engl J Med 1995).**



**Figure 8 : Survie globale pour les patients rattrapés par une chimiothérapie conventionnelle et les patients rattrapés par autogreffe, (tiré de Philip, N Engl J Med 1995).**



Dans cette étude, le seul sous groupe de patients qui n'a pas tiré meilleur bénéfice de l'autogreffe est celui des IPI=0. Les autres messages à retenir de cette étude sont que l'autogreffe ne fonctionne qu'en cas de maladie chimiosensible (c'est-à-dire obtention d'une réponse après les 2 cures de DHAP et avant l'autogreffe) et qu'une rechute survenant dans les 12 mois après la fin d'une 1<sup>ère</sup> ligne thérapeutique diminue grandement l'intérêt de l'autogreffe avec une survie sans progression à 5 ans qui passe de 50 à 30% [21].

#### *Quel traitement de rattrapage proposer avant l'autogreffe ?*

De nombreux protocoles ont été testés. Il est généralement reconnu que le traitement de rattrapage doit comporter une association de chimiothérapies de mode d'action différent de celles utilisées en 1<sup>ère</sup> ligne. En France, les principaux protocoles comportent, en association au rituximab, des sels de platine (DHAP avec dexaméthasone, aracytine, cisplatine ou DHAO avec dexaméthasone, aracytine, oxaliplatine), +/- étoposide (ICE avec ifosfamide, carboplatine, VP16), d'autres anthracyclines (MIVE avec mitoxantrone, ...). Le protocole anglo saxon EPOCH qui se singularise par l'infusion continue de chimiothérapie constitue une alternative. Une étude comparative entre R-DHAP et R-ICE en traitement de seconde ligne est menée par le GELA, dont les 1<sup>ers</sup> résultats semblent montrer une efficacité équivalente des 2 protocoles avec peut être une moindre toxicité du R-ICE.

#### **Quelle place pour l'allogreffe dans le lymphome à grandes cellules B ?**

Nous avons vu précédemment le principe et l'intérêt de l'autogreffe dans le traitement des lymphomes chez les sujets jeunes. L'allogreffe est une procédure plus lourde qui consiste également à réaliser une chimiothérapie très intensive de conditionnement, parfois accompagnée de radiothérapie, puis de réinjecter de la moelle osseuse ou des cellules souches à partir d'un donneur qui n'est pas le patient mais soit un membre de sa fratrie (allogreffe dite apparentée ou génoidentique), soit un donneur anonyme inscrit volontairement sur un fichier (allogreffe dite non apparentée ou phénoïdentique). Il faut que la moelle du donneur soit parfaitement compatible avec celle du receveur. L'intérêt de cette procédure est double : d'une part être toxique sur la maladie grâce à la chimiothérapie de conditionnement, d'autre part être toxique grâce à l'action antitumorale des lymphocytes T issus du greffon qui sont immunocompétents et reconnaissent comme non soi les cellules tumorales résiduelles du receveur : c'est la réaction du greffon contre le lymphome (effet graft versus lymphoma ou GVL). La contrepartie négative de cet effet GVL est la capacité des lymphocytes T cytotoxiques du donneur à reconnaître comme non soi des tissus sains du receveur et à les détruire, c'est ce qu'on appelle la réaction du greffon contre l'hôte ou GVH. La lourdeur de la chimiothérapie de conditionnement, les risques infectieux liés à l'utilisation d'immunosupresseurs, et la GVH font que l'allogreffe est une procédure extrêmement toxique grevée d'une morbidité et d'une mortalité importante causée par le traitement (TRM pour treatment related mortality). Un certain nombre de patients vont décéder non pas du lymphome, mais des complications aiguës ou chroniques de la procédure d'allogreffe, c'est pourquoi, outre la nécessité de trouver un donneur compatible, l'indication d'allogreffe doit être soigneusement pesée.

L'allogreffe à conditionnement myéloablatif ou standard était la règle jusque dans les années 2000. Par la suite l'allogreffe à conditionnement atténué ou non myéloablatif a été proposée dans le traitement des lymphomes en rechute. Son effet antitumoral s'appuie sur la chimiothérapie de conditionnement mais aussi et surtout sur la réaction du greffon contre le lymphome. Ce type de conditionnement occasionne moins de toxicité précoce et peut être proposé à des sujets plus âgés et présentant plus de comorbidités que l'allogreffe à conditionnement ablatif.

**Tableau 13 : Résultats des principales études rétrospectives d'allogreffe à conditionnement atténué, non myéloablatif, dans les lymphomes agressifs en rechute.**

Étude d'après Schmitz, Haematologica 2007 [24]	Robinson Blood 2002	Kusumi BMT 2005	Morris Blood 2004	Spitzer Blood 2001	Rezvani BJH 2008 [25]	Thomson JCO 2009 [26]
<b>N (dont agressifs)</b>	188 (62)	112 (58)	37 (37)	20	32	48 (48)
<b>Âge médian</b>	43	50	48	?	52	46
<b>LDGCB</b>	?	27	22	20	31	48
<b>réfractaires</b>	21 %	43 %	22 %	85 %	28%	17 %
<b>TRM</b>	2a : 37%	33%	3a : 38%	J100 : 0	?	?
<b>OS (aggr.)</b>	2a : 47%	3a : 48%	3a : 34%	NA	3a : 45 %	4a : 47 %
<b>PFS (aggr.)</b>	2a : 13 %	3a : 30 ou 56% selon chimio-sensibilité avant greffe	?		3a : 35 %	4a : 48%
<b>EFS (aggr.)</b>				3a : 34%		

On peut tirer 3 conclusions de l'ensemble de ces données : Le traitement de rattrapage chez les sujets jeunes doit privilégier l'autogreffe à l'allogreffe. L'allogreffe est à considérer en cas de rechute post autogreffe, en cas de rechute précoce (à moins d'1 an) après la 1<sup>ère</sup> ligne, et chez les sujets réfractaires primaires.

### **Rôle de la TEP dans les lymphomes diffus à grandes cellules.**

Les critères d'évaluation de la réponse au traitement dans les LDGCB sont bien codifiés. L'évaluation est faite en général à la moitié des séquences thérapeutiques initialement prévues puis à la fin. Dans les protocoles thérapeutiques, l'évaluation clinique, biologique et morphologique se basait sur les critères de Cheson qui sont présentés dans le tableau suivant. L'évaluation morphologique des masses lymphomateuses et des ganglions se fait par scanner centré sur les zones initialement atteintes [27].

**Tableau 14 : Critères de l'International Working Classification (critères de Cheson).**

Catégorie de réponse	Examen clinique	Ganglions	Masses lymphomateuses	Moelle osseuse
Réponse complète (RC)	normal	normaux	normales	normale
Réponse complète non confirmée (Rcnc ou Rcu)	Normal	Normaux	Normales	Non déterminée (ND)
	Normal	Normaux	Réduction >75%	Normale ou ND
Réponse partielle (RP)	Normale Normale Diminution foie/rate	Normaux réduction ≥ 50% réduction ≥ 50%	Normales réduction ≥ 50% réduction ≥ 50%	Positive Non pertinent Non pertinent
Rechute/ Progression	Nouveaux sites Augmentation foie ou rate	Augmentation ou nouveaux sites	Augmentation ou nouveaux sites	Réapparition

Depuis le début des années 90, la tomographie par émission de positons au 2-(18F) fluor deoxyglucose a été utilisée dans l'évaluation morphologique des lymphomes. La TEP présente une plus grande sensibilité que le scanner pour détecter des lésions ganglionnaires ou extra nodales, résultant parfois en un restaging des tumeurs. Elle offre également la possibilité de dépister une atteinte de la moelle osseuse. Actuellement la majorité des machines intègre une analyse scannographique et l'on peut donc étudier la fusion des images TEP et scannographiques, ce qui diminue le risque de faux positif. L'avancée majeure apportée par cette technique est la possibilité de prédire la réponse précoce au traitement. Ainsi, spécialement dans les lymphomes diffus à grande cellule B et les lymphomes hodgkiniens, les critères de réponse au traitement ont été récemment revus, intégrant l'évaluation initiale et finale par PET. Ces nouveaux critères sont résumés dans le tableau suivant [28].

**Tableau 15 : Critères de Juweid (JCO 2005).**

Catégorie	Critères IWC	PET	Moelle osseuse
Réponse complète	RC, RCnc, RP, MS	Négative si initialement +	Normale
Réponse complète non confirmée	RCnc	Négative si initialement +	Non déterminée
Réponse partielle	RC, Rcnc, RP MS avec régression - < 1,5 cm si > 1,5 cm au départ - < 1 cm si < 1,5 cm au départ	Positive	Non pertinent
Maladie stable	MS (autres cas)	Positive	Non pertinent
Progression	Progression	Non pertinent	Non pertinent

Etant donné les excellentes performances prédictives du PET-scan sur la réponse au traitement, sa valeur prédictive sur la survie sans progression et la survie globale a fait l'objet de différentes études dont les principales sont résumées dans le **Tableau 16** suivant.

**Tableau 16 : Résultats des principales études évaluant l'impact sur la survie de la réponse à la TEP en cours de traitement (MRU : minimal residual uptake ou captation résiduelle minimale).**

Étude	Caractéristiques patients	Temps d'évaluation	Résultats					
			TEP +			TEP -		
			Rechutes	PFS	OS	Rechutes	PFS	OS
Jérusalem Haematologica 2000 [29]	28 patients Âge med : 61 A 9 folliculaires 16 LDGCB 3 LT	Après 3 cycles	5	2a 0%	2a 0%	7/23	2a 62 %	2a 68%
Mikhaeel Leukemia lymphoma 2000 [30]	49 patients (44 traitements complétés) agressifs Suivi médian : 30 mois	Fin traitement	9/9			6/36		
Spaepen Ann. Oncol. 2002 [31]	70 patients 47 LDGCB 10 anaplasiques 7 manteau 1 burkitt 5 T périphérique Suivi 1107 jours	Mi traitement	23/33 (après rattrapage)	< 5%	28%	6/37	80%	90%
Mikhaeel Ann. Oncol ; 2005 [32]	85 patients hodgkin Suivi méd : 3,3 ans	2 à 3 cycles	9/13 MRU : 1/9			3/36		
Haioun Blood 2005 [33]	90 patients 94% LDGCB Âge méd : 53 ans	2 cycles	/36	2a 43%	2a 61%	/54	2a 82%	2a 90%
Zinzani Ann. Oncol. 2006 [34]	40 patients hodgkin stade avancé	2 cycles	8/8 MRU : 1/4			28/28		

Dans le cas de patients initialement candidats à l'autogreffe, le rôle prédictif de la TEP pré et /ou post autogreffe sur le devenir du patient a été démontré.

**Tableau 17 : Résultats des principales études évaluant l'impact sur la survie de la réponse à la TEP en cas d'autogreffe.**

Étude	Caractéristiques patients	Résultats	
		TEP +	TEP -
Spaepen Blood 2003 [35]	Âge médian 37 ans Suivi médian : 1510 j 19 hodgkin 22 LDGCB 12 anaplasiques 7 manteau	PFS < 10% OS ≈ 40%	PFS ≈ 85% OS > 90%
Filmont Chest 2003 [36]	Âge médian 46 ans 6 hodgkin 9 LDGCB 5 autres	OS < 10%	OS ≈ 85%

La valeur pronostique de la PET couplée au scanner est désormais indiscutable, c'est pourquoi certains groupes coopérateurs se sont posés la question du rôle de la TEP intermédiaire dans la définition de groupe pronostique afin d'entreprendre un traitement adapté au risque, l'idée générale étant de proposer différentes intensités de traitement au patient en fonction des résultats de la TEP intermédiaire. C'est actuellement une des questions étudiée dans le protocole de traitement des LDGCB chez les sujets jeunes ayant un IPI défavorable (protocole LNH 07-3B) (autogreffe si TEP intermédiaire positive versus consolidation classique).

### Les nouvelles thérapeutiques dans les lymphomes diffus à grandes cellules

#### La radioimmunothérapie

La radioimmunothérapie consiste en l'administration d'un anticorps monoclonal ciblant les lymphocytes B couplé à un radioisotope qui permet de combiner le ciblage tumoral spécifique de l'anticorps et une irradiation localisée agissant également sur l'environnement péricellulaire. Les 2 anticorps radiomarqués les plus largement étudiés et qui ont fait l'objet d'une approbation sont le Zevalin® (90Y-ibritumomab tiuxetan et le Bexxar® (131I-tositumomab). Tous deux sont des anticorps anti CD20. Pour le zevalin®, le radioisotope est le l'ytrium 90, pour le bexxar®, il s'agit de l'iode 131. Nous nous focaliserons ici sur les essais concernant le zevalin® dans les LDGCB car c'est le seul anticorps radiomarqué disponible en Europe. Il s'administre en 1 injection de 14,8 millibecquerels/kg ou 11,1 millibecquerels/kg selon le taux de plaquettes, précédée le jour même d'une injection de rituximab 250 mg/m<sup>2</sup>, précédées elles mêmes d'une injection de rituximab seul 250 mg/m<sup>2</sup> 1 semaine avant. La toxicité limitante de ce traitement est la toxicité médullaire. Les critères contre indiquant l'administration du Zevalin® sont une infiltration lymphomateuse de la moelle > 25%, antécédent d'irradiation touchant > 25% de la moelle osseuse, et taux de plaquettes < 100 000/mm<sup>3</sup> ou taux de polynucléaires neutrophiles < 1500/mm<sup>3</sup> le jour de l'administration.

L'administration de l'anticorps radiomarqué impose une coordination entre le service d'hématologie et le service de médecine nucléaire et la pharmacie. Ce produit ne peut donc être administré que dans les centres hospitaliers disposant de cet équipement.

Le zévalin® n'est généralement administré qu'une seule fois dans l'histoire thérapeutique d'un patient. Cette administration peut se positionner à différents moments de cette histoire : soit seule ou en association comme traitement de rattrapage, soit seule après une 1<sup>ère</sup> ligne de chimiothérapie comme traitement de consolidation de la réponse, soit en association à la chimiothérapie de conditionnement lors d'une procédure d'autogreffe.

Deux essais prospectifs ont testé le zévalin® dans les LDGCB en rechute ou réfractaires. Dans l'essai européen, chez 104 patients, les patients ont été divisés en 3 groupes : patient n'ayant jamais reçu de rituximab et en échec de traitement (n=33), patients n'ayant jamais reçu de rituximab et en rechute après une réponse initiale (n=43), patients ayant déjà reçu du rituximab (n=28). Le taux de réponse globale est respectivement de 52, 53 et 19%. Le taux de réponse complète ou réponse complète non confirmée respectivement de 24, 39,5 et 12%. Les médianes de survie sans progression sont courtes, entre 1,6 et 5,9 mois selon les groupes [37].

Chez des patients en 1<sup>ère</sup> ligne thérapeutique et non éligibles pour une autogreffe à cause de l'âge > 60ans, un essai de phase II a testé la réponse après 6 cycles de CHOP suivi 6 à 10 semaines après d'une injection de zévalin®, chez 20 patients. Le taux de réponse global était de 100% avec 95 % de réponse complète, et 4 patients sur 5 ayant une conversion d'une réponse partielle en réponse complète suite au zévalin®, et une survie globale à 2 ans de 95% [40].

La comparaison rétrospective de cohortes de population conditionnées pour l'une par Rituximab-BEAM entre 1999 et 2003 (53 patients) et pour l'autre par Z-BEAM entre 2004 et 2006 (25 patients) : Avec des suivis médians respectifs de 52 et 18 mois, la survie globale à 2 ans est de 83% dans le groupe R-BEAM et 92% dans le groupe Z-BEAM. La survie sans maladie est de respectivement de 72% et 82% (p= NS). Les 2 groupes ne sont pas comparables, mais le pourcentage de patients ayant un TEP + avant l'autogreffe et restant en rémission complète est de 44% dans le groupe R-BEAM et 75% dans le groupe Z-BEAM [45]. La place du Zévalin en conditionnement d'une autogreffe n'est donc pas connue et reste incertaine sur ces essais de phase II.

## Les nouveaux anticorps monoclonaux

Depuis l'avènement du rituximab et parallèlement à son utilisation grandissante, un nombre sans cesse croissant d'anticorps monoclonaux voient le jour et font l'objet d'essais de phase I et ou II. Ils se classent en différentes catégories :

- les anticorps anti CD20 de 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> génération cherchant à améliorer les performances soit en modifiant le fragment de reconnaissance antigénique pour qu'il se rapproche le plus possible de l'antigène humain, soit par modification du fragment constant via un variant peptidique ou une modification de la glycosylation pour augmenter l'affinité des cellules effectrices
- les anticorps dirigés contre d'autres marqueurs spécifiques des lymphocytes B, voire des anticorps bispécifiques
- les anticorps couplés à d'autres molécules toxiques.

**Le Tableau 18** suivant résume les principaux anticorps à l'étude actuellement dans les lymphomes B

**Tableau 18 : Principaux anticorps à l'étude dans les lymphomes B (RR: taux de réponse globale, PR : réponse partielle).**

Auteur	Nom	Ag cible	Spécificité	Phase de l'essai / traitement antérieur/ association/ type LNH	Résultats
Hagenbeek Blood 2008 [47]	ofatumumab	CD20	CDC +++ Fab humain	I/II / oui Monothérapie folliculaire	RR : 20-63%
Morschhauser JCO 2009 [48]	Veltuzumab (hA20)	CD20	Élimination plus longue Perfusion courte	I/II /oui Monothérapie Groupe DLBCL	PR : 3/7
Salles ASH 2008 Abst 234 [49]	GA101	CD20	Défucosylé ADCC+++ CDC faible	I/II / oui Monothérapie LNH B	RR : 7/12
	AME 133	CD20	Activation NK (via CD16) Fab humain	II / oui Monothérapie folliculaire	En cours
Leonard CCR 2004 [50]	Epratuzumab (hLL2)	CD22	ADCC Cytotoxicité directe Internalisation	I/II /oui Monothérapie DLBCL	RR : 10%
Leonard JCO 2005 [51]	Epratuzumab (hLL2)	CD22		II/oui + rituximab Groupe DLBCL	RR : 4/6
Micallef ASCO 2009- Abst 8508 [52]	Epratuzumab (hLL2)	CD22		II /non +RCHOP DLBCL	RR : 95%
Fayad ASH 2006 Abst 2711 [53]	Inotuzumab ozogamicin (CMC544)	CD22	Couplé à la calichéamicine	I / oui Monothérapie Groupe DLBCL	RR : 5/15
Fayad ASH 2008 [54]	Inotuzumab ozogamicin (CMC544)	CD22		I/II /oui +rituximab Groupe DLBCL	RR: 10/14
Al-katib CCR 2009 [55]	SAR3419	CD19	Couplé à un dérivé cytotoxique (maysantine)	I/ oui	En cours
Vallera Leuk Res 2009 [56]	DT2219ARL	Bispécifique CD22/CD19		I/ oui	En cours

Advani ASH 2006 Abst 695 [57]	Dacetuzumab (SGN40)	CD40		I / oui Monothérapie groupe DLBCL	RR : 3 /14
Advani ASH 2008 Abst 1000 [58]	Dacetuzumab (SGN40)	CD40		II/ oui Monothérapie DLBCL	RR :10%
	Miltuzumab	CD74		II/ oui Monothérapie LNH B	En cours
Dunleavy ASCO 2005 Abst [59]	Apolizumab	HLA DR beta		I / oui + rituximab Groupe DLBCL	RR : 0/4
Rech Leuk Lymph 2006 [60]	Apolizumab	HLA DR beta		Pilote/ oui + GCSF LNH B Groupe DLBCL	RR : 2/6 RR : 0

Les taux de réponse en monothérapie sont faibles, c'est pourquoi, comme pour le Rituximab, l'avenir est à l'association anticorps monoclonal + polychimiothérapie. Le choix est large actuellement, mais il est difficile de prédire quel sera ou quels seront à moyen terme le (les) concurrent(s) le(s) plus sérieux au rituximab, et si leur émergence sera consécutive à leur preuve d'efficacité ou à une politique de développement et de promotion bien menée par les groupes pharmaceutiques qui les soutiennent.

### Les nouvelles molécules ciblées

En dehors des anticorps monoclonaux, de nombreuses molécules ont été élaborées ou redécouvertes pour avoir une action sur une voie de signalisation cellulaire spécifique. Ces progrès ont été permis grâce à une connaissance de plus en plus étoffée cette dernière décennie des mécanismes intracellulaires de régulation de l'apoptose, du cycle cellulaire, du protéasome, de l'angiogénèse, des modifications épigénétiques. Là encore de multiples molécules sont à l'essai, en monothérapie ou en association avec la chimiothérapie, et le tableau suivant donne les résultats des principales études menées dans le LDGCB.

**Tableau 19 : Données des principales études de phase I/II évaluant des traitements ciblés dans le LDGCB.**

Auteur	Classe de médicament	Nom	Mécanisme d'action principal	Essai/ traitement antérieur	Résultat
Pro BJH 2008 [61]	Oligonucléotide Antisens	Oblimersen	Inhibe Bcl2 qui est un antiapoptotique (voie intrinsèque)	Ph I/ oui + rituximab GroupeDLBCL	7 patients : 0CR, 2PR, 2 SD
Cheson ASCO 2009 Abst 8502 [62]	Anti IAP	YM155	Inhibe la survivin qui est membre de la famille des inhibiteurs d'apoptose (voie commune)	Ph II/ oui Monothérapie DLBCL	27 patients : 3 PR
Goy JCO 2005 [63]	Inhibiteur du protéasome	Bortezomib (velcade)	Inhibe NFkB Contrôle les protéines du cycle cellulaire et leurs inhibiteurs	Ph II/ oui Monothérapie Groupe DLBCL	12 patients : 1 PR
Ribrag Cancer 2009 [64]	Inhibiteur du protéasome	Bortezomib (velcade)		Ph II/non + RCHOP Groupe DLBCL	16 patients : 88% CR/CRu
Leonard JCO 2007 [65]	Inhibiteur du protéasome	Bortezomib (velcade)		Ph I/II /non +RCHOP DLBCL	36 patients 75% CR/CRu
Dunleavy Blood 2009 [66]	Inhibiteur du protéasome	Bortezomib (velcade)		/oui +DA-EPOCH DLBCL	27 patients sous type : - ABC : RR 83% - GCB : RR 13%
Czuczman ASCO 2009 [67]	immuno-modulateurs	Lenalidomide (revlimid)	Interaction micro-environnement Action sur lymphocytesT et cellules NK antiangiogénique	Ph. II/ oui Monothérapie DLBCL	103 patients 7% CR/Cru 24% PR
Crump Ann Oncol 2008 [68]	Inhibiteurs d'histone déacétylases	Vorinostat	Blocage de la déacétylation et reprise de la transcription Arrêt de croissance tumorale, apoptose, réduction d'angiogénèse	Ph II/ oui Monothérapie DLBCL	18 patients : 1CR, 1SD
Crump ASCO 2008 [69]	Inhibiteurs d'histone déacétylases	MGCD0103		Ph II/ oui Monothérapie DLBCL	17 patients 1CR, 3PR,5SD

Reeder ASH 2007 Abst 121 [70]	Inhibiteur de mTOR	Everolimus (RAD001)	mTOR active un complexe qui régule la progression du cycle cellulaire	Ph II/oui Monothérapie Groupe DLC	RR : 7/20
Smith SM ASH 2006 Abst 2483 [71]	Inhibiteur de mTOR	Temsirolimus (torisel)		Ph II/ oui Monothérapie LNH B	1 répondeur chez les DLBCL
	Inhibiteurs d'HSP	17 AAG	Inhibe l'hsp90 (protéine de choc septique) La liaison d'une hsp à une protéine « cliente » la protège de la dégradation protéasomique	Ph I / oui +bortezomib LNH	En cours
Robertson JCO 2007 [72]	Inhibiteurs du PKC	Enzastaurin	Inhibe l'isoforme, de la famille des protéines kinases C. Ces protéines contrôlent l'histoire naturelle des cellules, l'angiogénèse, la mobilité cellulaire	Ph II/oui Monothérapie DLBCL	55 patients 3 CR
Barr PM Am J Hematol 2009 [73]	Inhibiteurs du PKC	Bryostatine		Ph II/ oui +vincristine LNH agressifs	13 patients RR : 31% CR : 2 patient
Stopeck JCO 2005 [74]	Antiangiogéniques	Bevacizumab	Anti VEGF alpha	Ph II/ oui Monothérapie LNH agressifs	SD prolongée : 25%
Ganjo Leuk lymph 2006 [75]		Bevacizumab		Ph II/ non + RCHOP DLBCL	13 patients RR : 85%
Friedberg ASH 2008 Abst 3 [76]	Inhibiteur de Syk	Fostamatinib disodium	Activé après stimulation du BCR, nécessaire à la phosphorylation de tyrosine sur de multiples protéines activées en aval du BCR	Ph II/oui Monothérapie DLBCL	23 patients 6 PR, 4 SD
Borchmann Hematologica 2004 [77]	Pixantrone	Pixantrone	Aza-anthracenedione, similarités structurelles à la mitoxantrone, moins cardiotoxique	Ph. II/ oui Monothérapie DLBCL	24 patients 3 RC, 4 RP
Borschmann ASH 2006 [78]	Pixantrone	Pixantrone		Ph II/oui LNH agressifs	30 patients RR : 73% CR/Cru : 47%

La place de ces nouvelles molécules dans le schéma thérapeutique futur des lymphomes à grandes cellules B est très certainement conditionnée par l'identification de sous groupes à profil d'expression génique particulier, à l'image de l'expression préférentielle de la voie NfκB dans les LDGCB ABC-like, qui en fait un cible de choix pour les inhibiteurs du protéasome tels que le velcade®. La possibilité de définir pour chaque patient une « carte d'identité tumorale » afin de lui proposer un traitement ciblé efficace restera-t-elle une douce illusion ? Il est difficile de se prononcer dans l'état actuel de nos connaissances. Les principaux obstacles existant à cette démarche sont techniques et cognitifs. Techniques car il n'existe pas à l'heure actuelle de méthode peu coûteuse, consensuelle et aisément applicable pour établir cette carte d'identité génétique. Cognitive car il est aisé d'imaginer que même si une voie de signalisation cellulaire est préférentiellement exprimée dans le matériel tumoral d'un patient, l'inhibition sélective de cette voie n'est pas systématiquement synonyme d'efficacité définitive du traitement ciblé, dans la mesure où elle peut sélectionner et amplifier d'autres voies à l'origine d'une résistance au traitement. Toutefois, en dépit du travail titanesque qui reste à fournir, le bel exemple du rituximab pour les lymphomes ou du velcade® pour les myélomes nous incite à persévérer dans la recherche et l'évaluation de traitements ciblés.

## Bibliographie

---

1. Swerdlow SH., Campo E., Harris NL. *et al* (eds) (2008) World Health Organization classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC, Lyon.
2. Abramson JS., Shipp MA. Advances in the biology and therapy of diffuse large B-cell lymphoma: moving toward a molecularly targeted approach. *Blood*. 2005 ; 106 : 1164-1174.
3. Alizadeh AA., Eisen MB., Davis RE. *et al*. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000 ; 403 : 503-511.
4. Rosenwald A., Wright G., Chan WC., *et al*. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N. Engl J. Med*. 2002 ; 346 : 1937-1947.
5. Monti S., Savage KJ., Kutok JL., *et al*. Molecular profiling of diffuse large B-cell lymphoma identifies robust subtypes including one characterized by host inflammatory response. *Blood*. 2005 ; 105 : 1851-1861.
6. Lenz G., Wright G., Dave SS. *et al*. Stromal Gene Signatures in Large-B-Cell Lymphomas *N. Engl J. Med* 2008 ; 359 : 2313.
7. Hans CP., Weisenburger DD., Greiner TC. *et al*. *Blood*. 2004 ; 103 : 275-282. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray.
8. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N. Engl J. Med* 1993 ; 329 : 987-994.
9. Fisher RI., Gaynor ER., Dahlberg S. *et al*. *N. Engl J. Med*. 1993 ; 328 : 1002-1006.
10. Vose JM., Link BK., Grossbard ML. *et al*. Phase II study of rituximab in combination with chop chemotherapy in patients with previously untreated, aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin Oncol*. 2001 ; 19 : 389-397.
11. Coiffier B., Lepage E., Briere J. *et al*. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N. Engl J. Med*. 2002 ; 346 : 235-242.
12. Miller TP., Dahlberg S., Cassady JR. Chemotherapy alone compared with chemotherapy plus radiotherapy for localized intermediate- and high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *N. Engl J. Med*. 1998 ; 339 : 21-26.

13. Reyes F., Lepage E., Ganem G. *et al.* ACVBP versus CHOP plus radiotherapy for localized aggressive lymphoma. *N. Engl J. Med.* 2005 ; 352 : 1197-1205.
14. Pfreundschuh M., Trümper L., Osterborg A. *et al.* CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol.* 2006 ; 7 : 379-391
15. Greb A., Bohlius J., Schiefer D. *et al.* High-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation in the first line treatment of aggressive non-Hodgkin lymphoma (NHL) in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008 Jan 23 ; (1) : CD004024.
16. Thieblemont C., Grosseuvre A., Houot R. *et al.* Non-Hodgkin's lymphoma in very elderly patients over 80 years. A descriptive analysis of clinical presentation and outcome. *Ann Oncol.* 2008 ; 19 : 774-779.
17. Pfreundschuh M., Trümper L., Kloess M. *et al.* Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of young patients with good-prognosis (normal LDH) aggressive lymphomas: results of the NHL-B1 trial of the DSHNHL. *Blood.* 2004 ; 104 : 626-633.
18. Pfreundschuh M., Trümper L., Kloess M. *et al.* Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL. *Blood.* 2004 ; 104 : 634-641.
19. Pfreundschuh M., Schubert J., Ziepert M., *et al.* Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without Rituximab in elderly patients with aggressive CD20+ B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Oncol* 2008 ; 9 : 105-116.
20. Philip T., Guglielmi C., Hagenbeek A. *et al.* Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N. Engl J. Med.* 1995 ; 333 : 1540-1545.
21. Guglielmi C., Gomez F., Philip T. *et al.* Time to relapse has prognostic value in patients with aggressive lymphoma enrolled onto the Parma trial. *J. Clin Oncol.* 1998 ; 16 : 3264-3269.
22. Ratanatharathorn V., Uberti J., Karanes C. *et al.* Prospective comparative trial of autologous versus allogeneic bone marrow transplantation in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Blood.* 1994 ; 84 : 1050-1055.
23. Peniket AJ., Ruiz de Elvira MC., Taghipour G. *et al.* An EBMT registry matched study of allogeneic stem cell transplants for lymphoma : allogeneic transplantation is associated with a lower relapse rate but a higher procedure-related mortality rate than autologous transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2003 ; 31 : 667-678.
24. Norbert Schmitz, Peter Dreger, Bertram Glass *et al.* Allogeneic transplantation in lymphoma: current status. *Haematologica*, 2007 ; 92 : 1533 – 1548.
25. Rezvani AR., Norasetthada L., Gooley T. *et al.* Non-myeloablative allogeneic haematopoietic cell transplantation for relapsed diffuse large B-cell lymphoma : a multicentre experience. *Br J. Haematol.* 2008 ; 143 : 395-403.
26. Thomson KJ., Morris EC., Bloor A. *et al.* Favorable long-term survival after reduced-intensity allogeneic transplantation for multiple-relapse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2009 ; 27 : 426-432.
27. Cheson BD., Horning SJ., Coiffier B. *et al.* Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J. Clin Oncol.* 1999 ; 17 : 1244. Review. Erratum in : *J. Clin Oncol* 2000 ; 18 : 2351.
28. Juweid ME., Wiseman GA., Vose JM. *et al.* Response Assessment of Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma by Integrated International Workshop Criteria and Fluorine-18 –Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography. *JCO* 2005 ; 23 : 4652-4661.
29. Jerusalem G., Beguin Y., Fassotte MF. *et al.* Persistent tumor 18F-FDG uptake after a few cycles of polychemotherapy is predictive of treatment failure in non-Hodgkin's lymphoma. *Haematologica.* 2000 ; 85 : 613-618.
30. Mikhaeel NG., Timothy AR., O'Doherty MJ. *et al.* 18-FDG-PET as a prognostic indicator in the treatment of aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma-comparison with CT. *Leuk Lymphoma.* 2000 ; 39 : 543-553.
31. Spaepen K., Stroobants S., Dupont P., *et al.* Early restaging positron emission tomography with (18) F-fluorodeoxyglucose predicts outcome in patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol.* 2002 ; 13 : 1356-1363.

32. Mikhaeel NG., Hutchings M., Fields Pa *et al.* FDG-PET after two to three cycles of chemotherapy predicts progression-free and overall survival in high-grade non-Hodgkin lymphoma. *Ann Oncol.* 2005 ; 16 : 1514-1523.
33. Haioun C., Itti E., Rahmouni A. *et al.* [18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography (FDG-PET) in aggressive lymphoma: an early prognostic tool for predicting patient outcome. *Blood.* 2005 ; 106 : 1376-1381.
34. Zinzani PL., Tani M., Fanti S. *et al.* Early positron emission tomography (PET) restaging : a predictive final response in Hodgkin's disease patients. *Ann Oncol.* 2006 ; 17 : 1296-1300.
35. Spaepen K., Stroobants S., Dupont P. *et al.* Prognostic value of pretransplantation positron emission tomography using fluorine 18-fluorodeoxyglucose in patients with aggressive lymphoma treated with high-dose chemotherapy and stem cell transplantation. *Blood.* 2003 ; 102 : 53-599.
36. Filmont JE., Czernin J., Yap C. *et al.* Value of F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography for predicting the clinical outcome of patients with aggressive lymphoma prior to and after autologous stem-cell transplantation. *Chest.* 2003 ; 124 : 608-613.
37. Morschhauser F., Illidge T., Huglo D. *et al.* Efficacy and safety of yttrium-90 ibritumomab tiuxetan in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma not appropriate for autologous stem-cell transplantation. *Blood.* 2007 ; 110 : 54-58.
38. Gordon LI., Molina A., Witzig T. *et al.* Durable responses after ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for CD20+ B-cell lymphoma: long-term follow-up of a phase 1/2 study. *Blood.* 2004 ; 103 : 4429-4431.
39. Botto B., Bellò M., Chiappella A. *et al.* Radioimmunotherapy (RIT) with 90y-Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin) in Relapsed or Refractory Aggressive Lymphoma Previously Treated with Rituximab Containing Regimens. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2008 ; 112 : 5014.
40. Zinzani PL., Tani M., Fanti S., *et al.* A phase II trial of CHOP chemotherapy followed by yttrium 90 ibritumomab tiuxetan (Zevalin) for previously untreated elderly diffuse large B-cell lymphoma patients. *Ann Oncol.* 2008 ; 19 : 769-773.
41. Venugopal P., Gregory SA., O'Brien T., *et al.* Phase II Study of 2-Weekly CHOP+Rituximab Followed by Yttrium 90 Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin) in Patients with Previously Untreated Diffuse Large B Cell Lymphoma (DLBCL). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2007 ; 110 : 4507.
42. Krishnan A., Nademanee A., Fung HC., *et al.* Phase II trial of a transplantation regimen of yttrium-90 ibritumomab tiuxetan and high-dose chemotherapy in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2008 ; 26 : 90-95.
43. Nademanee A., Forman S., Molina A. *et al.* A phase 1/2 trial of high-dose yttrium-90-ibritumomab tiuxetan in combination with high-dose etoposide and cyclophosphamide followed by autologous stem cell transplantation in patients with poor-risk or relapsed non-Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2005 ; 106 : 2896-2902.
44. Kang BW., Kim WS., Kim C. *et al.* Yttrium-90-ibritumomab tiuxetan in combination with intravenous busulfan, cyclophosphamide, and etoposide followed by autologous stem cell transplantation in patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Invest New Drugs.* 2009 Jun 23.
45. Alousi AM., Hosing C., Saliba RM. *et al.* Zevalin®/BEAM/Rituximab vs BEAM/Rituximab and Autologous Stem Cell Transplantation (ASCT) for Relapsed Chemosensitive Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL) : Impact of the IPI and PET Status. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, 2007 ; 110 : 620.
46. Krishnan AY., Nademanee A., Raubitschek A., *et al.* A Comparison of Beam and Yttrium 90 Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin®) in Addition to Beam (Z-BEAM) in Older Patients Undergoing Autologous Stem Cell Transplant (ASCT) for B-Cell Lymphomas : Impact of Radioimmunotherapy on Transplant Outcomes. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, 2006 ; 108 : 3043.
47. Hagenbeek A., Gadeberg O., Johnson P. *et al.* First clinical use of ofatumumab, a novel fully human anti-CD20 monoclonal antibody in relapsed or refractory follicular lymphoma: results of a phase 1/2 trial. *Blood.* 2008 ; 111 : 5486-5495.
48. Morschhauser F., Leonard JP., Fayad L. *et al.* Humanized anti-CD20 antibody, veltuzumab, in refractory/recurrent non-Hodgkin's lymphoma : phase I/II results. *J. Clin Oncol.* 2009 ; 27 : 3346-3353.
49. Salles G., Morschhauser F., Cartron G. *et al.* . A Phase I/II Study of RO5072759 (GA101) in Patients with Relapsed/Refractory CD20+ Malignant Disease. *Blood* 2008 ; 112 : Abstract 234.

50. Leonard JP, Coleman M., Ketas JC. *et al.* Epratuzumab, a humanized anti-CD22 antibody, in aggressive non-Hodgkin's lymphoma : phase I/II clinical trial results. *Clin Cancer Res.* 2004 ; 10 : 5327-5334.
51. Leonard JP, Coleman M., Ketas J. *et al.* Combination antibody therapy with epratuzumab and rituximab in relapsed or refractory non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2005 ; 23 : 5044-5051.
52. Micallef IN., Maurer MJ., Nikcevich DA. *et al.* Final results of NCCTG N0489 : Epratuzumab and rituximab in combination with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone chemotherapy (ER-CHOP) in patients with previously untreated diffuse large B-cell lymphoma. *J. Clin Oncol* 2009 ; 27 (15 suppl) Abstract 8508.
53. Fayad L., Patel H., Verhoef G. *et al.* Clinical Activity of the Immunoconjugate CMC-544 in B-Cell Malignancies : Preliminary Report of the Expanded Maximum Tolerated Dose (MTD) Cohort of a Phase 1. *Blood* 2006 ; 108 : Abstract 2711.
54. Fayad L., Patel H., Verhoef G. *et al.* Safety and Clinical Activity of the Anti-CD22 Immunoconjugate Inotuzumab Ozogamicin (CMC-544) in Combination with Rituximab in Follicular Lymphoma or Diffuse Large B-Cell Lymphoma : Preliminary Report of a Phase 1/2 Study. *Blood* 2008 ; 112 : Abstract 266.
55. Al-Katib AM., Aboukameel A., Mohammad R., *et al.* Superior antitumor activity of SAR3419 to rituximab in xenograft models for non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2009 ; 15 : 4038-4045.
56. Vallera DA., Chen H., Sicheneder AR. *et al.* Genetic alteration of a bispecific ligand-directed toxin targeting human CD19 and CD22 receptors resulting in improved efficacy against systemic B cell malignancy. *Leuk Res.* 2009 ; 33 : 1233-1242.
57. Advani R., Forero-Torres A., Furman RR. *et al.* SGN-40 (Anti-huCD40 mAb) Monotherapy Induces Durable Objective Responses in Patients with Relapsed Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma: Evidence of Antitumor Activity from a Phase I Study. *Blood* 2006 ; 108 : abstract 695.
58. Advani R., De Vos S., Ansell SM. *et al.* A Phase 2 Clinical Trial of SGN-40 Monotherapy in Relapsed Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Blood* 2008 ; 112 : Abstract 1000.
59. Dunleavy K., White T., Grant N. *et al.* Phase 1 Study of Combination Rituximab with Apolizumab in Relapsed/Refractory B-cell Lymphoma and Chronic Lymphocytic Leukemia. *J. Clin Oncol.* 2005 ; 23 (suppl.16) Abstract 6607.
60. Rech J., Repp R., Rech D. *et al.* A humanized HLA-DR antibody (hu1D10, apolizumab) in combination with granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma: a pilot study. *Leuk Lymphoma.* 2006 ; 47 : 2147-2154.
61. Pro B., Leber B., Smith M. *et al.* Phase II multicenter study of oblimersen sodium, a Bcl-2 antisense oligonucleotide, in combination with rituximab in patients with recurrent B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Br J. Haematol.* 2008 ; 143 : 355-360.
62. Cheson BD. Safety and efficacy of YM155 in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *J. Clin Oncol* 2009 ; 27 : (15 suppl) : Abstract 8502.
63. Goy A., Younes A., McLaughlin P. *et al.* Phase II study of proteasome inhibitor bortezomib in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2005 ; 23 : 667-675.
64. Ribrag V., Gisselbrecht C., Haioun C. *et al.* Efficacy and toxicity of 2 schedules of frontline rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone plus bortezomib in patients with B-cell lymphoma : a randomized phase 2 trial from the French Adult Lymphoma Study Group (GELA). *Cancer* 2009 ; 115 : 4540-4546.
65. Leonard JP., Furman RR., Cheung YK., CHOP-R + bortezomib as initial therapy for diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *J. Clin Oncol.* 2007 ; 25 (18 Suppl) : Abstract 8031.
66. Dunleavy K., Pittaluga S., Czuczman MS. *et al.* Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2009 ; 113 : 6069-6076.
67. Czuczman MS., Vose J., Zinzani P. *et al.* Efficacy and safety of lenalidomide oral monotherapy in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma : Results from an international study (NHL-003). *J. Clin Oncol* 2009 ; 27 (suppl). Abstract 19504.
68. Crump M., Coiffier B., Jacobsen ED. *et al.* Phase II trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid) in relapsed diffuse large-B-cell lymphoma. *Ann Oncol.* 2008 ; 19 : 964-969.

69. Crump M., Andreadis C., Assouline S. *et al.* Treatment of relapsed or refractory non-hodgkin lymphoma with the oral isotype-selective histone deacetylase inhibitor MGCD0103 : Interim results from a phase II study. *J. Clin Oncol* 2008 ; 26(suppl). Abstract 8528.
70. Reeder CB., Gornet MK., Habermann TM. *et al.* A Phase II Trial of the Oral mTOR Inhibitor Everolimus (RAD001) in Relapsed Aggressive Non-Hodgkin Lymphoma (NHL). *Blood* 2007 ; 110 : Abstract 121.
71. Smith SM., Pro B., Smith S. *et al.* Molecular Inhibition of mTOR with Temsirolimus (TORISELTM, CCI-779) is a Promising Strategy in Relapsed NHL : The University of Chicago Phase II Consortium. *Blood* 2006 ; 108 : Abstract 2483.
72. Robertson MJ., Kahl BS., Vose JM. *et al.* Phase II study of enzastaurin, a protein kinase C beta inhibitor, in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *J. Clin Oncol* 2007 ; 25 : 1741-1746.
73. Barr PM., Lazarus HM., Cooper BW. *et al.* Phase II study of bryostatins 1 and vincristine for aggressive non-Hodgkin lymphoma relapsing after an autologous stem cell transplant. *Am J. Hematol.* 2009 ; 84 : 484-487.
74. Stopeck AT., Bellamy W., Unger J. *et al.* Phase II trial of single agent bevacizumab (Avastin) in patients with relapsed, aggressive non-Hodgkin's lymphoma (NHL) : Southwest Oncology Group Study S0108. *J. Clin Oncol* 2005 ; 23 (16 Suppl). Abstract 6592.
75. Ganjoo KN., An CS., Robertson MJ. *et al.* Rituximab, bevacizumab and CHOP (RA-CHOP) in untreated diffuse large B-cell lymphoma : safety, biomarker and pharmacokinetic analysis. *Leuk Lymphoma.* 2006 ; 47 : 998-1005.
76. Friedberg JW., Sharman J., Schaefer-cutillo J. *et al.* Fostamatinib disodium (FosD), an oral inhibitor of Syk, is well-tolerated and has significant clinical activity in diffuse large B cell lymphoma 5DLBCL) and chronic lymphocytic leukaemia (SLL/CLL). *Blood* 2008 ; 112 : Abstract 3.
77. Borchmann P., Morschhauser F., Parry A. *et al.* Phase-II study of the new aza-anthracenedione, BBR 2778, in patients with relapsed aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Haematologica.* 2003 ; 88 : 888-894.
78. Borchmann P., Herbrecht R., Wilhelm M., *et al.* Results of a Phase II Study of Pixantrone in Combination with Cyclophosphamide, Vincristine, and Prednisone in Patients with Relapsed Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood* 2006 ; 108 : Abstract 529.



# **Les lymphomes lymphoblastiques et le lymphome de Burkitt**

**Martine Raphaël, Chrystèle Bilhou-Nabera,**

**Rita Creidy**

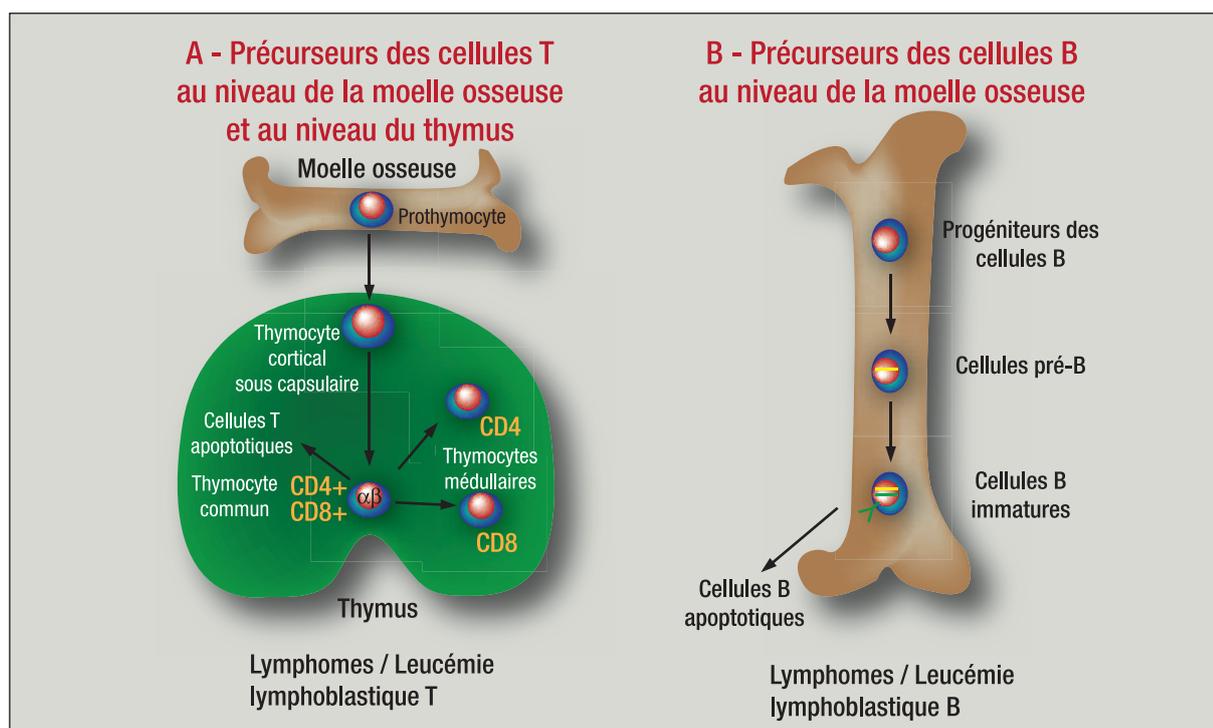
**CHAPITRE VIII**

Ce chapitre traite de deux types de proliférations lymphomateuses dont le mode de présentation clinique peut être caractérisé soit par une phase leucémique prédominante avec une infiltration médullaire et du sang périphérique, soit par une organomégalie avec une forte masse tumorale et dont les localisations varient selon le type de prolifération lymphomateuse. Malgré ces modes de présentation clinico-biologiques qui peuvent apparaître similaires, il est extrêmement important de distinguer ces deux types de lymphome d'histogenèse différente. En effet, les lymphomes lymphoblastiques qu'ils soient de nature T ou B émanent des précurseurs lymphoïdes, tandis que le lymphome de Burkitt se développe aux dépens des cellules lymphoïdes B périphériques. La présentation clinico-biologique des proliférations lymphoblastiques est celle d'un lymphome lorsque la masse tumorale prédomine sans ou avec une infiltration médullaire et sanguine minime. Arbitrairement le taux de lymphoblastes infiltrant la moelle osseuse doit être inférieur à 20% - 25%. Lorsque le taux de lymphoblastes médullaires est supérieur à 25%, le diagnostic de leucémie lymphoblastique T ou B selon la lignée lymphoïde est retenu. En raison de l'origine immature de la prolifération lymphomateuse partageant les critères biologiques des leucémies aiguës lymphoblastiques la nomenclature de l'OMS dans ces dernières éditions 2001 et 2008 regroupe ces proliférations lymphomateuses sous le terme Lymphome/Leucémie lymphoblastique T ou B [5].

## Histogenèse des lymphomes/leucémies lymphoblastiques

Les lymphomes/leucémies lymphoblastiques sont essentiellement de phénotype T (85 à 90%). Les rares phénotypes B n'ont pas de particularité cytologique par rapport aux T. Ces lymphomes sont issus de précurseurs lymphoïdes immatures T ou B dont le point de départ sont des précurseurs engagés dans la différenciation lymphoïde et situés au niveau des organes lymphoïdes centraux : moelle osseuse et thymus pour les lymphomes/leucémies lymphoblastiques T et la moelle osseuse pour les lymphomes/leucémies lymphoblastiques B (figure 1).

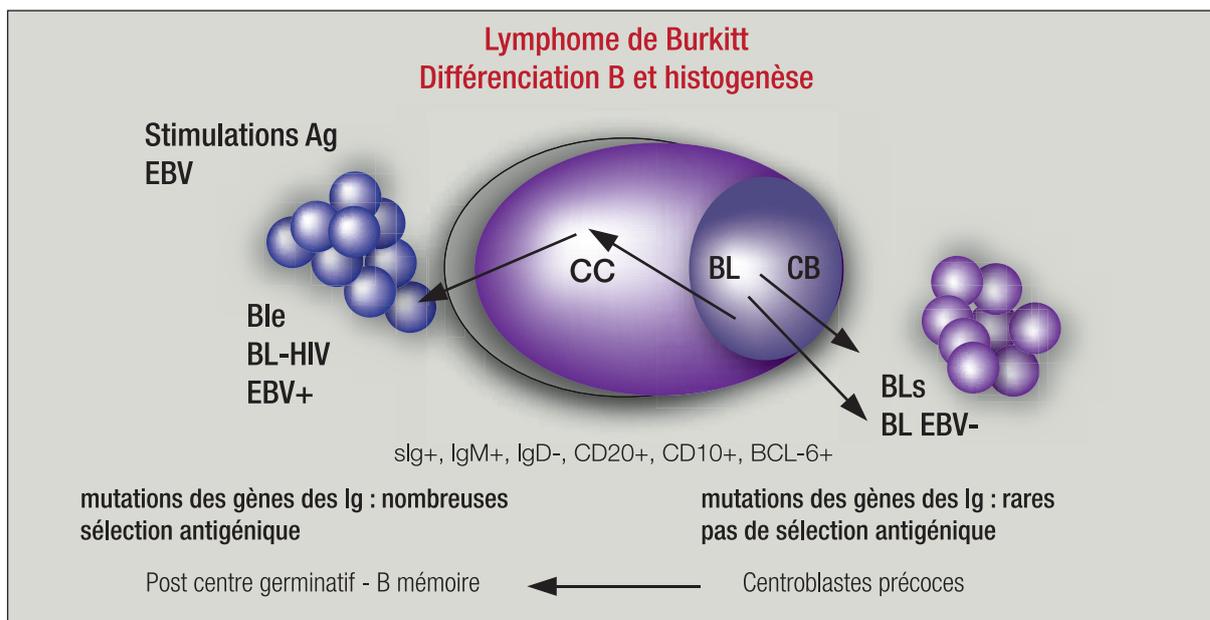
**Figure 1 : Origine immature de la prolifération lymphomateuse dans les Lymphomes/Leucémies lymphoblastiques T et B.**



## Histogenèse du lymphome de Burkitt

Le lymphome de Burkitt, prolifération lymphomateuse B dont l'origine lymphoïde est périphérique provient d'une population lymphoïde B originaire du centre germinatif ou post centre germinatif (figure 2). Le mode de présentation de type leucémie aiguë dénommé leucémie de type Burkitt ou Leucémie aiguë-L3 selon la classification FAB est désormais considérée par la classification récente de l'OMS comme un variant du lymphome de Burkitt, rattaché à la même entité et traitée comme telle [24].

**Figure 2 : Origine cellulaire du lymphome de Burkitt.** Les cellules B tumorales sont issues des cellules du centre germinatif ou sont d'origine post centre germinatif. Les travaux récents sur l'analyse des mutations des gènes des immunoglobulines et de l'utilisation préférentielle du répertoire ont montré une différence entre les lymphomes de Burkitt sporadiques principalement issus des cellules du centre germinatif, les mutations des gènes des immunoglobulines sont peu nombreuses et il n'y a pas de sélection liée à l'antigène, dans les lymphomes de Burkitt endémiques et plus particulièrement ceux associés à l'EBV y compris dans le cas des lymphomes de Burkitt associés au SIDA, les cellules proviennent des lymphocytes B post centre germinatif, les gènes des immunoglobulines comportent de nombreuses mutations associées à une sélection antigénique [3].



## Les lymphomes lymphoblastiques/leucémies T et B

### Les lymphomes/leucémies lymphoblastiques T

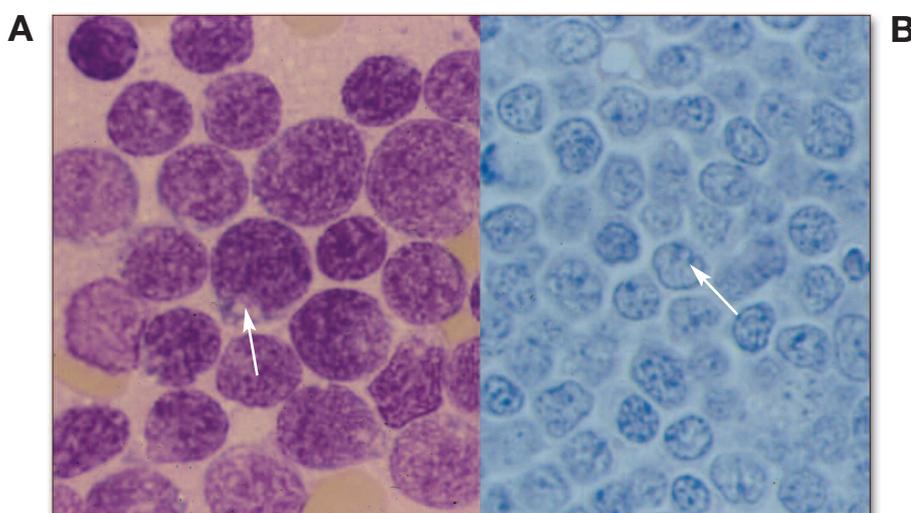
Les lymphomes/leucémies lymphoblastiques T sont plus fréquents chez les adolescents de sexe masculin mais peuvent toucher les différentes tranches d'âge.

Les lymphomes/leucémies lymphoblastiques T se présentent le plus fréquemment par un envahissement médiastinal (thymique) mais aussi sous forme d'une atteinte ganglionnaire ou toute autre atteinte extraganglionnaire. En effet, la peau, les amygdales, le foie, la rate, le système nerveux central et les testicules chez les patients de sexe masculin peuvent être des localisations révélatrices des lymphomes/leucémies lymphoblastiques T. Cependant, ces localisations particulières sans envahissement ganglionnaire ou médiastinal associés restent rares [5].

**Cliniquement**, les lymphomes/leucémies lymphoblastique T se manifestent le plus fréquemment par une masse médiastinale antérieure à croissance rapide et constituent dans certains cas une urgence respiratoire. Les épanchements pleuraux associés sont aussi fréquents.

**La morphologie cellulaire** sur les frottis médullaires ou sanguins montre souvent des cellules de taille moyenne, à noyaux souvent convolutés à chromatine fine et à cytoplasme peu abondant et basophile. Cependant, il existe une hétérogénéité de taille pouvant aller du petit lymphoblaste à chromatine nucléaire condensée sans nucléole visible au grand lymphoblaste à chromatine nucléaire fine avec un nucléole bien visible. Il n'est pas exceptionnel que le cytoplasme soit vacuolisé (**figure 3**). Dans de rares cas, les lymphoblastes peuvent ressembler morphologiquement à des lymphocytes matures atypiques. Dans ce cas, une étude immunophénotypique est nécessaire dans le but de distinguer les lymphomes/leucémies lymphoblastiques T d'une leucémie à lymphocytes matures périphériques [5].

**Figure 3 : Aspects morphologiques d'un lymphomes lymphoblastique T du médiastin.**



**L'immunophénotypage** est un examen incontournable dans le diagnostic des lymphomes/leucémies lymphoblastiques. En effet, l'immunophénotypage met en évidence des lymphoblastes à TdT (Terminal deoxynucleotidyl-Transferase) souvent positive associée à une expression variable du CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7 et CD8. On note que le CD7 et le CD3 cytoplasmique sont le plus souvent positifs. L'expression du CD3 cytoplasmique est la seule preuve spécifique et formelle d'une différenciation T des cellules lymphoblastiques. Les marqueurs de surface CD4 et CD8 sont souvent co-exprimés à la surface des lymphoblastes. En plus de la mise en évidence du CD3 cytoplasmique et de la TdT, le CD99, le CD34 et le CD1a sont des marqueurs d'immaturité spécifiques des lymphoblastes T [5]. Le marqueur TAL-1 (T-cell Acute Leukemia 1), impliqué dans les phénomènes de leucémogénèse et lymphomagenèse, est retrouvé au niveau nucléaire dans environ 40% des cas des lymphomes/leucémies lymphoblastiques T [8], [11]. Souvent une expression aberrante de certains marqueurs est retrouvée sur les lymphoblastes T. A titre d'exemple, l'expression aberrante du CD10 et du CD79a, marqueurs spécifiques des lymphocytes B, est observée dans environ 10% des cas [36] et les marqueurs myéloïdes CD13 et/ou CD33 sont exprimés dans environ 30% des cas [21]. La simple détection phénotypique des marqueurs myéloïdes ne permet en aucun cas d'exclure le diagnostic de lymphome/leucémie lymphoblastique T ni de conclure à une prolifération biphénotypique. Il est nécessaire de noter qu'il n'est pas toujours évident de poser un diagnostic sur un simple phénotypage. Dans ce cas, il est impératif de confronter la clinique aux autres examens biologiques, histologiques et cytogénétiques.

Les lymphomes/leucémies lymphoblastiques T peuvent être stratifiés en différents stades de différenciation intrathymique selon le profil d'expression des antigènes de surface et cytoplasmiques. On distingue ainsi, le pro-T qui est CD3 cytoplasmique+, CD7+, CD2-, CD1a-, CD34+/- ; le pré-T qui est CD3 cytoplasmique+, CD7+, CD2+, CD1a-, CD34+/- ; le T cortical qui est CD3 cytoplasmique+, CD7+, CD2+, CD1a+, CD34- et le T médullaire qui est CD3 cytoplasmique+, CD7+, CD2+, CD1a-, CD34-, CD3 de surface +. Les stades pro-T et pré-T sont double-négatifs pour l'expression du CD4 et du CD8 alors que le stade T cortical montre un phénotype double-positif (CD4+ et CD8+). Le stade médullaire T n'exprime que le CD4 ou le CD8. La stratification intrathymique des lymphomes/leucémies lymphoblastiques T souligne l'hétérogénéité phénotypique des lymphomes/leucémies lymphoblastiques T [2].

**Génétiquement**, la majorité des lymphomes/leucémies lymphoblastiques T possède un réarrangement clonal des gènes codant pour le TCR (T-Cell Receptor). Cependant, on observe simultanément des réarrangements clonaux des gènes codant pour la chaîne lourde des immunoglobulines dans environ 20% des cas [37], [44].

**Des anomalies cytogénétiques** sont souvent retrouvées dans les lymphomes/leucémies lymphoblastiques T. En effet, un caryotype anormal est retrouvé dans 50 à 70% des cas des lymphomes/leucémies lymphoblastiques T. L'anomalie cytogénétique récurrente la plus fréquente implique les loci alpha et delta du TCR au niveau du 14q11.2, le locus bêta au niveau du 7q35 et le locus gamma au niveau du 7p14-15 avec une variété de gènes partenaires. Dans la majorité des cas, ces translocations aboutissent à une dérégulation de la transcription du gène partenaire par la juxtaposition avec une région régulatrice d'un des loci du TCR. Les gènes concernent des facteurs de transcription parmi lesquels HOX11 (TLX1) (10q24) et HOX11L2 (TLX3) (5q35) sont le plus souvent impliqués. D'autres facteurs de transcription peuvent être impliqués dans les translocations concernant l'oncogène MYC (8q24.1) et TAL1 (1p32). De nombreuses translocations ne sont pas détectées par le simple caryotype conventionnel et nécessitent souvent des techniques de biologie moléculaire. Les délétions peuvent également survenir dans les lymphomes/leucémies lymphoblastiques T. La délétion la plus importante est la délétion du chromosome 9p entraînant la perte du gène suppresseur de tumeur CDKN2A (un inhibiteur de CDK4, Cyclin-Dependent Kinase) [17]. Dans environ 50% des cas, des anomalies de NOTCH1 à type de mutations activatrices, insertions, délétions aboutissent à une surexpression du signal de NOTCH1 dont C-MYC est une des cibles directes rendant compte de l'importance du rôle des anomalies génétiques de NOTCH1 dans la lymphomagenèse des lymphomes/leucémies lymphoblastiques T [1], [35], [48].

**Le pronostic** : les lymphomes/leucémies lymphoblastiques T sont généralement considérés chez l'enfant de plus mauvais pronostic que le lymphome/leucémie lymphoblastique B. Ceci est partiellement dû à la présence au diagnostic de critères épidémiologiques et biologiques de mauvais pronostic tels que l'âge plus avancé des patients et le chiffre plus élevé des leucocytes. De plus, le pronostic du lymphome/leucémie lymphoblastique T dépend, comme pour les autres entités de lymphomes, de l'âge du patient, du stade de la maladie et du taux de LDH au diagnostic. Des facteurs de pronostic biologiques liés à la tumeur ont été récemment identifiés comme le génotype du TCR et l'expression des gènes HOXA/TLX1 [2] ainsi que, l'activation de la voie NOTCH1 par les mutations de NOTCH ou de FBXW7 ont permis d'identifier un groupe de patients de pronostic favorable [1].

## **Les lymphomes/leucémies lymphoblastique B**

Le lymphome lymphoblastique B constitue entre 5 et 10% des lymphomes/leucémies lymphoblastiques. La majorité des cas survient avant l'âge de 18 ans avec une prédominance masculine [26], [31].

Les lymphomes/leucémies lymphoblastiques B sont fréquemment révélés par un envahissement cutané

[41], des tissus mous, de l'os et des ganglions. Une atteinte du système nerveux central est moins souvent révélatrice d'un lymphome/leucémie lymphoblastique B que de nature T, de même, les masses médiastinales sont rares.

**Cliniquement**, le lymphome lymphoblastique B sans leucémie est asymptomatique et souvent les patients présentent une forme limitée de la pathologie. Un envahissement médullaire et du sang périphérique peuvent être présents au diagnostic mais le pourcentage de lymphoblastes médullaires reste inférieur à 25% selon les critères de l'OMS 2008 [5].

**La morphologie cellulaire** sur les frottis sanguins et les empreintes varie et peut être hétérogène comme pour les lymphomes/leucémies lymphoblastiques T avec des formes allant du petit lymphoblaste à chromatine nucléaire condensée sans nucléole visible au grand lymphoblaste à chromatine nucléaire fine avec un nucléole bien visible, à cytoplasme bleu-gris et occasionnellement vacuolisé. Le noyau est rond, irrégulier ou souvent convoluté. Des granulations azurophiles sont retrouvées dans environ 10% des lymphoblastes. Il est nécessaire de ne pas confondre morphologiquement les lymphoblastes pathologiques avec des hémotogones correspondant à des précurseurs des cellules B. ces derniers présentent typiquement un rapport nucléocytoplasmique plus élevé que celui des lymphoblastes avec une chromatine plus homogène sans nucléole visible. Au niveau de la moelle osseuse et de la biopsie médullaire, les lymphoblastes présentent une apparence plus uniforme ronde ou ovale avec un noyau dentelé ou convoluté. Les nucléoles sont peu à clairement visibles et la chromatine est finement dispersée [5].

**L'immunophénotypage** reste l'examen de choix dans le diagnostic des lymphomes/leucémies lymphoblastiques B. En effet, l'immunophénotypage met en évidence des lymphoblastes avec des marqueurs de la lignée lymphoïde B, essentiellement le CD19, le CD22 et le CD79a cytoplasmiques. La présence associée de ces différents marqueurs sur les cellules tumorales est une preuve formelle de leur origine lymphoïde B. Les lymphoblastes B expriment le CD10, le CD22 de surface, le CD24, et PAX5 facteur de transcription intervenant dans la lymphomagenèse. La TdT est souvent positive alors que le CD20 et le CD34 sont exprimés de façon variable. Le CD45 peut être absent à la surface des cellules. Les marqueurs myéloïdes CD13 et/ou le CD33 peuvent être exprimés à la surface des lymphoblastes. La simple détection phénotypique des marqueurs myéloïdes ne permet en aucun cas d'exclure le diagnostic de lymphome/leucémie lymphoblastique B ni de conclure à une prolifération biphénotypique [5]. Comme pour les L-lymphomes/leucémies T, il n'est pas toujours évident de poser un diagnostic sur un simple phénotypage et une confrontation de la présentation clinique aux autres examens biologiques, histologiques et cytogénétiques s'impose. Le degré de différenciation des lymphoblastes B présente des corrélations cliniques et génétiques. Au niveau des stades précoces de la différenciation B (précurseur B ou pro-B), les blastes expriment le CD19, le CD79a cytoplasmique, le CD22 cytoplasmique ainsi que la TdT nucléaire. Au niveau du stade intermédiaire de la différenciation B (lymphome/leucémie lymphoblastique commun), les blastes expriment le CD10. Au stade de différenciation plus avancé (pré-B), les blastes expriment les chaînes  $\mu$  intracytoplasmiques. Les immunoglobulines de surface sont absentes même si leur présence dans de rares cas ne permet pas d'exclure formellement le diagnostic de lymphome/leucémie lymphoblastique B [32]. Enfin, l'immunophénotypage permet de distinguer facilement les hémotogones, malgré l'expression du CD10 par ces derniers, des lymphoblastes B clonaux.

**Génétiquement**, la majorité des lymphomes/leucémies lymphoblastiques B possède un réarrangement clonal DJ (région de Diversité et de Jonction) des gènes codant pour la chaîne lourde des immunoglobulines. Cependant, on observe simultanément des réarrangements clonaux des gènes codant pour le TCR dans environ 70% des cas. De ce fait, la recherche de ces réarrangements clonaux ne semble pas utile dans la détermination de l'origine B ou T de la lignée tumorale [47].

**Des anomalies cytogénétiques** sont retrouvées dans la grande majorité des lymphomes/leucémies lymphoblastiques B. Dans de nombreux cas, ces anomalies définissent des entités spécifiques avec un phénotype unique et des caractères de bon ou de mauvais pronostic. C'est ainsi que la dernière classification de l'OMS 2008 [5] décrit les lymphomes/leucémies lymphoblastiques B avec des anomalies génétiques récurrentes. D'une façon simplifiée on distingue les lymphomes/leucémies lymphoblastiques B avec :

(a) des anomalies génétiques associées à un mauvais pronostic de la maladie comme les lymphomes/leucémies lymphoblastiques B hypoploïdes (blastes avec moins de 45 chromosomes), les lymphomes/leucémies lymphoblastiques B comportant la t(9;22)(q34;q11.2); BCR-ABL1 et les lymphomes/leucémies lymphoblastiques B avec un réarrangement MLL; t(v;11q23) et (b) des anomalies génétiques associées à un pronostic favorable de la maladie comme les lymphomes/leucémies lymphoblastiques B hyperploïdes (blastes avec plus de 50 chromosomes), les lymphomes/leucémies lymphoblastiques B avec la t(12;21)(p13;q22); TEL-AML1 (ETV6-RUNX1). Les lymphomes/leucémies lymphoblastiques B avec la t(1;19)(q23;p13.3); E2A-PBX1 (TCF3-PBX1) étaient classiquement considérés comme de mauvais pronostic. Cependant, avec les nouveaux protocoles thérapeutiques adaptés, cette anomalie n'est plus significative de mauvais pronostic [17].

**Le pronostic** des lymphomes/leucémies lymphoblastiques B est généralement considéré comme bon chez l'enfant avec des taux de rémission supérieurs à 95%. Leur pronostic est moins favorable chez l'adulte avec des taux de rémission ne dépassant pas les 80%. De manière approximative, les enfants présentent un taux de guérison de 80% alors que chez les adultes ce taux reste inférieur à 50% (23).

## **Le traitement des lymphomes/leucémies lymphoblastiques T et B**

L'approche identique thérapeutique du traitement des lymphomes/leucémies lymphoblastiques a été préconisée par l'OMS (5) pour les deux modes de présentation, leucémique ou lymphomateux. Toutefois, les travaux récents publiés par le groupe allemand BFM font poser la question de 2 entités séparées pouvant justifier des stratégies thérapeutiques différentes surtout en ce qui concerne le bénéfice de la transplantation de cellules souches bénéfique pour les leucémies lymphoblastiques T sans bénéfice significatif dans les lymphomes lymphoblastiques T thymiques [18].

Associé à un traitement symptomatique (transfusions, prophylaxie anti-infectieuse, une antibiothérapie à large spectre, traitement des troubles métaboliques dans le but de prévenir la survenue d'un syndrome de lyse) le traitement de fond, de la maladie chez l'enfant comme chez l'adulte comprend [40] :

- une phase d'induction avec une polychimiothérapie intensive comportant l'association de plusieurs drogues dont les corticoïdes, la vincristine, le cyclophosphamide, les anthracyclines, la L asparaginase ainsi que le méthotrexate à fortes doses associé à des injections intrathécales pour la prévention des atteintes méningées fréquentes
- une phase de consolidation où la place de l'intensification de la chimiothérapie et l'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques doit être discutée en fonction de la présentation clinique [15], [43].
- une phase de traitement d'entretien.

Historiquement, l'un des objectifs majeurs était la stratification clinico-biologique afin d'identifier les groupes de patients de mauvais pronostic pouvant bénéficier d'une intensification de chimiothérapie associée à une greffe de cellules souches hématopoïétiques. Actuellement, les stratégies thérapeutiques dans les lymphomes/leucémies lymphoblastiques, en particulier de nature B deviennent plus complexes par l'identification de sous groupes pouvant bénéficier de thérapies ciblées comme par exemple, l'Imatinib dans les LAL-B chromosome Ph+ ou bien l'efficacité du Rituximab (anti-CD20)

dans les lymphomes/leucémies B plus matures, ou de thérapies adaptées à l'âge ou à la persistance d'une maladie résiduelle [15]. Enfin, de nouvelles molécules pourraient être efficace en fonction de la biologie de la prolifération lymphomateuse [1], [27], [35].

## Le lymphome de Burkitt

Initialement décrit en Afrique par Dennis Burkitt en 1958 [6] ce lymphome correspond à une entité clinico-biologique bien caractérisée répondant aux critères récents définis par la classification OMS (2001 puis 2008) [24]. En effet, il s'agit d'une prolifération lymphomateuse de nature B dont le temps de doublement est extrêmement rapide, de localisation souvent extra ganglionnaire et parfois leucémique aiguë. La définition de cette prolifération, selon les derniers critères de l'OMS comporte plusieurs données : il s'agit (a) d'une prolifération cellulaire monomorphe constituée de cellules lymphomateuses de taille moyenne, (b) la translocation impliquant l'oncogène MYC est hautement caractéristique mais non spécifique, (c) le diagnostic repose sur une combinaison d'éléments : morphologiques, immunophénotypiques, génétiques et cytogénétiques [24].

### Epidémiologie et étiologie

Les données épidémiologiques ont permis d'identifier 3 présentations cliniques différentes :

- le lymphome de Burkitt endémique : ce variant clinique survient en Afrique équatoriale, il représente la tumeur maligne la plus fréquente de l'enfant avec un pic survenant entre 4 et 7 ans et une prédominance masculine dans un rapport de 2/1. Ce lymphome est aussi très fréquent chez l'enfant en Papouasie et Nouvelle Guinée. Sa distribution géographique correspond à celle du paludisme endémique en lien avec les conditions climatiques (altitude et précipitations) [7].
- le lymphome de Burkitt sporadique observé dans l'ensemble des pays du monde avec une nette prédominance chez l'enfant, l'adolescent et l'adulte jeune. Bien que la fréquence du lymphome de Burkitt soit faible tout âge confondu (3 à 5% des lymphomes), il représente plus de 50% des lymphomes de l'enfant, survient plus tardivement que le Burkitt endémique, avec la même prédominance masculine [14].
- le lymphome de Burkitt et les déficits immunitaires : rare dans les déficits immunitaires primitifs ou acquis après transplantation d'organe, il est plus fréquemment rapporté chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et entre dans la définition du SIDA pouvant en être le mode de révélation [38].

**Les données étiologiques** renvoient vers la complexité moléculaire du lymphome de Burkitt et l'intrication des mécanismes physiopathologiques. A ces mécanismes sous tendus par une anomalie moléculaire commune, la dérégulation de l'oncogène c-MYC due dans la quasi-totalité des cas à une translocation réciproque impliquant la région chromosomique 8q24, se surajoutent des facteurs étiologiques en fonction des contextes : géographiques et socio-économiques (virus : EBV en particulier, parasite : plasmodium falciparum, rôle de l'infection par le VIH par exemple). L'EBV, identifié à partir de la mise en culture de cellules d'un lymphome de Burkitt dans plus de 95% des cas de Burkitt endémique infecte la quasi-totalité des cellules tumorales [45]. Le lien très significatif entre l'infection palustre et la survenue d'un lymphome de Burkitt endémique [12] renvoie vers la notion pathogénique de l'émergence d'une prolifération tumorale liée à des facteurs microbiens multiples. Dans le cas du lymphome de Burkitt

endémique, l'agent infectieux du paludisme tel que *Plasmodium falciparum* crée un dysfonctionnement immunitaire impliquant la réponse lymphocytaire T EBV spécifique ainsi qu'une réactivation des cellules B mémoires, réservoir de l'infection par EBV [46]. D'autres agents tels que les arbovirus pourraient aussi avoir un rôle de cofacteur [39]. Toutefois, l'EBV n'est présent que dans 15 à 30% des lymphomes de Burkitt sporadiques selon la distribution géographique et les conditions socio-économiques et dans 30 à 40% des lymphomes de Burkitt survenant chez les patients infectés par le VIH. Cette hétérogénéité de la fréquence de l'EBV selon les variants clinico-biologiques du lymphome de Burkitt fait poser la question du rôle de l'EBV dans cette pathologie sous tendue par un mécanisme pathogénique commun impliquant la dérégulation de l'oncogène c-MYC. La surexpression de l'oncogène c-MYC est liée dans presque tous les cas à une translocation chromosomique réciproque impliquant c-MYC au locus 8q24 avec la région régulatrice des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines (IgH) au locus 14q32. Moins fréquemment, cette translocation intéresse respectivement les chaînes légères lambda en 22q11 ou kappa en 2p12. La cartographie des points de cassure de l'oncogène MYC et de la région régulatrice des chaînes lourdes des immunoglobulines est différente selon la forme clinique variante du lymphome de Burkitt endémique ou sporadique. La cassure est à distance de l'oncogène c-MYC et implique la région de commutation isotypique (Sm) des chaînes lourdes des immunoglobulines dans les formes endémiques, en revanche, dans les formes sporadiques la cassure concerne d'une part l'oncogène c-MYC, souvent au niveau du premier exon et est en dehors de la région Sm pour les chaînes lourdes des immunoglobulines suggérant des mécanismes physiopathologiques différents selon le contexte géographique et la présence de l'EBV [28], [42].

**Les aspects cliniques**, en particulier les localisations varient selon les formes épidémiologiques identifiées. Dans la forme endémique, la localisation la plus fréquente dans plus de 50% des cas, se situe au niveau des mâchoires ou des différents os du massif facial comme les orbites [4], [29]. Les atteintes : abdominales iléo-coecales, des gonades, des reins, des seins, de la thyroïde peuvent aussi être observés dans les formes endémiques mais sont plus fréquemment le mode de révélation des formes sporadiques ainsi que la forme leucémique. L'atteinte mammaire bilatérale est souvent associée à la période de puberté ou de gestation suggérant très fortement le rôle du microenvironnement dans la survie tumorale. Les masses rétro-péritonéales peuvent être révélées par une compression médullaire. Dans les formes cliniques associées à l'infection par le VIH les adénopathies et l'infiltration médullaire sont fréquentes [38]. Le risque d'infiltration du système nerveux central avec localisation méningée est observé dans les trois formes cliniques [24]. En revanche les localisations médiastinales et de l'anneau de Waldeyer sont beaucoup plus rares.

Bien que le mode de présentation du lymphome de Burkitt varie selon les aspects épidémiologiques, dans tous les cas, le syndrome tumoral est important lié au temps de doublement très bref de la tumeur se développant en quelques semaines.

**Après le bilan d'extension**, en particulier dans les formes pédiatriques, le stade clinique est déterminé selon la Classification de Murphy modifiée par Magrath [4], [29] :

**Stade I :** Lésion unique ganglionnaire ou extra ganglionnaire à l'exclusion des lésions médiastinales ou abdominales.

**Stade II :** Localisations extra ganglionnaires avec envahissement ganglionnaire régional.  
IIR : Tumeur abdominale complètement réséquée.

**Stade III :** Localisations sus et sous diaphragmatiques, localisations intra-thoraciques, paravertébrale ou épидurale, atteinte abdominale diffuse.

IIIA : Atteinte abdominale localisée mais non réséquable.

IIIB : Atteinte abdominale diffuse.

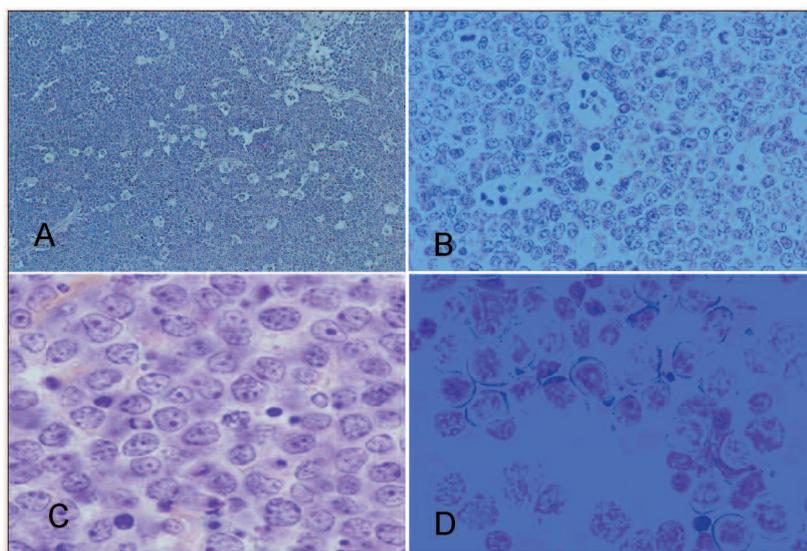
**Stade IV :** Atteinte du SNC et/ou médullaire (< 25%).

LAL3 (FAB) : atteinte médullaire > 25%.

**Le diagnostic** se fonde sur des critères histo-cytologiques, immunophénotypiques, génétiques et cytogénétiques. La première étape diagnostique repose sur des critères morphologiques cytologiques et histologiques très caractéristiques faisant partie intégrante de la définition de ce lymphome [24]. Il s'agit d'une prolifération lymphomateuse diffuse, monotone et cohésive constituée de cellules lymphoïdes de taille moyenne. Le noyau arrondi possède une chromatine finement mottée avec des nucléoles de petite taille, surlignés par un renforcement chromatinien et en position para centrale. Le cytoplasme est peu étendu, basophile et contient souvent des vacuoles de nature lipidique. L'index mitotique élevé est objectivé par de nombreuses figures mitotiques. Des images de noyaux en apoptose sont fréquentes associées à de nombreux macrophages contenant des corps tingibles répartis au sein de la prolifération tumorale et réalisant un aspect de ciel étoilé très caractéristique sur les coupes histologiques. Dans certains cas des aspects de différenciation plasmocytoïde sont observés, plus particulièrement dans les formes cliniques variantes associées à l'infection par le VIH et où l'EBV est présent [10]. Dans quelques cas, les aspects atypiques rendent difficile le diagnostic différentiel avec des lymphomes B diffus à grandes cellules, entrant ainsi dans ces formes récemment identifiées et difficiles à classer, intermédiaires entre le lymphome de Burkitt et les lymphomes B à grandes cellules [22].

Les données immunophénotypiques sont alors indispensables pour un diagnostic plus précis. Typiquement les cellules du lymphome de Burkitt expriment les marqueurs B de cellules issues du centre germinatif (CD19, CD20, CD22, CD10, BCL6, CD38, CD77, CD43), sont monotypiques pour IgM avec une restriction des chaînes légères kappa ou lambda. Classiquement les cellules tumorales sont négatives pour la molécule anti-apoptotique BCL2, et pratiquement toutes les cellules lymphomateuses sont positives pour Ki67 signant leur engagement dans le cycle cellulaire (figures 4 et 5).

**Figure 4 : Aspects morphologiques du lymphome de Burkitt classique.**



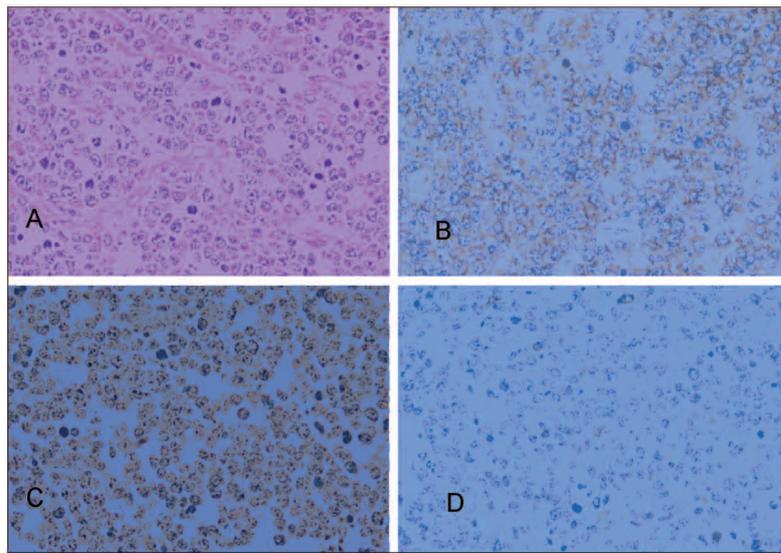
A : Histologie, faible grossissement, monomorphisme de la prolifération cellulaire et aspect de ciel étoilé.

B : Macrophages contenant des corps tingibles réalisant l'aspect de ciel étoilé.

C : Histologie au fort grossissement, aspect homogène de la prolifération lymphomateuse, chromatine finement mottée, présence de corps apoptotiques denses.

D : Aspect cytologique, cytoplasme basophile contenant parfois des vacuoles, chromatine finement mottée, petits nucléoles para centraux.

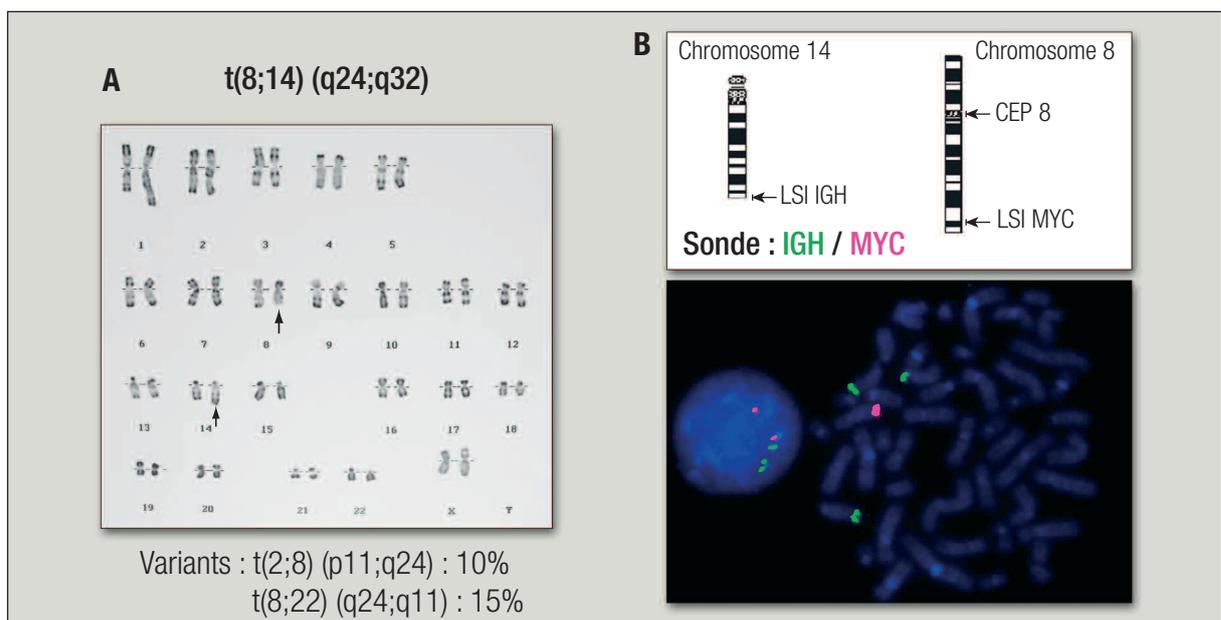
**Figure 5 : Lymphome de Burkitt : morphologie et immunohistochimie.**



A : Aspect histologique d'un lymphome de Burkitt classique.  
 B : Expression membranaire du marqueur CD10.  
 C : Expression du marqueur Ki67 dans 100% des cellules tumorales marquant l'entrée dans le cycle cellulaire de l'ensemble de la prolifération tumorale.  
 D : Absence d'expression de la molécule anti-apoptotique BCL2, de rares lymphocytes T sont positifs (témoins internes).

**Au niveau génétique**, la prolifération est monoclonale pour le réarrangement des gènes des immunoglobulines siège de mutations somatiques correspondant à une cellule lymphoïde B périphérique du centre germinatif ou post-centre germinatif. L'analyse des mutations des gènes des immunoglobulines a montré deux origines distinctes du lymphome de Burkitt en fonction de la présence ou non de l'EBV. La fréquence des mutations somatiques des gènes des immunoglobulines ainsi que la sélection antigénique sont significativement plus importantes dans les lymphomes de Burkitt endémiques ou associés au SIDA et où l'EBV est présent [3]. En plus de l'anomalie cytogénétique majeure déjà citée correspondant à la translocation  $t(8;14) (q24;q32)$  ou ses variants  $t(8;22) (q24;q11)$ ,  $t(2;8)(p11;q24)$  (figure 6), des anomalies peuvent être observées assez fréquemment intéressant les chromosomes 1q, 13q et 7q. De même, sont présentes des mutations aberrantes des gènes régulant la machinerie du cycle cellulaire (tels que P16 ink4, TP53, P73) ou le contrôle de l'apoptose (comme BAX) et ont pour conséquence de majorer la prolifération cellulaire.

**Figure 6 : Cytogénétique du lymphome de Burkitt.**



La recherche d'une signature spécifique du lymphome de Burkitt a justifié des études d'expression génique d'autant plus importantes que les formes frontières entre le lymphome de Burkitt et les lymphomes B diffus à grandes cellules ne relèvent pas chez l'adulte, de la même stratégie thérapeutique. Ces travaux ont montré un profil d'expression génique particulier du lymphome de Burkitt, toutefois, il met aussi en évidence un spectre avec des aspects intermédiaires entre le lymphome de Burkitt and certains lymphomes B à grandes cellules. [9], [19].

Plus récemment, le rôle des microRNAs, petites molécules régulant l'expression de très nombreux gènes dont celle de l'oncogène c-MYC a été mis en évidence dans le lymphome de Burkitt comme dans d'autres pathologies tumorales, en particulier lymphoïdes [25].

**Pronostic et facteurs prédictifs :** Les localisations méningées et médullaires sont les facteurs pronostiques péjoratifs identifiés tant chez les enfants que chez les adultes atteints de lymphome de Burkitt [13], [34]. La réponse clinique précoce est un facteur de bon pronostic, justifiant chez l'enfant la question d'une réduction possible du traitement [33]. Le pronostic du lymphome de Burkitt associé au SIDA est aggravé par le contexte du déficit immunitaire, toutefois, depuis l'ère des trithérapies et l'utilisation de protocoles de traitement plus intensifs, l'évolution devient plus favorable [20].

**Le traitement** du lymphome de Burkitt repose essentiellement sur des polychimiothérapies intensives et de durée brève. Leur schéma d'administration est globalement similaire chez l'enfant et chez l'adulte. Les drogues préférentiellement utilisées sont le cyclophosphamide, la doxorubicine, la vincristine, l'étoposide, le méthotrexate, la cytarabine, l'ifosfamide et les corticoïdes. L'association des ces drogues est utilisée selon des schémas voisins dans différents protocoles nationaux et internationaux et aboutissent actuellement chez l'enfant pour les Burkitt sporadiques à des taux de réponse à plus de 90% avec des rémissions durables dans plus de 90% chez l'enfant et dans plus de 60% des cas chez l'adulte [13], [33], [34].

Plusieurs principes régissant le traitement du lymphome de Burkitt ont permis d'obtenir ces résultats [13], [30], [34] :

- tous les stades cliniques reçoivent une polychimiothérapie intensive modulée selon les stades cliniques.
- les fortes masses tumorales nécessitent d'être réduites par une chimiothérapie initiale à faibles doses afin de contrôler le syndrome de lyse tumorale lié à la très grande sensibilité des cellules tumorales à la chimiothérapie
- l'association à un traitement intensif du système nerveux central comportant de hautes doses de méthotrexate et des injections intra-thécales est nécessaire.

La problématique de traitement des lymphomes de Burkitt africains reste difficile liée aux conditions socio-économiques et à des difficultés de conduite de traitements intensifs. Cependant, les lymphomes de Burkitt endémiques sont plus sensibles que les lymphomes de Burkitt sporadiques à un traitement monochimiothérapique reposant sur le cyclophosphamide, par ailleurs des protocoles de polychimiothérapie plus intensive ont été conduits dans des pays africains avec des résultats encourageants démontrant la faisabilité de tels traitements [16].

# Bibliographie

---

1. Asnafi V., Buzin A., Le Noir S., Baleyrier F., Simon A., Beldjord K., Reman O., Witz F., Fagot T., Tavernier E., Turlure P., Leguay T., Huguet F., Vernant JP., Daniel F., Béné MC., Ifrah N., Thomas X., Dombret H., Macintyre E. 2009 Notch1/FBXW7 mutation identifies a large subgroup with favorable outcome in adult T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) : a group for research on adult acute lymphoblastic leukemia (GRALL) study. *Blood* 113 : 3918-24.
2. Baleyrier F., Decouvelaere AV., Bergheron J., Gaulard P., Canioni D., Bertrand Y., Lepretre S., Petit B., Dombret H., Beldjord K., Molina T., Asnafi V., Macintyre E. 2008. T cell receptor genotyping and HOXA/TLX1 expression define three T lymphoblastic lymphoma subsets which might affect clinical outcome. *Clin Cancer Res* 14 : 692-700.
3. Bellan C., Lazzi S., Hummel M., Palumbo N., de Santi M., Amato T., Nyagol J., Sabattini E., Lazure T., Pileri SA., Raphael M., Stein H., Tosi P., Leoncini L. 2005. Immunoglobulin gene analysis reveals 2 distinct cells of origin for EBV-positive and EBV-negative Burkitt lymphomas. *Blood*.106 :1031-6.
4. Blum KA., Lozanski G., Byrd JC. 2004 Adult Burkitt leukemia and lymphoma. *Blood* 104 : 3009-20.
5. Borowitz MJ., Chan JKC 2008. Precursor lymphoid neoplasms. In : Swerdlow SH. ; Campo E. ; Harris NL. ; Jaffe ES. ; Pileri SA. ; Stein H. ; Thiele J. ; Bardiman JW. WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. p. 168-178, LYON : IARC press.
6. Burkitt DP. 1958. A sarcoma involving the jaws in African children. *Br J Surg* 46 : 218-223.
7. Burkitt DP. 1962. Children's cancer dependent on climatic factors. *Nature* 194 : 232-234.
8. Chetty R., Pulford K., Jones M., Mathieu-Mahul D., Close P., Hussein S., Pallesen G., Ralfkiaer E., Stein H., Gatter K. *et al.* SCL/Tal1 expression in T-acute lymphoblastic leukemia : an immunohistochemical and genotypic study. *Hum Pathol*, 1995, 26 : 994-998.
9. Dave S., Kai .F, Wright GW., *et al.* 2006 Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N. Engl J. Med* 354 : 2431-2442.
10. Davi F., Delecluse HJ., Guiet P., Gabarre J., Fayon A., Gentilhomme O., Felman P., Bayle C., Berger F., Audouin J., Bryon PA., Diebold J., Raphaël M. 1998 Burkitt like lymphoma in AIDS patients : characterization within a series of 103 HIV-associated NHL. Burkitt's lymphoma study group. *J. Clin Oncol* 16 : 3788-95.
11. Delabesse E., Bernard M., Meyer V., Smit L., Pulford K., Cayuela JM., Ritz J., Bourquelot P., Strominger JL., Valensi F., Macintyre EA. TAL1 expression does not occur in the majority of T-ALL blasts. *Br J. Haematol*, 1998, 102 : 449-457.
12. De Thé G., Geser A., Day NE., Tukey PM., William EH., Beri DP., Smith PG., Dean AG., Bornkamm GW., Feorino P., Henle W 1978. Epidemiological evidence for causal relationship between Epstein-Barr virus and Burkitt's lymphoma from Uganda prospective study. *Nature* 274 : 756-761.
13. Divine M., Casassus P., Koscielny S., Bosq J., Sebban C., Le Maignan C., Stamattoulas A., Dupriez B., Raphaël M., Pico JL., Ribrag V., GELA, GOELAMS. 2005 Burkitt lymphoma in adults : a prospective study of 72 patients treated with an adapted pediatric LMB protocol. *Ann Oncol* 16 : 1928-35.
14. Gloecker Ries LA., Miller BA., Hankey BF. *et al.* 1992. SEER cancer statistics review, 1973-1991. US Department of Health and Human Services, Public Health services. Bethesda National Institute of Health.
- 15 - Gökbüget N., Hoelzer D 2009 Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol* 46 : 64-75.
16. Harif M., Barsaoui S., Benchekroun S., Bouhas R., Dombé P., Khattab M., Ladjaj Y., Moreira C., Msefer-Alaoui F., Patte C., Rakotonirina G., Raphaël M., Raquin MA., Lemerle J. 2008 ; Treatment of B-cell lymphoma with LMB modified protocols in Africa- report of the French African pediatric oncology Group (GFAOP). *Pediatr Blood Cancer* 50 : 1138-42.
17. Harrison CJ. Cytogenetics of paediatric and adolescent acute lymphoblastic leukemia. *Br J. Haematol*, 2008, 144 : 147-156.
18. Hoelzer D., Gökbüget N. 2009. T-cell lymphoblastic lymphoma and T-cell acute lymphoblastic leukemia : a separate entity ? *Clin Lymphoma Myeloma* 9 suppl S214-21.
19. Hummel M., Bentink S., Berger H. *et al.* 2006 A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N. Engl J. Med* 354 : 2419-2430.

20. Kenkre VP., Stock W. 2009 Burkitt lymphoma/leukemia : improving prognosis. *Clin Lymphoma Myeloma* 9 Suppl 3 : S231-8.
21. Khalidi HS., Chang KL., Medeiros LJ., Brynes RK., Slovak ML., Murata-Collins JL., Arber DA. Acute lymphoblastic leukemia. Survey of immunophenotype, French-American-British classification, frequency of myeloid antigen expression, and Karyotypic abnormalities in 210 pediatric and adult cases. *Am J. Clin Pathol*, 1999, 111 : 467-476.
22. Kluin PM., Harris NL., Stein H., Leoncini L., Raphael M., Campo E., Jaffe ES 2008. B cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B cell lymphoma and Burkitt lymphoma. In : Swerdlow SH. ; Campo E. ; Harris NL. ; Jaffe ES. ; Pileri SA. ; Stein H. ; Thiele J. ; Bardiman JW. WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. p. 265-266, LYON : IARC press.
23. Larson RA., Dodge RK., Burns CP., Lee EJ., Stone RM., Schulman P., Dugan FR., Davey FR., Sobol RE., Frankel SR. *et al.* 1995. A five drug remission induction regimen with intensive consolidation for adults with acute lymphoblastic leukemia : cancer and leukemia group B study 8811. *Blood* 15 : 2025-37.
24. Leoncini L., Raphael M., Stein H., Harris NL., Jaffe ES., Kluin PM 2008. Burkitt Lymphoma. In : Swerdlow SH. ; Campo E. ; Harris NL. ; Jaffe ES. ; Pileri SA. ; Stein H. ; Thiele J. ; Bardiman JW. WHO Classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. p. 262-264, LYON : IARC Press.
25. Leucci E., Cocco M., Onnis A., De Falco G., Van Cleef P., Bellan C., Van Rijk A., Nyagol J., Byakika B., Lazzl S., Tosi P., Van Krieken H., Leoncini L. 2008. MYC translocation-negative classical Burkitt lymphoma cases : an alternative pathogenetic mechanism involving miRNA deregulation. *J. Pathol.* 216 : 440-450.
26. Lin P., Jones D., Dorfman DM., Medeiros LJ. 2000. Precursor B-cell lymphoblastic lymphoma : a predominantly extranodal tumor with low propensity for leukemic involvement. *Am J. Surg Pathol* 24 : 1480-1490.
27. Lin YW., Beharry ZM., Hill EG., Song JH., Wang W., Xia Z., Zhang Z., Aplan PD., Aster JC., Smith CD., Kraft AS., 2009. A small molecule inhibitor of Pim protein kinases blocks the growth of precursor T-cell lymphoblastic/lymphoma. *Blood* 23 Epub Ahead of print.
28. Magrath I. 1990 The pathogenesis of Burkitt's lymphoma. *Adv Cancer Res* 55 : 128-134.
29. Magrath I. 1991 African Burkitt's lymphoma : History, biology, clinical features and treatment. *Am J pediatric Hematol Oncol* 13 : 222-246.
30. Magrath IT., Janus C., Edwards BK., Spiegel R., Jaffe ES., Berard CW., Miliuskas J., Morris K., Bamwell . 1984 An effective therapy for both undifferentiated (including Burkitt's lymphomas and lymphoblastic lymphomas) in children and young adults. *Blood* 63 : 1102-1111.
31. Maitra A., McKenna RW., Weinberg AG., Schneider NR., Kroft SH. 2001. Precursor B-cell lymphoblastic lymphoma. A study of nine cases lacking blood and bone marrow involvement and review of the literature. *Am J. Clin Pathol* 115 : 868-875.
32. Navid F., Mosijczuk AD., Head DR., Borowitz MJ., Carroll AJ., Brandt JM., Link MP., Rozans MK., Thomas GA., Schwenn MR., Shields DJ., Vietti TJ., Pullen DJ. 1999. Acute lymphoblastic leukemia with the (8;14)(q24;q32) translocation and FAB L3 morphology associated with a B-precursor immunophenotype: the Pediatric Oncology Group experience. *Leukemia* : 13:135-141.
33. Patte C., Auperin A., Gerrard M., Michon J., Pinkerton R., Sposto R., Weston C., Raphaël M., Perkins SL., McCarthy K., Cairo M FAB/LMB International Study Committee. 2007 Results of the randomized international FAB/LMB96 trial for intermediate risk B-cell non Hodgkin lymphoma in children and adolescents : it is possible to reduce treatment for the early responding patients. *Blood* 109 : 2773-80.
34. Patte C., Auperin A., Michon J., Behrendt H., Leverger G., Frappaz D., Lutz P., Coze C., Perel Y., Raphaël M., Terrier-Lacombe MJ., Société Française d'Oncologie Pédiatrique. 2001 The Société Française d'Oncologie Pédiatrique LMB89 protocol : highly effective multiagent chemotherapy tailored to the tumor burden and initial response in 561 unselected children with B-cell lymphoma and L3 leukemia. *Blood* 97 : 3370-9.
35. Pear WS., Aster JC. 2004 T-cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma : a human cancer commonly associated with aberrant NOTCH1 signaling. *Curr Opin Hematol* 11 : 426-33.
36. Pillozzi E., Pulford K., Jones M., Muller-Hermelink HK., Falini B., Ralfkiaer E., Pileri S., Pezzella F., Wolf-Peeters C., Arber D., Stein H., Mason D., Gatter K. 1998. Co-expression of CD79a (JCB117) and CD3 by lymphoblastic lymphoma. *J. Pathol* 186 : 140-143.

37. Pillozzi E., Muller-Hermelink HK., Falini B., Wolf-Peeters C., Fidler C., Gatter K., Wainscoat J. 1999. Gene rearrangements in T-cell lymphoblastic lymphoma. *J Pathol* 188 : 267-270.
38. Raphaël M., Gentilhomme O., Tulliez M., Bryon PA., Diebold J. 1991 ; Histopathologic features of high grade non Hodgkin's lymphomas in acquired immunodeficiency syndrome. The French study group of pathology for HIV-associated tumors. *Arch Pathol Lab Med*, 115 : 15-20.
39. Rochford R., Cannon MJ., Moomann AM. 2005 Endemic Burkitt lymphoma : a polymicrobial disease. *Nat Rev Microbiol* 3 : 182-187.
40. Reiter A., Schrappe M., Ludwig WD., Tiemann M., Parwaresh R., Zimmerman M., Schirg E., Henze G., Schellong G., Gadner H., Riehm H 2000. Intensive ALL-type therapy without local radiotherapy provides a 90% event free survival for children with T-cell lymphoblastic lymphoma : a BFM group report. *Blood* 95 : 416-21.
41. Shafer D., Wu H., Al-Saleem T., Reddy K., Borghaei H., Lessin S., Smith M. 2008 Cutaneous precursor B-cell lymphoblastic lymphoma in 2 adult patients : clinicopathologic and molecular cytogenetic studies with a review of the literature. *Arch Dermatol* 144 : 1155-62.
42. Shiramizu B., Barriga F., Neequaye J., Jafri A., Dalla-Favera R., Neri A., Gutierrez M., Levine P., Magrath I. 1991 Patterns of chromosomal breakpoints locations in Burkitt's lymphoma : relevance to geography and Epstein-Barr virus association. *Blood* 77 : 1516-26.
43. Sweetenham JW. 2009. Treatment of lymphoblastic lymphoma in adults. *Oncology* 23 : 1015-20.
44. Szczepanski T., Pongers-Willems MJ., Langerak AW., Harts WA., Wijkhuijs AJ., van Wering ER., van Dongen JJ. 1999 ; Ig heavy chain gene rearrangements in T-cell acute lymphoblastic leukemia exhibit predominant DH6-19 and DH7-27 gene usage, can result in complete V-D-J rearrangements, and are rare in T-cell receptor alpha beta lineage. *Blood* : 93 : 4079-4085.
45. Tao Q., Robertson KD., Manns A., Hildesheim A., Ambinder RF 1998. Epstein-Barr virus (EBV) in endemic Burkitt's lymphoma : molecular analysis of primary tumor tissue. *Blood* 91 : 1373-81.
46. Thorley-Lawson DA., Gross A. 2004 Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas. *N. Engl J. Med* 350 : 1328-37.
47. Van der Velden VH., Bruggemann M., Hoogeveen PG., de Bie M., Hart PG., Raff T., Pfeifer H., Luschen S., Szczepanski T., van Wering ER., van Dongen JJ. 2004 TCRB gene rearrangements in childhood and adult precursor-B-ALL : frequency, applicability as MRD-PCR target, and stability between diagnosis and relapse. *Leukemia* 18 : 1971-1980.
48. Weng AP., Millholland JM., Yashiro-Ohtani Y., Arcangeli ML., Lau A., Wai C., Del Bianco C., Rodriguez CG., Sai H., Tobias J., Li Y., Wolfe MS., Shachaf C., Flesher D., Blacklow SC., Pear WS., Aster JC. 2006. C-Myc is an important direct target of NOTCH1 in T-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma. *Genes Dev* 20 : 2096-2109.



# **Les lymphomes à cellules du manteau**

**Catherine Thieblemont**

**CHAPITRE IX**

# Introduction

---

Le lymphome à cellules du manteau (LCM) est une hémopathie lymphoïde B décrite pour la première fois il y a une trentaine d'années par K. Lennert, et défini comme lymphome de type centrocytique dans la classification de Kiel, intégré dans la classe E dans la Working Formulation, puis finalement nommé « LCM », terme accepté comme une entité propre seulement à partir du début des années 90 lorsque la translocation t(11 ; 14)(q13 ; q32) a été retrouvée constamment présente dans ce type de lymphome [1], [3].

## Incidence et mortalité

Le LCM représente entre 5 à 10 % des lymphomes malins non-hodgkiniens [4]. La prévalence est estimée à 3 cas pour 100 000 habitants par an. On notera que l'incidence augmente régulièrement plus que celle des autres lymphomes. La médiane d'âge au diagnostic est comprise entre 60 et 65 ans avec une nette prédominance masculine (sex-ratio de 4 pour 1).

## Histologie et physiopathologie

Le diagnostic repose sur la caractérisation de la cellule tumorale au plan morphologique, immunophénotypique et cytogénétique soit au moyen d'une biopsie ganglionnaire, d'une biopsie osseuse et/ou d'un prélèvement sanguin voire médullaire.

Il est admis que la cellule tumorale dérive d'une cellule B naïve qui n'a pas subi de mutation somatique, entourant le centre germinatif et remplaçant les cellules de la zone du manteau. Classiquement, la cellule tumorale exprime fortement les marqueurs B (CD19 ; CD20 ; CD79b), une immunoglobuline (Ig) de surface d'isotype mu lambda (plus souvent que kappa), FMC7, CD5, CD38, Bcl-2 mais pas (ou faiblement) CD23, ni CD10 et Bcl-6 [5].

Sans être spécifique du LCM, la translocation réciproque entre les chromosomes 11 et 14 (t(11 ; 14)(q13 ; q32)) est une caractéristique de cette entité. Cette translocation juxtapose le gène CCND1 au gène codant pour la chaîne lourde des Ig entraînant l'augmentation de l'expression de la cycline D1 (qui correspond à la positivité de l'expression de Bcl-1 en immunohistochimie). L'hyperexpression de cette protéine aboutit à la dérégulation du cycle cellulaire favorisant l'entrée en cycle des cellules. Plus récemment, il a été démontré que le dérèglement de l'expression de la cycline D1 pouvait être absent dans quelques rares cas et remplacé par le dérèglement de l'expression de la cycline D2 ou D3 [6]. Cette dérégulation de l'expression de la cycline D1 est à elle seule insuffisante pour induire une prolifération lymphomateuse. D'autres événements génétiques sont donc nécessaires pour aboutir à l'apparition du LCM, tels la perte génétique de gènes suppresseurs de tumeurs (ATM, CDKN21, TP53), et les gains d'oncogènes (MYC, SYK, BCL2) [7], [9].

Sur le plan histologique, la prolifération tumorale peut être soit nodulaire, témoignant de la prolifération de la zone du manteau, soit diffuse. Au plan cytologique, la forme classique (80%) est constituée de cellules tumorales très hétérogènes, de taille petite à moyenne avec un noyau irrégulier, à chromatine lâche.

Plusieurs formes variantes sont individualisées. Il est reconnu 2 formes variantes à petites cellules (5%) : une variante lymphocytoïde, mimant une LLC et une variante monocytoïde, ressemblant aux lymphomes de la zone marginale. Il est reconnu 2 variantes blastoïdes (5%) : une forme blastoïde classique avec des cellules ressemblant aux lymphoblastes et une forme blastoïde pléomorphe avec des cellules de grande taille.

Au sein de la classification OMS [5], le LCM est donc une entité bien caractérisée, tout en lui reconnaissant des variantes reflétant une certaine hétérogénéité.

## Présentation clinique et biologique

Considéré initialement comme un lymphome de bas grade, l'histoire naturelle du LCM diffère des lymphopathies indolentes par une survie plus courte, puisque sa médiane est de 5 ans [10].

Dans plus de 75 % des cas, le bilan d'extension va retrouver un stade disséminé d'Ann Arbor. Il faut noter la fréquence des atteintes extra-ganglionnaires avec une prédominance pour la moelle osseuse, la rate, le tube digestif, la sphère ORL, et le foie. L'envahissement médullaire est retrouvé dans 55 à 80% des cas. Les présentations leucémiques inaugurales sont fréquentes (10 à 20% des cas) et des cellules anormales circulantes sont mises en évidence chez plus de 60% des patients. L'atteinte digestive est à rechercher systématiquement en cas de symptomatologie évocatrice. Elle est présente dans environ 20% des cas. Dans le cadre d'une recherche systématique, ce pourcentage monte à 60 %. Le syndrome tumoral comprend une splénomégalie dans la moitié des cas. D'autres localisations sont plus rares (5 % environ) : système nerveux central, peau, sein, poumon. Associée parfois à des fortes masses tumorales de plus de 7 cm (un tiers des cas), la moitié des patients décrit des symptômes B avec une altération plus ou moins importante de l'état général.

Il existe aussi des variantes cliniques avec absence de syndrome tumoral au diagnostic et uniquement une atteinte médullo-sanguine, le plus souvent associée à une splénomégalie. À l'inverse des formes tumorales, cette dernière présentation aurait une évolution plus indolente, et l'un des marqueurs associé à cette forme serait une hyperexpression de SOX11 [11]. À l'inverse, la forme blastoïde est clairement plus défavorable.

Sur le plan biologique, la présence d'un clone tumoral circulant est rapportée dans 20 à 50 % des cas avec une hyperlymphocytose pour 20% des cas. Les LDH et la bêta2-microglobuline sont augmentés pour plus de la moitié des patients. L'anémie est présente dans 40% des cas. La thrombopénie reste souvent modérée. Une Ig monoclonale dans le sérum, une hypogammaglobulinémie ou encore un test de Coombs positif sont présents chez moins de 10% des patients.

## Facteurs pronostiques

Quel index pronostique utiliser dans le LCM ? La moitié des patients ont un score IPI égal ou supérieur à 2 au diagnostic, avec un impact réel difficile à appréhender. La pertinence de l'IPI reste donc sujet à discussion. Le dernier index en date (MIPI) a été proposé par le groupe allemand qui retient 4 paramètres : l'âge, le score ECOG, le taux de LDH et le taux de leucocytes. L'indice de prolifération avec une évaluation immunohistochimique du marqueur Ki67, semble le paramètre le plus prédictif [12].

## Prise en charge thérapeutique

Le classique CHOP et ses adaptations ont été largement utilisés. Il semble raisonnable de situer le taux de réponse d'environ 70 % avec cette chimiothérapie. La durée médiane de la survie sans progression est d'environ 2 ans. Les différentes approches comprenant des anthracyclines (CHOP, CHOP-like ou fludarabine-anthracycline) sont globalement décevantes et ne permettent de maintenir en rémission qu'un faible nombre de patients. En ajoutant le rituximab au CHOP, le taux de rémission complète (RC) monte à plus de 30%. On notera cependant l'absence d'amélioration de la durée médiane de la survie sans progression ce qui pose la question de la prolongation de la réponse et celle de la qualité de cette réponse même avec du rituximab [13], [14]. En première rechute, une étude a comparé FCM (fludarabine, cyclophosphamide et mitoxantrone) versus R-FCM [15] ; elle donne de nouveau avantage au groupe R-FCM avec un taux de RC de 29 % contre 0 % dans le bras sans rituximab. La survie globale est plus longue avec rituximab que sans, car la médiane de survie n'est pas atteinte dans le bras R-FCM contre 11 mois dans le bras FCM. L'importance du rituximab dans cette pathologie reste un sujet de controverse pour certains auteurs.

Une autre approche consiste à favoriser l'utilisation de l'aracytine. L'efficacité de l'aracytine a été évaluée par plusieurs groupes [16], [17]. Après 4 cycles de CHOP et 4 cures de DHAP, le taux de RC augmente à 84 % [17]. À dose plus importante, la cytarabine a été évaluée dans un schéma R-hyper-CVAD (aracytine, cyclophosphamide, adriamycine, méthotrexate, rituximab, dexaméthasone et vincristine) permettant d'obtenir un taux de RC de 87 % en première ligne et une survie globale de 82 % à 3 ans [16]). Cependant, la toxicité de ce schéma thérapeutique pose la question de sa faisabilité chez tous les patients. D'autres arguments plaident en faveur de l'aracytine comme les études de maladie résiduelle par les techniques de biologie moléculaire [18]. Parmi les facteurs permettant d'obtenir une rémission moléculaire, les allemands ont démontré l'intérêt de l'utilisation de l'aracytine lors des séquences thérapeutiques d'induction. À l'inverse, l'utilisation d'anthracycline n'apparaît pas comme un marqueur pronostic. Le bortézomib (Velcade®) est surtout utilisé en rechute et la bendamustine semble associer efficacité et tolérance. La radio-immunothérapie constitue aussi une piste prometteuse. Autres pistes, les immunomodulateurs (comme le thalidomide ou le lénalidomide) ou encore les inhibiteurs de mTOR qui sont aussi en évaluation.

Comme nous l'avons vu, la RC peut être obtenue avec une polychimiothérapie classique, mais elle ne se prolonge pas. Pour les patients les plus jeunes, il est donc recommandé de consolider cette réponse par une chimiothérapie à forte dose suivie d'une autogreffe de cellules souches [19]. Au terme de cette procédure, le taux de RC post-autogreffe est supérieur à 80 %. Dans une situation d'autogreffe en première ligne et en première rémission, il a été démontré que la survie globale était de 87 % à 3 ans et

de 62 % à 5 ans [20]. La supériorité d'une approche chimiothérapie avec autogreffe a démontré sa supériorité en terme de survie sans progression par comparaison à un traitement de maintenance par interféron : 39 mois versus 17 mois ( $p=0.018$ ). Plus récemment, le groupe nordique a confirmé la supériorité de l'autogreffe vis-à-vis d'une approche basée uniquement sur la polychimiothérapie [21]. Il n'y a pas de standard dans le conditionnement de la greffe. L'irradiation corporelle totale est le conditionnement de référence, mais le BEAM, de moindre toxicité, est de plus en plus utilisé.

Pour finir sur les approches intensives, un mot sur l'allogreffe qui du fait de sa toxicité reste une option réservée aux patients en rechute [22]. Les conditionnements atténués sont en cours d'évaluation.

En conclusion de ce chapitre, on retiendra que les patients doivent être orienté vers une séquence de polychimiothérapie (en favorisant l'utilisation de l'aracytine) + rituximab en induction puis une consolidation pour les plus jeunes par une autogreffe des cellules souches. Un traitement d'entretien n'est pas à conseiller en dehors d'un essai clinique.

## Evolution et surveillance

L'évaluation de fin de traitement dans les LCM ne varie pas de celle des autres lymphomes. La place de la scintigraphie TEP au  $^{18}\text{F}$ Fluorodéoxyglucose ( $^{18}\text{FDG}$ ) n'est pas définie. Selon les dernières recommandations, il n'est pas recommandé de faire une  $^{18}\text{FDG}$  au diagnostic ni en fin de traitement. Comme pour les autres lymphomes, une surveillance post-traitement par  $^{18}\text{FDG}$  ne se justifie pas. Au cours du suivi, on gardera en mémoire que le LCM est une pathologie qui rechute et que cette rechute intervient souvent tardivement après plusieurs années de rémission. Une surveillance régulière sur plusieurs années s'impose donc.

## Perspectives de recherche

Plusieurs études Françaises ou Européennes sont actuellement en cours, notamment dans le cadre du European MCL Network (<http://www.european-mcl.net>). Citons au niveau européen, une étude de phase III comparant 6 cycles de R-CHOP-21 à 6 cycles d'une alternance R-CHOP/R-DHAP chez des patients de moins de 65 ans. Les patients répondeurs reçoivent ensuite en consolidation une intensification thérapeutique par autogreffe. Pour les patients de plus de 65 ans, 6 cycles de R-CHOP-21 sont comparés à 6 cycles de R-FC. Au niveau Français, le bortézomib est aussi évalué en première ligne. Si les traitements actuels permettent d'obtenir des taux élevés de RC y compris au niveau moléculaire, il n'en demeure pas moins que les rechutes fréquentes témoignent de la persistance du clone tumoral. La question du traitement d'entretien se pose donc clairement. Les Allemands ont longtemps favorisé l'utilisation de l'interféron sans grand résultat, d'autres options doivent donc être évaluées et notamment le rituximab qui sera évalué dans un essai clinique de phase III (LyMa). En parallèle se pose la question d'un suivi moléculaire des patients dont on sait qu'il peut prédire une rechute. La place de  $^{18}\text{FDG}$  nécessite aussi d'être étudiée de manière prospective.

A plus ou moins long terme, la meilleure compréhension que nous avons de la physiopathologie du LCM ouvrira de nouvelles perspectives thérapeutiques par l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques agissant sur le cycle cellulaire, la restauration de l'apoptose ou encore les mécanismes de réparation de l'ADN.

# Bibliographie

---

1. Banks P., Chan J., Cleary M., *al. e.* Mantle cell lymphoma : a proposal for unification of morphologic, immunologic, and molecular data. *Am J surg Pathol.* 1992 ; 16 : 637-640.
2. Rosenberg CL., Wong E., Petty EM., *et al.* PRAD1, a candidate BCL1 oncogene : mapping and expression in centrocytic lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 ; 88 : 9638-9642.
3. Vandenberghe E., De Wolf-Peeters C., van den Oord J., *et al.* Translocation (11;14) : a cytogenetic anomaly associated with B-cell lymphomas of non-follicle centre cell lineage. *J. Pathol.* 1991 ; 163 : 13-18.
4. Campo E., Raffeld M., Jaffe ES. Mantle-cell lymphoma. *Semin Hematol.* 1999 ; 36 : 115-127.
5. Swerdlow S., Campo E., Seto M., Muller-Hermelink H. Mantle cell lymphoma. In : IARC, ed. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissue. Lyon, France : IARC ; 2008 : 229-232.
6. Rosenwald A., Wright G., Wiestner A., *et al.* The proliferation gene expression signature is a quantitative integrator of oncogenic events that predicts survival in mantle cell lymphoma. *Cancer Cell.* 2003 ; 3 : 185-197.
7. Jares P., Colomer D., Campo E. Genetic and moléculaire pathogenesis of mantle cell lymphoma : perspectives for new targeted therapeutics. *Nat Review.* 2007 : 75-81.
8. Martinez N., Camacho FI., Algara P., *et al.* The molecular signature of mantle cell lymphoma reveals multiple signals favoring cell survival. *Cancer Res.* 2003 ; 63 : 8226-8232.
9. Thieblemont C., Nasser V., Felman P., *et al.* Small lymphocytic lymphoma, marginal zone B-cell lymphoma, and mantle cell lymphoma exhibit distinct gene-expression profiles allowing molecular diagnosis. *Blood.* 2004 ; 103 : 2727-2737.
10. Ghielmini M., Zucca E. How I treat mantle cell lymphoma. *Blood.* 2009 ; 114 : 1469-1476.
11. Salaverria I., *al. e.* Sox 11 in Indolent MCL. European MCL network. Jérusalem ; 2009.
12. Hoster E., Dreyling M., Klapper W., *al. e.* A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood.* 2008 ; 111.
13. Howard OM., Gribben JG., Neuberg DS., *et al.* Rituximab and CHOP induction therapy for newly diagnosed mantle-cell lymphoma : molecular complete responses are not predictive of progression-free survival. *J Clin Oncol.* 2002 ; 20 : 1288-1294.
14. Coiffier B., Haioun C., Ketterer N., *et al.* Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) for the treatment of patients with relapsing or refractory aggressive lymphoma : a multicenter phase II study. *Blood.* 1998 ; 92 : 1927-1932.
15. Forstpointner R., Dreyling M., Repp R., *et al.* The addition of rituximab to a combination of fludarabine, cyclophosphamide, mitoxantrone (FCM) significantly increases the response rate and prolongs survival as compared with FCM alone in patients with relapsed and refractory follicular and mantle cell lymphomas : results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood.* 2004 ; 104 : 3064-3071.
16. Khouri IF., Romaguera J., Kantarjian H., *et al.* Hyper-CVAD and high-dose methotrexate/cytarabine followed by stem-cell transplantation : an active regimen for aggressive mantle-cell lymphoma. *J. Clin Oncol.* 1998 ; 16 : 3803-3809.
17. Lefrère F., Delmer A., Suzan F., *et al.* Sequential chemotherapy by CHOP and DHAP regimens followed by high-dose therapy with stem cell transplantation induces a high rate of complete response and improves event-free survival in mantle cell lymphoma : a prospective study. *Leukemia.* 2002 ; 16 : 587-593.
18. Pott C., *al. e.* Quantitative assessment of molecular remission after high-dose therapy with autologous stem cell transplantation predicts long-term remission in mantle cell lymphoma. *Blood.* 2006 ; 107 : 2271-2278.
19. Ketterer N., Salles G., Espinouse D., *et al.* Intensive therapy with peripheral stem cell transplantation in 16 patients with mantle cell lymphoma. *Ann Oncol.* 1997 ; 8 : 701-704.
20. Delarue R., Haioun C., Ribrag V., *al e.* RCHOP and RDHAP followed by autologous stem cell transplantation (ASCT) in mantle cell lymphoma (MCL) : final results of a phase II study from the GELA. *Blood.* 2008 ; 112 : 218 - Abstract 581.
21. Geisler C., Kolstad A., Laurell A., *al e.* Long-term remission in mantle-cell lymphoma following high-dose sequential chemotherapy and in vivo rituximab-purged stem cell autografting (R-HDS) regimen. *Blood.* 2008 ; 1012 : 749-755.
22. Haas R., Brittinger G., Meusers P., *et al.* Myeloablative therapy with blood stem cell transplantation is effective in mantle cell lymphoma. *Leukemia.* 1996 ; 10 : 1975-1979.

# **Les lymphomes folliculaires**

**Gilles Salles**

**CHAPITRE X**

En constituant la deuxième entité la plus fréquente parmi les lymphomes, le lymphome folliculaire représente environ 2 à 3000 nouveaux cas par an en France. C'est un des types histologiques de lymphome les mieux caractérisés sur le plan morphologique, immunologique et moléculaire. Des données récentes sont venues compléter les connaissances acquises sur cette tumeur, avec la perspective d'une compréhension plus globale de la biologie des cellules tumorales et de leur micro-environnement. Le traitement a été modifié ces 10 dernières années avec l'introduction des anticorps anti-CD20 utilisés seuls ou en association avec la chimiothérapie, et l'espérance de vie des patients a significativement augmenté. Ainsi, si ce lymphome indolent reste considéré comme incurable, ces progrès permettent à nombre de patients de bénéficier de rémission durables et la qualité de vie devient un objectif thérapeutique à côté de ceux reflétant l'efficacité des traitements et l'amélioration de l'espérance de vie.

## Les aspects cliniques et biologiques du diagnostic

L'âge moyen de survenue du lymphome folliculaire se situe entre 60 et 65 ans avec un sex ratio voisin de 1 [1], [2]. La présentation clinique des patients est variable, mais de nombreux patients se présentent avec un tableau d'adénopathies superficielles de volume modéré, évoluant depuis plusieurs mois (parfois années), sans symptômes d'accompagnement. Chez d'autres patients, des manifestations symptomatiques abdominales (douleurs atypiques, troubles digestifs ou urinaires, ...) révèlent une masse rétropéritonéale ou mésentérique. L'état général est conservé chez la grande majorité ( $\approx 95\%$ ) des patients et les signes généraux (fièvre, sueurs nocturnes, amaigrissement) ne sont rencontrés que chez un patient sur 8. Sur le plan biologique, une élévation des LDH est présente chez environ un patient sur 4 et une anémie chez un patient sur 5. De très rares patients présentent un envahissement sanguin au diagnostic, reconnaissable sur l'hémogramme et l'immunophénotype. Il peut enfin exister sur l'électrophorèse des protéines une hypogammaglobulinémie modérée, ou un composant monoclonal de faible taux.

Le diagnostic de lymphome folliculaire doit être porté sur une biopsie ganglionnaire qui permet d'étudier l'architecture typique de cette prolifération [3]. Les localisations extra-ganglionnaires au diagnostic sont d'ailleurs exceptionnelles, en dehors des rares lymphomes folliculaires cutanés vrais (à distinguer des autres formes de lymphomes cutanés à petites cellules B) et des lymphomes folliculaires digestifs. L'organisation typique en follicule de la prolifération de petites (centrocytes) et/ou de grandes cellules (centroblastes) permet un diagnostic relativement aisé, même s'il peut exister quelques plages diffuses. Les problèmes particuliers sont aussi représentés par les formes fibrosantes, notamment lorsque les biopsies sont de petite taille. Le diagnostic différentiel, avec d'une part les hyperplasies folliculaires et d'autre part les autres lymphomes à petites cellules B, est en général résolu par l'étude immunohistochimique qui montre la positivité des cellules tumorales pour les antigènes CD20 et CD10, la présence dans les cellules tumorales des protéines bcl-2 et bcl-6, l'absence constante de l'expression du CD5 et du CD43, et met en évidence le réseau de cellules folliculaires dendritiques associé à la prolifération. Le grade histologique défini en fonction de la proportion de grandes cellules n'est pas toujours très reproductible, et son intérêt clinique et pronostique reste discutable. Il faut cependant bien distinguer les lymphomes folliculaires dits de grade 3b, où la prolifération de grandes cellules s'organise en plages diffuses, qui sont à rapprocher des lymphomes B à grandes cellules et doivent être traités comme tels.

## Vers une meilleure compréhension de la pathogénèse du lymphome folliculaire

La translocation t(14;18)(q32;q21) - ou ses variantes t(2 ;18) et t(18 ;22) - qui réarrange le gène BCL2 en aval du gène de la chaîne lourde (ou légères pour les translocations variantes) des immunoglobulines (IGH), conduit généralement à l'hyper-expression de la protéine anti-apoptotique bcl-2 qui protège ainsi ces cellules de signaux physiologiques conduisant à la mort cellulaire. Si ces anomalies chromosomiques sont retrouvées dans 80 à 95% des cas de lymphomes folliculaires, elles ne sont pas pathognomoniques de cette affection. La translocation t(14 :18) peut en effet être rencontrée dans 20% à 30% des cas de lymphomes B à grandes cellules, et très rarement - sous une forme moléculaire variante - dans la leucémie lymphoïde chronique. Par ailleurs, la présence de cette translocation dans des cellules B non tumorales est clairement établie, soit dans un tissu lymphoïde réactionnel, soit dans le sang circulant où elle est détectable à une fréquence très faible (1 parmi 100 lymphocytes B) chez l'individu sain [4]. D'autres anomalies chromosomiques peuvent être rencontrées dans le tissu tumoral, parfois associées à un pronostic péjoratif (délétions 17p, 9p ou 6q et amplifications en 18q) ou à une transformation histologique : elles témoignent également de l'évolution clonale parfois hétérogène de ce lymphome [5].

Récemment, l'étude des profils d'expression géniques dans le lymphome folliculaire a révélé de nouvelles facettes de cette maladie, soulignant le rôle important du micro-environnement cellulaire dans son développement. Ainsi, deux signatures transcriptomiques retrouvées dans les ganglions au diagnostic ont pu être associées au pronostic des patients [6]. L'une d'elle est d'impact pronostic favorable et comprend une représentation de gènes exprimés dans certains lymphocytes T et monocytes tandis que l'autre semble « défavorable » et comprend des gènes exprimés notamment dans certains macrophages activés. D'autres données moléculaires ou immuno-histochimiques sont venues corroborer ces résultats [7], [9], bien que de nombreux éléments fassent encore défaut pour expliquer précisément la manière précise dont s'organisent ces interactions cellulaires. Il est de plus prématuré d'utiliser ces données pour prédire le pronostic clinique des patients, car d'une part elles demeurent difficiles à calibrer pour des études immuno-histochimiques et d'autre part leur impact semble variable en fonction des thérapeutiques reçues par les patients.

Ainsi, la caractérisation plus fine des cellules avec un réarrangement IGH-BCL2 rencontrées chez l'individu sain et les données récentes de la génomique permettent d'esquisser un modèle dans lequel des cellules porteuses de cette anomalie pourraient se nicher dans un micro-environnement favorable, puis se développer vers un authentique lymphome soit du fait des modifications de cet environnement, soit du fait de l'acquisition d'aberrations moléculaires complémentaires.

## Facteurs pronostiques et décisions thérapeutiques

Dans les années 1990, plusieurs paramètres cliniques pronostiques ont été identifiés et un effort international a permis d'établir un index spécifique du lymphome folliculaire, prédictif de la probabilité de survie, le FLIPI. Cet index [10] est fondé sur 5 facteurs cliniques simples et indépendants et permet de répartir les patients en 3 groupes de taille équilibrée, dont l'espérance de vie varie de manière significative (Tableau 1). Cet index est relativement simple, mais la définition du nombre d'aires ganglionnaires

atteintes n'est pas toujours facile à évaluer. Plus récemment [2], un index « FLIPI-2 » a été développé chez des patients recevant ou non du rituximab, en vue de prédire la survie sans progression. Le nombre d'aires ganglionnaires atteintes est remplacé par la taille de la tumeur (moins ou plus de 6 cm), le taux de LDH par celui de la  $\beta$ 2-microglobuline, et le stade par l'atteinte médullaire, tandis que l'âge et l'anémie sont conservés (tableau 2).

Ces index sont très utiles pour comparer des séries de patients dans des essais thérapeutiques et pourraient être utilisés demain pour la décision thérapeutique. Mais les critères cliniques et biologiques simples tels que l'évaluation de la masse tumorale (faible ou forte) développés pour les essais cliniques depuis le GELF-86 restent aussi couramment utilisés pour savoir chez quels patients il est nécessaire de débiter un traitement (tableau 3).

**Tableau 1 : Prédiction de la survie des patients avec un lymphome folliculaire avec l'index FLIPI (établi avant l'utilisation des anticorps monoclonaux) [10]**

Nombre de facteurs de risque *	score FLIPI	Proportion de patients	Survie globale	
			à 5 ans	à 10 ans
0 or 1	Faible	36%	91%	71%
2	Intermédiaire	37%	78%	51%
3 à 5	Elevé	27%	53%	36%

\* Facteurs associés à un pronostic défavorable selon l'index FLIPI : âge de plus de 60 ans ; stade Ann Arbor III ou IV ; nombre de sites ganglionnaires envahis supérieurs à 4 ; lactico-déshydrogénase (LDH) sérique supérieure à la normale ; et hémoglobine inférieure à 12 g/dL. Adapté selon [10].

**Tableau 2 : Prédiction de la survie des patients avec un lymphoma folliculaire avec l'index FLIPI-2 (59% des 942 patients avaient reçu du rituximab) [2].**

Nombre de facteurs de risque *	score FLIPI	Proportion de patients	Survie sans progression	
			à 3 ans	à 5 ans
0	Faible	20%	91%	80%
1 ou 2	Intermédiaire	53%	69%	51%
3 à 5	Elevé	27%	51%	19%

\* Facteurs associés à un pronostic défavorable selon l'index FLIPI-2 : âge de plus de 60 ans ; envahissement médullaire ; plus grande dimension de la plus grosse adénopathie > 6cm ;  $\beta$ 2-microglobuline supérieure à la normale ; hémoglobine inférieure à 12 g/dL. Adapté selon [2]

**Tableau 3 : Critères de mise en place d'un traitement cytotoxique chez les patients atteints de lymphome folliculaire.**

<b>Critères du GELF adaptés (dans les essais FL2000 et PRIMA) : présence d'au moins un de ces critères</b>
Forte masse tumorale définie par l'un des critères suivants : <ul style="list-style-type: none"><li>- une tumeur &gt; 7 cm</li><li>- 3 ganglions dans 3 aires distinctes, chacun &gt; 3 cm</li><li>- splénomégalie symptomatique</li><li>- compression d'organe</li><li>- ascite ou épanchement pleural</li></ul>
Présence de symptômes systémiques de la série « B »
Index de performance selon l'échelle ECOG > 1*
LDH sérique ou $\beta$ 2-microglobuline au-delà des valeurs normales

\* Utilisé dans l'essai FL2000 mais pas dans PRIMA, du fait du faible nombre de patient avec ce critère isolé.

## **Quels sont les objectifs du traitement de première ligne des patients ?**

Le lymphome folliculaire est une maladie chronique et indolente et peu de progrès avaient été réalisés jusqu'aux années 1990. Du fait des toxicités relatives des différentes stratégies, de la possibilité de retarder la mise en route d'un traitement chez certains patients, les objectifs du traitement de première ligne étaient habituellement considérés comme ceux d'un contrôle de la maladie, sans nécessairement passer par l'obtention d'une rémission complète. On pouvait donc utiliser séquentiellement différents traitements d'efficacité croissante, tout en préservant une qualité de vie optimale. Des données récentes obtenues par l'analyse à long terme de certains essais cliniques, par l'observation des données des combinaisons d'immuno-chimiothérapie, ou des données de suivi moléculaire sont venues remettre en question ces habitudes [11]. Ainsi, l'obtention d'une réponse complète voire moléculaire semble associée à une amélioration du pronostic. Il est également possible que le PET-scanner vienne étayer prochainement cette évaluation de la réponse. Dans ce contexte, lorsque le premier traitement est mis en œuvre, il doit viser à obtenir le meilleur résultat thérapeutique possible, réponse complète ou réponse complète incertaine. Ceci est bien sûr à moduler en fonction de l'âge et des comorbidités éventuelles du patient, de ses souhaits propres, des caractéristiques évolutives de la maladie, et doit faire l'objet d'une décision collective établie en réunion de concertation pluridisciplinaire.

## **Quelles sont les stratégies thérapeutiques utilisées en première ligne ?**

A l'issue du bilan d'extension classique et de l'évaluation des paramètres pronostiques détaillés ci-dessus, on peut schématiquement distinguer 3 grandes situations cliniques distinctes.

Certains patients se présentent avec une maladie localisée de stade I, sans critère péjoratif. Des données anciennes conduisent certaines équipes à privilégier la radiothérapie chez ces patients, dans l'espoir d'obtenir une guérison définitive. D'autres équipes considèrent ces patients comme ayant une faible masse tumorale, un FLIPI bas et un excellent pronostic spontané et vont donc choisir l'abstention thérapeutique et la surveillance armée. Il n'est pas possible de dire aujourd'hui quelle est la meilleure stratégie, et l'inclusion dans un essai thérapeutique, si elle est possible, doit être favorisée chez ces patients.

D'autres patients ne nécessitent pas de traitement immédiat : ils se présentent avec une faible masse tumorale et/ou un index FLIPI faible ou intermédiaire (notamment chez un patient de plus de 60 ans asymptomatique). Une attitude de surveillance armée a été validée par plusieurs essais randomisés ; elle nécessite un suivi régulier clinique et radiologique ; un traitement sera débuté si des symptômes liés à la maladie apparaissent ou si l'on observe une augmentation rapide (moins de 6 mois) du volume tumoral. L'inclusion dans un essai thérapeutique avec une immunothérapie ou des traitements peu toxiques est aussi une option intéressante pour ces patients. Les résultats de plusieurs essais fondés sur une immunothérapie seule mais avec une administration prolongée d'anticorps anti-CD20 chez cette population de patients devraient être connus dans les prochaines années.

Chez les patients chez qui un traitement cytotoxique doit être débuté (évolutivité du lymphome, forte masse tumorale, symptômes liés à la maladie, FLIPI intermédiaire avant 60 ans ou FLIPI élevé quel que soit l'âge), le standard de traitement est représenté aujourd'hui par l'immuno-chimiothérapie. En effet, cette association a pu démontrer de manière reproductible une amélioration significative de la survie des patients dans plusieurs essais randomisés (tableau 4). En France, le programme R-CHOP (6 cures de CHOP + rituximab) est le plus couramment utilisé, bien que certaines équipes préfèrent réserver l'utilisation des anthracyclines pour une rechute ultérieure de la maladie (et préfèrent donc le R-CVP). Il n'y a pas à ce jour de démonstration que l'utilisation précoce d'une anthracycline soit associée à une amélioration de la survie globale des patients. Des données récentes (ASH 2009) indiquent aussi que la bendamustine pourrait aussi constituer une drogue particulièrement active en première ligne. Enfin, le chlorambucil en cures discontinues (éventuellement associé au rituximab) peut également être utilisé chez les patients très âgés. Les résultats positifs de l'étude PRIMA, qui a testé une consolidation de l'immuno-chimiothérapie d'induction par un traitement d'entretien par rituximab (une injection tous les 2 mois pendant 2 ans), devraient conduire à considérer l'entretien après une immuno-chimiothérapie comme un nouveau standard thérapeutique complémentaire en première ligne (une demande d'AMM du rituximab dans cette situation est en cours d'examen).

L'utilisation en première ligne avec le rituximab d'une association chimiothérapique comportant de la fludarabine ou la réalisation d'une autogreffe de consolidation en systématique ne sont pas recommandés, du fait des toxicités potentielles à court et long terme de ces traitements. La radioimmunothérapie apporte un bénéfice pour contrôler la maladie chez les patients répondeurs à une chimiothérapie sans rituximab, son bénéfice est plus incertain après une immuno-chimiothérapie.

**Tableau 4 : Essais randomisés associant le rituximab à la chimiothérapie chez les patients ayant un lymphome folliculaire.**

Référence	Patients (%) avec FLIPI de risque faible / intermédiaire / élevé	Age médian (années)	Suivi médian	Survie sans progression (médiane)		Survie globale	
				Bras contrôle (chimiothérapie seule)	Bras expérimental (R-chimiothérapie)	Bras contrôle (chimiothérapie seule)	Bras expérimental (R-chimiothérapie)
[13]	19 / 41 / 40	52	53 mois	15 mois	34 mois	77%	83%
[14]*	14 / 41 / 45	55	58 mois	35 mois	non atteinte	84%	90%
[15]**	7 / 37 / 56	59	47 mois	29 mois	non atteinte	74%	87%
[16]	19 / 35 / 46	61	60 mois	35 mois	non atteinte	79%	84%

\* CHOP ou R-CHOP consolidé par autogreffe ou par interféron.

\*\* MCP ou R-MCP suivi d'une consolidation par IFN.

\*\*\* CHVP associé à l'interféron (18 mois) : 12 cures de chimiothérapie dans le bras contrôle contre 6 dans le bras expérimental

## Le suivi des patients et le traitement des rechutes

Le suivi des patients fait avant tout appel à l'examen clinique et aux examens d'imagerie pour apprécier la qualité de la rémission et sa durée. La réponse au niveau médullaire doit aussi être évaluée si un envahissement de la biopsie de moelle était observé initialement. L'amplification par PCR à la recherche de cellules résiduelles porteuses de la translocation IGH-BCL2 par PCR n'est réalisée que dans le cadre de protocoles cliniques, car l'incidence clinique de la persistance ou de la négativation de ce signal – notamment à l'ère de l'utilisation du rituximab – reste imparfaitement documentée.

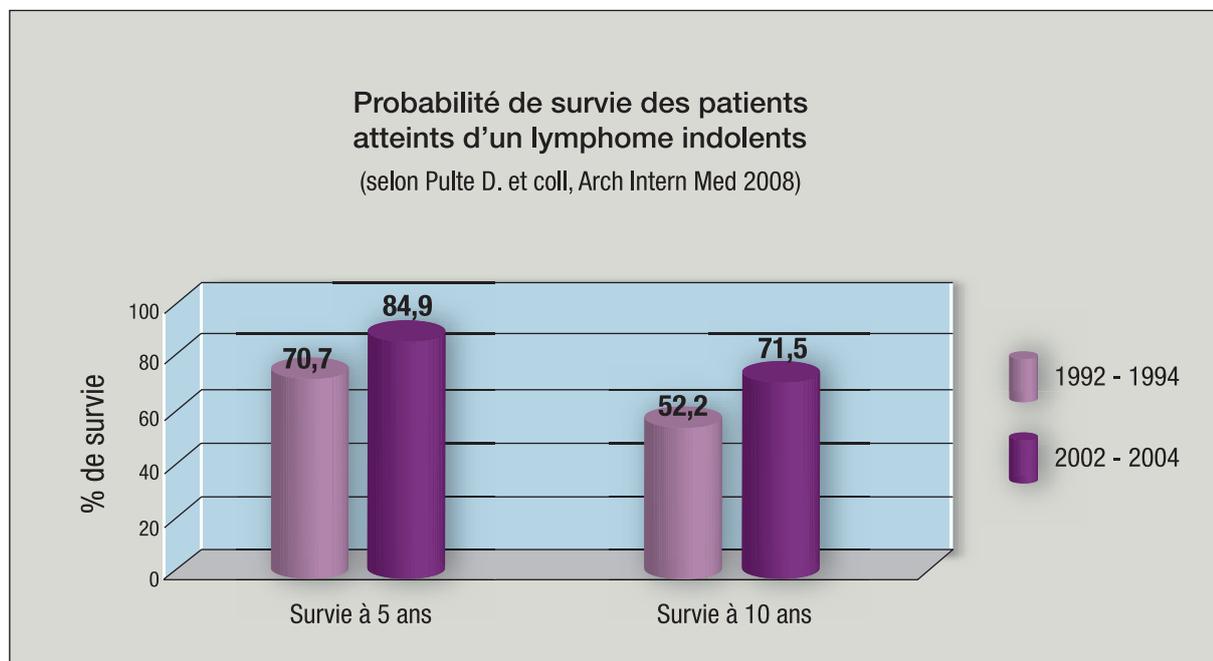
Lors des rechutes, de nombreuses stratégies thérapeutiques peuvent être mises en œuvre, en fonction de l'âge du patient, de la présentation clinique, des traitements déjà reçus et des souhaits du patient. Une nouvelle biopsie est nécessaire, surtout lors de la première rechute, pour documenter une éventuelle transformation histologique, ou d'exceptionnelles disparitions de l'expression du CD20. Schématiquement, lors d'une première rechute après immuno-chimiothérapie, la réalisation d'un rattrapage suivi d'autogreffe est conseillé par la plupart des équipes chez un sujet de moins de 65 ans. D'autres attitudes peuvent être discutées chez les autres patients, depuis des stratégies de surveillance

armée lorsque la rechute est « minime », jusqu'à une reprise des chimiothérapies (ou une radio-immunothérapie), en passant par l'immunothérapie utilisée seule ou en traitement d'entretien. La réalisation d'une allogreffe est discutée chez les patients jeunes en échec précoce après un traitement bien conduit.

## Perspectives

Ainsi, même si il n'est pas encore possible d'envisager la guérison des patients atteints d'un lymphome folliculaire, les résultats des dernières années [12] avec l'introduction des anticorps monoclonaux ont permis d'envisager une amélioration notable de l'espérance de vie de ces patients (figure 1). Ces données représentent un atout pour poursuivre le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques, fondées sur une meilleure connaissance de cette maladie et les données récentes concernant sa pathogénie. De plus, l'élucidation progressive du mode d'action des anticorps monoclonaux conduit au développement de nouvelles générations d'anticorps, que l'on espère encore plus efficace en clinique. Ceci ouvre la voie à des combinaisons d'anticorps dirigés contre différentes cibles ou à l'utilisation d'immunomodulateurs qui viendraient potentialiser l'activité de ces anticorps. Ces perspectives justifient de poursuivre activement les efforts de recherche dans cette pathologie et les essais cliniques qui viennent valider les concepts et les thérapeutiques innovants, au bénéfice des patients.

**Figure 1 : Amélioration de l'espérance de vie des patients atteints de lymphomes indolents dans la dernière décade selon les données épidémiologiques américaines [12].**



# Bibliographie

---

1. Salles G. Clinical Features, Prognosis and Treatment of Follicular Lymphoma. *Hematology*. 2007.
2. Federico M., Bellei M., Marcheselli L., *et al.* Follicular lymphoma international prognostic index 2 : a new prognostic index for follicular lymphoma developed by the international follicular lymphoma prognostic factor project. *Journal of Clinical Oncology*. 2009 ; 27 : 4555-4562.
3. Gascoyne R. Follicular Lymphoma : Pathology and Biology. *Hematology*. 2004 : 203-208.
4. Roulland S., Navarro JM., Grenot P., *et al.* Follicular lymphoma-like B cells in healthy individuals: a novel intermediate step in early lymphomagenesis. *J Exp Med*. 2006 ; 203 : 2425-2431.
5. de Jong D. Molecular pathogenesis of follicular lymphoma : a cross talk of genetic and immunologic factors. *J Clin Oncol*. 2005 ; 23 : 6358-6363.
6. Dave SS., Wright G., Tan B., *et al.* Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. *N Engl J Med*. 2004 ; 351 : 2159-2169.
7. Farinha P., Masoudi H., Skinnider BF., *et al.* Analysis of multiple biomarkers shows that lymphoma-associated macrophage (LAM) content is an independent predictor of survival in follicular lymphoma (FL). *Blood*. 2005 ; 106 : 2169-2174.
8. Glas AM., Knoop L., Delahaye L., *et al.* Gene-expression and immunohistochemical study of specific T-cell subsets and accessory cell types in the transformation and prognosis of follicular lymphoma. *J Clin Oncol*. 2007 ; 25 : 390-398.
9. Canioni D., Salles G., Mounier N., *et al.* High numbers of tumor-associated macrophages have an adverse prognostic value that can be circumvented by rituximab in patients with follicular lymphoma enrolled onto the GELA-GOELAMS FL-2000 trial. *J Clin Oncol*. 2008 ; 26 : 440-446.
10. Solal-Celigny P., Roy P., Colombat P., *et al.* Follicular lymphoma international prognostic index. *Blood*. 2004 ; 104 : 1258-1265.
11. Bachy E., Brice P., Delarue R., *et al.* Long-term follow-up of patients with newly diagnosed follicular lymphoma in the prerituximab era : effect of response quality on survival--A study from the groupe d'etude des lymphomes de l'adulte. *Journal of Clinical Oncology*. 2010 ; 28 : 822-829.
12. Pulte D., Gondos A., Brenner H. Ongoing improvement in outcomes for patients diagnosed as having Non-Hodgkin lymphoma from the 1990s to the early 21st century. *Arch Intern Med*. 2008 ; 168 : 469-476.
13. Marcus R., Imrie K., Solal-Celigny P., *et al.* Phase III study of R-CVP compared with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone alone in patients with previously untreated advanced follicular lymphoma. *J Clin Oncol*. 2008 ; 26 : 4579-4586.
14. Hiddemann W., Kneba M., Dreyling M., *et al.* Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone : results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood*. 2005 ; 106 : 3725-3732.
15. Herold M., Haas A., Srock S., *et al.* Rituximab added to first-line mitoxantrone, chlorambucil, and prednisolone chemotherapy followed by interferon maintenance prolongs survival in patients with advanced follicular lymphoma : an East German Study Group Hematology and Oncology Study. *J Clin Oncol*. 2007 ; 25 : 1986-1992.
16. Salles G., Mounier N., de Guibert S., *et al.* Rituximab combined with chemotherapy and interferon in follicular lymphoma patients : results of the GELA-GOELAMS FL2000 study. *Blood*. 2008 ; 112 : 4824-4831.



# **Les lymphomes de la zone marginale**

**Véronique Leblond**

**CHAPITRE XI**

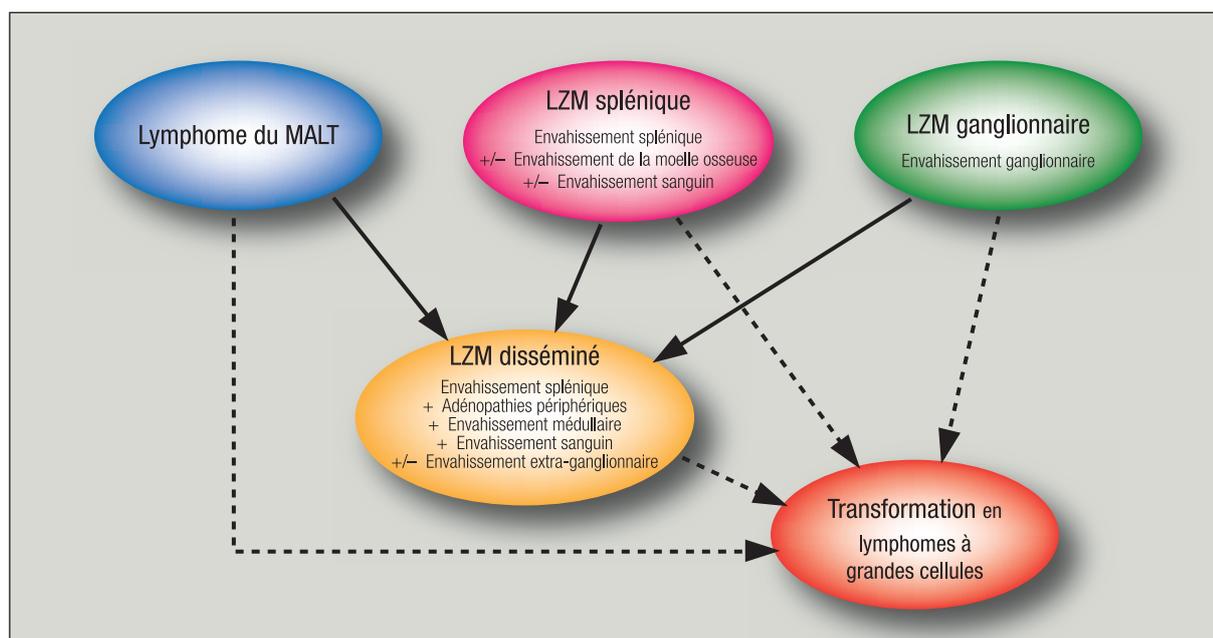
# Définition

Les lymphomes de la zone marginale (LZM) représentent un groupe de lymphomes dont les cellules proviennent de lymphocytes B normalement présents dans la zone marginale (ZM) des follicules lymphoïdes secondaires [1]. Ces cellules sont anatomiquement localisées au niveau d'organes lymphoïdes (rate et ganglions) et d'organes non – lymphoïdes que l'on peut séparer en tissus lymphoïdes liés aux muqueuses [MALT] ou tissus lymphoïdes non-muqueux tel que la peau, l'orbite ou la dure-mère. Ils furent inclus comme une entité provisoire dans la classification révisée Européenne et Américaine [2], puis comme une entité distincte dans la classification de l'organisation mondiale de la santé [3]. L'International Lymphoma Study Group a individualisé 3 sous-groupes distincts de lymphomes de la zone marginale, dépendant de leurs sites d'envahissement :

- 1 - les lymphomes extra ganglionnaire de la ZM ou lymphome de MALT
- 2 - les lymphomes spléniques de la zone marginale (avec ou sans lymphocytes villeux)
- 3 - les lymphomes ganglionnaires (avec ou sans cellules monocytoïdes) (figure 1).

Ces lymphomes peuvent se présenter sous une forme disséminée d'emblée, voire se transformer au diagnostic ou après une certaine évolution. Malgré cette classification, la relative rareté de ces lymphomes et les difficultés de les distinguer des autres lymphomes de bas grade surtout lorsqu'ils sont disséminés, sont autant d'obstacles à conduire des analyses épidémiologiques précises et d'en décrire l'évolution clinique.

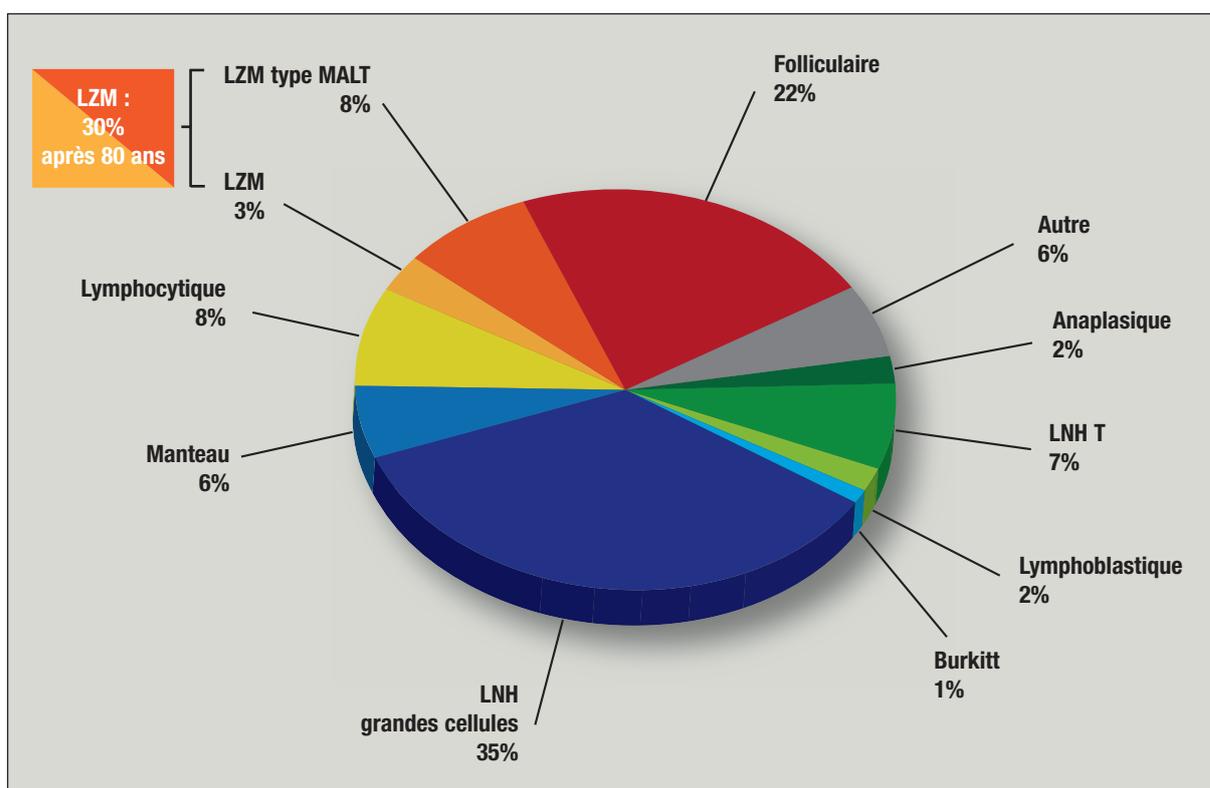
**Figure 1 : Les 3 entités des lymphomes de la zone marginale. Les lymphomes de la zone marginale regroupent 3 entités : les lymphomes extra-ganglionnaires de type MALT (mucosae associated lymphoid tissue), les lymphomes spléniques de la zone marginale et les lymphomes ganglionnaires de la zone marginale. La transformation histologique en lymphome à grandes cellules peut survenir au diagnostic ou au cours de l'évolution clinique.**



## Epidémiologie

Les lymphomes de la ZM représentent entre 5 à 17% des lymphomes non hodgkinien (LNH) chez l'adulte (figure 2). Les lymphomes de MALT sont les plus fréquents (50% à 70% des lymphomes de la ZM), les lymphomes spléniques de la ZM et les lymphomes ganglionnaires représentant respectivement 20% et 10% des lymphomes de la ZM. La plupart des cas surviennent chez des patients de plus de 60 ans. La fréquence augmente avec l'âge et les LNH de la ZM représente 30% des lymphomes non hodgkiniens après 80 ans, soit la deuxième cause de lymphome.

Figure 2 : Répartition des différents types de LNH [4].



## Physiopathologie

Le LNH splénique de la ZM est caractérisé par une prolifération de petits lymphocytes B dans la pulpe blanche et une infiltration de la pulpe rouge splénique. L'origine cellulaire est une cellule B issue d'un lymphocyte B mémoire de la zone marginale du follicule secondaire.

### La zone marginale

La zone marginale se situe autour des centres germinatifs des organes lymphoïdes secondaires, regroupant les ganglions lymphatiques, la rate et dans les tissus lymphoïdes non ganglionnaires associés aux muqueuses, tels que les plaques de Peyer au niveau de l'intestin grêle. La zone marginale est surtout développée dans la rate et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses, mais peu dans les ganglions. La zone marginale splénique se situe au niveau de la pulpe blanche splénique qui participe à la réponse immunitaire innée et adaptative grâce à la présence de lymphocytes B au sein de follicules (B folliculaire)

et au sein de la zone marginale (lymphocytes B de la zone marginale), de lymphocytes T et de cellules dendritiques [5].

Les lymphocytes B de la zone marginale participent à une réponse antigénique indépendante du lymphocyte T, contrairement à la réponse antigénique des lymphocytes B du follicule du centre germinatif. Ce sont les lymphocytes B mémoire. Ces lymphocytes B mémoire proviennent de la différenciation d'un centrocyte B ayant un récepteur B (BCR) d'affinité très élevée. Ils s'accumulent dans la zone marginale, recirculent dans le sang et survivent plusieurs mois voire plusieurs années, prêts à répondre rapidement en cas de nouvelle intervention du même antigène. Ces lymphocytes sont remarquables par leur célérité à se différencier en plasmocytes producteurs d'anticorps (plasmocytes) en présence d'un nouveau contact antigénique. Ils se différencient donc en cellules plasmocytaires, et migrent en quelques heures dans la pulpe rouge où ils deviennent résidents, sécrétant leur immunoglobuline directement dans le flux sanguin, permettant une intervention rapide de la réponse humorale pour agir contre la bactériémie. Cette réponse est obtenue de façon massive en moins de 48 heures, alors qu'un passage par un follicule et son centre germinatif produit des anticorps en 6 jours minimum. Les cellules B de la ZM offre donc une réponse immunitaire rapide, T- indépendante, et contribuent efficacement à l'éradication urgente d'une bactériémie par production IgM spécifique. Les antigènes reconnus par les lymphocytes B de la zone marginale sont les Ag polysaccharidiques des capsules bactériennes.

### **Origine post-germinative**

L'origine du LNH de la zone marginale est donc un lymphocyte B mémoire de la zone marginale et, par définition, d'origine post-germinative, comme l'atteste l'étude des mutations somatiques des gènes de la partie variable des chaînes lourdes (VH) des immunoglobulines. Cependant, il a été récemment démontré qu'il existait au sein de ces lymphomes une hétérogénéité de profil mutationnel, un tiers des cas ayant un profil non-muté et deux tiers un profil muté. D'autre part, ces lymphomes exhibent une faible fréquence des mutations somatiques de certains oncogènes (BCL6, PAX5, PIM1, RHO-H). Ceci confirme que l'origine cellulaire des lymphomes de la ZM est distincte des cellules B des centres germinatifs et suggère que les cellules d'origine pourraient ne pas être passée par le centre germinatif [6].

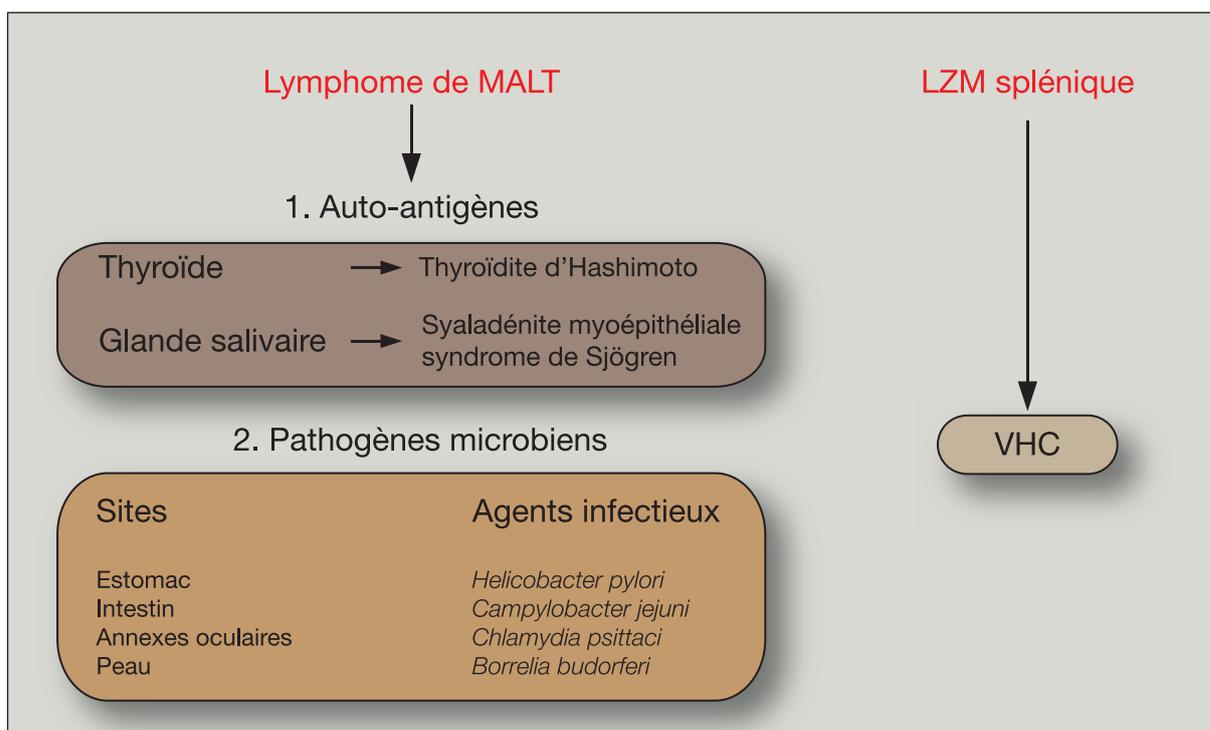
### **Rôle du récepteur B et stimulation antigénique chronique**

La survie et la sélection des lymphocytes B dépendent de leur BCR, même au stade mature et quiescent. Ce signal de survie est délivré de façon autonome ou secondaire à une activation par l'antigène (pré-BCR). Dans le cas des LNH, le signal BCR est également nécessaire à leur survie, comme le prouvent l'absence de variants BCR-négatif dans les lymphomes et le fait que le récepteur B des cellules lymphomateuses continue à subir des hypermutations somatiques.

De plus en plus d'arguments indiquent que les lymphomes de la ZM, de MALT, splénique ou ganglionnaire peuvent être associés à une stimulation antigénique chronique, de type endogène par auto-anticorps, ou de type exogène par des pathogènes microbiens, conduisant à une accumulation de tissu lymphoïde dans des sites typiques d'envahissement de ce lymphome, les muqueuses, la rate, les ganglions, ou dans les organes ne contenant habituellement pas de tissu lymphoïde. Dans le cas d'une stimulation auto-immune, plusieurs maladies sont été associées au risque de développement des lymphomes de MALT, telle que la thyroïdite d'Hashimoto, l'adénite sialique myoépithéliale avec ou sans syndrome de Gougerot Sjögren, ou la pneumopathie lymphoïde interstitielle. Basée sur des études épidémiologiques, des investigations moléculaires et des attitudes thérapeutiques efficaces, cinq

pathogènes microbiens ont été maintenant identifiés comme pouvant être reliés au lymphome de la zone marginale (figure 3). *Helicobacter pylori* est le mieux caractérisé et a été associé aux lymphomes de MALT gastriques [7]. Les infections les mieux décrites jusqu'à présent sont l'infection par le virus de l'hépatite C et l'infection à *Helicobacter pylori*. Pour le splénique de la ZM +/- lymphocytes villeux, un lien précis a été mis en évidence avec le virus de l'hépatite C (VHC) [8]. La glycoprotéine E2 du VHC interagirait avec le CD81 du lymphocyte B, et serait responsable d'une activation du lymphocyte B via la signalisation du BCR, contribuant ainsi à leur lymphomagénèse. Dans des modèles murins, des lymphomes de la ZM sont observés après une stimulation chronique par le VHC et sont associés à des mutations de FAS, AP12/ML, P53<sup>21</sup>. Une forme particulière de LNH splénique lié au virus de l'hépatite C a été associée à la présence d'une cryoglobuline<sup>22</sup>. La diminution de la lymphoprolifération avec le traitement antiviral conforte le rôle de cette stimulation antigénique chronique dans la physiopathogénie du lymphome de la ZM lié au VHC [9].

**Figure 3 : Lymphomes de la zone marginale associés à une stimulation antigénique chronique.**



Dans le cas des lymphomes de MALT gastriques, une association avec *Helicobacter pylori* est retrouvée dans 90% des cas. *Helicobacter pylori* est un organisme microaérophilique spiralé gram-négatif qui appartient à l'ordre des Campylobacterales, famille des Helicobacteracea. Plus de la moitié de la population dans le monde est infectée par ce micro-organisme. Dans cette population infectée, H. Pylori va induire une inflammation sous la forme de gastrite chronique active, mais seulement 10-20% des patients va progresser vers un ulcère peptique, un adénocarcinome gastrique et/ou un lymphome extraganglionnaire des muqueuses (de MALT). Ces pathologies malignes ne vont survenir en fait que dans 1-2% des individus infectés [10]. Une protéine de l'*Helicobacter pylori* appelée « cytotoxin-associated antigen » (CagA) serait phosphorylée à l'entrée de la cellule épithéliale et pourrait ainsi se lier à une tyrosine phosphatase SHP-2 conduisant à une réponse cellulaire mimant une activation de

croissance cellulaire et de production cytokinique. Au niveau du lymphocyte B, cette protéine CagA pourrait interagir en bloquant l'apoptose via l'inhibition de l'accumulation de p53. Mais l'infection n'est pas suffisante, et d'autres facteurs interviennent, du côté de l'hôte lui-même avec une réponse immunitaire déficiente par l'altération polymorphique de certains gènes de protéines de réponse immunitaire (IL1, IL1R, TNF, GST) et/ou du côté de la tumeur avec la survenue d'altérations génétiques telles que la translocation t(11;18) (q21;q21).

D'autres infections chroniques ont été décrites mais leur lien reste à être démontré : *Borrelia burgdorferi* associé à la maladie de Lyme a été proposé pour jouer un rôle dans les lymphomes de MALT cutanés [11]. *Campylobacter jejuni* dans l'intestin grêle a été associé à la maladie immunoproliférative de l'intestin grêle (IPSID) [12]. L'infection à *Chlamydia psittaci* a été associée au lymphome de MALT des annexes oculaires (conjonctive, glandes lacrymales) [13].

## Les lymphomes extraganglionnaires de la zone marginale ou lymphomes de MALT

### Caractéristiques cliniques

La présentation des lymphomes de MALT est extrêmement variée car elle dépend des sites d'envahissement du lymphome. Mais ils partagent des caractéristiques identiques. La plupart de ces patients vont effectivement présenter au diagnostic une maladie indolente avec un bon état général, l'absence de symptômes B, l'absence de marqueurs biologiques de maladie agressive tels qu'un taux de LDH ou de  $\beta 2$ -microglobuline élevés [14]. La maladie est localisée pour la majorité des patients mais des lésions multifocales sont présentes dans 30 à 40% des cas. La dissémination de la maladie se fait soit par l'envahissement d'autres sites muqueux, soit le plus souvent par extension vers un site non-muqueux tel que la rate, la moelle osseuse ou le foie. L'envahissement de la moelle osseuse est par exemple détecté dans 20% des cas. Le risque de dissémination est significativement plus élevé pour les lymphomes extra-digestifs.

Tableau 1 : Sites atteints par les LNH de MALT

ORGANES MUQUEUX	ORGANES NON MUQUEUX
<b>Appareil gastro-intestinal</b> - Estomac - Intestin	Peau
<b>Appareil respiratoire</b> - Poumon - Pharynx, larynx, trachée	Dure Mère
<b>Appareil génito-urinaire</b> - Vessie - Prostate	Orbite
Sein	
Thyroïde	
Glandes salivaires	

## Anomalies cytogénétiques

Sur le plan cytogénétique, les altérations possibles sont multiples mais toutes vont affecter la même voie de signalisation, avec une activation constitutive de la voie NF- $\kappa$ B. Les anomalies les plus fréquentes sont les trisomies 3 impliquant bcl-6, 18 et 12, des anomalies du 7q impliquant CDK6, ainsi que la translocation t(11;18)(q21 ;q21) (API2/MALT1) qui a une valeur pronostique et de réponse au traitement. Moins fréquentes sont les t(1 ;14)(p22 ;q32), t(14 ;18)(q32 ;q21), t(3 ;14)(q27 ;q32), t (11 ;14)(q13 ;q32) impliquant CCND1, les trisomies 7, Ces altérations sont diversement représentées au sein des sites d'atteinte lymphomateuse [7].

**Tableau 2 : Translocations observées dans les LNH de type MALT**

<b>Translocations</b>	t(11;18) (q21;q21)	t(14;18) (q32;q21)	t(1,14) (p22;q32)	lt(3;14) (q27;q32)
<b>Gènes impliqués</b>	API2 (11q21) MALT1 (18q21)	IgH (14q32) MALT1 (18q21)	BCL10 (1p22) IgH (14q32)	FOXP1 (3p14) IgH (14q32)
<b>Conséquence</b>	protéine fusion API2-MALT1	surexpression de MALT1	surexpression de BCL10	surexpression de FOXP1
<b>% de cas</b>	15-40%	5-20%	< 5%	5-10%
<b>expression MALT1</b>	faible cytoplasmique	forte cytoplasmique	faible cytoplasmique	inconnue
<b>expression BCL10</b>	forte nucléaire	forte cytoplasmique	forte nucléaire	inconnue
<b>activation NF-<math>\kappa</math>B</b>	oui	oui	oui	inconnue
<b>Anomalies géniques surajoutées</b>	rare	oui	oui	oui
<b>transformation</b>	non	oui	oui	oui

## Evaluation du stade de la maladie

Les procédures d'exams paracliniques pour évaluer l'extension d'un lymphome de MALT ne sont pas standardisées, en particulier concernant le nombre de sites à explorer. Une dissémination précoce de la maladie apparaît dans 35% des patients sans modifier leur évolution [14]. Ainsi, les explorations pré-thérapeutiques pour évaluer l'exacte dissémination de la maladie ne semblent pas nécessaires. L'autre difficulté pour évaluer le stade des lymphomes de MALT est l'inadaptation du classique système d'Ann Arbor qui est basé sur un envahissement ganglionnaire de contiguïté et qui ne convient pas aux lymphomes de MALT qui envahissent les organes non ganglionnaires et souvent sur des sites multiples à l'intérieur de cet organe (par exemple au niveau de la peau ou au niveau de l'estomac). Pour l'estomac, cette question a été largement débattue et une classification alternative a été proposée [15].

## Traitement

Malgré une littérature abondante sur la physiopathologie des lymphomes de MALT, les séries rétrospectives sur le traitement chirurgical, radiothérapique ou chimiothérapique des lymphomes de MALT sont rares.

La physiopathologie unique des lymphomes de MALT liés potentiellement à des pathogènes microbiens a un impact sur la prise en charge thérapeutique des patients. Pour les maladies localisées, un traitement antibiotique adapté comme traitement initial peut être suffisant. Dans le cas des lymphomes de l'estomac, l'éradication d' *H. pylori* peut conduire à une régression complète du lymphome dans près de 80% des cas. Mais la réponse au traitement peut être tardive, et survenir entre 3 à 28 mois [16]. L'existence d'une translocation t(11 ; 18) (q21 ; q21) est responsable d'une résistance au traitement. Les recommandations pour la prise en charge de l'infection à *H. pylori* sont d'utiliser pour les patients non préalablement traités par un macrolide un traitement par oméprazole 20mgx2/jour associé à la clarithromycine 500mgx2/jour et amoxicilline 1gx2/jour pendant 10 jours. En cas d'allergie à la pénicilline, il faut la remplacer par le métronidazole 500mgx2/jour [17].

L'évaluation de la réponse complète doit se faire par un test respiratoire à l'urée 2 mois après l'antibiothérapie et une fibroscopie oesogastroduodénale. Le rythme des fibroscopies est tous les 6 mois pendant 2 ans puis à vie tous les ans. La réponse peut être très lente, avec persistance d'un clone B résiduel malgré une réponse endoscopique et histologique complète. La plupart des patients avec une maladie histologique résiduelle minimale restent stables et peuvent être surveillés. Un traitement par chloraminophène préventif de la récurrence n'est pas contributif pour éviter la rechute [18].

Pour la peau, les annexes oculaires ou l'intestin grêle, une réponse objective de régression du lymphome a été observée dans certains cas.

Il n'y a aucune règle stricte de traitement pour ces lymphomes de MALT lorsqu'ils ne sont pas associés aux agents microbiens ou lorsqu'ils n'ont pas répondu au traitement antibiotique. Pour les maladies localisées, un traitement local (chirurgie ou radiothérapie) peut aboutir à un excellent contrôle de la maladie. Pour les patients présentant une maladie disséminée, une monothérapie par agents alkylants (cyclophosphamide, chlorambucil) ou fludarabine peut induire une réponse complète dans 75% des cas, des survies projetées sans événement et globale à 5 ans respectivement de 50% et 75% [19]. Les chimiothérapies avec anthracyclines doivent être réservées aux patients présentant une maladie avec une transformation histologique ou une masse tumorale importante. Plus récemment, le rituximab, anti-corps ciblant le CD20, a été rapporté comme induisant un taux de réponse globale de 75%, avec de meilleurs résultats s'il est réalisé en première ligne [20]. Ce traitement, en général très bien toléré, a maintenant sa place dans le traitement de ces lymphomes.

## Evolution et pronostic

Les patients avec un lymphome de MALT ont une évolution favorable, avec une survie globale à 5 ans rapportée entre 86% et 95%, sans différence entre les sites digestifs ou non-digestifs, ni entre une maladie localisée ou disséminée. En revanche, la médiane de progression serait plus courte pour les sites non-digestifs (4-9 ans) que pour les sites digestifs (8-9 ans) [14]. Une transformation histologique peut survenir, de façon rare - moins de 10% des cas -, le plus souvent après une longue évolution de la maladie. Cette transformation semble indépendante de la dissémination.

Le pronostic des lymphomes de MALT peut être influencé par les facteurs pronostiques classiques des lymphomes : un état général médiocre, une masse tumorale importante, un taux élevé de LDH et de

$\beta$ 2-microglobuline, ou bas d'albumine sérique [21]. La présence d'un envahissement par des grandes cellules au diagnostic est aussi associée à une survie plus courte. L'influence de la dissémination sur la survie est controversée mais ne semble pas affecter la survie. Il est à souligner que la translocation t(11 ; 18) est la seule translocation retrouvée dans les lymphomes de MALT associée à une résistance à l'éradication antibiotique de l'H. Pylori, au traitement par agents alkylants mais pas au rituximab [22].

### **Le lymphome splénique de la ZM**

Le lymphome splénique de la ZM (LSZM) est considéré comme une entité distincte au sein des lymphomes non Hodgkiniens (LNH) depuis 1992 et représente 3% des LNH et 20% des lymphomes de la zone marginale.

## **Présentation Clinique**

Cliniquement les patients présentant un LSZM se plaignent d'une asthénie et/ou une douleur de l'hypochondre gauche. Parfois, de façon plus rare, ils ne sont adressés qu'à cause d'une anomalie de l'hémogramme en particulier une anémie et/ou une thrombopénie, résultant plus de la séquestration splénique que de l'insuffisance médullaire. L'examen clinique retrouve alors une splénomégalie. Les adénopathies périphériques sont rares et doivent faire évoquer une maladie plutôt disséminée (figure 1). L'état général est le plus souvent conservé avec un performance status inférieur à 2 dans 85% des cas. Les signes généraux (fièvre amaigrissement, sueurs nocturnes) sont rares. L'âge médian est de 65 ans. À ce tableau clinique s'associe une atteinte médullaire et sanguine dans plus de 90% des cas [23], [24]. Un tiers des patients ont une lymphocytose supérieure à 9000/mm<sup>3</sup>. La présence d'un composant monoclonal est observé dans 10%-40% des cas, le plus souvent de type IgM. Des manifestations auto-immunes sont observées chez 10% à 15% des patients et incluent des anémies hémolytiques auto-immunes, des thrombopénies autoimmunes, des agglutinines froides, des anticoagulants circulants (lupiques ou cardiolipidiques), des maladies de Willebrand acquises, des angio-œdèmes par déficit acquis en inhibiteur de la C1 estérase. Pour ces patients associant manifestations auto-immunes et lymphomes de la zone marginale, l'aspect morphologique serait associé à une différenciation plasmocytaire.

Les patients présentant un lymphome splénique à lymphocytes villeux (SLVL) n'ont aucune différence dans leur présentation clinique ou biologique, en dehors d'un âge plus élevé. L'âge médian au diagnostic pour les patients avec un SLVL est de 75 ans alors qu'il est de 63 ans pour les lymphomes spléniques non-SLVL. Il est actuellement difficile de savoir si ces SLVL représentent une forme leucémique des lymphomes spléniques de la zone marginale, ou s'ils représentent une sous-entité de ces lymphomes. [25], [26].

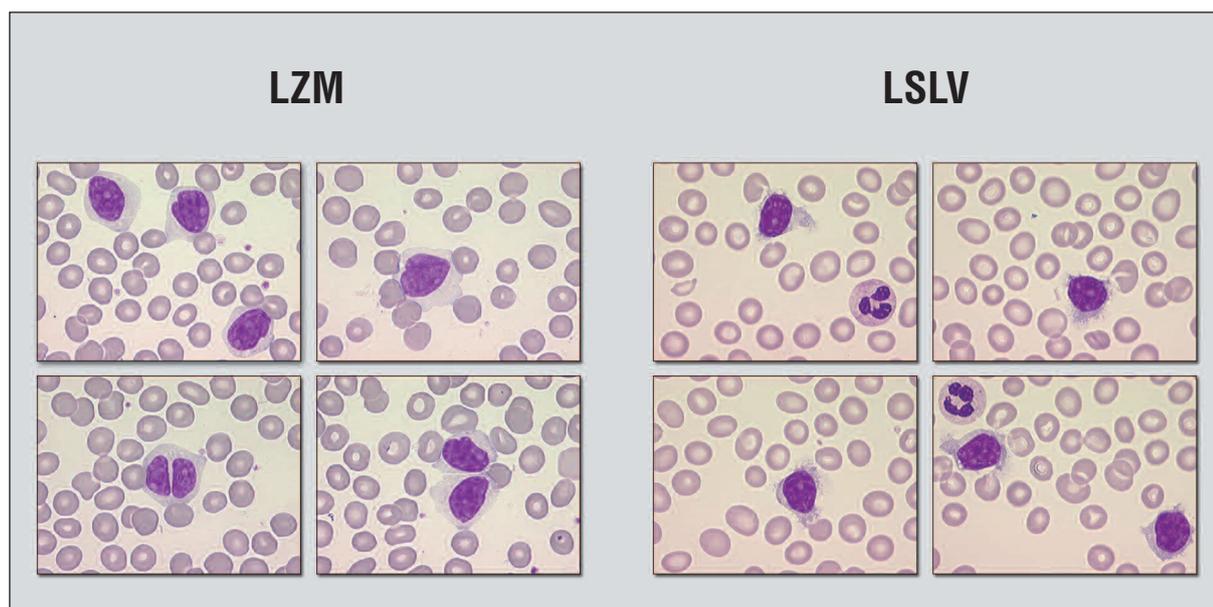
## Diagnostic

Le diagnostic est fait le plus souvent sur l'analyse sanguine de l'hyperlymphocytose ou sur la rate après chirurgie.

### Aspects histologiques et cytologiques

L'histologie de la rate retrouve une infiltration de type zone marginale avec des cellules tumorales infiltrant la pulpe blanche ou un aspect nodulaire avec une infiltration de la pulpe blanche et de la pulpe rouge. Les cellules lymphomateuses sont pléomorphes avec des petits lymphocytes avec différenciation plasmocytaire, des plasmocytes et des cellules lymphoïdes avec un cytoplasme clair (« monocytoïde »). Dans le sang, l'infiltration est également pléomorphe avec des petits lymphocytes, des lymphocytes de type « centrocytes » et des lymphocytes villeux. La présence dans le sang de lymphocytes villeux à un taux supérieur à 20% des lymphocytes B circulants définit le lymphome splénique avec lymphocytes villeux qui est considéré comme une phase leucémique du LNH splénique de la ZM (figure 4). L'infiltration médullaire en histologie peut être paratrabéculaire, nodulaire ou diffuse. Une infiltration tumorale intrasinusoidale est très évocatrice du LNH de la ZM.

**Figure 4 : Cytologie sanguine de lymphomes spléniques de la zone marginale (LZM) et lymphocytes villeux typiques d'un cas de lymphome splénique avec lymphocytes villeux (LSLV). Photos K. Maloum.**



### Données immunophénotypiques

Les lymphocytes B des LNH spléniques de la ZM ont un profil immunologique qui comprend l'expression des marqueurs antigéniques pan-B CD19, CD20, CD22 et CD79b. L'expression d'autres marqueurs (CD5, FMC7, CD22 ou CD79b, CD23, expression des immunoglobulines de surface) conduisant à l'élaboration d'un score international d'après Matutes *et al* peuvent aider au diagnostic différentiel par rapport à la leucémie lymphoïde chronique ou d'autres lymphomes à petites cellules B. Dans l'étude de Matutes *et al*, 87% des LLC ont un score de 4 ou 5, alors que le LNH splénique de la zone marginale a un score de Matutes en règle générale inférieur à 3. L'immunophénotypage de la cellule tumorale est classiquement CD19+, CD20+, CD5-, CD10-, CD23-, CD43+/-, FMC7 +/-, CD103-, BCL2+, cycline D1-. Mais l'expression du CD5 est retrouvée dans 15-20% des cas [27]. Si l'expression des

immunoglobulines de surface IgM+D est caractéristique du lymphome marginal, il n'est pas rare d'observer l'expression d'une IgM seule ou parfois IgG.

### **Données cytogénétiques**

Plusieurs études ont montré une assez grande hétérogénéité des anomalies caryotypiques. L'anomalie cytogénétique la plus fréquente (85% des patients) est la trisomie 3 complète ou partielle. L'anomalie considérée comme spécifique du LZM splénique et présente dans 40% des patients est une délétion ou une translocation du bras long du chromosome 7. Le gène candidat serait CDK6 localisé en 7q22 et pourrait contribuer à la pathogénie du LZM splénique. Les anomalies récurrentes le plus souvent identifiées au moment du diagnostic sont la trisomie partielle ou complète du chromosome 3, anomalie également rapportée dans 55-80% les autres LNH de la zone marginale, la trisomie 18, la trisomie 12, l'isochromosome 17q et la délétion 13q14 et des anomalies de structure du chromosome 1 [28], [29]. La translocation (11;14) (q13;q32) avec réarrangement de bcl1 ou/et une expression de la cycline D1 est décrite dans 15% des cas. Aucune anomalie cytogénétique n'est strictement pathognomonique, mais elles peuvent être utiles pour aider au diagnostic. Contrairement aux autres lymphomes de la ZM, il n'existe pas de translocations impliquant le gène MALT1.

### **Profils d'expression génique – Signatures moléculaires**

Les LNH de la zone marginale splénique ont un profil transcriptionnel bien spécifique par rapport au profil d'autres lymphomes en particulier les lymphomes à petites cellules B tels que les lymphomes folliculaires, les lymphomes lymphocytiques, et les lymphomes à cellules du manteau [30], [31]. Cette signature moléculaire spécifique regroupe des gènes impliqués dans les voies de signalisation de la voie d'AKT1<sup>67</sup> mais aussi le voie de signalisation du BCR, du TNF et NFkB<sup>66</sup>. La lourdeur technique actuelle ne rend pas possible l'utilisation des techniques d'analyse du transcriptome des tumeurs à but de diagnostic de routine.

## **Diagnostic différentiel**

La présence d'une infiltration B médullaire et d'une splénomégalie, associée ou non à une IgM monoclonale n'est pas pathognomonique des LNH spléniques de la zone marginale. Cela peut être observée dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC), dans les lymphomes malins non Hodgkiniens comme les LNH du manteau. Les examens anatomopathologiques et immunophénotypiques permettent en général d'en faire le diagnostic. La cytologie, l'expression du CD5 et du CD23, avec un CD79b faible permet de différencier les LNH de la ZM de la LLC. La cytologie et l'expression du CD5, du CD43 et l'hyperexpression de la cycline D1 aident à distinguer les LNH du manteau des LNH splénique de la ZM, avec parfois l'existence de cas frontières difficilement individualisables. Il a été effectivement montré que les lymphomes spléniques de la ZM pouvaient présenter dans 15% des cas une translocation t(11,14) entraînant une sur-expression de la cycline D1. Le diagnostic différentiel avec les autres entités lymphoplasmocytaires peut être plus difficile, en particulier avec les lymphomes lymphoplasmocytaires / maladie de Waldenström (MW). Ces lymphomes lymphoplasmocytaires partagent de nombreuses caractéristiques communes avec les lymphomes spléniques de la ZM avec différenciation plasmocytaire. Le tableau clinique est identique, bien que certains auteurs aient montré que l'on pouvait trouver quelques différences. Le diagnostic peut être orienté par l'immunophénotypage et le caryotype. Une expression forte du CD22 et l'absence d'expression de Bcl2 et la présence plus fréquente d'une délétion du 7q21 seraient plus en faveur d'un LNH de la zone marginale que d'un lymphome lymphoplasmocytaire / WM (tableau 3) [32].

**Tableau 3 : Comparaison de l'immunophénotype du lymphome splénique de la ZM et du lymphome lymphoplasmocytaire/MW. Adapté de Ocio et al. Clin Lymphoma 2005 [32].**

Immunophénotypage	LZM splénique	Lymphome lymphoplasmocytaire/MW
CD 22	50% fort	100% faible
CD 25	44%	88%
CD 103	40%	0%
CD11 c	39%	6%
Bcl2	0%	70%

Quoiqu'il en soit, il est difficile de trancher pour savoir si ces entités sont des entités à part entière ou s'il s'agit de variants morphologiques d'une même entité. L'introduction de traitements réalisés dans le cadre de protocole thérapeutique pourrait aider à répondre à cette question pour évaluer de façon plus précise l'évolution de ces patients dans des protocoles standardisés.

## Facteurs pronostiques et survie

La médiane de survie est selon les séries entre 5 et 10 ans, mais la maladie peut être plus agressive chez un tiers des patients avec une survie inférieure à 4 ans [33]. Les indications thérapeutiques reposent sur la présence d'une splénomégalie symptomatique, des cytopénies ou des signes généraux [23], [24].

Des facteurs pronostiques de survie ont été identifiés. L'intergroupe italien des lymphomes rapporte un modèle pronostique chez 309 patients 72, basés sur 3 facteurs (LDH, Hb, Albumine), permettant d'établir un score pronostique. Ce score pronostique a permis de discriminer les patients en 3 groupes de survie très différente : une survie à 5 ans de 88% pour les patients bas-risque (0 facteur) à 73% pour le groupe intermédiaire (1 facteur) et à 50% pour les haut-risques (>1 facteur) [33]. D'autres facteurs pronostiques biologiques ont été également rapportés, basés sur des études d'analyse de transcriptome : l'expression du CD38, l'absence de mutation des gènes des immunoglobulines et l'expression de gènes activés par NF kappa B [30].

La transformation en lymphome à grandes cellules est rare, survenant chez 10% à 20% des patients. Elle est observée avec une médiane variant de 12 à 85 mois. Elle est associée à l'apparition de signes généraux, un taux de LDH élevé et une atteinte lymphomateuse disséminée.

## Le traitement

Un traitement n'est nécessaire que pour les patients symptomatiques, avec une splénomégalie douloureuse, associée ou non à un hypersplénisme avec cytopénies sur le plan biologique. Pour les patients non symptomatiques, une simple surveillance biologique et clinique suffit. L'abstention thérapeutique n'influence pas l'évolution de la maladie et ces patients vont le plus souvent avoir une maladie stable pendant plus de 10 ans. Le délai médian d'instauration d'un traitement est de 3 ans.

Lorsque le patient doit être traité en raison de l'apparition de symptômes, le traitement de première ligne à proposer est la splénectomie qui permet l'amélioration de l'état général, une correction de l'anémie, de la thrombopénie et de la neutropénie en 6 mois [23], [25], [34]. Le bénéfice de la splénectomie persiste pendant des années avec un temps sans traitement qui peut durer en médiane 8 ans. Les patients seront alors en réponse partielle avec la persistance d'une lymphocytose sanguine et médullaire.

Une chimiothérapie réalisée après à la splénectomie permet d'augmenter le taux de rémission, mais n'apporte aucun bénéfice sur le risque de récurrence ni sur la survie. Elle peut être proposée pour des patients ayant une contre-indication à la chirurgie, les patients très âgés ou ceux qui progressent après la chirurgie. Elle repose sur les alkylants (chloraminophène, endoxan), les analogues des purines (Fludarabine) et les anticorps monoclonaux (rituximab) seul ou en association à la chimiothérapie. Tsimberidou et coll rapporte une réponse de 88% chez les patients traités par Rituximab seul, 83% pour l'association rituximab et chimiothérapie et 55% pour les patients traités par chimiothérapie seule avec des survies à 3 ans de 95, 100 et 55% [34], [37]. Le rituximab en monothérapie permet la normalisation de la taille de la rate chez 92% des patients et peut être proposé aux patients âgés ou ceux qui ne peuvent être splénectomisés. Lorsque le LNH est associé à une infection HCV active, le traitement proposé en première intention doit reposer sur le contrôle de l'infection virale par l'interféron alpha associé ou non à la ribavirine [9].

## Les lymphomes ganglionnaires avec ou sans cellules monocytoïdes

### Présentation clinique

Identifiés plus récemment, ces lymphomes ganglionnaires ont été décrits avec un nombre très limité de patients. L'âge médian de ces patients se situe entre 50 et 62 ans, avec une prédominance plutôt féminine. La plus grande majorité des patients présentent une maladie disséminée avec une atteinte ganglionnaire périphérique et profonde, un envahissement viscéral ou médullaire [38]. Il n'y a pas de différence parmi ces groupes publiés concernant la présence des symptômes B, d'un taux de LDH élevé, l'état général, le score IPI en comparaison aux autres lymphomes B ganglionnaires tel que les lymphomes folliculaires. Les cytopénies sont rares, comme la présence d'un composant monoclonal.

### Evolution et facteurs pronostiques

L'évolution de ces patients présentant un lymphome ganglionnaire de la ZM est identique à celle des patients présentant un lymphome splénique de la ZM, mais plus mauvaise que celle des patients présentant un lymphome de MALT. La survie estimée à 5 ans de ces patients est publiée entre 50 et 70%, sans plateau suggérant une maladie n'est pas curable avec les traitements actuels. La survie estimée sans progression est estimée entre 1 à 2 ans. Ceci est peut-être expliqué par la présence de grandes cellules (> 20%) avec un indice mitotique élevé au diagnostic. Etant donné le petit nombre de cas publiés, aucun facteur pronostique n'a été mis en évidence.

### Traitement

Il est difficile de donner des recommandations thérapeutiques précises pour ces lymphomes à cause des données limitées publiées. Cette maladie est caractérisée par une survie plutôt mais une survie sans progression assez courte. Une option thérapeutique logique est de proposer une polychimiothérapie, avec ou sans anthracycline associé au rituximab.

# Conclusion

---

Les lymphomes de la ZM représentent une entité distincte au sein de l'ensemble des lymphomes malins non Hodgkiniens. Ils regroupent des maladies très variées avec une présentation clinique dépendant du site d'envahissement, mais un pronostic dans l'ensemble favorable et identique pour l'ensemble de ces pathologies diverses. La physiopathologie très particulière de ces lymphomes permet d'avoir un modèle de lymphomagénèse lié à une stimulation antigénique chronique. La régression de la lymphoprolifération peut être observée après suppression de cette stimulation antigénique chronique.

# Bibliographie

---

1. Maes B., De Wolf-Peeters C. Marginal zone cell lymphoma--an update on recent advances. *Histopathology*. 2002 ; 40 : 117-126.
2. Harris NL., Jaffe ES., Stein H., *et al.* A revised European-American Classification of lymphoid neoplasms. A proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 1994 ; 84 : 1361-1392.
3. Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., *et al.* WHO Classification of Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France : IARC Press ; 2008 .
4. Nathwani B., Anderson J., Armitage J., *et al.* Marginal zone B-cell lymphoma : A clinical comparison of nodal and mucosa-associated lymphoid tissue types. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J. Clin Oncol.* 1999 ; 17 : 2486-2492.
5. Mebius RE., Kraal G. Structure and function of the spleen. *Nat rev Immunol*, 2005 ; 5 : 606-16
6. Algara P., Mateo MS., Sanchez-Beato M., *et al.* Analysis of the IgV(H) somatic mutations in splenic marginal zone lymphoma defines a group of unmutated cases with frequent 7q deletion and adverse clinical course. *Blood*. 2002 ; 99 : 1299-1304.
7. Farinha P., Gascoyne R. Helicobacter pylori and MALT Lymphoma. *Gastroenterology*. 2005 ; 128 : 1579-1605.
8. Suarez F., Lortholary O., Hermine O., Lecuit M. Infection-associated lymphomas derived from marginal zone B cells : a model of antigen-driven lymphoproliferation. *Blood*. 2006 ; 107 : 3034-3044.
9. Hermine O., Lefrere F., Bronowicki J., *et al.* Regression of splenic lymphoma with villous lymphocytes after treatment of hepatitis C virus infection. *N. Engl J. Med.* 2002 ; 11 : 89-94.
10. Suerbaum S., Michetti P. Helicobacter pylori infection. *N. Engl J. Med.* 2002 ; 347 : 1175-1186.
11. Cerroni L., Zochling N., Putz B., Kerl H. Infection by Borrelia burgdorferi and cutaneous B-cell lymphoma. *J. Cutan Pathol.* 1997 ; 24 : 457-461.
12. Lecuit M., Abachin E., Martin A., *et al.* Immunoproliferative small intestinal disease associated with Campylobacter jejuni. *N. Engl J. Med.* 2004 ; 350 : 239-248.
13. Ferreri A., Guidoboni M., Ponzoni M., *et al.* Evidence for an association between Chlamydia psittaci and ocular adnexal lymphomas. *J. Natl Cancer Inst.* 2004 ; 96 : 586-594.
14. Thieblemont C., Bastion Y., Berger F., *et al.* Mucosa-associated lymphoid tissue gastrointestinal and nongastrointestinal lymphoma behavior : analysis of 108 patients. *J. Clin Oncol.* 1997 ; 15 : 1624-1630.
15. Copie-Bergman C., Gaulard P., Lavergne-Slove A., *et al.* Proposal for a new histological grading system for post-treatment evaluation of gastric MALT lymphoma. *Gut*. 2003 ; 52 : 1656.

16. Wundisch T., Thiede C., Morgner A., *et al.* Long-term follow-up of gastric MALT lymphoma after Helicobacter pylori eradication. *J. Clin Oncol.* 2005 ; 23 : 8018-8024.
17. Chey WD., Wrong BC. American college of Gastroenterology guideline on the management of helicobacter pylori infection. *Am J Gastroenterol.* 2007 ; 102 : 1808-25.
18. Hancock BW., Qian W., Linch D., *et al.* Chlorambucil versus observation after anti-Helicobacter therapy in gastric MALT lymphomas : results of the international randomised LY03 trial. *Br J. Haematol.* 2009 ; 144 : 367-75.
19. Hammel P., Haioun C., Chaumette M., *et al.* Efficacy of single-agent chemotherapy in low-grade B-cell mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma with prominent gastric expression. *J Clin Oncol.* 1995 ; 13 : 2524-2529.
20. Conconi A., Martinelli G., Thieblemont C., *et al.* Clinical activity of rituximab in extranodal marginal zone B-cell lymphoma of MALT type. *Blood.* 2003 ; 15 : 2741-2745.
21. Radaszkiewicz T., Dragosics B., Bauer P. Gastrointestinal malignant lymphomas of the mucosa-associated lymphoid tissue: factors relevant to prognosis. *Gastroenterology.* 1992 ; 102 : 1628-1638.
22. Liu H., Ruskon-Fourmestreaux A., Lavergne-Slove A., *et al.* Resistance of t(11;18) positive gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma to Helicobacter pylori eradication therapy. *Lancet.* 2001 ; 357 : 39-40.
23. Thieblemont C., Felman P., Callet-Bauchu E., *et al.* Splenic marginal-zone lymphoma : a distinct clinical and pathological entity. *Lancet Oncol.* 2003 ; 4 : 95-103.
24. Matutes E., Oscier D., Montalban C., *et al.* Splenic marginal zone lymphoma proposals for a revision of diagnostic, staging and therapeutic criteria. *Leukemia* 2008 ; 22 : 487-495.
25. Troussard X., Valensi F., Duchayne .E, *et al.* Splenic lymphoma with villous lymphocytes : clinical presentation, biology and prognostic factors in a series of 100 patients. *Groupe Francais d'Hematologie Cellulaire (GFHC).* *Br J. Haematol.* 1996 ; 93 : 731-736.
26. Parry-Jones N., Matutes E., Gruszka-Westwood AM., Swansbury GJ., Wotherspoon AC., Catovsky D. Prognostic features of splenic lymphoma with villous lymphocytes : a report on 129 patients. *Br J. Haematol.* 2003 ; 120 : 759-764.
27. Matutes E., Morilla R., Owusu-Ankomah K., Houlihan A., Catovsky D. The immunophenotype of splenic lymphoma with villous lymphocytes and its relevance to the differential diagnosis with other B-cell disorders. *Blood.* 1994 ; 83 : 1558-1562.
28. Callet-Bauchu E., Baseggio L., Felman P., *et al.* Cytogenetic analysis delineates a spectrum of chromosomal changes that can distinguish non-MALT marginal zone B-cell lymphomas among mature B-cell entities : a description of 103 cases. *Leukemia.* 2005 ; 19 : 1818-1823.
29. Hernandez JN., Garcia JL., Gutierrez NC., *et al.* Novel genomic imbalances in B-cell splenic marginal zone lymphomas revealed by comparative genomic hybridization and cytogenetics. *American Journal of Pathology.* 2001 ; 158 : 1843-1850.
30. Ruiz-Ballesteros E., Mollejo M., Rodriguez A., *et al.* Splenic marginal zone lymphoma : proposal of new diagnostic and prognostic markers identified after tissue and cDNA microarray analysis. *Blood.* 2005 ; 106 : 1831-1838.
31. Thieblemont C., Nasser V., Felman P., *et al.* Small lymphocytic lymphoma, marginal zone B-cell lymphoma, and mantle cell lymphoma exhibit distinct gene-expression profiles allowing molecular diagnosis. *Blood.* 2004 ; 103 : 2727-2737.
32. Ocio EM., Hernandez JM., Mateo G., *et al.* Immunophenotypic and cytogenetic comparison of Waldenstrom's macroglobulinemia with splenic marginal zone lymphoma. *Clin Lymphoma.* 2005 ; 5 : 241-245.
33. Arcaini L., Lazzarino M., Colombo N., *et al.* Splenic marginal zone lymphoma: a prognostic model for clinical use. *Blood.* 2006 ; 107 : 4643-4649.
34. Thieblemont C., Felman P., Berger F., *et al.* Treatment of splenic marginal zone lymphoma ; an analysis of 81 patients. *Clin Lymphoma* 2002 ; 3 : 41-47.
35. Lefrere F., Hermine O., Belanger C., *et al.* Fludarabine: an effective treatment in patients with splenic lymphoma with villous lymphocytes. *Leukemia.* 2000 ; 14 : 573-575.

36. Paydas S., Yavuz S., Disel U., Sahin B., Ergin M. Successful rituximab therapy for hemolytic anemia associated with relapsed splenic marginal zone lymphoma with leukemic phase. *Leuk Lymphoma*. 2003 ; 44 : 2165-2166.
37. Tsimberidou AM., Catovsky D., Schlette E., *et al*. Outcomes in patients with splenic marginal zone lymphoma and marginal zone lymphoma treated with rituximab with or without chemotherapy or chemotherapy alone. *Cancer*. 2006 ; 107 : 125-135.
38. Berger F., Felman P., Thieblemont C., *et al*. Non-MALT marginal zone B-cell lymphomas : a description of clinical presentation and outcome in 124 patients. *Blood*. 2000 ; 95 : 1950-1956.

**Les lymphomes  
lymphocytiques  
et les lymphomes  
lympho-plasmocytaires**

**Hélène Merle-Béral**

**CHAPITRE XII**

Parmi les lymphomes B à petites cellules, tels qu'ils ont été remembrés par la classification internationale du WHO en 2008 [1], les lymphomes lymphocytiques comme les lymphomes lymphoplasmocytaires correspondent à des entités qui sont diagnostiquées par élimination. Ils se situent à la frontière de pathologies proches mais mieux définies, respectivement la leucémie lymphoïde chronique (LLC) pour les premiers et les autres lymphoproliférations B à petites cellules avec différenciation plasmocytaire pour les seconds.

## Les lymphomes lymphocytiques

### Définition

Le lymphome lymphocytique à petites cellules (SLL pour small lymphocytic lymphoma) est un syndrome lymphoprolifératif chronique composé de lymphocytes de petite taille, à noyau arrondi ou discrètement irrégulier, que l'on retrouve dans la moelle, dans la rate et dans les ganglions, et dont l'infiltration sanguine, si elle existe, est inférieure à  $5 \times 10^9$  giga/L. C'est la lymphocytose périphérique qui différencie les SLL de la LLC, alors que les cellules pathologiques ont le même phénotype immunologique : elles expriment le CD5 et le CD23, elles sont négatives pour le FMC7 et le CD79b, et l'immunoglobuline de surface monotypique kappa ou lambda, retrouvée à la surface des cellules pathologiques est de faible intensité (score de Matutes à 4 ou 5). Dans la définition de l'International Workshop on CLL (IWCLL) [2], reprise par la classification du WHO, le diagnostic de SLL repose sur la présence d'adénopathies et l'absence de cytopénie liée à une infiltration médullaire.

### Présentation Clinique

La présentation est très variable, elle associe des adénopathies superficielles ou profondes, une splénomégalie, parfois une hépatomégalie. L'infiltration médullaire est en général modérée. Des territoires extra ganglionnaires peuvent occasionnellement être atteints.

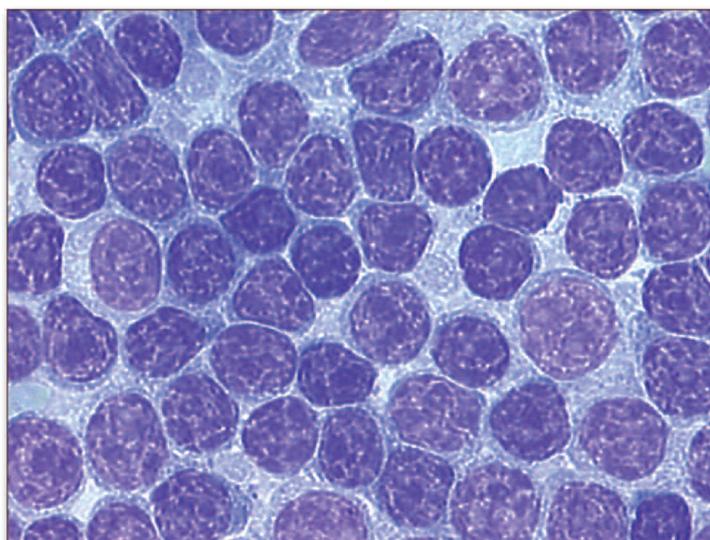
### Morphologie

**Au niveau des ganglions**, on note un effacement de l'architecture avec la présence de pseudo-follicules dans les territoires atteints, régulièrement distribués et correspondants à des centres de prolifération contenant de plus grandes cellules dans les zones sombres, et qui sont très évocateurs de cette pathologie [3]. L'atteinte peut être limitée aux aires inter-folliculaires. Le type cellulaire prédominant est un petit lymphocyte qui peut être un peu plus grand qu'un lymphocyte normal, avec une chromatine mottée, en général un noyau arrondi et parfois un petit nucléole (figure 1). L'activité mitotique est généralement très basse. Les centres de prolifération contiennent un continuum de cellules, petites, moyennes, ou grandes avec des prolymphocytes qui sont de taille moyenne avec un nucléole peu volumineux et des para-immunoblastes qui sont les plus grandes cellules, avec des noyaux ronds ou ovales, une chromatine dispersée, un nucléole central, et un cytoplasme modérément basophile. La taille des centres de prolifération et le nombre des para-immunoblastes varient d'un cas à l'autre, mais il n'y a pas de corrélation entre l'histologie ganglionnaire et l'évolution clinique [4].

**Dans la rate**, la pulpe blanche est atteinte de façon préférentielle, mais la pulpe rouge peut également être envahie. Les centres de prolifération peuvent y être vus, mais sont moins évidents que dans les ganglions. Parfois, la population lymphocytaire présente quelques irrégularités morphologiques qui

peuvent poser des problèmes de diagnostic différentiel avec les lymphomes de la zone du manteau. Quelques cas peuvent présenter une différenciation plasmocytaire. Comme dans la LLC, **l'atteinte médullaire** peut être interstitielle, nodulaire, ou diffuse. Les centres de prolifération sont moins fréquents dans la moelle que dans les ganglions. Les agrégats paratrabéculaires ne sont pas typiques. L'infiltration médullaire peut être absente, et si elle existe, elle est le plus souvent peu importante [2].

**Figure 1 : Lymphome lymphocytaire. Ganglion MGG x100** (Photo Catherine Settegrana).



## Evolution et traitement

L'évolution est paisible dans la forme typique, ne nécessitant qu'une simple surveillance clinique et biologique. En cas d'évolution péjorative ou dans les formes tumorales, l'attitude thérapeutique habituelle consiste à adopter les mêmes traitements que ceux de la LLC, le plus souvent basés sur l'association Fludarabine, Endoxan et Rituximab [5]. Les nouvelles molécules telles que Bortézomib, Bendamustine, anticorps anti-CD20 optimisés, sont utilisées dans le cadre d'essais de phases II/III chez les patients en rechute ou réfractaires aux traitements conventionnels [6].

## Les lymphomes lympho-plasmocytaires

### Définition

Le lymphome lymphoplasmocytaire est une entité qui correspond à une prolifération de petits lymphocytes B, de lymphoplasmocytes et de plasmocytes, envahissant habituellement la moelle, parfois les ganglions et la rate, et qui ne remplit aucun des critères des autres syndromes lymphoprolifératifs chroniques B avec une différenciation plasmocytaire. Parce que la distinction entre les LPL et les autres syndromes lymphoprolifératifs à petites cellules qui peuvent avoir une différenciation plasmocytaire, spécialement les lymphomes de la zone marginale, n'est pas toujours aisée, quelques cas peuvent être diagnostiqués comme des vrais « lymphomes à petites cellules B avec différenciation plasmocytaire », et fournissent ainsi un diagnostic différentiel. Quoique souvent associé à une paraprotéine, en général une IgM, ce fait n'est pas requis pour le diagnostic. La **macroglobulinémie de Waldenström (MW)** est une sous-population de patients avec LPL. Elle se définit comme un lymphome de type LPL avec une infiltration médullaire par des lymphoplasmocytes et une gammopathie monoclonale de type IgM, qu'elle qu'en soit la concentration [7].

## Présentation clinique

Les LPL surviennent chez les adultes avec une médiane d'âge à 60 ans et une discrète prédominance masculine.

La plupart des patients présentent une asthénie généralement liée à une anémie. Un syndrome tumoral est souvent présent avec polyadénopathies et splénomégalie. Une IgM sérique, constitutive dans la MW, est retrouvée dans la majorité des autres LPL quoique le pic monoclonal puisse être d'une autre nature et parfois absent. Des signes cliniques liés à l'hyperviscosité surviennent généralement à partir d'un taux d'IgM à 30g/L : céphalées, troubles visuels, épistaxis, manifestations neurologiques.

La paraprotéine peut aussi avoir une activité auto anticorps et cryoglobuline, résultant en un phénomène auto-immun avec une activité cryoglobulinique mixte de type II, qui peut s'observer jusqu'à 20 % des patients avec MW. Des neuropathies surviennent dans une minorité de cas et peuvent être liées à l'activité anticorps de la paraprotéine IgM dirigée contre des antigènes de la gaine de myéline soit une glycoprotéine associée à la myéline (anticorps anti-MAG), ou plus rarement un ganglioside.

D'autres symptômes liés à des dépôts de l'IgM au niveau des tissus peuvent être observés : au niveau de la peau avec la présence de papules et nodules, au niveau du glomérule rénal avec une protéinurie, et de l'intestin avec une diarrhée. Parfois apparaît une amylose due à des dépôts de chaînes légères, en particulier dans le cœur et les reins.

Peu fréquemment, la survenue d'un LPL est précédée d'une symptomatologie liée à une IgM, par exemple une cryoglobuline, ou d'une gammopathie monoclonale IgM de signification indéterminée (MGUS) [8].

## Etiologie

Une **prédisposition familiale** peut exister, pouvant être observée chez près de 20% des patients atteints de MW. Les patients sont souvent plus jeunes avec des infiltrations médullaires plus importantes [9].

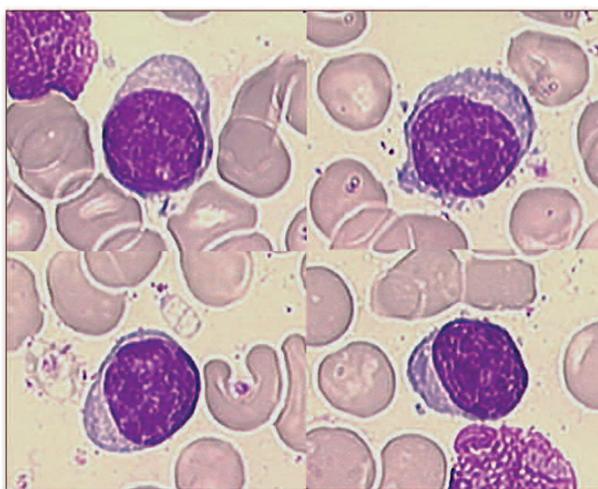
Le **virus de l'hépatite C** (HCV) est associé à une cryoglobulinémie de type II et avec les LPL dans quelques séries, peut-être liées à des différences géographiques [10]. Quelques proliférations lymphoplasmocytaires associées au virus HCV, même si elles sont monotypiques, sont non évolutives, et d'autres peuvent être proches des LLC. Le traitement de ces patients par des agents antiviraux peut aboutir à la régression de la prolifération lymphoplasmocytaire. Outre le rôle du virus HCV, les **cellules mastocytaires** peuvent stimuler la prolifération grâce à leur expression constitutive du CD40L [11]. Le rôle de l'**IL6** est évoqué dans la différenciation plasmocytaire du clone lymphocytaire pathologique. Les cellules tumorales qui produisent de grandes quantités de **VEGF** (vascular endothelial growth factor) stimulent la sécrétion d'IL6 par les cellules endothéliales ; de plus elles possèdent le récepteur au VEGF qui entraîne leur prolifération et les protège de l'apoptose par un processus autocrine [12].

## Morphologie

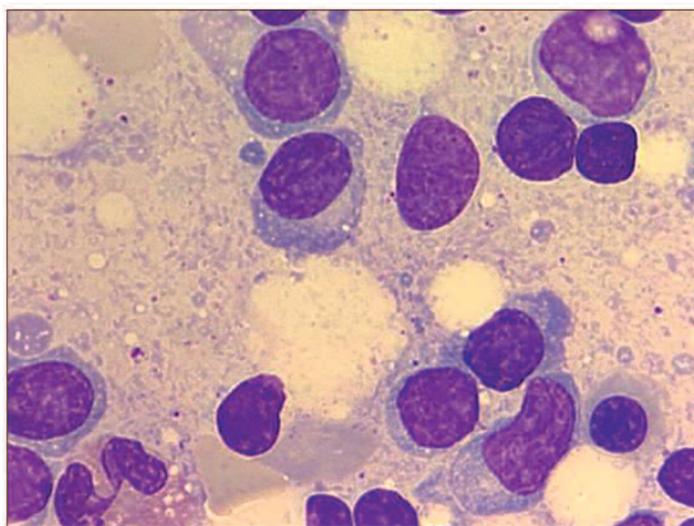
L'**atteinte médullaire** est caractérisée par un infiltrat nodulaire, diffus et/ou interstitiel, constitué de petits lymphocytes prédominants mêlés en proportions variables à des plasmocytes et des lymphoplasmocytes (**figure 2**). Des agrégats paratrabéculaires peuvent aussi être présents. Une augmentation des cellules mastocytaires est fréquente (**figure 3**). Les mêmes cellules peuvent être retrouvées dans le **sang** périphérique, mais l'hyperleucocytose reste toujours modérée, inférieure à celle observée dans la LLC [1]. Dans la plupart des LPL et dans la MW en particulier, les **ganglions** ont conservé une architecture normale avec des sinus dilatés contenant du matériel PAS+ et des centres germinatifs résiduels. On retrouve une population relativement monotone de petits lymphocytes, plasmocytes et lymphoplasmocytes avec peu

de cellules transformées. Des inclusions intranucléaires PAS+, une augmentation des mastocytes et des dépôts d'hémossidérine sont fréquents. D'autres cas ont une architecture détruite avec souvent une plus grande proportion de cellules plasmocytaires et/ou de cellules transformées. Les centres de prolifération observés dans les SLL/LLC sont absents. Dans la **rate**, on peut observer un infiltrat lymphoplasmocytaire formant des nodules dans la pulpe rouge ou se développant de façon plus diffuse [1].

**Figure 2 : Lymphome lymphoplasmocytaire associé au virus HCV : lymphoplasmocytes. Myélogramme, MGG x100** (Photo Catherine Settegrana).



**Figure 3 : Maladie de Waldenström : lymphocytes matures, lymphoplasmocytes, plasmocytes et un mastocyte. Empreintes de BOM, MGG** (Photo Catherine Settegrana).



## Immunophénotype

L'immunophénotype n'est pas spécifique et n'apporte que des éléments d'orientation. L'IgM monotypique kappa ou lambda, constante dans les MW et très fréquente dans les autres LPL, est exprimée avec une intensité variable, modérée à forte. Les cellules tumorales possèdent les marqueurs B CD19, CD20, CD27 et CD79b. Le CD22, le CD25, le FMC7 et le CD52 sont généralement retrouvés. Le CD10, le CD23, le CD103 et le CD5 sont absents dans la majorité des cas. Les plasmocytes sont identifiés par la double positivité CD38/CD138 [9].

## Cytogénétique et biologie moléculaire

Les gènes codant pour la partie variable des chaînes lourdes des immunoglobulines (gènes IGHV) sont réarrangés et mutés mais ne présentent pas d'hypermutations somatiques et on n'observe pas de variation intraclonale.

Il n'y a pas d'anomalies chromosomiques et/ou oncogéniques spécifiques identifiées. Toutefois la délétion 6q a été retrouvée par plusieurs groupes avec une prévalence de 40 à 90% [13] ; la région délétée comporte le locus de BLIMP, gène suppresseur de tumeur candidat incriminé dans le développement de la MW. La trisomie 4 a été reportée dans environ 20% des MW ; les trisomies 3 et 18 sont rares [14]. La translocation t(9;14) (IGH/PAX5) initialement décrite dans un nombre important de cas, est en réalité peu fréquente et très rare dans les MW. Les LPL ne présentent aucune des translocations associées aux autres syndromes lymphoprolifératifs chroniques B impliquant les gènes CCND1, MALT1, BCL10 ou BCL2. Des études récentes d'expression de profil génique ont retrouvé une hyperexpression du gène IL6 dans les lymphocytes de la MW, une diminution de l'expression de PAX5 dans les plasmocytes de la MW et une sous expression d'IRF4 et de BLIMP1 [15].

## Traitement

Lorsque la maladie est asymptomatique, qu'il n'y a ni cytopénie ni syndrome tumoral, ni activité délétère de l'IgM, l'attitude thérapeutique adoptée est l'abstention même en présence d'un taux élevé de la protéine monoclonale. L'évolution des LPL peut se compliquer d'une transformation en un lymphome plus agressif en particulier par la survenue d'un lymphome à grandes cellules qui nécessite une chimiothérapie adaptée [16].

### *Facteurs pronostiques et indications thérapeutiques pour la MW*

La moyenne de progression de la MW est de 7 ans, la progression surviendra d'autant plus vite qu'il existe une anémie < 11,5g/dL, une  $\beta$ -2-microglobulinémie > 3mg/L et une IgM>30g/L [17].

Les patients seront traités s'il existe des signes d'évolutivité de la maladie : la présence de signes généraux, une symptomatologie liée à l'IgM (syndrome d'hyperviscosité ; cryoglobulinémie, neuropathie périphérique, maladie des agglutinines froides, amylose), une masse tumorale importante, une anémie < 10g/dL et/ou une thrombopénie < 100 G/L .

Les plasmaphérèses sont indiquées en cas de syndrome d'hyperviscosité, de cryoglobuline ou de maladie des agglutinines froides symptomatique. Elles permettent de réduire rapidement le taux d'IgM mais elles doivent être complétées par un traitement de fond de l'hémopathie : rituximab en cas de co-morbidités ou de faible quantité de la protéine monoclonale ou chlorambucil pour les sujets âgés.

Les traitements de première intention utilisent le plus souvent la fludarabine seule ou associée au cyclophosphamide ou au rituximab. Une revue récente de Dimopoulos *et al* [18] montre des taux de réponse compris entre 30 et 70 % avec ces agents utilisés en monothérapie et des taux de réponse supérieurs, compris entre 50 et 90 %, pour les traitements combinés. Les meilleurs résultats semblent être obtenus avec l'association CHOP + rituximab.

Le développement des schémas thérapeutiques utilisant le rituximab a permis de réduire le nombre des autogreffes de cellules souches médullaires ou sanguines. L'allogreffe précédée d'un conditionnement atténué reste une indication d'exception. Les nouvelles molécules ciblées telles que les inhibiteurs du protéasome, les inhibiteurs d'Akt/mTor et de nouveaux anticorps monoclonaux font l'objet d'essais cliniques innovants.

# Bibliographie

---

1. Mature B-cell Neoplasms. SH. Swerdlow, E. Campo, NL. Harris, ES. Jaffe, SA. Pileri, H. Stein, J. Thiele, JW. Vardiman. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, edited by International Agency for Research on Cancer, Lyon, (2008) Ch 10.
2. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia : a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (IWCLL) updating the National Cancer Institute-Working Group (NCI-WG) 1996 guidelines. M. Hallek, BD. Cheson, D. Catovsky, F. Caligaris-Cappio, G. Dighiero, H. Dohner, P. Hillmen, MJ. Keating, E. Montserrat, KR. Rai, TJ. Kipps. *Blood*. (2008) 111 : 5446-5456.
3. Malignant Lymphomas other than Hodgkin's disease. K. Lennert. (eds) Springer Verlag (1978) New York.
4. Small lymphocytic lymphoma : a clinicopathologic analysis of 268 cases. J. Ben Ezra, JS. Burke, WG. Swartz, MD. Brownell, RK. Brynes, LR. Hill, BN. Nathwani, MM. Oken, BC. Wolf, R. Woodruff. *Blood* (1989) 73 : 579-587.
5. Early results of a chemioimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. MJ. Keating, S. O'Brien, M. Albitar, S. Lerner, W. Plunkett, F. Giles, M. Andreeff, J. Cortes, S. Faderl, D. Thomas, C. Koller, W. Wierda, MA. Detry, A. Lynn, H. Kantarjian. *J. Clin Oncol*. (2005) Jun 20 ; 23(18) : 4079-88.
6. Current and emerging treatments for chronic lymphocytic leukaemia. T. Robak, K. Jamrozjak, P. Robak. *Drugs*. (2009) ; 69(17) : 2415-49.
7. Maladie de Waldenström ou macroglobulinémie. V. Leblond, O. Tournilhac, P. Morel. EMC (Elsevier SAS, Paris), Hématologie, (2006) 13-013-E-10.
8. Prognostic factors and predictors of outcome of immunoglobulin M monoclonal gammopathy of undetermined significance. RA. Kyle, SV. Rajkumar, TM. Themeau, DR. Larson, MF. Plevak, LJ. Melton, III. *Clin Lymphoma* (2005) 5 : 257-260.
9. Waldenström macroglobulinemia. A. Vijay and MA. Gertz. *Blood*. (2007) 109 : 5096-5103.
10. Detection and distribution of hepatitis C virus-related proteins in lymph nodes of patients with type II mixed cryoglobulinemia and neoplastic or non-neoplastic lymphoproliferation. D. Sansonno, S. De Vita, V. Cornacchiolo, A. Carbone, M. Boiocchi, F. Dammacco. *Blood* (1996) 88 ; 4638-4645.
11. Constitutive expression of CD40L on bone marrow mast cells supports the growth of lymphoplasmacytic cells in patients with Waldenstroms macroglobulinemia. O. Tournilhac. SD. Ditzel Santos, L. Xu, J. Kutok, YT. Tai, S. Le Gouill, *et al*. *Blood* (2004) 104 : 2350a.
12. Vascular endothelial growth factor (VEGF) Is a growth and survival factor in Waldenstroms macroglobulinemia ? O. Tournilhac, S. Le Gouill, SD. Ditzel Santos, K. Podar, L. Xu, E. Hatjiharissi, *et al*. *Blood* (2004) 104 : 4892a.
13. Prognostic relevance of 6q deletion in Waldenström's macroglobulinemia: a multicenter study. H. Chang, C. Qi, Y. Trieu, A. Jiang, KH. Young, A. Chesney, P. Jani, C. Wang, D. Reece, C. Chen. *Clin Lymphoma Myeloma* (2009) Mar ; 9(1) : 36-8.
14. Trisomy 4, a new chromosomal abnormality in Waldenström's macroglobulinemia : a study of 39 cases. C. Terré, F. Nguyen-Khac, C. Barin, MJ. Mozziconacci, V. Eclache, C. Léonard, E. Chapiro, H. Farhat, A. Bouyon, P. Rousselot, S. Choquet, M. Spentchian, P. Dubreuil, V. Leblond, S. Castaigne. *Leukemia* (2006) Sep ; 20(9) : 1634-6.
15. Gene expression profiling of B lymphocytes and plasma cells from Waldenström's macroglobulinemia : comparison with expression patterns of the same cell counterparts from chronic lymphocytic leukemia, multiple myeloma and normal individuals. NC. Gutiérrez, EM. Ocio, J. de Las Rivas, P. Maiso, M. Delgado, E. Ferminán, MJ. Arcos, ML. Sánchez, JM. Hernández, JF. San Miguel. *Leukemia* (2007) Mar ; 21(3) : 541-9.
16. How I treat Waldenström macroglobulinemia. SP. Treon. *Blood* (2009) Sep 17,114(12) : 2375-85.

17. International prognostic scoring system for Waldenstrom macroglobulinemia. P. Morel, A. Duhamel, P. Gobbi, MA. Dimopoulos, MV. Dhodapkar, J. McCoy, J. Crowley, EM. Ocio, R. Garcia-Sanz, SP. Treon, V. Leblond, RA. Kyle, B. Barlogie, G. Merlini. *Blood* (2009) Apr 30 ; 113(18) : 4163-70.
18. Rituximab-based treatments in Waldenström's macroglobulinemia. MA. Dimopoulos, E. Kastiris, M. Roussou, E. Eleutherakis-Papaiakovou, M. Migkou, M. Gavriatopoulou, A. Tassidou, E. Terpos. *Clin Lymphoma Myeloma*. (2009) Mar ; 9(1) : 59-61.

# **Lymphomes et déficit immunitaire**

**Régis Costello, Delphine Mercier-Bataille,  
Stanislas Bataille, Thérèse LeTreur**

**CHAPITRE XIII**

# Introduction

---

L'existence d'un déficit immunitaire se traduit par l'augmentation de la fréquence des pathologies cancéreuses, et plus particulièrement de celle des lymphomes. Au-delà de cette simple constatation, les mécanismes à l'origine de cette surincidence sont mal compris. On peut bien entendu évoquer l'hypothèse directe d'une absence de contrôle tumoral par le système immunitaire défaillant ; inefficacité des effecteurs cytotoxiques, de la présentation antigénique par les cellules dendritiques, ou bien tolérisation du système immunitaire par les antigènes tumoraux présentés dans des conditions suboptimales (Costello *et al*, 2007b). Mais les hypothèses « indirectes » via l'absence de contrôle des infections, plus particulièrement virales et directement oncogéniques (cf. virus Epstein-Barr, [EBV], ou human herpes-virus 8, [HHV8]) ou par le biais de stimulations antigéniques répétées sont elles aussi à prendre en compte. Nous allons développer dans les paragraphes suivants quelques aspects de la question à travers les lymphomes survenant dans un contexte d'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ainsi que chez les patients présentant une immunosuppression thérapeutique dans un contexte de transplantation d'organe sans aborder les pathologies liées aux déficits immunitaires congénitaux, qui nécessiteraient par eux-mêmes un chapitre spécifique.

## Lymphomes non Hodgkiniens et infection par le VIH

Parmi les tumeurs malignes diverses dont la fréquence augmente chez les patients infectés par le VIH, les lymphomes non hodgkiniens (LNH) sont d'une importance majeure en raison de leur grande fréquence par rapport aux sujets immunocompétents, en faisant des affections classantes pour le stade SIDA (Costello *et al*, 2007a). Il est nécessaire de distinguer les lymphomes systémiques de ceux initialement localisés au niveau du système nerveux central (SNC) ainsi que de ceux initialement localisés au niveau des séreuses, puisque ces différents types de lymphomes ont des caractéristiques cliniques, thérapeutiques et évolutives différentes.

A l'heure actuelle, les LNH représentent la tumeur maligne la plus fréquente chez les patients infectés par le VIH, devant la maladie de Kaposi. Néanmoins, l'introduction des trithérapies en 1996 a changé le spectre clinique des lymphomes liés au VIH, dont l'incidence a drastiquement diminué notamment pour ce qui est des LNH cérébraux primitifs, qui ont pratiquement disparu. L'âge de survenue des lymphomes liés au VIH était classiquement jeune (âge médian de 40 ans) mais évolue avec le vieillissement de la population infectée par le VIH. L'incidence du VIH-LNH est plus ou moins parallèle au niveau de l'immunodéficience, à savoir les patients avec de faibles niveaux de lymphocytes T CD4+ sont plus à risque que ceux chez qui le traitement ou les caractéristiques intrinsèques de l'infection et du patient maintiennent des lymphocytes T CD4+ voisins de la normale. Comme dans la population immunocompétente, la majorité des lymphomes liés à l'infection par le VIH sont, contrairement à l'infection par le human T lymphotropic virus (HTLV), de phénotype lymphocytaire B (Ramuz & Xerri, 2007). Parmi les types histologiques survenant chez les patients infectés par le VIH, seuls les LNH de haut grade, dont les lymphomes de Burkitt, définissent le stade SIDA. En effet, l'incidence des lymphomes de bas grade semble peu affectée par le VIH, suggérant qu'ils ne sont pas étroitement liés à l'immunosuppression. Par rapport aux lymphomes survenant chez l'hôte immunocompétent, les

lymphomes liés au VIH concernent souvent des sites extra-nodaux, en particulier le tractus digestif, le foie et la moelle osseuse. Selon le type histologique, certaines particularités cliniques ont été individualisées. Les lymphomes de Burkitt surviennent surtout chez les patients les plus jeunes, qui ne sont pas au stade de SIDA avant la découverte du lymphome et ont un nombre relativement élevé de lymphocytes CD4+. En revanche, les lymphomes non Burkitt se développent souvent chez des patients plus âgés, avec un faible nombre de lymphocytes CD4+, et déjà classés en stade SIDA avant le diagnostic de lymphome, de par la survenue d'infections opportunistes antérieures.

### **Qu'en est-il à l'heure actuelle de l'approche thérapeutique ?**

Compte tenu de la présentation initiale fréquemment agressive des lymphomes liés au VIH, il s'agit d'un groupe dont les caractéristiques (stade d'extension anatomique, état clinique) suggèrent un pronostic médiocre. Historiquement, avant l'introduction des trithérapies antivirales, l'administration de chimiothérapies carcinologiquement efficaces semblait presque impossible de par l'accroissement du risque infectieux.

Aussi avaient été développées des approches faibles doses voire palliatives, évidemment peu satisfaisantes. L'introduction des trithérapies antivirales, permettant de restaurer au moins partiellement, un état d'immunocompétence, a permis d'envisager des traitements plus efficaces et en fait, à l'heure actuelle, l'approche thérapeutique diffère peu de celle du sujet normal. Le traitement de patients atteints par le VIH par des chimiothérapies intensives sous couvert de l'utilisation de facteurs de croissance hématopoïétiques (Costello *et al*, 2004) et les premières autogreffes de cellules souches (Gabarre *et al*, 1996 ; Gabarre *et al*, 2000 ; Gabarre & Bossi, 2003 ; Gabarre *et al*, 2004) ont été des étapes majeures dans la normalisation de la prise en charge des patients infectés par le VIH et présentant un lymphome. Il ne faut néanmoins pas minimiser les difficultés de prise en charge de ces patients de par une susceptibilité toujours accrue aux infections (notamment lorsque des anticorps anti-CD20 sont utilisés), les difficultés liées aux interactions médicamenteuses, ainsi que la mauvaise tolérance hématologique des médicaments cytostatiques liée à l'hématopoïèse déficiente souvent observée chez les patients infectés par le VIH. Ces dernières années, il a néanmoins été observé, sous trithérapie antirétrovirale, une amélioration des paramètres hématologiques qui, associée au fait qu'il est maintenant bien établi que les facteurs de croissance hématopoïétiques sont utilisables chez les patients VIH, permet en général de faire bénéficier les patients infectés par le VIH des chimiothérapies les plus intensives et les plus efficaces. A titre pour l'instant de curiosité sans application clinique directe, il faut noter que dans certains modèles cellulaires les médicaments anti-rétroviraux peuvent inhiber la prolifération et induire la différenciation de cellules cancéreuses.

Les lymphomes primitifs du système nerveux central (LPSNC) constituent une classe particulière du fait du terrain, de la présentation clinique et du pronostic. Les LPSNC ont représenté pendant longtemps la deuxième cause de lésions intracrâniennes expansives chez les patients infectés par le VIH, après la toxoplasmose. Leur fréquence s'est effondrée avec l'introduction de la trithérapie antirétrovirale, étant donné que ces lymphomes surviennent essentiellement chez des patients avec des taux de lymphocytes T CD4+ extrêmement faibles (< 30/mm<sup>3</sup>). Ces lymphomes sont le plus souvent d'origine B, même si de rares exemples de lymphomes T ont été décrits, et de grade de malignité élevé. Même si les lésions cérébrales apparaissent sous une forme localisée préférentiellement aux régions cérébrales profondes et aux hémisphères cérébraux (en particulier le lobe frontal), les constatations autopsiques prouvent que ces lymphomes sont en fait diffus à l'ensemble du SNC. Dans près d'un tiers des cas, le diagnostic peut être posé sur la présence de cellules lymphomateuses dans le liquide céphalo-rachidien (LCR). Certains auteurs ont également montré que la détection de l'ADN du virus EBV dans le LCR est d'une grande

valeur diagnostique pour les LPSNC, avec une sensibilité proche de 100% et une spécificité de 98%, permettant d'éviter, dans les cas difficiles d'accès, la biopsie cérébrale qu'il demeure bien entendu nécessaire d'obtenir dans tous les cas où cela est raisonnable. Il faut noter que les LPSNC peuvent coexister avec d'autres pathologies liées à l'infection à VIH, comme la toxoplasmose, une infection à cytomégalovirus, la cryptococcose, qui rendent à la fois le diagnostic et le traitement encore plus difficiles. Les approches thérapeutiques actuelles reposent sur la chimiothérapie haute dose (en utilisant le méthotrexate en particulier) associée à la radiothérapie, avec néanmoins toujours des survies médiocres se comptant en mois. Si le rôle de la trithérapie antirétrovirale est probablement central dans la prévention des LPSNC, il est plus discutable dans le traitement du lymphome établi, bien que plusieurs articles suggèrent que la restauration d'une réponse immunitaire efficace participe à la prévention secondaire des LPSNC, étant donné que le traitement chimio-radiothérapique par lui-même n'est en mesure d'obtenir qu'une rémission en général de courte durée.

Les lymphomes primaires des cavités, appelés aussi lymphomes des séreuses (body cavity-based primary effusion lymphoma) constituent eux aussi une entité rare quasiment propre aux patients infectés par le VIH (Costello & Gastaut, 2007). Ces lymphomes représentent une pathologie très particulière caractérisée par une diffusion limitée dans les cavités pleurales, péricardique ou péritonéale, car les cellules de ces lymphomes ne prolifèrent qu'en phase liquide. En conséquence, aucune masse tumorale n'est en général observée dans le cours de l'évolution, sans envahissement ganglionnaire ni diffusion à distance. En ce qui concerne leurs caractéristiques pathologiques, ces lymphomes ont un aspect intermédiaire entre histologies immunoblastique et anaplasique. Ces lymphomes surviennent souvent chez des patients déjà au stade SIDA, et plus particulièrement chez les sujets ayant déjà une maladie de Kaposi. Ceci est logique puisque ce type de lymphome est corrélé à la présence du virus HHV8, un membre de la famille des Herpesviridae présentant une forte homologie avec l'EBV et initialement appelé KSHV pour "Kaposi sarcoma herpes virus" car d'abord décrits dans les lésions de la maladie de Kaposi. Dans le lymphome des séreuses, le génome viral de HHV8 est présent dans les cellules lymphomateuses, mais aussi dans les cellules mononucléées du sang périphérique, et permet la synthèse d'interleukine-6 virale (IL-6v) qui se lie au récepteur cellulaire de l'IL-6 humaine, participant donc à la prolifération des cellules lymphomateuses. Le génome du HHV8 code aussi pour le proto-oncogène bcl-2 qui, en inhibant les effets de Bax, jouent donc un rôle anti-apoptotique pour les cellules lymphomateuses. Du point de vue thérapeutique, le nombre faible de cas de lymphomes des séreuses publiés ne permet pas de définir une stratégie consensuelle, mais certaines données in vitro montrant la sensibilité de HHV8 aux antiviraux (ganciclovir, foscarnet ou cidofovir) plaident en faveur de leur utilisation en association avec la chimiothérapie.

## Maladie de Hodgkin et infection par le VIH

L'apparition chez certains patients infectés par le VIH de la maladie de Hodgkin (MH) n'est pas considérée comme une néoplasie classante pour le stade SIDA. Néanmoins, l'augmentation de l'incidence de la MH chez les patients infectés par le VIH est solidement démontrée, bien que moins importante que celle observée dans les LNH. En raison de la forte incidence de la MH dans la population générale, la fréquence de la maladie de MH chez les patients infectés par le VIH se retrouve finalement à des niveaux assez comparables à ceux des LNH.

Tant la présentation clinique qu'histologique de la MH diffèrent entre le patient immunocompétent et celui infecté par le VIH (Costello *et al*, 2007c). L'âge moyen du diagnostic de la MH se situe autour de 30 ans,

en conformité avec le jeune âge de la population infectée par le VIH, donnée qui tend évidemment à se modifier à l'heure actuelle. La majorité des patients atteints par le VIH a une immunosuppression modérée au moment du diagnostic de MH, avec des lymphocytes CD4+ souvent supérieurs à 250/mm<sup>3</sup>. Le diagnostic de MH est souvent effectué par l'examen anatomopathologique d'une adénopathie ancienne qui a connu une augmentation de volume progressive. Des différences importantes sont observées en ce qui concerne le sous-type histologique car, chez le patient infecté par le VIH, le sous-type histologique 3 dit « à cellularité mixte » est celui retrouvé de façon prédominante, quatre fois plus fréquemment que chez les patients immunocompétents dont le sous-type histologique majoritaire est le 2, à savoir « scléro-nodulaire ». A la différence du sujet immunocompétent, la biopsie de MH liée au VIH montre souvent une diminution significative des lymphocytes T CD4+ au sein de la tumeur, tandis qu'une expansion de la population lymphocytaire T CD8+ est observée. Cette distribution anormale des populations de lymphocytes infiltrant la tumeur pourrait contribuer au mauvais pronostic de la MH liée au VIH et à la fréquence des présentations cliniques avancées, par l'absence de développement d'une réponse anti-tumorale efficace. Les symptômes B (fièvre, amaigrissement, sueurs) sont plus fréquents chez le patient infecté par le VIH que chez les patients immunocompétents. Le stade clinique de la MH liée au VIH correspond le plus souvent aux stades III ou IV de la classification de Ann Arbor (80% chez les patients atteints par le VIH contre 20% chez les patients immunocompétents). Les localisations extra-ganglionnaires sont très fréquentes dans l'évolution de la MH liée au VIH avec des localisations plus particulièrement hépatique, splénique, médullaire ou méningée. Les présentations ou évolutions inhabituelles de la MH sont plus fréquentes chez le patient infecté par le VIH : syndrome d'activation macrophagique ou microangiopathie thrombotique par exemple. Enfin, si le VIH ne semble pas participer directement à la physiopathologie de la MH, de nombreuses données suggèrent par contre un rôle important de l'EBV, via un défaut de réponse immunitaire spécifique contre les protéines virales, lié indirectement au déficit en lymphocytes T CD4+.

L'approche thérapeutique du sujet infecté par le VIH et atteint de MH peut à l'heure actuelle se calquer sur les protocoles thérapeutiques du patient immunocompétent, sous réserve du contrôle de la prolifération virale et de la prévention efficace des infections opportunistes. Néanmoins, la nécessité d'une approche plus intensive est probable chez des patients présentant des facteurs de pronostic défavorable, en particulier la prédominance des stades Ann Arbor III et IV, associés bien souvent à une symptomatologie clinique d'évolutivité. Quel que soit le traitement utilisé, la toxicité hématopoïétique est plus importante et plus fréquente chez les patients infectés par le VIH en comparaison avec la population générale. En matière de MH liée au VIH, jusqu'à 50% des patients souffrent de leucopénie sévère, conduisant souvent à des réductions de dose de chimiothérapie, ce qui est peu favorable au pronostic de la maladie. Il est probable que l'existence d'une myélodysplasie liée à l'infection par le VIH, ainsi que l'association à des médicaments myélotoxiques, aggravent la toxicité hématologique de la chimiothérapie. En conséquence, les facteurs de croissance hématopoïétiques ont intérêt à être utilisés en prophylaxie primaire. Pour conclure, la MH chez le patient infecté par le VIH est habituellement une tumeur très agressive qui nécessite un traitement efficace, capable d'obtenir une rémission complète au prix d'une toxicité importante, et qui doit être gérée en étroite collaboration avec l'équipe de spécialistes de l'infection VIH. En l'absence d'un consensus clair, les modalités de traitement doivent être les mêmes pour la MH associée au VIH que chez les patients immunocompétents.

## Lymphomes et transplantation

Les lymphomes post-transplantation (LPT) sont pour la plupart (80%) liés au virus EBV dont la prolifération incontrôlée est la conséquence de l'immunosuppression nécessaire pour que ne survienne pas le rejet du greffon par le receveur. En effet, le virus EBV va permettre une prolifération indéfinie des lymphocytes B du receveur, tant que les lymphocytes T cytotoxiques ne sont pas capables de développer une réponse adaptée (Raphaël *et al*, 2007). Les LPT constituent un vaste spectre de pathologies lymphoïdes allant de la simple mononucléose infectieuse (MNI) jusqu'au lymphome avéré, en passant par des états intermédiaires de proliférations polyclonales pré-lymphomateuses. L'incidence des LPT dépend du type de la greffe - c'est à dire un organe plein versus greffe de cellules souches hématopoïétiques - et du traitement immunosuppresseur utilisé. L'incidence globale des LPT pour les transplantés d'organes solides est estimée à moins de 2%. Néanmoins, eu égard à la faible incidence des lymphomes dans la population générale, le risque est quand même 20 fois celui de la population normale pour les receveurs d'une allogreffe rénale et 120 fois la normale pour les bénéficiaires d'allogreffe cardiaque. Dans le cadre des transplantations de cellules souches hématopoïétiques, les patients ont un risque de 1% de LPT, mais l'incidence est beaucoup plus élevée (environ 20% en cas de transplantation HLA-mismatched), plus particulièrement lorsqu'on a utilisé un greffon appauvri en lymphocytes T ou chez les patients recevant un traitement immunosuppresseur par des anticorps anti-lymphocytes en tant que traitement de la maladie du greffon contre l'hôte. Le délai entre la transplantation et la survenue du LPT varie en fonction du rôle de l'EBV ; les LPT négatifs pour l'EBV ont tendance à survenir plus tard - 4 à 5 ans après transplantation – alors que les cas positifs pour EBV surviennent tôt - 6 à 10 mois – après la transplantation. Ce délai dépend également du type de transplantation et du traitement immunosuppresseur. Ainsi l'intervalle moyen de survenue des LPT est de 48 mois après la transplantation chez les receveurs d'organes solides traités par l'azathioprine, contre 15 mois chez les patients recevant de la ciclosporine A. L'intervalle est particulièrement court - moins de 5 mois - chez les receveurs d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

La majorité des LPT chez les receveurs d'organes solides ont pour origine les cellules du receveur, tandis qu'une minorité se développe aux dépens des cellules du donneur, surtout dans les cas de transplantation hépatique ou pulmonaire. En revanche, la majorité des proliférations lymphoïdes chez les receveurs d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques ont pour origine les cellules du donneur.

L'évolution clinique des LPT est très variable, puisque le spectre va de la MNI jusqu'au LNH agressif. La mortalité globale des LPT est difficile à établir, compte tenu de l'hétérogénéité de la présentation, les conditions sous-jacentes, et des thérapies. Les estimations de 40-70% de mortalité après une transplantation d'organe solide et de 80-90% de mortalité après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques ont été rapportées. Néanmoins, l'un des traits les plus éminents des LPT est la possibilité de régression, surtout pour les lymphomes d'apparition précoce après transplantation et liés à l'EBV, après l'arrêt du traitement immunosuppresseur. Toutefois, les premiers stades des LPT (lymphoprolifération polymorphe) sont plus susceptibles de régresser à l'arrêt de l'immunosuppression que les stades avérés de lymphome de survenue plus tardive. Une reconnaissance précoce de l'émergence des LPT est particulièrement importante dans le cadre de la transplantation de cellules souches hématopoïétiques, car la progression du lymphome a tendance dans ce cas à être fulminante. Les données quantitatives concernant la charge ADN de l'EBV dans le sang périphérique semblent utiles dans la gestion des patients transplantés car il existe une corrélation entre un niveau élevé de la charge de l'EBV et l'apparition de LPT. En dehors des chimiothérapies classiques, les techniques

d'immunothérapie par anticorps monoclonaux anti-lymphocytes B, l'interféron-alpha ou le développement d'effecteurs T spécifiques anti-EBV sont des orientations prometteuses dans le traitement ou la prévention des LPT.

## Conclusion

---

A l'heure actuelle, la survenue d'un lymphome dans un contexte d'immunosuppression reste un évènement grave dans l'évolution du patient atteint par le VIH ou transplanté. La prévention de cette complication est possible chez le patient VIH, essentiellement par le contrôle de son état immunitaire via les thérapies antirétrovirales les mieux adaptées. Une fois le lymphome constitué, l'évolution majeure de ces dernières années a consisté à traiter ce lymphome comme celui d'un patient non immunodéprimé, selon les protocoles réputés les plus efficaces, mais en étroite collaboration avec le spécialiste du VIH, dont le rôle est essentiel dans le maintien, tout au long du traitement, d'un contrôle le plus parfait possible de l'immunité du patient, associé à une prophylaxie adéquate des infections opportunistes. Dans le cadre de la transplantation, le monitoring continu de la charge virale EBV doit permettre une intervention précoce et peu toxique pour diminuer cette charge virale et inhiber par la même les étapes initiales de la lymphomagenèse. Par ailleurs, il est difficile mais néanmoins utile de poursuivre la recherche de protocole d'immunosuppression les moins lourds possibles, dans le respect, néanmoins, de la survie à long terme du greffon. Plus particulièrement, le but à atteindre est de parvenir à obtenir une tolérance spécifique du receveur envers l'organe greffé, sans altérer par ailleurs les capacités de réponse cytotoxiques T.

## Bibliographie

---

Costello,R.T., Charbonnier,A., & Gastaut,J.A. (2007a) Non-Hodgkin's lymphoma in HIV-infected patients. Immune deficiency and cancer (ed. by J. A. Gastaut & R. T. Costello), pp. 115-138.

Costello,R.T., Fauriat,C., & Olive,D. (2007b) Tumour escape from immune surveillance. Immune deficiency and cancer (ed. by J. A. Gastaut & R. T. Costello), pp. 27-42.

Costello,R.T. & Gastaut,J.A. (2007) Primary effusion lymphoma or body cavity-based lymphoma. Immune deficiency and cancer (ed. by J. A. Gastaut & R. T. Costello), pp. 139-144.

Costello,R.T., Schiano de Colella,J.M., & Gastaut,J.A. (2007c) Hodgkin's disease in HIV-infected patients. Immune deficiency and cancer (ed. by J. A. Gastaut & R. T. Costello), pp. 145-156.

Costello,R.T., Zerazhi,H., Charbonnier,A., de Colella,J.M., Alzieu,C., Poizot-Martin,I., Cohen,R., Bardou,V.J., Xerri,L., Olive,D., Nezri,M., Lepeu,G., & Gastaut,J.A. (2004) Intensive sequential chemotherapy with hematopoietic growth factor support for non-Hodgkin lymphoma in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Cancer*, 100, 667-676.

Gabarre,J., Azar,N., Autran,B., Katlama,C., & Leblond,V. (2000) High-dose therapy and autologous haematopoietic stem-cell transplantation for HIV-1-associated lymphoma. *Lancet*, 355, 1071-1072.

Gabarre,J. & Bossi,P. (2003) [HAART and changes of epidemiology, treatment and prognosis of HIV-positive patients with Kaposi's sarcoma and lymphoma]. *Bull.Cancer*, 90, 419-425.

Gabarre,J., Leblond,V., Sutton,L., Azar,N., Jouan,M., Boccaccio,C., Gonzalez,H., Charlotte,F., Gentilini,M., & Binet,J.L. (1996) Autologous bone marrow transplantation in relapsed HIV-related non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant.*, 18, 1195-1197.

Gabarre,J., Marcelin,A.G., Azar,N., Choquet,S., Levy,V., Levy,Y., Tubiana,R., Charlotte,F., Norol,F., Calvez,V., Spina,M., Vernant,J.P., Autran,B., & Leblond,V. (2004) High-dose therapy plus autologous hematopoietic stem cell transplantation for human immunodeficiency virus (HIV)-related lymphoma: results and impact on HIV disease. *Haematologica*, 89, 1100-1108.

Ramuz,O. & Xerri,L. (2007) Pathology of HIV-related tumours. *Immune deficiency and cancer* (ed. by J. A. Gastaut & R. T. Costello), pp. 43-64.

Raphaël,M., Baran-Mrarszak,F., Antoin-Poirel,H., & Tertian,G. (2007) Post-transplant lymphoproliferative disorders: pathological features. *Immune deficiency and cancer* (ed. by J.A. Gastaut et R.T. Costello), pp. 251-265.

# **Les lymphomes T matures et néoplasies à cellules NK**

**Xavier Troussard, Edouard Cornet,  
Michèle Malet, Véronique Salaün,  
Françoise Galateau-Salle**

**CHAPITRE XIV**

## La dernière classification des lymphomes T matures et des lymphomes à cellules-NK

Les lymphomes malins non hodgkiniens (LMNH) sont des hémopathies malignes hétérogènes, dont les classifications ont évolué considérablement avec le temps. La dernière classification WHO (World Health Organization), éditée en 2008, comme la précédente, intègre pour identifier les différents sous types de LMNH les données morphologiques, cliniques, phénotypiques, cytogénétiques et génétiques [Swerdlow SH *et al*]. La reconnaissance des LMNH-T/NK est importante, car leur pronostic est globalement plus réservé que celui des LMNH-B. Parmi les néoplasies matures T et NK, plusieurs entités listées dans le **Tableau 1** sont identifiées : nous n'envisagerons pas dans ce chapitre les lymphomes cutanés T qui sont traités ailleurs et nous étudierons successivement les leucémies/lymphomes-T/NK, les lymphomes nodaux et les lymphomes extranodaux non cutanés [Good *et al*].

**Tableau 1 : Néoplasies-T/NK matures (classification WHO, 2008).**

Leucémie à prolymphocytes T Leucémie à grands lymphocytes granuleux T Syndromes lymphoprolifératifs chroniques NK Leucémie agressive à cellules NK Leucémie/lymphome T de l'adulte	LPL-T LGL-T SLPC-NK LACNK LLTA	T-PLL T-LGL CLPD-NK ANKCL ATLL
Mycosis fongoïde Syndrome de Sézary Maladies cutanées lymphoprolifératives T CD30 positive Lymphomes cutanés T, sous types rares	MF SS	MF SS
Lymphomes extranodaux-NK/T, type nasal Lymphomes T associés à une entéropathie Lymphomes T hépatospléniques Lymphomes T, type panniculite sous cutanée	LENNK/T LTAE LTHS LTPSC	ENNK/TL EATL HSTL SPTCL
Lymphomes T périphériques Lymphomes T angioimmunoblastiques Lymphomes anaplasiques à grandes cellules-ALK positif Lymphomes anaplasiques à grandes cellules-ALK négatif	LTP LTAI LAGC-ALK+ LAGC-ALL-	PTCL PTCL ALCL-ALK+ ALCL-ALK-

## Une épidémiologie des LMNH T/NK mal connue

Les études épidémiologiques concernant les LMNH-T sont très limitées. Morton LM *et al* a analysé les données de 13 registres américains couvrant environ 14% de la population américaine. Entre 1992 et 2001, 136.985 nouveaux cas incidents d'hémopathies ont été enregistrées, dont 114.548 (83,61%) hémopathies lymphoïdes et 22.437 (16,37%) hémopathies non lymphoïdes. Parmi les hémopathies lymphoïdes, 6226 hémopathies (18,5%) sont T [Morton *et al*]. Les taux d'incidence ajustés à la population américaine de 2000 et exprimés pour 100.000 habitants /an sont résumés dans le **Tableau 2**. Pendant la période d'observation de 10 ans, une augmentation de 4% de l'incidence des lymphomes T/NK a été observée passant de 2.0 à 2.6 chez les hommes et de 1.0 à 1.4 chez les femmes. Cette augmentation est liée principalement à une augmentation des lymphomes-T périphériques (LTP), les Mycosis Fongoïde/Sézary (MF/SS) restant pendant la même période relativement constants [Morton *et al*].

**Tableau 2 : Incidence des principales hémopathies-T/NK matures (selon Morton et al).** Taux d'incidence ajusté à la population américaine de 2000 et exprimé pour 100.000 personnes/ années.

	Hommes				Femmes			
	B	N	A	I/A	B	N	A	I/A
Total	2.33 n=2950	2.71 n=405	2.14 n=327	2.06 n=31	1.23 n=1820	1.81 n=324	1.14 n=208	0.57 n=16
MF/SS	0.54 n=781	0.88 n=123	0.46 n=66	0.35 n=6	0.36 n=525	0.73 n=129	0.25 n=45	0.15 n=4
LTP	0.75 n=942	0.96 n=139	0.82 n=119	1.11 n=13	0.42 n=638	0.57 n=102	0.51 n=90	0.33 n=6
LTAI	0,05 n=66	0,07 n=8	0,11 n=15	0,00 n=0	0,04 n=68	0,04 n=7	0,06 n=11	0,00 n=0
LAGC	0,34 n=435	0,38 n=58	0,17 n=28	0,53 n=6	0,18 n=267	0,20 n=37	0,13 n=26	0,13 n=2
LTP, NOS	0,36 n=441	0,51 n=73	0,54 n=76	0,59 n=7	0,20 n=303	0,34 n=58	0,31 n=53	0,20 n=4
T/NK, NOS	0.61 n=750	0.56 n=74	0.56 n=83	0.44 n=7	0.31 n=456	0.33 n=56	0.23 n=44	0.05 n=1
LPL - T	0,12 n=137	0,07 n=8	0,04 n=5	0,06 n=1	0,05 n=75	0,05 n=8	0,01 n=2	0,00 n=0

B : Caucasien

N : Afro-américain

A : Asiatique

I/A : indien ou originaire de l'Alaska

MF/SS : Mycosis Fongoïde/ Sézary

LTP : Lymphome T Périphérique

LTAI : Lymphome T Angioimmunoblastique

LAGC : Lymphome Anaplasique à Grandes Cellules

LTP, NOS : Lymphome T périphérique, Non Spécifié

LPL : Leucémie à ProLymphocytes T

n= Nombre de cas incidents.

Une étude rétrospective analysant 1314 cas de LNH T (22 centres d'origine géographique différente) souligne la difficulté du diagnostic histologique des LNH T : elle analyse aussi la survie des principaux sous types de LNH T. Le diagnostic est confirmé dans 87,8% des cas (n=1153) et il est récusé dans 10,4% des cas : dans 3,6% des cas, le classement n'a pu être effectué en raison de matériel insuffisant ou de problèmes techniques. Le tableau 3 résume les principales caractéristiques cliniques et biologiques des principales entités, en particulier leur fréquence et leur survie à 5 ans. Le diagnostic de LTP non spécifié (NOS) est effectué dans plus d'un quart des cas (25,9%) et la survie à 5 ans est de 32%. Le diagnostic de lymphome angioimmunoblastique (LTAI) est réalisé dans 18,5% des cas : la survie à 5 ans est de 32%. Les LNH T/NK représentent 10,4% des cas et la survie à 5 ans est également de 32%. La leucémie/lymphome T de l'adulte (LLTA) est observée dans un peu moins de 10% des cas (9,6%) : plus fréquemment identifiée au Japon, la survie à 5 ans est de seulement 14%. Les lymphomes anaplasiques à grandes cellules (LAGC) ALK+ représentent 6,4% des cas : plus fréquents aux Etats-Unis, la survie à 5 ans est de 70%, contrairement aux LAGC ALK- représentant 5,5% des cas dont la survie à 5 ans est

de seulement 49%. 4,7% des cas de LTP sont des lymphomes T avec entéropathie (LTAE) : ces LMNH sont plus fréquents en Europe et leur survie à 5 ans est de 20%. Les autres LTP sont beaucoup plus rares, chaque sous type représentant moins de 2% des cas : lymphome hépatosplénique (LTHS) (survie à 5 ans : 7%) ou le lymphome T, type panniculite sous cutanée (LTPSC) (survie à 5 ans : 64%) [International T-Cell Lymphoma Project].

## **L'intérêt des index pronostiques dans les LNH T/NK reste discuté**

L'intérêt du score IPI (Stade : I - II / III - IV, PS : 0-1 /  $\geq 2$ , LDH : normales / augmentées, âge < 60 ans /  $\geq 60$  ans, nombre d'atteintes extra-ganglionnaires 0-1 /  $\geq 2$ ) peut être utile dans certains sous types de LMNH-T, mais son utilisation en pratique quotidienne reste débattue [Savage KJ]. Le PIT (Prognostic Index for T-cell lymphoma scoring, incluant l'âge > 60 ans, le PS, les LDH et l'atteinte médullaire) a été développé : il permet d'identifier différents sous groupes de patients avec des médianes de survie à 5 ans allant de 18% (4 facteurs) à 62% (1 facteur) [Gallamini A *et al*]. D'autres index ont été proposés, mais leur intérêt clinique reste aussi à démontrer [Johnston A *et al*].

## **Les différents sous types de LNH T/NK**

Il est habituel de distinguer les leucémies/lymphomes T/NK, les lymphomes T/NK extranodaux et enfin les lymphomes T/NK nodaux. Les principales caractéristiques de ces lymphomes sont présentées dans le [Tableau 3](#).

**Tableau 3 : Principales caractéristiques des lymphomes non hodgkiniens T/NK matures.**

<b>LTP, NOS</b>	<p>26 % des cas de LNH T</p> <p>CD4 &gt; CD8, perte fréquente d'antigènes pan T (CD2, CD3, CD5, CD7)</p> <p>CD30-/+, CD56-/+, CD10-, BCL6-, CLCX13-, PD1-</p> <p>Gains en 7q22-31, 1q, 3p, 5p, 8q2ter</p> <p>Pertes en 6q22-24, 10p13pter</p> <p>Survie à 5 ans : 32%</p>
<b>LTAI</b>	<p>18,5% des cas de lymphomes T</p> <p>CD3+, CD4+ ou CD4+/CD8+, CD10+/-, BCM6+/-, CXCL13+, PD1+, +5, +21, gains en 5q et 3q</p> <p>Survie à 5 ans : 32%</p>
<b>LENNKT</b>	<p>5 à 15% des LNH T. Plus fréquent en Asie et en Amérique du Sud</p> <p>CD2+, CD56+, marqueurs cytotoxiques +, CD3- (CD3 cytoplasmique ε +)</p> <p>Gains en 2q, 15q, 17q, 22q</p> <p>Pertes en 6q, 8p, 11q, 12q, 13q</p>
<b>LLTA</b>	<p>10% des cas de LNH T. Plus fréquent dans les îles du Sud Ouest du Japon, la région Caraïbe, l'Afrique intertropicale et l'Amérique du Sud</p> <p>CD4+, CD25+, CD7-, CD30-/+, CD15-/+, FoxP3+/-</p> <p>Survie à 5 ans : 14%</p>
<b>LAGC</b>	<p>12 % des cas de lymphomes T dont 6,5% pour les LAGC-ALK+ et 5,5% pour les LAGC-ALK-</p> <p>CD30+, ALK+/-, EMA+, CD25+, marqueurs cytotoxiques +, CD4+/-, CD3-/+, CD43+</p> <p>t(2;5)(p23;q35) et variants</p> <p>Survie à 5 ans : ALK+ : 70% et ALK - : 49%</p>

LTP : Lymphomes T périphériques.

LTAI : Lymphomes T angioimmunoblastiques.

LENNKT : Lymphomes extranodaux NK/T, type nasal.

LLTA : Leucémie/lymphome T de l'adulte.

LAGC : Lymphomes anaplasiques à grandes cellules.

## Leucémies/lymphomes T/NK

### Leucémie à prolymphocytes T (LPL-T ou T-PLL)

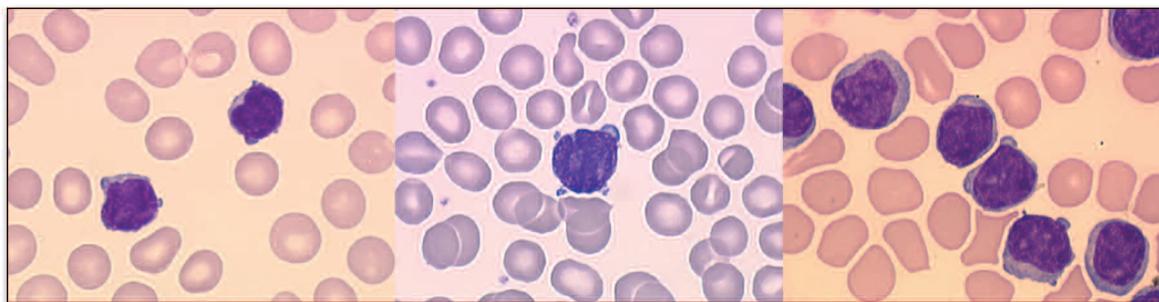
Décrite en 1974 [Galton *et al*], la leucémie à prolymphocytes-T (LPL-T) est une entité rare représentant environ 2% des syndromes lymphoprolifératifs chroniques et 40% des proliférations-T matures [Bennet *et al*, 1999]. Elle survient de façon sporadique : exceptionnelle avant l'âge de 40 ans, l'âge médian dans une série de 78 patients est de 69 ans (33-91) [Matutes *et al*]. Chez les enfants porteurs de l'ataxie télangiectasie, le risque relatif de cancer est augmenté jusqu'à 61 fois par rapport à un enfant normal, avec une majorité d'hémopathies lymphoïdes, de phénotype souvent T et particulièrement de LPL-T.

Les manifestations cliniques sont dominées par la présence d'une splénomégalie volumineuse dans 75% des cas, d'adénopathies et d'hépatomégalie dans 40% des cas et enfin la présence de localisations cutanées spécifiques dans 25% des cas [Catovsky *et al* ; IARC]. L'hémogramme montre une hyperleucocytose, avec une hyperlymphocytose sanguine majeure (> 100 x 10<sup>9</sup>/L), souvent rapidement croissante, même si des formes indolentes ont été observées pendant plusieurs mois mais suivie d'une phase agressive quelques mois ou années plus tard [Garand *et al*].

Quatre formes cytologiques ont été identifiées :

1) La forme typique à petites cellules irrégulières représente un peu moins de 70% des cas (figure 1 A). Les prolymphocytes-T sont monomorphes : les cellules sont de petite taille, avec un noyau irrégulier, un nucléole peu visible mais souvent volumineux, une chromatine condensée, un cytoplasme basophile avec des expansions cytoplasmiques.

**Figure 1 A : Aspects morphologiques de la Leucémie à ProLymphocytes T.**



**Forme typique**

2) La forme à cellules rondes représente 20% des cas ; les cellules, de plus grande taille avec un noyau régulier et un nucléole bien visible, ressemblent à ceux d'une leucémie à prolymphocytes-B (LPL-B).

3) La forme à cellules en fleur est plus rare et représente 5% des cas. Les cellules avec un noyau en fleur ou en trèfle sont comparables à celles observées dans la leucémie/lymphome-T de l'adulte (LLTA).

4) La forme à cellules sézariformes est encore plus rare, représentant seulement 2% de l'ensemble des cas : le noyau des cellules est cérébriforme. Enfin dans certains cas exceptionnels, les prolymphocytes ressemblent à de petits lymphocytes, non différents de ceux observés dans une leucémie lymphoïde chronique B. Le terme de LLC-T n'est plus à utiliser, les patients avec des aspects morphologiques de LLC-T ayant en réalité une véritable LPL-T.

Les cellules T de la LPL-T ont un phénotype post thymique CD1a- et TdT-. Les cellules expriment les molécules CD2+, CD3+, CD5+, CD7+, CD4+CD8- (65%), CD4+CD8+ (21%), CD4-CD8+ (13%), CD4-CD8- (1%). Les marqueurs NK CD16, CD56 et CD57 sont négatifs. L'expression du CD45RO (cellules mémoires) est présente dans 45% des cas, celle du CD45RA (cellules naïves) dans 5% des cas et la coexpression du CD45RO et du CD45RA dans 53% des cas.

Les anomalies chromosomiques sont très complexes, avec le plus souvent une inversion (ou une translocation réciproque) du bras long du chromosome 14 : inv(14)t(14;14)(q11;q32), plus rarement une translocation t(X;14). L'inv(14)t(14;14)(q11;q32) provoque la dérégulation du proto-oncogène TCL1 en 14q32 par juxtaposition au locus TCR  $\alpha\delta$  en 14q11. L'étude moléculaire de la translocation t(X;14) a permis d'identifier le gène MTCP1, homologue de TCL1. La responsabilité de ces oncogènes dans la pathogénie de la LPL-T est fortement suggérée par la survenue tardive de leucémies T chez la souris transgénique. Des anomalies du chromosome 8 : i(8q) ou t(8;8) sont aussi identifiées dans la moitié des cas [Mossafa *et al*]. Bien que non spécifique de cette hémopathie, des mutations/délétions du gène ATM (ataxia telangiectasia mutation) localisé en 11q23 ont été rapportées.

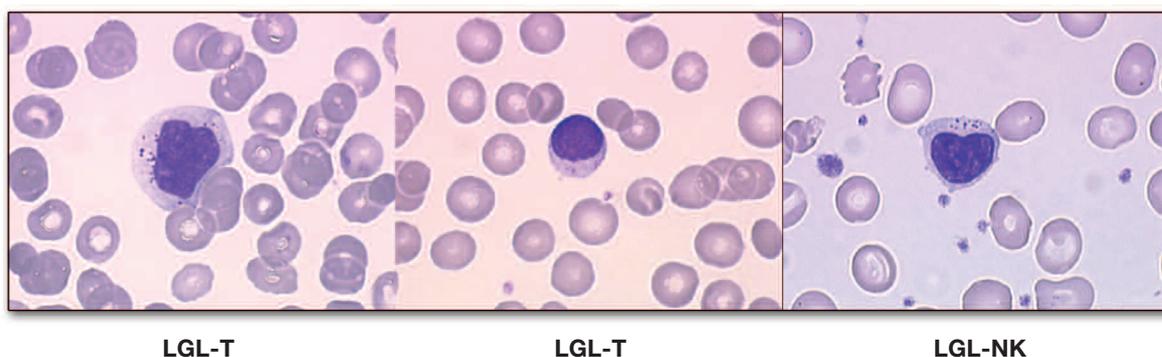
Le pronostic de la LPL-T est réservé, la survie médiane étant de seulement 7,5 mois. Le traitement de la LPL-T est assez mal codifié et les chimiothérapies utilisées dans le traitement des lymphomes sont habituellement peu ou pas efficaces. L'anticorps monoclonal anti-CD52 permet d'obtenir des rémissions, malheureusement de durée très courte [Keating MJ *et al*, Gribben J *et al*].

#### **Leucémies à grands lymphocytes granuleux T / NK et leucémie NK agressive**

Décrite en 1975 [Brouet *et al*], la leucémie à grands lymphocytes granuleux (LGL) se caractérise par une augmentation des lymphocytes, dont le cytoplasme contient des granulations azurophiles. Ces lymphocytes à grains sont supérieurs à  $2 \times 10^9/l$  et persistent pendant plus de 6 mois. Néanmoins, des situations de véritables LGL ont été démontrées avec des chiffres plus bas de lymphocytes à grains de l'ordre de  $0,5 \times 10^9/l$ . Une augmentation transitoire du nombre des lymphocytes à grains peut être détectée dans des situations réactionnelles, en particulier chez les patients avec une tumeur solide, après greffe d'organe et/ou primo-infection virale (EBV, CMV, hépatites virales, VIH) ou chez les patients traités par dasatinib [Mustjoki S].

Il est habituel de séparer les proliférations LGL CD3 positives (LGL-T) et les proliférations LGL CD3 négatives (LGL-NK) [Loughran TP *et al*] (figure 1 B).

**Figure 1 B : Aspects morphologiques de la Leucémie à grands Lymphocytes Granuleux.**



### **Leucémie à grands lymphocytes granuleux (LGL) CD3 positive (LGL-T)**

Les données épidémiologiques précises concernant les LGL-T sont inexistantes. La cause de cette hémopathie reste inconnue. Elle affecte l'homme ou la femme d'environ 55-60 ans. Asymptomatique dans plus d'un tiers des cas, elle se caractérise chez les patients symptomatiques par une splénomégalie sans atteinte ganglionnaire, des cytopénies responsables de complications infectieuses en cas de neutropénie sévère et des manifestations auto-immunes : arthralgies et polyarthrite rhumatoïde, syndrome de Goujerot-Sjögren, lupus érythémateux disséminé, uvéites récurrentes ou hypertension artérielle pulmonaire [Lamy T *et al*]. Les relations entre LGL et syndrome de Felty restent posées. La lymphocytose est inconstante. L'anémie peut être périphérique (Coombs direct positif) ou centrale. Une thrombopénie modérée est moins fréquente : elle est le plus souvent périphérique (auto-immune ou par hypersplénisme). De manière exceptionnelle, une association avec une autre hémopathie a été décrite, hémoglobinurie paroxystique nocturne, syndrome myélodysplasique ou syndrome lymphoprolifératif chronique.

Les lymphocytes granuleux sont des cellules lymphoïdes de grande taille avec un cytoplasme abondant, qui renferme des granulations azurophiles dont le nombre et la taille sont extrêmement variables. Le noyau est excentré, la chromatine est mature et l'absence de nucléole est habituelle. Le myélogramme, lorsqu'il est réalisé, met en évidence dans environ 75 % des cas une infiltration médullaire par des cellules lymphoïdes T. La biopsie ostéo-médullaire permet d'objectiver une hypercellularité, avec souvent une diminution des précurseurs granulocytaires et un infiltrat lymphoïde T. L'histologie splénique, si la splénectomie est justifiée, met en évidence un infiltrat de la pulpe rouge par les cellules lymphoïdes tumorales T.

L'étude de l'expression des marqueurs membranaires par cytométrie en flux (CMF) permet d'identifier la LGL-T. Les lymphocytes expriment la molécule membranaire CD3 et dans 80 % des cas il existe une expression du récepteur TCR $\alpha\beta$ , du CD2 et du CD8 sans expression du CD4. Les marqueurs membranaires CD11b, CD16, CD57 sont exprimés de façon hétérogène. L'expression du CD56 est rarement positive : elle pourrait, quand elle est exprimée, être associée à une forme de pronostic plus agressif. Il existe dans 20 % des cas des formes variantes immunologiques : TCR $\alpha\beta$ +, CD4+, CD8- ou TCR $\alpha\beta$ +, CD4+, CD8+ ou encore une forme exceptionnelle TCR $\gamma\delta$ + [Sandberg Y *et al*], dont la présentation clinique est superposable à la LGL $\alpha\beta$ +

Des anomalies chromosomiques non spécifiques ont été rapportées, dont les délétions 6q. Le caractère clonal de l'hémopathie est affirmé par l'étude du réarrangement des gènes du TCR. La mise en évidence de la clonalité est à distinguer de la malignité, définie par le caractère évolutif clinique de la maladie. La clonalité est démontrée par des techniques de southern-blot et/ou de PCR. L'interprétation des résultats est rendue difficile par l'existence de profils monoclonaux (un seul type de réarrangement), polyclonaux (de nombreux types de réarrangements) ou encore oligoclonaux (quelques types de réarrangements). Chez les patients asymptomatiques, un réarrangement isolé a fait introduire la notion de TLUS (T-Cell Clonopathy of Undetermined Significance) par comparaison aux MGUS (Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance) [Dhodapkar BV *et al*].

La LGL-T est une hémopathie chronique le plus souvent indolente [Chan *et al*, IARC]. Chez les patients symptomatiques, les stratégies thérapeutiques sont guidées par le nombre et la profondeur des cytopénies et les manifestations cliniques. L'abstention thérapeutique et la surveillance sont proposées

en l'absence d'infections récurrentes. Dans les formes symptomatiques, des traitements par la cyclosporine, des doses faibles de méthotrexate ou de cyclophosphamide en association ou non avec une corticothérapie ont été proposés.

### **Leucémie à grands lymphocytes granuleux CD3 négative (LGL-NK)**

La LGL-NK est caractérisée par l'absence d'expression membranaire du CD3, ce qui contraste avec la LGL-T. Cette absence d'expression membranaire contraste avec la présence de la chaîne  $\epsilon$  cytoplasmique du CD3. Ce groupe représente environ 15 % des hémopathies à grands lymphocytes granuleux. Il convient de distinguer la leucémie agressive à cellules NK et les syndromes lymphoprolifératifs chroniques à cellules NK, deux formes hétérogènes avec des présentations cliniques très différentes.

### **Leucémie agressive à cellules NK (LACNK ou ANKL)**

Elle est rare et observée de façon prépondérante chez les hommes ou les femmes d'origine asiatique ou d'Amérique du Sud, à un âge plus jeune que la LGL-T. Dans une série de 22 patients, l'âge médian est d'environ 42 ans [Suzuki R *et al*]. Le début est très brutal, marqué par de la fièvre, une altération de l'état général et la présence d'un syndrome tumoral avec splénomégalie et hépatomégalie volumineuses. Les lésions cutanées sont inhabituelles. Une coagulation intravasculaire disséminée est habituellement présente. En réalité, n'importe quel organe peut être touché, atteinte systémique posant le problème de l'existence ou non de relations avec le lymphome extranodal NK/T, type nasal [Chan YKC *et al*, IARC].

Les atteintes sanguines et médullaires sont fréquentes. L'atteinte médullaire peut être néanmoins limitée, d'où le nom de leucémie/lymphome agressif NK parfois donné. Les lymphocytes à grains, en plus des aspects précédemment décrits, présentent une chromatine plus immature et des nucléoles bien visibles. Les cellules lymphoïdes infiltrent pratiquement constamment la moelle osseuse, qui peut présenter des aspects évocateurs de syndrome hémophagocytaire (syndrome d'activation macrophagique).

L'étude de l'expression des marqueurs membranaires met en évidence une positivité du CD2 et du CD56, tandis que le CD3 membranaire et le CD57 restent négatifs. L'expression du CD16 est positive dans trois cas sur quatre. A noter aussi une expression du CD7, CD8 et du CD3 cytoplasmique, respectivement dans 74, 29 et 43% des cas.

De nombreuses études ont montré l'existence d'une association fréquente avec le virus d'Epstein-Barr (EBV). Cette association, suggérée sur des données sérologiques et épidémiologiques, a été confirmée par les études d'immunohistochimie et d'hybridation *in situ*. Outre la présence du virus dans les cellules tumorales, son intégration clonale dans le génome cellulaire a été aussi démontrée.

L'étude du réarrangement des gènes  $\beta$  et  $\gamma$  du TCR montre une configuration germinale. La mise en évidence de la clonalité est difficile et fait appel aux examens cytogénétiques. Aucune anomalie cytogénétique n'est réellement spécifique, même si des del(6q) ont été aussi identifiées.

Le pronostic de cette hémopathie est très réservé. Aucun traitement n'a fait réellement la preuve de son efficacité.

### **Syndromes lymphoprolifératifs chroniques à cellules NK (SLPC-NK, CLPD-NK)**

L'entité est une entité provisoire [Villamor *et al*, IARC]. Contrairement à la forme précédente, la symptomatologie est d'apparition progressive avec des manifestations infectieuses (la neutropénie est en règle générale modérée) et un syndrome tumoral souvent absent. L'immunophénotype met en évidence une positivité du CD16 et une faible expression du CD56 et du CD57. La sérologie EBV est négative. Les gènes codant pour le TCR sont en configuration germinale rendant la distinction entre lymphocytose réactionnelle et lymphocytose maligne délicate. C'est dans ces situations qu'un profil d'expression restreint ou une faible expression des KIRs (killer cell Ig-like receptors) (CD158) peut avoir un intérêt pour démontrer de façon indirecte une clonalité.

### **Leucémie/lymphome T (LLTA) de l'adulte lié à l'HTLV-1**

Le virus Human T Cell Leukemia Virus type 1 (HTLV-1) isolé en 1980 est responsable de la paraparésie spastique tropicale et de la LLTA. Cette dernière a été décrite pour la première fois au Japon en 1977. Les zones de forte endémie virale sont principalement localisées dans les îles du Sud Ouest du Japon, la région Caraïbe, l'Afrique intertropicale et l'Amérique du Sud. Le nombre d'individus porteurs du virus HTLV-1 est élevé, mais le risque pour un sujet HTLV-1 positif de développer une LLTA dans une zone d'endémie est faible < 5%. Chez ces patients, la transmission du virus se fait très tôt dans l'enfance et l'apparition de la LLTA se fait après une longue période de latence, 20 à 40 ans plus tard.

La diversité clinique de la LLTA a conduit à proposer une sous-classification en quatre types [Ohshima *et al*, IARC] :

1) La forme aiguë ou forme leucémique (50% des cas) associe une atteinte sanguine (> 4 x 10<sup>9</sup>/L lymphocytes, > 5% cellules tumorales en fleur), ganglionnaire et cutanée. L'hypercalcémie est constante et les LDH sont élevées (> 2N). D'autres atteintes viscérales peuvent être aussi observées.

2) La forme chronique (20% des cas) associe une atteinte sanguine (> 4 x 10<sup>9</sup>/L lymphocytes, > 5% cellules tumorales en fleur) et une atteinte ganglionnaire. L'hypercalcémie est absente et les LDH sont modérément augmentées (< 2N).

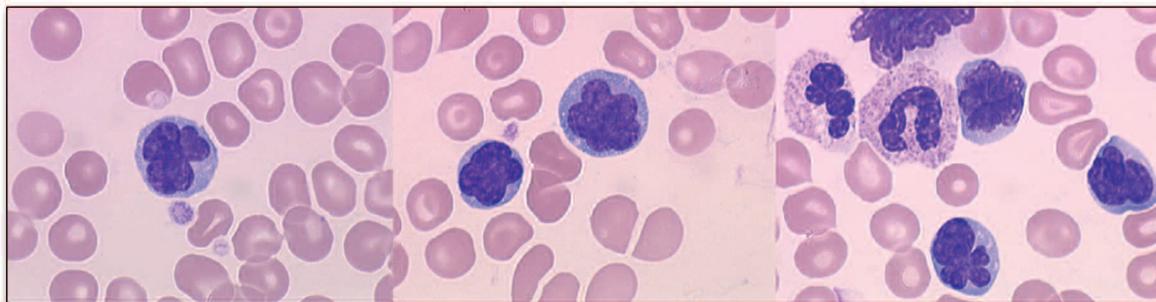
3) La forme lymphomateuse (25% des cas) se caractérise par la présence d'un syndrome tumoral avec parfois d'autres localisations viscérales mais une absence de localisation sanguine. L'hypercalcémie est inconstante et les LDH sont augmentées (> 2N).

4) La forme indolente, plus rare (5% des cas), est caractérisée par une atteinte cutanée et/ou pulmonaire sans hyperlymphocytose mais avec présence de cellules tumorales sanguines en fleur (> 5%). La calcémie est normale et les LDH peuvent être modérément augmentées (< 1,5 N).

La population lymphoïde pathologique est habituellement polymorphe, avec des cellules de grande taille avec un cytoplasme nettement basophile et agranulaire, un noyau polylobé d'aspect folié (en fleur ou en trèfle) (figure 1 C) et une chromatine dense et homogène, souvent nucléolée. Elles sont associées à d'autres types de cellules lymphoïdes de taille et de forme nucléaire variables. Dans la forme aiguë, les grandes cellules à noyau polylobé sont majoritaires et associées à d'autres cellules de grande taille à noyau régulier ou des cellules de taille intermédiaire, les petites cellules étant moins fréquentes. En

revanche dans la forme chronique, les cellules lymphoïdes tumorales de petite taille sont prédominantes et les grandes cellules à noyau polylobé sont rares mais néanmoins présentes. En cas d'expression cutanée prédominante, il n'est pas exclu de voir des cellules à noyau cérébriforme proche des cellules de Sézary.

**Figure 1 C : Aspects morphologiques de la Leucémie/Lymphome T de l'Adulte.**



Le profil habituel de la LLTA est celui de cellules T activées : CD2+, CD5+, CD3+, CD4+, DR+, CD25+, CD7-, CD8-. Il existe environ 13% des patients qui présentent la perte d'un pan-T (CD3 ou CD5) ou des anomalies portant sur l'expression du CD4 ou du CD8 (20%) : perte du CD4 et du CD8, co-expression du CD4 et du CD8 ou encore gain du CD8 et perte du CD4.

Un très grand degré de diversité et de complexité des anomalies chromosomiques est observé dans la LLTA. Une étude réalisée chez 50 patients a montré des anomalies sur les chromosomes 1p, 1p22, 1q, 1q10-21, 2q, 3q, 3q10-12, 3q21, 14q, 14q32, et 17q des pertes partielles des chromosomes 2q, 9p, 14p, 14q, et 17q associées à une diminution de la survie [Itoyama T *et al*].

Pour les formes agressives de leucémie/lymphome-T (ATL aiguë et ATL lymphome) une rémission complète peut être obtenue chez 40% des patients par la chimiothérapie mais la rechute précoce est fréquente. Les formes indolentes et chroniques ne semblent pas bénéficier d'un traitement par chimiothérapie qui, en outre, aggrave l'immunosuppression. Des résultats encourageants ont été obtenus avec une combinaison de la zidovudine, d'interféron alpha et du trioxyde d'arsenic (Trisenox®) avec un taux de réponse très élevé et une relative bonne tolérance [Kchour *et al*].

## **Lymphomes T/NK extranodaux**

### **Lymphomes T/NK extranodaux, type nasal**

Les lymphomes-T/NK extranodaux sont des lymphomes rares, représentant entre 5 et 15% de l'ensemble des LNH T. Parmi 1153 cas de LNH T, 136 cas (11,8%) sont des lymphomes NK/T extranodaux, dont 92 (68%) avec une localisation nasale et 35 (26%) avec une atteinte extranasale [Au *et al*]. Dans 6% des cas, le lymphome est difficile à classer. Ces lymphomes sont observés essentiellement chez les patients d'origine asiatique (80% des cas de lymphomes nasaux et 84% des cas de lymphomes extranasaux).

Les sites habituels sont les atteintes nasales. Ce lymphome touche l'homme de la cinquantaine et débute par des signes d'obstruction nasale ou des épistaxis. Il a aussi tendance à envahir les structures avoisinantes oropharynx et orbites, d'où aussi son nom de granulome malin centrofacial. Il peut dans un

second temps disséminer et toucher n'importe où l'intestin dans 36% des cas, la peau dans 26%, les testicules dans 17%, les poumons dans 14%, les yeux dans 9% et le cerveau dans 6%. Les atteintes multi sites sont fréquentes.

Le diagnostic histologique est indispensable ; il existe une infiltration lymphoïde tumorale avec angiocentricité et angiodestruction. Les cellules tumorales peuvent être petites, moyennes ou grandes. Il est habituel de voir aussi des mitoses, une nécrose et des corps apoptotiques.

Il n'existe pas de différence de phénotype entre les formes nasales et les formes extra nasales, en dehors d'un pourcentage plus élevé d'expression du CD30 dans les formes extra nasales. La plupart d'entre eux sont des lymphomes issus des cellules NK, exprimant le CD56, le CD3 cytoplasmique en absence de CD3 de surface et de réarrangement du TCR. Certains, plus rares, sont issus des cellules T et ont un phénotype et génotype T en configuration germinale avec expression de TIA-1, de granzyme B et de perforine.

Des anomalies cytogénétiques diverses ont été rapportées mais aucune d'entre elles n'est spécifique. L'anomalie del(6)(q21q25) ou i(6)(p10) est assez fréquente mais il est difficile de savoir si elles sont des événements primaires ou des facteurs de progression [Chan *et al*, IARC]. Les études de CGH array mettent en évidence de nombreuses autres anomalies.

La médiane de survie globale est courte de 7,8 mois et la survie sans événement (FFS) de 5,8 mois. La survie globale est moins bonne pour les patients avec une forme extra nasale : 0,36 versus 1,6 an, qu'il s'agisse de stade I /II (0,36 versus 2,96 ans) ou III/IV (0,28 versus 0,8 an). Une survie supérieure à un an n'est pas habituelle, excepté les patients avec une forme nasale au stade initial et pour le groupe de patients traités par radiothérapie (Liang, Kwong).

### **Lymphome T associé à une entéropathie**

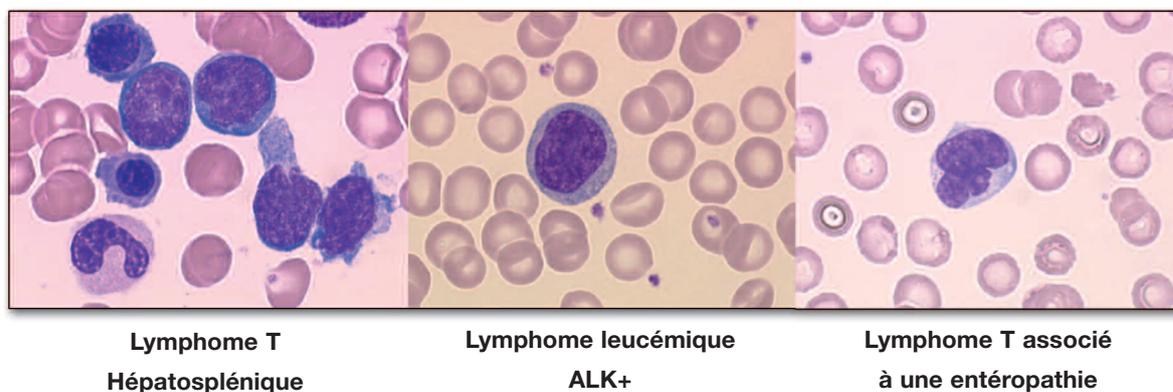
L'entité est rare ; ce lymphome T de l'intestin atteint plus fréquemment mais non exclusivement le jéjunum et l'iléon. Il est associé inconstamment à une entéropathie. Il est observé de façon préférentielle dans les zones géographiques où la maladie cœliaque est fréquente, en particulier le nord de l'Europe. Néanmoins dans la variante type II, les antécédents de maladie cœliaque peuvent être absents et le lymphome-T a une distribution géographique plus large, Asie et autres régions où l'entéropathie au gluten est absente.

Les patients adultes jeunes ont des antécédents de maladie cœliaque et le lymphome se manifeste par des douleurs abdominales, voir par des signes de perforation.

Le lymphome est responsable d'une masse, d'ulcérations avec à l'examen histologique habituellement un infiltrat tumoral monomorphe avec des cellules de taille moyenne à grande avec un nucléole proéminent, un cytoplasme assez étendu et peu basophile. Un pléomorphisme est observé plus rarement avec présence de cellules multinucléées et aspects morphologiques proches du lymphome anaplasique (figure 1 D). Dans tous les cas, un infiltrat inflammatoire est présent. A côté de l'infiltration tumorale, la muqueuse intestinale présente des signes d'atrophie des villosités, une hyperplasie des cryptes, une augmentation des lymphocytes de la lamina propria et la présence de lymphocytes intraépithéliaux. Dans le type II, à noter un infiltrat monomorphe, et une absence d'infiltrat inflammatoire et de lymphocytes

intraépithéliaux. Les signes d'entéropathie au gluten sont inconstants et observés une fois sur deux [Good *et al*].

**Figure 1 D : Aspects morphologiques de Lymphomes T rares.**



Les cellules tumorales ont un phénotype identique issu aux cellules T intraépithéliales de la muqueuse intestinale [Isaacson PG *et al*, IARC]. Elles sont CD3+, CD5-, CD7+, CD8-/+, CD103+, TCR $\alpha\beta$ + et les cellules contiennent les protéines associées aux granules cytotoxiques. L'expression du CD30 est variable. Dans la variante monomorphe, le phénotype est légèrement différent avec des cellules CD3+, CD4-, CD8+, CD56+ et TCR $\beta$ + .

Les anomalies cytogénétiques sont marquées par des amplifications en 9q31.3qter ou des délétions en 16q12.1, des anomalies en 1q et 5q dans la forme commune et des amplifications en 8q24 dans la forme variante.

L'évolution clinique est agressive. Les traitements sont mal codifiés, avec des résultats encourageants avec l'autogreffe de moelle osseuse [Bishton MJ *et al*].

### **Lymphome T hépato-splénique**

Il est rare [Vega *et al*, Gaulard *et al*, IARC] et développé à partir des cellules cytotoxiques  $\gamma\delta$  présentes dans les sinusoides de la rate, du foie, de la moelle osseuse. Il est observé chez l'adolescent ou l'adulte jeune et principalement de sexe masculin. Il est observé après transplantation ou chez les patients traités pour maladie de Crohn azathioprine et infliximab (anticorps monoclonal anti-TNF) [Macon WR].

La symptomatologie clinique est bruyante, dominée par la présence d'une hépatosplénomégalie sans adénopathies superficielles. Une thrombopénie marquée est habituelle de même qu'une anémie, la leucocytose étant variable. Une atteinte sanguine est inhabituelle au diagnostic mais peut être identifiée dans les phases tardives de la maladie [Good DJ *et al*, Macon WR].

La population apparaît monomorphe avec des cellules tumorales de taille moyenne présentant dans leur cytoplasme des granulations azurophiles. Ces dernières sont inconstantes et avec un nombre variable d'une cellule à une autre (figure 1 D).

Les cellules sont CD2+, CD3+, CD5+, CD4-, CD8-, CD16+, CD56+. Elles expriment habituellement les hétérodimères  $\gamma\delta$  du TCR, certains cas rares pouvant être  $\alpha\beta$ . Les cellules expriment TIA-1 mais pas la perforine ou le granzyme B.

Les anomalies cytogénétiques sont marquées par la présence d'un isochromosome 7q associé parfois à une +8 ou à une perte de chromosome sexuel. Les cellules ne sont pas porteuses du génome EBV et il existe un réarrangement clonal des gènes du TCR, le plus souvent  $\gamma$  rarement  $\beta$ .

L'évolution est agressive avec une médiane de survie inférieure à 2 ans. Les traitements sont mal codifiés : la pentostatine a été efficace dans certains cas [Corrazeli *et al*].

### **Lymphome T avec panniculite sous cutanée**

Ce lymphome est rare et représente moins de 1% des cas incidents. L'atteinte est principalement cutanée avec présence de nodules sous cutanés. Les autres atteintes, principalement ganglionnaires sont exceptionnelles.

Le diagnostic est histologique ; les biopsies montrent un respect du derme et de l'épiderme avec une atteinte des cellules graisseuses et la présence d'un infiltrat tumoral de cellules T $\alpha\beta$ +, CD8+, TIA1+. Le pronostic est relativement bon avec une survie à 5 ans de 60 à 80%, sauf en cas de syndrome hémophagocytaire associé [Macon WR]. Des formes cutanées  $\gamma\delta$  ont été identifiées avec une atteinte possible du derme et de l'épiderme et un pronostic plus réservé.

## **Lymphomes T/NK nodaux**

### **Lymphome T angioimmunoblastique (LTAI ou AITL)**

Connu aussi sous le terme de lymphadénopathie angioimmunoblastique, le LTAI est un lymphome qui représente environ 15% à 20% des LTP matures. Il atteint souvent les personnes âgées de 60 ans ou plus, des deux sexes de façon égale [Dogan A *et al*].

Le tableau clinique associe des adénopathies, une hépatosplénomégalie, des rashes cutanés, des arthralgies et souvent des signes cliniques d'évolutivité avec fièvre et perte de poids [Macon WR]. Le tableau biologique comprend une hypergammaglobulinémie polyclonale, une positivité du test de Coombs direct, avec ou sans anémie, des immuns-complexes et/ou la présence de facteurs rhumatoïdes.

Le diagnostic repose sur la mise en évidence d'anomalies histologiques ganglionnaires fortement évocatrices :

1) Destruction de l'architecture du ganglion avec présence d'un infiltrat cellulaire polymorphe comportant des immunoblastes T plus ou moins nombreux (d'où le nom de la maladie), mais aussi des lymphocytes à noyau irrégulier et à cytoplasme clair, des plasmocytes, des polynucléaires éosinophiles et des cellules épithélioïdes.

2) Un réseau vasculaire constitué de petites veinules très développé.

3) Une prolifération des cellules folliculaires dendritiques marquées par le CD21.

4) La présence de grandes cellules parfois ressemblant aux cellules de Reed-Sternberg.

Les cellules tumorales sont des cellules T matures de phénotype  $\alpha\beta+$  CD4+CD8-. Ces cellules dérivent des cellules normales TFH (Follicular Helper T cells) de la zone claire du centre germinatif CD4+/CD57+ / CD185+ (CXCR5). Les cellules TFH aident les cellules B à exprimer AID (Activation Induced cytidine Deaminase) indispensable à la différenciation des cellules B folliculaires. Les cellules sont aussi BCL6+, CD10+ et de plus expriment CXCL13 (Chemokine (C-X-C motif) ligand 13) +, CD279 (PD-1 ou Programmed Death 1)+ [[Dogan A *et al*].

De nombreuses anomalies cytogénétiques ont été rapportées, dont des +3 et des +5 ou des anomalies du chromosome 21, des gains du X ou des pertes en 6q. Dans la majorité des cas étudiés, un réarrangement des lymphocytes T est observé. Un réarrangement des gènes des immunoglobulines est aussi présent dans 15 à 20% des cas.

De nombreuses cellules B EBV+ sont identifiées dans la plupart des cas, suggérant que le virus EBV pourrait jouer un rôle essentiel dans la pathogénie de l'AILT [de Leval *et al*].

Le traitement est dans l'ensemble assez décevant, avec des survies médianes inférieures à 36 mois et des taux de survie à 5 ans de 30 à 35%. Les nouvelles approches thérapeutiques sont dans ce contexte essentielles : il faut avoir présent à l'esprit l'intérêt de la cyclosporine et de l'alemtuzumab. Celui du rituximab est aussi à évaluer [Cheson BD].

### **Lymphomes anaplasiques à grandes cellules ALK positifs et ALK négatifs**

Le lymphome anaplasique à grandes cellules (LAGC ou ALCL) est une entité qui représente environ 12% des LNH T. Son identification a été facilitée par la découverte de l'antigène CD30 et par la mise en évidence de la translocation t(2;5)(p23;q35) avec formation d'une protéine de fusion NPM (nucleophosmin en 5q35)-ALK (anaplastic lymphoma kinase en 2p23). Les patients qui expriment la protéine chimérique contenant la partie cytoplasmique de la protéine ALK ont un bon pronostic (survie à 5 ans de 70%) contrairement aux 15 à 40% des patients n'exprimant pas la protéine ALK (survie à 5 ans de 49%) [Macon WR *et al*].

### **Lymphomes anaplasiques à grandes cellules ALK positifs**

Le LAGC-ALK+ est une entité bien définie très fréquente chez l'enfant et représente environ 20-30% des LNH, alors qu'il représente chez l'adulte, souvent un homme de la trentaine, moins de 5% des cas [Delsol G *et al*].

Les atteintes sont ganglionnaires et extra-nodales, principalement cutanées, osseuses, pulmonaires et hépatiques. L'atteinte médullaire est observée dans environ 10% des cas et l'atteinte leucémique est rare à l'exception de la variante à petites cellules (**figure 1 D**).

La forme commune du LAGC-ALK+ se caractérise par la présence de cellules tumorales de grande taille, pléomorphes avec un noyau excentré en forme de rein ou fer à cheval et avec des inclusions pseudonucléaires (doughnut cells). Des cellules tumorales de plus petite taille avec les mêmes

caractéristiques cytoplasmiques peuvent être présentes. Les formes variantes sont moins fréquentes et incluent les formes à petites cellules (5-10%), les formes lymphohistiocytaires (10%) ou les sous types avec cellules géantes de type Hodgkin (3%).

Le diagnostic de LAGC-ALK+ est un diagnostic histologique. L'expression du CD30 dans les grandes cellules tumorales est membranaire mais il est aussi présent au niveau du Golgi. Les petites cellules peuvent être CD30- ou avoir un marquage au niveau du noyau. L'expression peut être cytoplasmique quand il existe un variant de la t(2;5)(p23;q35). Les cellules tumorales expriment EMA (Epithelial Membran Antigen) et un ou plusieurs antigènes T. Cependant, la perte des antigènes pan T peut donner un phénotype nul (en réalité T au niveau génétique). Les cellules expriment habituellement TIA1, le granzyme B et/ou la perforine. ALK n'est pas seulement impliqué dans les LAGC mais aussi dans certains lymphomes diffus à grandes cellules (DLBCL). Dans ce dernier cas, la morphologie des cellules tumorales est immunoblastique ou plasmablastique et les cellules tumorales expriment le CD138, le CD4 sans expression du CD30 ou des marqueurs B. ALK a été aussi impliqué dans les tumeurs solides, en particulier dans les tumeurs inflammatoires myofibroblastiques, les tumeurs neurales, les rhabdomyosarcomes alvéolaires, certains cancers du sein ou certaines tumeurs du poumon, où dans 6% des cas un nouveau transcrite de fusion EML4-ALK a été décrit correspondant à la présence d'une inv(2)(p21;p23).

La translocation t(2;5)(p23;q35), générant la protéine de fusion NPM-ALK, est caractéristique des LAGC-ALK+ : elle est identifiée dans environ 85% des cas. D'autres translocations ont été rapportées, en particulier la t(1;2)(q25;p23) générant le produit TPM3-ALK dans 13% des cas ou des translocations plus rares et identifiées dans moins de 1% des cas, comme la t(2;3)(p23;q21) (TFG-ALK), la t(2;19)(p23;p13) (PM4-ALK), l'inv(2)(p23;q35) (ATIC-ALK), la t(2;X)( p23 ;q11) (MSN-ALK), la t(2;17)(p23;q23) (CLTC1-ALK) [Chiarle R *et al*]. Des études récentes, en particulier chez l'enfant ont montré l'intérêt de la surveillance de la maladie résiduelle : les patients avec une PCR+ dans la moelle ont une EFS à 5 ans de 38% et de 82% en cas de PCR-. De la même façon, la survie globale à 5 ans est de 60% en cas de PCR+ et de 80% en cas de PCR-. Les différences sont significatives dans les deux cas. [Damm Welk *et al*].

### **Lymphome anaplasique à grandes cellules ALK négatif**

Le LAGC-ALK- est une entité actuellement provisoire [Mason DY *et al*]. Observé plus fréquemment chez l'adulte de 40 à 65 ans, il ne peut pas être distingué du lymphome ALK+ en dehors de l'absence d'expression de la protéine ALK.

Les traitements de ces maladies ont largement bénéficié ces dernières années des anticorps monoclonaux anti-CD30 (SGN-30). Les LMNH-ALK+ sont de meilleur pronostic que les proliférations ALK- ou les autres LMNH-T. [Savage KJ] Par ailleurs, de nouvelles approches thérapeutiques sont actuellement développées pour supprimer l'expression d'ALK ou son activité kinase. Parmi ces dernières, des petites molécules qui inhibent l'action d'ALK comme les pyrrocarbazolés fusionnés, le NVP-TAE684, le 5-chloro-2,4 diaminophenpyrimidine, le PF-2341066. Une autre approche concerne ALK, pris comme cible dans la vaccination anti-tumorale.

### **Lymphomes périphériques T, non spécifiés (LPT, NOS)**

Ils sont très hétérogènes et représentent un peu moins de 30% de l'ensemble des LMNH-T. Ils sont observés chez l'adulte et plus rarement chez l'enfant.

Les adénopathies sont disséminées avec présence d'une atteinte médullaire, rarement une atteinte sanguine et des localisations extra nodales, essentiellement cutanées et digestives, plus rarement pulmonaires ou cérébrales.

Le diagnostic est un diagnostic histologique d'exclusion [Pileri SA *et al*]. Un effacement de l'architecture ganglionnaire existe avec présence d'un infiltrat diffus ou paracortical, monomorphe ou polymorphe et des cellules tumorales de petite taille ou de grande taille. Les mitoses sont nombreuses et des cellules claires et des cellules ressemblant aux cellules de Reed Sternberg peuvent être identifiées. Une hyperplasie des veinules endothéliales est souvent présente avec un composant inflammatoire et la présence de clusters de cellules épithélioïdes. D'autres variantes morphologiques ont été décrites : lymphoépithélioïde, folliculaire ou de la zone T.

Les cellules tumorales ont un phénotype T le plus souvent  $\alpha\beta+$ , CD4+/CD8- même si des variantes ont été décrites  $\gamma\delta$  ou T cytotoxique avec expression de TIA1+, granzyme B+ et ou perforine +.

Des anomalies chromosomiques très diverses ont été identifiées. Certaines anomalies émergent possiblement comme des entités, notamment les lymphomes avec t(5;9)(q33;q22) observés dans environ 17% des cas mettant en juxtaposition ITK en 5q33 et SYK en 9q22 ou les lymphomes avec t(6;14)(p25;q11.2) mettant en juxtaposition IRF4 avec TCR- $\alpha$  (TCRA) et caractérisés par une atteinte cutanée, médullaire et un phénotype T cytotoxique [Macon WR].

## Bibliographie

---

1. Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.
2. Good DJ., Gascoyne RD. Classification of non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2008 Oct ; 22(5) : 781-805.
3. Morton LM., Wang SS., Devesa SS., Hartge P., Weisenburger DD., Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood.* 2006 Jan 1 ; 107(1) : 265-76.
4. International T-Cell Lymphoma Project. International Peripheral T-Cell and Natural Killer/T-Cell Lymphoma Study : Pathology Findings and Clinical Outcomes. *J. Clin Oncol.* 2008 26, 4124-4130.
5. Savage KJ. Peripheral T-cell lymphomas. *Blood Rev.* 2007 Jul ; 21(4) : 201-16.
6. Gallamini A., Stelitano C., Calvi R., Bellei M., Mattei D., Vitolo U., Morabito F., Martelli M., Brusamolino E., Iannitto E., Zaja F., Cortelazzo S., Rigacci L., Devizzi L., Todeschini G., Santini G., Brugiattelli M., Federico M. ; Intergruppo Italiano Linfomi. Peripheral T-cell lymphoma unspecified (PTCL-U) : a new prognostic model from a retrospective multicentric clinical study. *Blood.* 2004 Apr 1 ; 103(7) : 2474-9.
7. Johnston A., Salles G. Prognostic systems for lymphomas. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2008 Oct ; 22(5) : 839-61.
8. Galton DA., Goldman JM., Wiltshaw E., Catovsky D., Henry K., Goldenberg GJ. Polymphocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 1974 May ; 27(1) : 7-23.
9. Bennett JM., Catovsky D., Daniel MT., Flandrin G., Galton DA., Gralnick HR., Sultan C. Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukaemias French-American-British (FAB) Cooperative Group. *J. Clin Pathol.* 1989 Jun ; 42(6) : 567-84.

10. Matutes E., Brito-Babapulle V., Swansbury J., Ellis J., Morilla R., Dearden C., Sempere A., Catovsky D. Clinical and laboratory features of 78 cases of T-prolymphocytic leukemia. *Blood*. 1991 Dec 15 ; 78(12) : 3269-74.
11. Catovsky D., Müller-Hermelin HK., Ralfkiaer E. T-cell prolymphocytic leukaemia : 270-71 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.
12. Garand R., Goasguen J., Brizard A., Buisine J., Charpentier A., Claisse JF., Duchayne E., Lagrange M., Segonds C., Troussard X., Flandrin G. Indolent course as a relatively frequent presentation in T-prolymphocytic leukaemia. Groupe Français d'Hématologie Cellulaire. *Br J. Haematol*. 1998 Nov ; 103(2) : 488-94.
13. Mossafa H., Brizard A., Huret JL., Brizard F., Lessard M., Guilhot F., Tanzer J. Trisomy 8q due to i(8q) or der(8) t(8;8) is a frequent lesion in T-prolymphocytic leukaemia : four new cases and a review of the literature. *Br J. Haematol*. 1994 Apr ; 86(4) : 780-5.
14. Keating MJ., Cazin B., Coutré S., Birhiray R., Kovacsovics T., Langer W., Leber B., Maughan T., Rai K., Tjønnfjord G., Bekradda M., Itzhaki M., Hérait P. Campath-1H treatment of T-cell prolymphocytic leukemia in patients for whom at least one prior chemotherapy regimen has failed. *J. Clin Oncol*. 2002 Jan 1 ; 20(1) : 205-13.
15. Gribben JG., Hallek M. Rediscovering alemtuzumab : current and emerging therapeutic roles. *Br J. Haematol*. 2009 Mar ; 144(6) : 818-31.
16. Brouet JC., Sasportes M., Flandrin G., Preud'Homme JL., Seligmann M. Chronic lymphocytic leukaemia of T-cell origin. Immunological and clinical evaluation in eleven patients. *Lancet*. 1975 Nov 8 ; 2(7941) : 890-3.
17. Mustjoki S., Ekblom M., Arstila TP., Dybedal I., Epling-Burnette PK., Guilhot F., Hjorth-Hansen H., Höglund M., Kovanen P., Laurinoli T., Liesveld J., Paquette R., Pinilla-Ibarz J., Rauhala A., Shah N., Simonsson B., Sinisalo M., Steegmann JL., Stenke L., Porkka K. Clonal expansion of T/NK-cells during tyrosine kinase inhibitor dasatinib therapy. *Leukemia*. 2009 Aug ; 23(8) : 1398-405.
18. Loughran TP. Jr. Clonal diseases of large granular lymphocytes. *Blood*. 1993 Jul 1 ; 82(1) : 1-14.
19. Lamy T., Loughran TP. Jr. Clinical features of large granular lymphocyte leukemia. *Semin Hematol*. 2003 Jul ; 40(3) : 185-95.
20. Sandberg Y., Almeida J., Gonzalez M., Lima M., Bárcena P., Szczepański T., van Gastel-Mol EJ., Wind H., Balanzategui A., van Dongen JJ., Miguel JF., Orfao A., Langerak AW. TCR gammadelta+ large granular lymphocyte leukemias reflect the spectrum of normal antigen-selected TCRgammadelta+ T-cells. *Leukemia*. 2006 Mar ; 20(3) : 505-13.
21. Dhodapkar MV., Li CY., Lust JA., Tefferi A., Phylilly RL. Clinical spectrum of clonal proliferations of T-large granular lymphocytes : a T-cell clonopathy of undetermined significance ? *Blood*. 1994 Sep 1 ; 84(5) : 1620-7.
22. Chan WC., Foucar K., Morice WG., Catovsky D. T-cell large granular lymphocytic leukaemia : 272-73 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.
23. Suzuki R., Suzumiya J., Nakamura S., Aoki S., Notoya A., Ozaki S., Gondo H., Hino N., Mori H., Sugimori H., Kawa K., Oshimi K. ; NK-cell Tumor Study Group. Aggressive natural killer-cell leukemia revisited : large granular lymphocyte leukemia of cytotoxic NK cells. *Leukemia*. 2004 Apr ; 18(4) : 763-70.
24. Chan JKC., Jaffe ES., Ralfkiaer E., Ko YH. Aggressive NK-cell leukaemia : 276-77 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.
25. Villamor N., Morice WG., Chan WC., Foucar K. Chronic lymphoproliferative disorders of NK cells : 274-75 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.
26. Ohshima K., Jaffe ES., Kikuchi M. Adult T-cell leukaemia.lymphoma : 281-284 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.
27. Itoyama T., Chaganti RS., Yamada Y., Tsukasaki K., Atogami S., Nakamura H., Tomonaga M., Ohshima K., Kikuchi M., Sadamori N. Cytogenetic analysis and clinical significance in adult T-cell leukemia/lymphoma : a study of 50 cases from the human T-cell leukemia virus type-1 endemic area, Nagasaki. *Blood*. 2001 Jun 1 ; 97(11) : 3612-20.

28. Kchour G., Tahrini M., Kooshyar MM., El Hajj H., Wattel E., Mahmoudi M., Hatoum H., Rahimi H., Maleki M., Rafatpanah H., Rezaee SA., Yazdi MT., Shirdel A., de Thé H., Hermine O., Farid R., Bazarbachi A. Phase 2 study of the efficacy and safety of the combination of arsenic trioxide, interferon alpha, and zidovudine in newly diagnosed chronic adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL). *Blood*. 2009 Jun 25 ; 113(26) : 6528-32.
29. Au WY., Weisenburger DD., Intragumtornchai T., Nakamura S., Kim WS., Sng I., Vose J., Armitage JO., Liang R. ; International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. Clinical differences between nasal and extranasal natural killer/T-cell lymphoma : a study of 136 cases from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Blood*. 2009 Apr 23 ; 113(17) : 3931-7.
30. Chan JKC., Quintanilla-Martinez L., Ferry JA., Peh SC. Extranodal NK/Tcell lymphoma, nasal type : 285-288 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.
31. Liang R. Advances in the management and monitoring of extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Br J Haematol*. 2009 Jul 8. [Epub ahead of print].
32. Kwong YL. Natural killer-cell malignancies : diagnosis and treatment. *Leukemia*. 2005 Dec ; 19(12) : 2186-94.
33. Issacson P., Chott A., Ott G., Stein H. Enteropathy-associated T-cell lymphoma : 289-291 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.
34. Bishton MJ., Haynes AP. Combination chemotherapy followed by autologous stem cell transplant for enteropathy-associated T cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2007 Jan ; 136(1) : 111-3.
35. Vega F., Medeiros LJ., Gaulard P. Hepatosplenic and other gammadelta T-cell lymphomas. *Am J Clin Pathol*. 2007 Jun ; 127(6) : 869-80.
36. Gaulard P., Jaffe ES., Krenacs L., Macon WR. Hepatosplenic T-cell lymphoma : 292-293 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.
37. Macon WR. Peripheral T-cell lymphomas. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009 Aug ; 23(4) : 829-42.
38. Corazzelli G., Capobianco G., Russo F., Frigeri F., Aldinucci D., Pinto A. Pentostatin (2'-deoxycofomycin) for the treatment of hepatosplenic gammadelta T-cell lymphomas. *Haematologica*. 2005 Mar ; 90(3) : ECR14.
39. Dogan A., Gaulard P., Jaffe ES., Ralfkiaer E., Müller-Hermelink HK. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma : 309-311 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.
40. de Leval L., Gaulard P. Pathobiology and molecular profiling of peripheral T-cell lymphomas. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2008 : 272-9.
41. Cheson BD. Novel therapies for peripheral T-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Curr Opin Hematol*. 2009 Jul ; 16(4):299-305.
42. Delsol G., Falini B., Müller-Hermelink HK., Campo E., Jaffe ES., Gascoyne RD., Stein H., Kinney MC. Anaplastic large cell lymphoma (ALCL), ALK- positive : 312-316 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.
43. Chiarle R., Voena C., Ambrogio C., Piva R., Inghirami G. The anaplastic lymphoma kinase in the pathogenesis of cancer. *Nat Rev Cancer*. 2008 Jan ; 8(1) : 11-23.
44. Damm-Welk C., Busch K., Burkhardt B., Schieferstein J., Viehmann S., Oschlies I., Klapper W., Zimmermann M., Harbott J., Reiter A., Woessmann W. Prognostic significance of circulating tumor cells in bone marrow or peripheral blood as detected by qualitative and quantitative PCR in pediatric NPM-ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma. *Blood*. 2007 Jul 15 ; 110(2) : 670-7.
45. Mason DY., Harris NL., Delsol G., Stein H., Campo E., Kinney MC., Jaffe ES., Falini B. Anaplastic large cell lymphoma, ALK-negative : 317-319 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.

46. Savage KJ. Prognosis and primary therapy in peripheral T-cell lymphomas. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2008 : 280-8.
47. Pileri SA., Weisenburger DD., Sng I., Jaffe ES. Peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified : 306-308 in Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Edts). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoma tissues. IARC : Lyon 2008.

# **Les lymphomes cutanés T épidermotropes**

**Valérie Costes, Olivier Dereure**

**CHAPITRE XV**

Les lymphomes cutanés T épidermotropes font partie des lymphomes cutanés primitifs d'agressivité clinique faible ou intermédiaire ([tableau 1](#)) [1]. Ils représentent la grande majorité des lymphomes T cutanés primitifs et un peu plus de la moitié des lymphomes cutanés primitifs en général. Ils peuvent être séparés en deux grandes entités : le mycosis fongoïde (MF) « classique » et ses variantes, formes indolentes de bon pronostic dans la majorité des cas, qui est de loin la forme clinique la plus fréquente et le syndrome de Sézary qui en est généralement considéré comme la contrepartie leucémique, de pronostic nettement plus sombre. D'autres formes, telles la réticulose pagétoïde ou la « granulomatous slack skin » « sont beaucoup plus rares. L'étiologie de ces lymphomes ainsi que leur mécanisme physiopathologique ne sont pas connus avec précision, même si certaines hypothèses commencent à se faire jour. Leur traitement n'est pas exactement codifié, mais des recommandations ont été élaborées récemment afin de guider le clinicien dans ses choix thérapeutiques.

**Tableau 1 : Classification WHO/EORTC des lymphomes cutanés primitifs.**

<b>Lymphomes cutanés primitifs T et NK</b>
Mycosis fongoïde et ses variants (annexotropique, réticulose pagétoïde, Granulomatous lack skin)
Syndrome de Sézary
<b>Lymphomes ni MF ni Sézary</b>
Lymphoproliférations CD30+ incluant papulose lymphomatoïde et lymphome cutané primitif anaplasique à grandes cellules CD30+
Lymphome T sous-cutané à type de panniculite
Lymphome T/NK de type nasal
Lymphome cutané périphérique T sans autre précision
Lymphome T cutané primitif épidermotrope agressif (provisoire)
Lymphome T cutané $\gamma/\delta$ (provisoire)
Lymphome cutané T pléiomorphe à cellules petites et moyennes (provisoire)
<b>Lymphomes cutanés primitifs B</b>
Lymphomes des zones marginales
Lymphomes de type centro-folliculaires
Lymphomes cutanés diffus à grandes cellules de type jambe
Autres lymphomes cutanés diffus à grandes cellules
Lymphomes intravasculaires
<b>Hématodermies développées aux dépends de précurseurs hématologiques</b>
Hématodermie CD4+/CD56+ (Tumeur à cellules plasmocytoïdes dendritiques blastiques)

## Mycosis fongoïde et ses variants

### Mycosis fongoïde « classique »

Le mycosis fongoïde (MF) est le lymphome cutané primitif le plus fréquent, caractérisé par une prolifération de lymphocytes T en général CD4+ de taille petite à moyenne et dont le noyau peut parfois prendre un aspect incisuré voire cérébriforme en microscopie électronique (cellules dites de Sézary). Décrit par Alibert dès 1806, il représente environ 50 % de tous les lymphomes cutanés primitifs.

#### Épidémiologie-étiopathogénie

L'épidémiologie de ce lymphome est mal connue mais il semble que son incidence soit peut-être supérieure aux notions classiques. Comme celle des lymphomes en général mais peut-être de façon encore plus nette et rapide, cette incidence est ou a été en augmentation mais s'est apparemment stabilisée depuis 1984, du moins aux USA [2], [3]. Elle augmente clairement avec l'âge et atteint d'avantage les hommes (sex ratio de 2.3/1 dans la population blanche, 5,2/1 chez les asiatiques). Les facteurs épidémiologiques et de risque sont mal connus, mais il est possible que l'exposition à certains agents contaminants extérieurs tels que insecticides, pesticides, fongicides, puissent jouer un rôle même si ce point n'a jamais été démontré avec certitude. L'immunodépression congénitale ou induite ne semble pas jouer de rôle particulier. Le MF atteint en priorité les adultes au-delà de 50 ans, avec un âge médian au diagnostic de 55 à 60 ans et un ratio homme/femme de 1,6 à 2 hommes pour 1 femme. Toutefois, il peut atteindre les enfants et les adolescents. De rares cas conjugaux ont été décrits, qui peuvent être interprétés de diverses façons : agent étiologique commun notamment d'environnement ou transmission d'un agent viral.

Les mécanismes moléculaires de cette affection ne sont pas connus avec certitude et plusieurs théories qui ne sont d'ailleurs pas mutuellement exclusives ont été proposées [4], [7] : stimulation antigénique chronique notamment par un agent extérieur, peut-être viral; modification des voies d'apoptose post-activation lymphocytaire par l'antigène, notamment de la voie FAS-dépendante aboutissant à un défaut de cette apoptose dans des lymphocytes portant la molécule d'adressage cutané CLA ; infection par un (rétro)virus lymphotrope ; stimulation lymphocytaire par la sécrétion chronique de cytokines par d'autres cellules, etc. Il faut noter que la théorie de l'activation antigénique chronique et celle de l'anomalie d'apoptose post-activation lymphocytaire sont tout à fait complémentaires et, par analogie aux lymphomes folliculaires B avec translocation 14-18, pourrait parfaitement être cohérente avec la faible évolutivité de cette affection, compatible avec un phénomène de lympho-accumulation et non de lympho-prolifération. De la même façon, la théorie virale pourrait s'exprimer par une stimulation lymphocytaire chronique par un ou plusieurs antigènes viraux sans que le virus en cause soit forcément à tropisme lymphotrope (infection des kératinocytes et des cellules de Langerhans également possible) ou par les stratégies anti-apoptotiques des virus lymphotropes et notamment de certains rétrovirus. Aucune de ces théories n'a encore été formellement démontrée même si les éléments s'accumulent en faveur du défaut d'apoptose post-activation antigénique en particulier en raison de la mise en évidence de mutations des acteurs de la voie Fas-dépendante. Un certain nombre d'altérations chromosomiques ont également été mises en évidence mais aucune n'est constante et il est bien difficile d'en tirer des conclusions physiopathologiques très précises même si cette voie est probablement prometteuse (cf infra).

#### Clinique

Cliniquement, le MF suit en principe une progression très lente s'étalant sur des années ou des décennies (forme progressive de Alibert et Bazin). Les lésions cutanées débutent sous forme de plaques érythémato-

squameuses rouge bistre non infiltrées, parfois striées ou d'aspect fripées, à disposition arciforme, bien limitées, géométriques, parfois encochées, lésions qui s'épaississent souvent progressivement pour aboutir à des plaques cuivrées plus ou moins infiltrées, parfois érosives, souvent peu symptomatiques, à l'exception d'un prurit parfois féroce (figures 1 et 2) [8], [12]. Ces éléments sont localisés en priorité sur les zones non photoexposées, au moins au départ : fesses, flancs, haut des cuisses, creux axillaires notamment mais peuvent ensuite atteindre des zones photo-exposées y-compris le visage. Les muqueuses peuvent également être touchées, en particulier buccales et génitales sous forme de lésions qui sont alors souvent tumorales. Le MF "authentique" c'est à dire documenté histologiquement peut être précédé dans un certain nombre de cas par une entité aux contours nosologiques très flous, le parapsoriasis en grandes plaques, qui se présente sous la forme d'éléments sans relief, à peine érythémateux, parfois peu visibles, très discrètement squameux, d'aspect fripé, parfois atrophiques, poikilodermiques ou lichénoïdes, souvent peu ou asymptomatiques, non ou très lentement évolutifs (figure 3). Ces lésions sont bien délimitées et, comme un MF authentique, atteignent plutôt les zones non photoexposées. Selon les auteurs, elles sont considérées soit comme un précurseur de MF pouvant évoluer vers un MF de stade I dans 10% des cas environ notamment dans les formes lichénoïdes et atrophiques/poikilodermiques soit déjà comme un authentique MF à un stade très précoce qu'on peut alors qualifier de « stade 0 » dans ce cas. Cette discussion purement nosologique n'a en fait pas beaucoup de sens et doit surtout déboucher sur une attitude pragmatique de traitement et de surveillance de ces lésions pour dépister en temps utile l'apparition d'un authentique MF en général de stade I qui de toute façon n'assombrit pas le pronostic global. D'autres formes de parapsoriasis en petites plaques existent, faites notamment d'éléments digitiformes mais elles n'ont pas le même potentiel évolutif semble-t-il. Enfin le parapsoriasis en gouttes est une affection entièrement différente.

Beaucoup plus rarement, des lésions authentiquement tumorales, souvent ulcérées, apparaissent soit sur les plaques infiltrées préexistantes nettement plus anciennes, soit de novo (figures 4 et 5) ; dans ce dernier cas, il n'est alors pas certain qu'il s'agisse d'un MF « authentique » puisque certains auteurs pensent que la définition du MF implique nécessairement une évolution progressive par étapes et que ces formes dites tumorales d'emblée correspondent en fait à d'autres entités tels les lymphomes pléiomorphes à cellules petites à moyennes ou des lymphomes épidermotropes agressifs CD8+ cytotoxiques. Enfin, chez un nombre très restreint de patients, une érythrodermie ou encore une atteinte ganglionnaire voire viscérale spécifique peuvent apparaître. A partir du stade tumoral, le pronostic s'altère progressivement à la fois en qualité et en espérance de vie et le traitement devient souvent plus difficile et nettement moins opérant tandis que l'évolution s'accélère de façon très sensible. L'étendue des lésions et le type lésionnel définissent la classification du mycosis fongoïde en plusieurs stades (stade Ia à Ib) comme l'indique les Tableaux 2 et 3, stades qui définissent alors les choix thérapeutiques (cf infra). Le pronostic dépend bien évidemment du stade de la maladie chez un patient donné.

Un certain nombre de formes cliniques particulières et souvent trompeuses ont été rapportées : bulleuses notamment palmo-plantaires, hypopigmentées notamment chez les patients naturellement pigmentés, ichtyosiformes, à type de capillarite des membres inférieurs, lichénoïdes, inflammatoires palmo-plantaires, annexotropes (qui sera détaillé plus loin), avec mucinose folliculaire et alopecie, formes « invisibles » sans lésion cliniquement évidente, etc. Aucune de ces formes ne s'individualise par une évolution ou un pronostic particulier à l'exception notable des formes pilotropes.

Figure 1 :

**Mycosis fongoide : stade des patches.**



Figure 2 :

**Mycosis fongoide : plaques infiltrées.**



Figure 3 :

**Parapsoriasis en plaques.**



Figure 4 :

**Mycosis fongoide : tumeurs ulcérées multiples.**



Figure 5 :

**Mycosis fongoide : tumeur avec transformation en lymphome à grandes cellules.**



**Tableau 2 : Classification TNM du mycosis fongoïde (d'après Blood. 2005 ; 105 : 3768-85).**

<b>PEAU</b>	
T1	Macules, papules et/ou plaques limitées couvrant <10% de la surface corporelle.
T2	Macules, papules et/ou plaques limitées couvrant >10% de la surface corporelle.
T3	Une ou plusieurs tumeurs $\geq$ 1 cm
T4	Erythème confluent $\geq$ 80% de la surface corporelle
<b>GANGLION</b>	
N0	Pas de ganglion périphérique anormal cliniquement (pas de biopsie nécessaire)
N1	Adénopathie palpable : adénite dermatopathique, pas de cellules atypiques
N1a	Pas de clone T
N1b	Clone T
N2	Adénopathie palpable : envahissement histologique débutant sans modification architecturale
N2a	Pas de clone T
N2b	Clone T
N3	Adénopathie palpable : envahissement histologique partiel ou total quel que soit le clone
Nx	Adénopathie palpable : histologie non contributive
<b>VISCÈRES</b>	
M0	Absence d'atteinte viscérale
M1	Atteinte viscérale histologiquement confirmée
<b>SANG</b>	
B0	< 5% de lymphocytes atypiques (cellules de Sezary)
B0a	Pas de clone T
B0b	Clone T
B1	Faible atteinte : > 5% de lymphocytes atypiques (cellules de Sezary)
B1a	Pas de clone T
B1b	Clone T
B2	Forte atteinte : $\geq$ 1000 cellules de Sezary / ml avec clone T

**Tableau 3 : Stade des mycosis fongoïde et du syndrome de Sezary revu par l'EORTC (d'après Blood. 2005 ; 105 : 3768-85).**

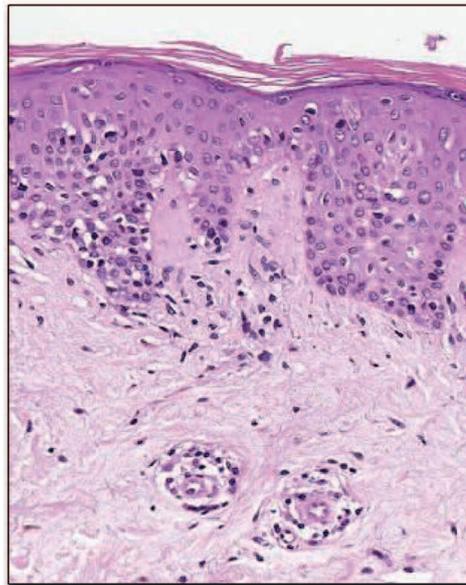
	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>	<b>B</b>
<b>IA</b>	1	0	0	0,1
<b>IB</b>	2	0	0	0,1
<b>II</b>	1,2	1,2	0	0,1
<b>IIB</b>	3	0-2	0	0,1
<b>III</b>	4	0-2	0	0,1
<b>IIIA</b>	4	0-2	0	0
<b>IIIB</b>	4	0-2	0	1
<b>IVA<sub>1</sub></b>	1-4	0-2	0	2
<b>IVA<sub>2</sub></b>	1-4	3	0	0-2
<b>IVB</b>	1-4	0-3	1	0-2

#### **Histologie et immunohistochimie :**

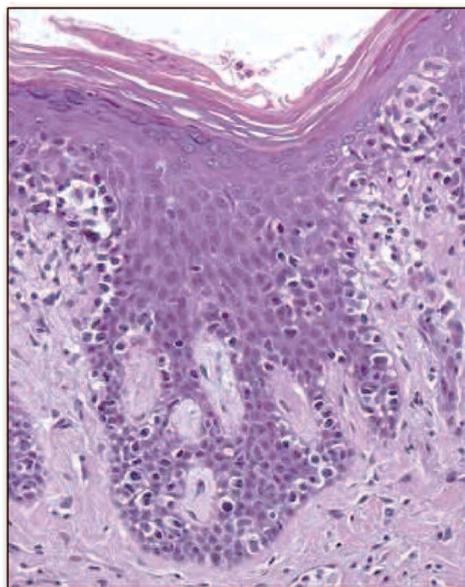
Au stade des plaques non infiltrées, les lésions histologiques sont discrètes, caractérisées par un infiltrat lymphocytaire en bande ou en patch du derme papillaire associé à un épidermotropisme le plus souvent limité à quelques lymphocytes isolés, se disposant typiquement en file indienne le long de la membrane basale (figure 6) [9]. Cet infiltrat comprend des cellules atypiques de taille petite à moyenne au noyau souvent cérébriforme, parfois en très petits nombres, associé à une majorité de lymphocytes d'aspect tout à fait normal. Plus rarement les lymphocytes atypiques intraépidermiques se regroupent en amas (thèques ou micro-abcès de Pautrier), tout à fait caractéristiques mais qui ne sont souvent observés que sur quelques coupes et qu'il faut savoir rechercher avec obstination (figure 7). L'absence de modifications de l'épithélium (pas de spongiose, pas de corps de nécrose) est aussi un argument important du diagnostic différentiel par rapport à des pathologies réactionnelles telles que l'eczéma. Au fur et à mesure que la maladie évolue, l'infiltrat dermique devient plus diffus, plus dense et plus atypique, tandis que l'épidermotropisme peut s'atténuer ou même disparaître. Une transformation cytologique en cellules de grandes tailles (> 25% de grandes cellules dans l'infiltrat lymphocytaire) survient dans plus de 50% des mycosis fongoïdes tumoraux. Ces grandes cellules peuvent ou non exprimer le CD30 qui est un marqueur d'activation non spécifique. Cette transformation cytologique est un signe de mauvais pronostic.

La présence d'une mucinose folliculaire est possible, se présentant cliniquement sous la forme de papules folliculaires ou de plaques infiltrées plus classiques, souvent associée à une alopecie. Cette mucinose n'est pas systématiquement associée à une atteinte spécifique du follicule pileux.

**Figure 6 : Mycosis fongoïde débutant : lymphocytes discrètement atypiques alignés le long de la membrane basale, entourés de halo clair autour du noyau.**



**Figure 7 : Mycosis fongoïde : infiltrat lymphocytaire atypique intra épidermique avec formation d'abcès de Pautrier (flèche).**

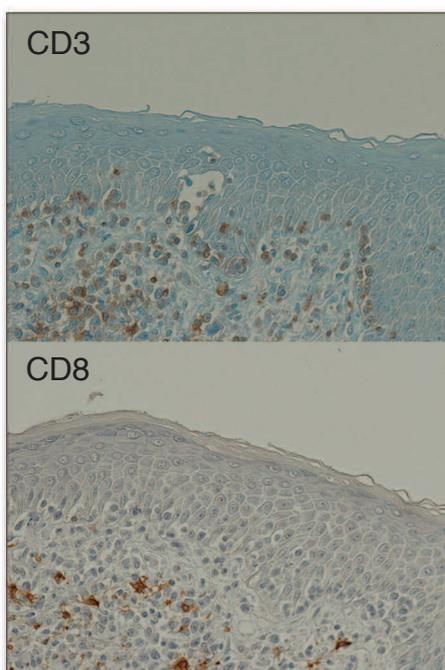


L'immunophénotype des cellules tumorales est bien connu ; il s'agit de lymphocytes T mémoires  $CD3+$ ,  $CD4+$ ,  $CD45 RO+$ ,  $CD8-$ , qui expriment parfois faiblement le récepteur à l'IL2 ( $CD25$ ). L'expression du  $CD7$  est variable. Dans les formes précoces, il existe souvent un abondant infiltrat réactionnel, essentiellement T  $CD8$ , associés à des monocytes et à de rares lymphocytes B, dans le derme. A ce stade les lymphocytes tumoraux sont essentiellement intra épidermiques et c'est donc le phénotype des lymphocytes intra épithéliaux qui doit être examiné avec attention. Dans la plupart des affections cutanées réactionnelles (eczéma, toxidermies...) les lymphocytes intra épithéliaux sont  $CD3+$   $CD8+$ , volontiers associés à des

monocytes qui expriment le CD4. En pratique courant on utilise le ratio nombre de cellules CD8 sur nombre de cellules CD3, dans l'épiderme : si la majorité des cellules CD3 positives sont CD8 négatives, ce résultat est très en faveur d'un mycosis fongoïde (figure 8).

Dans de très rares cas, les lymphocytes tumoraux sont CD4-, CD8+ et ce variant immunophénotypique ne semble pas avoir un pronostic différent de la forme habituelle. La perte d'un antigène de différenciation est possible (par exemple CD5) et représente souvent un élément important en faveur du diagnostic. L'expression des protéines cytotoxiques (TIA-1, granzyme B) est rare, surtout présente dans les formes tumorales : l'histoire clinique est importante dans ce cas afin de ne pas méconnaître un lymphome T cutané cytotoxique, d'emblée plus agressif.

**Figure 8 : Les lymphocytes tumoraux intra épidermiques sont CD3 positifs, CD8 négatifs.**



#### **Autres explorations à visée diagnostique**

L'étude de cellules périphériques ne montre en général pas la présence de cellules de Sézary circulantes mais l'analyse en cytométrie de flux peut montrer une diminution de l'expression de CD95/Fas sur les lymphocytes CD4+. Par ailleurs le rapport CD4+/CD8+ est en général normal. Une population lymphocytaire T dominante, identifiée par les techniques de biologie moléculaire (mise en évidence d'un réarrangement dominant du gène codant pour une chaîne du récepteur T, en général beta ou gamma, par des techniques telles que la DGGE et le GeneScan, désormais en routine dans les CHU) est présente dans les lésions cutanées dans la majorité des cas, parfois accompagnée de la même population dans le sang circulant alors même qu'il n'existe pas de cellules circulantes atypiques au sens cytologique du terme. La présence d'un tel clone cutané lésionnel est un argument très fort mais pas absolu en faveur du diagnostic de MF devant un infiltrat de nature douteuse et doit être interprétée avec la prudence de rigueur dans le contexte clinique histologique et immunologique ; en tout état de cause, elle doit pousser à une grande vigilance débouchant sur une surveillance clinique et histologique assez étroite. De nombreuses anomalies chromosomiques assez diverses ont été décrites, en particulier dans les stades avancés, mais des modifications récurrentes et spécifiques n'ont pas été identifiées à ce jour. La modification la plus fréquente

est une perte du chromosome 10q tandis que des anomalies des gènes suppresseurs de tumeurs p15, p16 et p53 ont été décrites, notamment dans les formes transformées. Plus récemment, une translocation récurrente impliquant le gène nav-3 a été rapportée mais n'a pas été confirmée par d'autres équipes.

### **Diagnostic différentiel**

Le diagnostic différentiel est délicat aux stades initiaux notamment vis-à-vis de dermatoses lymphocytaires bénignes (surtout eczéma en sachant qu'une filiation dans le temps est possible dans la cadre de la théorie de la stimulation antigénique chronique) et doit prendre en compte l'aspect clinique, l'évolutivité, les histologies qu'il ne faudra pas hésiter à répéter, le profil immunohistochimique, de cytométrie de flux des lymphocytes circulants et les données de la biologie moléculaire ; toutefois, le diagnostic reste souvent hésitant pendant longtemps en raison d'arguments contradictoires ou peu spécifiques, faute de marqueur vraiment spécifique même si, comme indiqué ci-dessus, la présence d'un clone T dominant dans les lésions cutanées doit rendre particulièrement vigilant notamment quand la même population est détectée dans le sang périphérique. Certains auteurs ont cru pouvoir bâtir des systèmes de scores diagnostiques presque "mathématiques" mais ces méthodes n'ont jamais été vraiment validées. C'est dire l'importance de revoir régulièrement les patients atteints d'infiltrats douteux pour réévaluer clinique, histologie et biologie moléculaire si le doute persiste. Par ailleurs, les relations nosologiques avec le parapsoriasis en plaques (notamment en grandes plaques atrophiques) sont confuses comme mentionné ci-dessus.

Aux stades plus avancés notamment tumoraux ou érythrodermiques, le diagnostic différentiel doit essentiellement écarter d'autres variétés de lymphomes T cutanés primitifs, ce qui est en général assez aisé, chaque catégorie de lymphome ayant en principe un profil anatomo-clinique assez spécifique.

Ainsi doivent être écartés :

- Le syndrome de Sézary pour les formes érythrodermiques.
- Les lymphomes cutanés primitifs CD30+.

Ce sont les plus fréquents des lymphomes T non épidermotropes. Leur pronostic est en général excellent, très différent de celui des lymphomes ganglionnaires de même histologie. Un bilan d'extension est donc indispensable pour écarter un lymphome ganglionnaire avec extension cutanée où le traitement est alors bien différent. L'autre possibilité à écarter est celle d'un MF déjà connu secondairement transformé en lymphome à grandes cellules CD30+, où le pronostic est également nettement plus défavorable que dans les formes primitives. Sur le plan clinique, la maladie se présente sous forme de tumeurs d'apparition rapide, brun-violacé, souvent nécrotiques et ulcérées, solitaire le plus souvent ou localisées dans une même région, plus rarement que disséminées. Une régression spontanée, partielle ou complète survient dans 30 % des cas dans les mois qui suivent. L'histologie montre un infiltrat dense dermique, voire hypodermique de grandes cellules de morphologie variable, le plus souvent anaplasiques, pléomorphes ou immunoblastiques qui expriment majoritairement l'antigène CD30 mais aussi CD3+ et en général CD4+ mais pas ALK (à la différence de certains lymphomes anaplasiques systémiques), ni les protéines ou les ARNm de l'EBV sauf chez l'immunodéprimé. Le pronostic global est très favorable en termes de survie (plus de 90 % à 10 ans) mais des récurrences cutanées sont fréquentes tandis qu'une extension extracutanée secondaire pourrait apparaître dans 10 % des cas notamment dans l'aire ganglionnaire de drainage.

- Les lymphomes T sous-cutanés  $\alpha/\beta$  à type de panniculite : le tableau clinique est celui d'une panniculite notamment des membres inférieurs avec placards ou nodules sous-cutanés non ulcérés d'évolution prolongée et en générale indolente sur plusieurs années, mais des signes plus inquiétants peuvent apparaître, notamment un syndrome hémophagocytaire.

L'infiltrat tumoral est surtout hypodermique fait de cellules atypiques de taille variée, le plus souvent petites

et moyennes de phénotype CD3+, CD8+, exprimant des protéines cytotoxiques et le récepteur T à l'antigène  $\alpha\beta$ , entourant souvent en anneau les adipocytes. Les formes  $\gamma/\delta$  ont été séparées de ce cadre et réunies avec les lymphomes  $\gamma/\delta$  en général en raison d'un tableau clinique beaucoup plus agressif tant cutané que général avec notamment un risque élevé de syndrome hémophagocytaire et de dissémination extra-cutanée conduisant à un pronostic beaucoup plus sombre.

- Les lymphomes extraganglionnaires à cellules T/NK de type « nasal » peuvent être primitifs ou secondaires. Ils atteignent la région nasale mais également d'autres zones tégumentaires et se présentent sous forme de nodules violacés souvent multiples pouvant s'ulcérer, prédominant sur le tronc. Des signes généraux sont fréquents en particulier un syndrome hémophagocytaire. L'infiltrat est dermo-hypodermique avec des images d'angiocentrisme et d'angiodestruction, constitué de cellules de taille moyenne de phénotype NK (CD2 + CD3 $\epsilon$  + CD56 +) ou T (CD8+ > CD4+) et dont les caractéristiques sont d'exprimer les protéines cytotoxiques TiA1, granzyme et perforine ainsi que l'ARNm de l'EBV. Si le phénotype est de type NK, aucun clone T dominant n'est mis en évidence. Le pronostic est mauvais malgré les polychimiothérapies en raison de l'agressivité clinique, agressivité probablement en partie liée à l'activité cytotoxique des cellules tumorales et à l'extension extra-cutanée fréquente. Les formes cutanées pures sont de pronostic un peu plus favorable mais restent agressives par rapport au MF.

- Les lymphomes T épidermotropes CD8+ "agressifs", entité rare individualisée en 1999 par Berti et classés dans les "entités provisoires" dans la classification EORTC-WHO doivent être nettement séparés des quelques MF CD8+ qui n'ont pas d'agressivité clinique ou histologique particulière. Le tableau clinique est constitué de papules et de nodules ou véritables tumeurs à évolution souvent ulcéro-nécrotiques disséminées mais également de plaques hyperkératosiques rappelant la description des formes disséminées de la forme pagétoïde des lymphomes T épidermotropes dite de Ketron et Goodman. La biopsie cutanée montre un infiltrat très épidermotrope (d'où l'aspect parfois pagétoïde) et des signes plus ou moins marqués d'agression épidermique avec nécroses kératinocytaires pouvant aller jusqu'à la formation de bulles et à des ulcérations. Les cellules tumorales sont de taille variable, souvent moyennes et grandes, expriment CD3 et CD8 mais pas CD4; l'expression des marqueurs de cytotoxicité fait la spécificité de cette forme avec expression de TiA1, Granzyme B et de la perforine par les cellules tumorales. La présence d'un clone T dominant est inconstante. Le pronostic de ces formes est mauvais avec multiplication des lésions cutanées qui s'ulcèrent, des épisodes de sepsis à porte d'entrée cutanée ou pulmonaire et une extension extra-cutanée souvent rapide. La médiane de survie est faible, de l'ordre de 30 mois malgré les polychimiothérapies agressives.

- Les lymphomes T pléomorphes à petites et moyennes cellules qui apparaissent également comme entités provisoires et qui sont marqués par des lésions en plaques ou tumorales souvent uniques sur le visage, le cou ou le tronc. L'infiltrat tumoral est diffus ou nodulaire, et siège dans le derme moyen et profond classiquement sans épidermotropisme. Par définition, les cellules tumorales sont de taille variable, petites à moyennes et expriment CD3, CD4 mais pas CD30. Leur pronostic est favorable, avec un taux de survie à 5 ans de 60 à 80 % voire d'avantage en cas de lésion unique. Le principal problème posé par cette catégorie de lymphomes est la distinction avec le MF quand l'épidermotropisme est modéré ou avec les "pseudolymphomes cutanés", groupe hétérogène et nosologiquement très flou en particulier dans les formes chroniques mono-lésionnelles. Dans tous les cas la confrontation anatomo- clinique est indispensable au diagnostic.

### **Bilan initial [13-16]**

Le bilan à pratiquer en cas de suspicion de MF est le suivant :

- Biopsies cutanées multiples notamment dans les formes où l'infiltrat risque d'être discret (érythrodermie,

suspicion de lymphome pilotrope) et fixées en formol pour étude histopathologique et immunohistochimique ainsi qu'une biopsie au punch de 4 mm à l'état frais ou rapidement congelée pour étude par PCR de clonalité du gène du récepteur T. Il est préférable d'éviter de réaliser les biopsies dans des zones traitées par topiques locaux (corticoïdes en particulier) au cours des 15 jours précédents. Les marqueurs indispensables à réaliser en cas de suspicion de Mycosis Fongoïde sont les suivants : CD3, CD20, CD8, CD30 (BerH2). La recherche d'un trou phénotypique sur les lymphocytes T n'est pas utile sauf cas exceptionnels. La recherche d'un réarrangement dominant du gène du récepteur T (TCR) par PCR sur biopsie cutanée n'est pas formellement indispensable mais recommandée si l'histologie conventionnelle est douteuse et utile pour disposer d'un clone de référence pour le suivi et pour la comparaison avec un éventuel clone sanguin ou mis en évidence dans d'autres tissus.

- Biologie : hémogramme, biochimie sanguine de base, fonction rénale et hépatique, LDH.
- Recherche de cellules de Sézary circulantes (pourcentage et taille) si possible 2 ou 3 jours consécutifs et immunophénotypage des lymphocytes CD4+ circulants (pourcentages CD4+CD7-/CD4+, CD4+ CD26-/CD4+) et si possible phénotype Kir3DR2.
- Recherche d'un réarrangement dominant du gène du récepteur T (TCR) par PCR sur les lymphocytes sanguins pour comparaison avec un éventuel clone cutané (un clone sanguin isolé ou différent du clone cutané de référence n'a pas de valeur pronostique). L'étude parallèle de la peau et du sang est particulièrement utile dans les formes érythrodermiques, l'existence d'un clone T identique entre la peau et le sang dans cette situation est très en faveur du diagnostic de lymphome cutané T épidermotrope de type Mycosis fongoïde érythrodermique ou syndrome de Sézary.
- Bilan radiologique selon le stade : stades T1 et T2 limités : rien ; pour les autres stades : scanner thoraco-abdomino-pelvien.
- Biopsie ganglionnaire si adénopathie > 1,5 cm. Le choix du site de la biopsie peut être guidé par l'intensité de fixation du traceur (SUV) au TEP-Scan. Si plusieurs sites sont possibles, l'ordre de préférence pour la biopsie doit être : adénopathie cervicale puis axillaire puis inguinale. Le prélèvement sera fait en formol et en congélation (pour PCR sur le gène du récepteur lymphocytaire T et comparaison avec le clone cutané voire sanguin).
- La biopsie ostéo-médullaire (BOM) n'a pas d'intérêt et ne sera discutée que dans les stades B2 (cellules de Sézary circulantes > 1 G/L) ou en cas d'anomalies hématologiques inexplicables.

En fonction des divers paramètres recueillis, le stade du lymphome sera précisé dans la classification TNMB ([tableau 2](#)), révisée par ISCL/EORTC ([tableau 3](#)) [16].

### **Pronostic - évolution**

Le pronostic dépend du stade lui-même déterminé par le type lésionnel et l'extension des lésions cutanées ainsi que par la présence éventuelle d'une atteinte extracutanée ganglionnaire ou même viscérale [12], [13]. Les patients au stade des lésions en plaques infiltrées ou non infiltrées limitées ont une espérance de vie similaire à la population générale de même âge et de même sexe et les études récentes ont démontré que la survie spécifique à 10 ans était de 97 à 98 % pour les patients au stade des plaques couvrant moins de 10 % de la surface corporelle, 83 % pour les patients au stade de plaques couvrant plus de 10 % de la surface corporelle, tandis que ce pronostic s'altère notablement aux stades tumoraux (42 %) et ganglionnaire (20 %). Toutefois, les récurrences sont assez fréquentes, même aux stades initiaux, avec un taux de récurrence d'environ 75 % à 10 ans dans les formes Ia. La transformation cytologique correspond souvent à un tournant évolutif ; elle se définit par l'apparition de plus de 25 % de grandes cellules dans l'infiltrat cutané ou extracutané et est souvent, mais pas systématiquement, corrélée à une transformation clinique des lésions qui deviennent alors tumorales ou érythrodermiques. Cette transformation survient en moyenne

5 ans après le début du mycosis fongoïde et la médiane de survie est alors de 22 mois ce qui témoigne d'une modification radicale du pronostic. Les autres facteurs de mauvais pronostic sont : atteinte ganglionnaire ou viscérale spécifique, élévation des taux de LDH, modifications des taux de lymphocytes circulants, hyperéosinophilie, présence d'une population T dominante identique dans la peau et dans le sang, et, peut être, la présence d'un infiltrat ou d'une mucinose folliculaire.

## Formes particulières

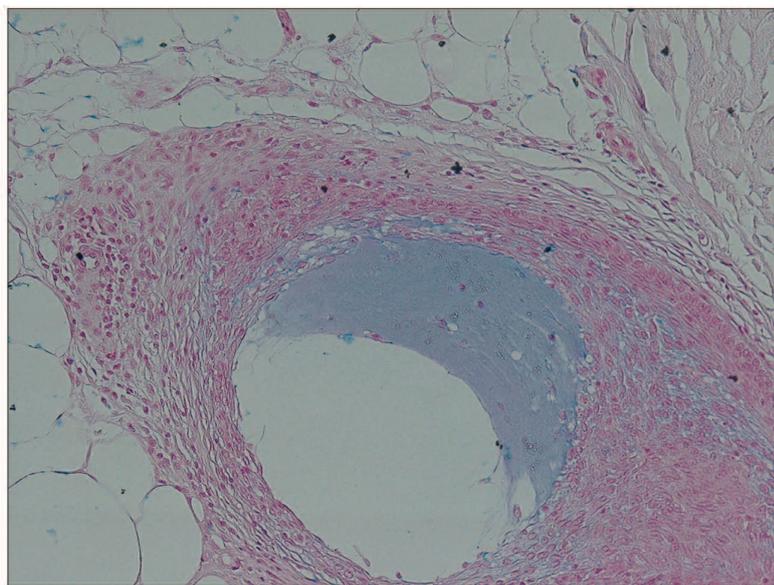
### Formes annexotropes

La plus fréquemment décrite est le mycosis fongoïde folliculaire ou pilotrope caractérisé par la présence d'un infiltrat spécifique au sein des follicules pileux tandis que l'épiderme inter-folliculaire est souvent épargné [17], [19]. Cette forme atteint préférentiellement l'extrémité cervico-céphalique et s'associe souvent, mais pas systématiquement, à une mucinose folliculaire qui peut également exister en dehors de tout infiltrat pilotrope. Cliniquement, cette forme atteint surtout des adultes, plutôt des hommes. Elle se présente sous la forme de papules folliculaires souvent groupées, avec spinulosisme, parfois associées à des lésions d'allure kystique, comédonienne, acnéiforme, plus rarement à des tumeurs ou à des plaques infiltrées semées de papules folliculaires parfois kératosiques. Il s'y associe souvent une alopecie qui peut d'ailleurs résumer les manifestations cliniques et plus rarement une extériorisation de matériel mucineux. En particulier, les plaques infiltrées et alopeciques des sourcils représentent une atteinte assez caractéristique. Le prurit est souvent sévère. Une surinfection bactérienne secondaire est possible. A noter que certaines formes de syndromes de Sézary peuvent également prendre un aspect clinico-histologique où le folliculotropisme domine.

Très logiquement, l'élément histologique le plus caractéristique est la localisation périannexielle et périvasculaire prédominante de l'infiltrat dermique avec infiltration variable de l'épithélium folliculaire par des cellules de taille petite à moyenne, parfois plus importante, avec des noyaux cérébriformes (folliculotropisme et non épidermotropisme). Une dégénérescence mucineuse du follicule pileux est présente dans la plupart des cas, mis en évidence grâce à une coloration au bleu Alcian (figure 9). La présence d'éosinophiles et de plasmocytes est souvent mentionnée. Le phénotype immunologique est identique à celui du mycosis fongoïde classique. Dans certains cas, une infiltration des glandes sudorales eccrines est également observée, réalisant un mycosis fongoïde syringotrope, dont la traduction clinique se limite souvent à des papules peu spécifiques [19].

- Le pronostic de ces formes pilotropes est probablement plus défavorable que pour les formes en plaques "classiques" de mycosis fongoïde et cet élément doit être considéré dans la discussion thérapeutique.
- Le traitement doit prendre en compte la profondeur de l'infiltrat qui explique les échecs des traitements à visée cutanée, telles que la PUVA-thérapie ou les chimiothérapies locales. Dans ces conditions, l'électronthérapie corporelle totale, les rétinoïdes ou l'interféron alpha peuvent être discutés.

**Figure 9 : Mycosis fongoïde pilotrope: infiltrat lymphocytaire en exocytose dans l'épithélium pileaire associé à une mucinose folliculaire (coloration de bleu Alcian).**



### **Réticulose pagétoïde [20]**

Cette forme clinique particulière se caractérise par un infiltrat lymphocytaire purement intra-épidermique. Le terme de réticulose pagétoïde devrait être réservé aux formes cliniques en plaque unique (type Woringer-Kolopp) et non aux lésions disséminées (forme de Ketrón-Goodman) qui devraient être reclassées dans d'autres entités (lymphomes T cutanés épidermotropes CD8 + agressifs, lymphome T cutanés gamma/delta ou encore mycosis fongoïde tumoral).

- La forme de Woringer-Kolopp se présente sous la forme d'une plaque solitaire infiltrée ou non, psoriasiforme ou hyperkératosique, souvent localisée aux extrémités et d'évolution très lente. Dans cette forme, une dissémination extra cutanée n'a jamais été observée et le pronostic est excellent. Histologiquement, l'épiderme est hyperplasique, infiltré par des cellules atypiques à disposition pagétoïde, isolées ou organisées en thèques. Le derme superficiel peut être le siège d'un infiltrat lymphocytaire et histocytaire mais ne contient aucune cellule atypique. Le phénotype peut être CD3+, CD4+, CD8- ou CD3+ CD4-, CD8+ et le CD 30 est souvent exprimé.
- Le traitement doit rester local : électrothérapie, chimiothérapie locale ou dermocorticoïdes.

### **Granulomatous slack skin**

Il s'agit d'un sous type extrêmement rare de lymphome T épidermotrope caractérisé par le développement très progressif dans les grands plis de zone cutanée « lâche » rappelant la cutis laxa sous la forme de lésions plissées sans élasticité et caractérisé histologiquement par un infiltrat majoritairement granulomateux contenant quelques cellules atypiques, une destruction du tissu élastique expliquant l'aspect en drapé, anélastique des lésions et, souvent, une population T dominante. Le phénotype pathologique est le plus souvent CD3+, CD4+, CD8. L'association à une maladie de Hodgkin ganglionnaire a été rapportée chez environ 1/3 des patients tandis qu'une association avec un mycosis fongoïde « classique » a également été observée. L'évolution est très lente, indolente dans la majorité des cas. Le traitement n'est pas bien codifié et peut faire appel à l'irradiation localisée ou à l'excision chirurgicale.

## Syndrome de Sézary

Ce syndrome décrit par Sézary en 1938, est généralement considéré comme la contrepartie leucémique du MF même si cette conception convergente n'a jamais reçu de démonstration définitive et sans équivoque. Sur le plan épidémiologique, le syndrome de Sézary est beaucoup plus rare que le MF même si son incidence n'est pas connue actuellement avec certitude. Sa pathogénie reste très mal connue mais fait sans doute d'avantage appel à une authentique lymphoprolifération qu'à une accumulation, au contraire du MF [4]. Il atteint également les adultes, souvent au-delà de 60 ans, et se caractérise le plus souvent par une érythrodermie associée à une desquamation souvent importante, un œdème cutané responsable d'un aspect en drapé, notamment du dos et sur les faces d'extension des grosses articulations et un prurit majeur (figure 10) [6], [10]. Des formes papuleuses pures sont plus rares. Ectropion, alopecie, onychodystrophie, kératodermie palmo-plantaire (figure 11) sont souvent présents de même que des adénopathies diffuses. La "triade" classique associant érythrodermie, polyadénopathies généralisées et présence de cellules de Sézary dans la peau, les ganglions lymphatiques et le sang périphérique a été remplacée par une définition plus récente. En effet, la Société Internationale des Lymphomes Cutanés a récemment édicté des critères diagnostiques : plus de 1000 cellules de Sézary par mm<sup>3</sup>, rapport CD4/CD8 > 10 dans le sang circulant, perte d'un ou plusieurs des antigènes T suivants : CD2, CD3, CD4, CD5, démonstration de la présence d'une population T dominante dans le sang périphérique. Actuellement la démonstration de la présence d'une population T dominante identique dans la peau et le sang périphérique associée à un autre des critères mentionnés ci-dessus est considérée comme nécessaire à l'établissement de diagnostic. C'est dire que cette conception étend le diagnostic à des patients qui ne sont pas érythrodermiques.

Figure 10 :

**Syndrome de Sézary : érythrodermie.**



Figure 11 :

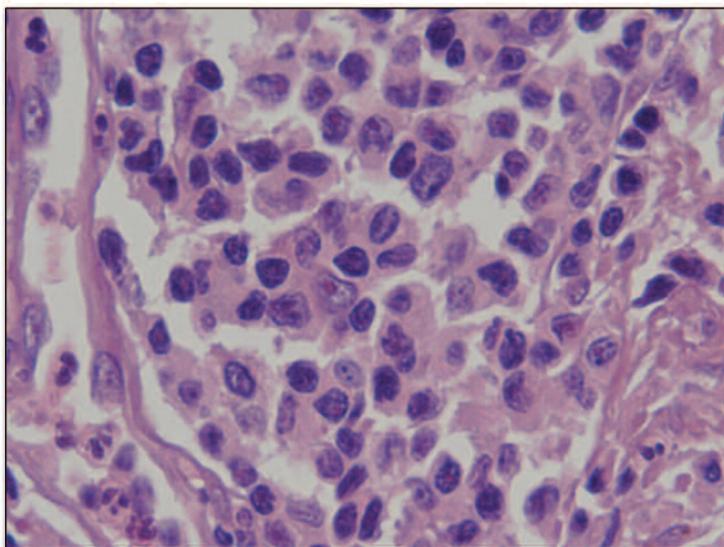
**Syndrome de Sézary :**

**kératodermie palmo-plantaire.**



Histologiquement, l'aspect est assez similaire à celui du mycosis fongoïde mais l'épidermotropisme est souvent moins marqué tandis que l'infiltrat dermique est souvent plus monomorphe et plus riche en cellules atypiques (figure 12) [11]. Toutefois, l'aspect histologique cutané peut être peu spécifique, ce qui pose des problèmes de diagnostic différentiel avec d'autres causes d'érythrodermie. Théoriquement, les ganglions lymphatiques sont également envahis par un infiltrat monomorphe fait de cellules Sézary avec effacement de l'architecture ganglionnaire normale, mais, là encore, une telle atteinte spécifique n'est pas toujours présente dans tous les ganglions cliniquement palpables. L'atteinte médullaire est inconstante et souvent éparse, difficile à mettre en évidence. L'immunophénotype des cellules tumorales est également très proche de celle du MF avec des cellules T mémoire matures CD2+ CD3+ CD4+ CD8- avec perte fréquente du CD7 et du CD26. Il peut être étudié par cytométrie en flux à partir d'un prélèvement de sang périphérique (figure 13). Plus récemment, l'expression de la T-plastine et surtout de la molécule KIR3DL2 (CD158k) semble particulièrement intéressante et aurait une bonne valeur discriminative avec d'autres infiltrats T. Par définition, une population T dominante identique est présente dans la peau et le sang périphérique. Aucune anomalie chromosomique récurrente n'a été mise en évidence mais des modifications complexes et variables du caryotype sont habituelles. En particulier, une amplification chromosomique de JUNB, élément de facteur de transcription AP1, a été identifiée.

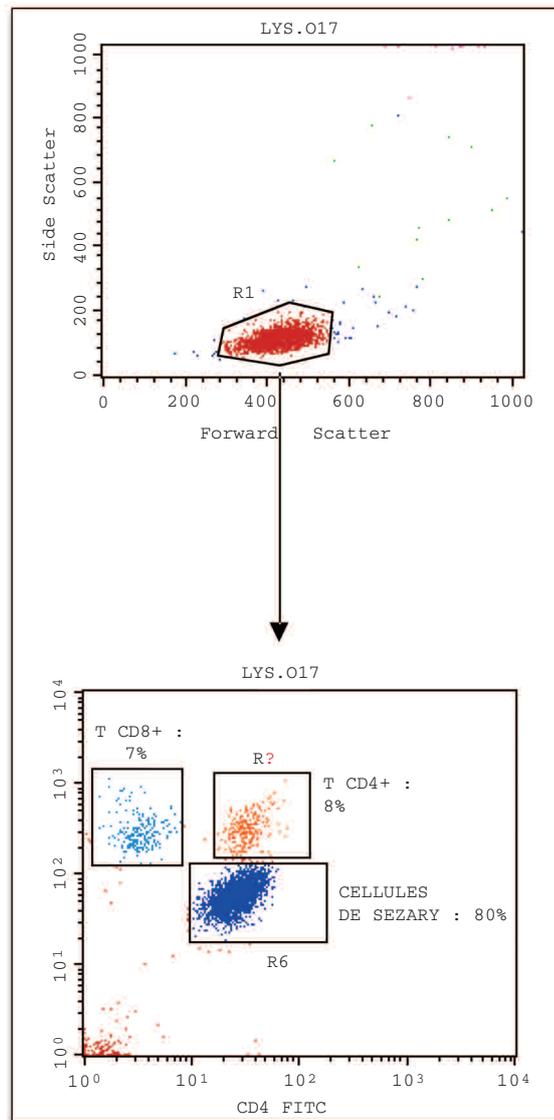
**Figure 12 : Syndrome de Sezary : les cellules de l'infiltrat cutané sont typiquement plus volumineuses et plus atypiques que celles du Mycosis Fongoïde. Les noyaux sont hyper chromatiques, incisés.**



Le pronostic est réservé et le syndrome de Sézary est classé dans les lymphomes cutanés agressifs. La médiane de survie est en effet comprise entre 2 et 4 ans et la survie spécifique à 5 ans ne semble pas dépasser 25 %. La plupart des patients décèdent d'infections opportunistes liées à l'immunodépression particulière à la maladie, peut être par sécrétion d'interleukine 10.

Le traitement ne peut être que systémique (cf infra) mais les résultats sont souvent transitoires avec un taux élevé de rechute et de complications infectieuses. Les traitements à visée cutanée ne doivent pas être négligés en raison du prurit souvent très invalidant.

**Figure 13 :** Etude d'un prélèvement de sang périphérique par cytométrie de flux dans le cadre d'un syndrome de Sezary : La population lymphocytaire totale est repérée à partir d'un prélèvement de sang périphérique (en haut). Après phénotypage les cellules de Sézary se caractérisent par la coexpression des marqueurs lymphocytaires CD3 et CD4. Par rapport aux lymphocytes T CD4 normaux (nuage rouge) les cellules de Sezary possèdent en général une expression moindre du CD4 (nuage bleu).



## Traitement des lymphomes T épidermotropes [21], [42]

Le traitement du MF est délicat et doit prendre en compte plusieurs paramètres : le caractère généralement bon du pronostic incitant à ne pas être plus agressif que la maladie ; le risque de rechute élevé imposant des traitements souvent de longue durée dont les risques à long terme doivent être pris en compte ; la préservation de la qualité de vie au cours de cette affection souvent indolente et n'altérant pas significativement le pronostic vital dans la majorité des cas. Le traitement du syndrome de Sézary est nécessairement plus actif en raison de l'agressivité plus marquée de la maladie. La définition des

indications thérapeutiques est le plus souvent du ressort d'équipes très spécialisées dans la prise en charge de ces affections rares. Celles-ci sont établies en fonction du stade de la maladie :

- Stade Ia à IIa (T1-2/N0-1/M0/B0) : Mycosis Fongoïde au stade des macules planes et/ou plaques infiltrées sans atteinte ganglionnaire clinique ou histologique : en première ligne les traitements à visée "dermatologiques" sont systématiquement privilégiés : corticoïdes locaux; caryolysine ou BCNU topique ; photothérapie de type PUVA ou UVB ; radiothérapie localisée ; électrothérapie corporelle totale ; en cas d'échappement ou de non réponse aux traitements précédents le passage à un traitement systémique est proposé: interféron alpha seul ou associé à la PUVA-thérapie ou à un rétinoïde ; bexarotène (hors AMM car en principe réservé aux formes avancées) seul ou en association avec l'interféron alpha ou la PUVA-thérapie; acitrétine seule ou en association avec l'interféron alpha ou la PUVA-thérapie ; méthotrexate à faibles doses; électrothérapie corporelle totale avec ou sans maintien de la caryolysine.
- Stade IIb (T3/N0-1/M0/B0) : Mycosis fongoïde au stade des tumeurs sans atteinte ganglionnaire clinique ou histologique ; un traitement systémique est en général utilisé et fera appel en première ligne à l'interféron alpha seul ou associé à la PUVA-thérapie ou à un rétinoïde, au bexarotène (mais en principe en deuxième intention selon l'AMM), au méthotrexate à faibles doses, à la radiothérapie sur tumeur(s) localisée(s), à l'acitrétine associé à PUVA-thérapie ou encore à l'électrothérapie corporelle totale ; en cas d'échappement ou de non réponse aux traitements précédents seront proposés : bexarotène, monochimiothérapie par doxorubicine liposomale, gemcitabine, pentostatine ou encore polychimiothérapie en dernier recours (sauf à visée palliative ou en préalable d'une intensification thérapeutique avec allogreffe). Dans tous les cas un traitement dermatologique complémentaire est possible sur des lésions associées en patches/plaques (caryolysine ou BCNU).
- Stades III et IVa (T4/N0-3/B0-1) : érythrodermie avec ou sans atteinte ganglionnaire clinique ou histologique (classé en IVa dans ce cas mais avec stade cutané T4), avec ou sans cellules de Sézary circulantes (incluant donc le syndrome de Sézary) : le traitement sera systémique utilisant en première ligne interféron alpha, bexarotène (mais en principe en deuxième intention selon l'AMM), méthotrexate à faibles doses, photochimiothérapie extra-corporelle (seule ou en association avec l'interféron alpha ou le bexarotène), chlorambucil associé à la prednisone, éventuellement associé à un traitement local par corticoïdes, PUVA-thérapie, caryolysine, BCNU, voire électrothérapie corporelle totale. Ces mesures systémiques peuvent être combinées entre elles notamment pour le syndrome de Sézary en fonction de la réponse (par exemple interféron alpha et bexarotène, bexarotène et PUVA-thérapie ou bexarotène et méthotrexate et tout traitement systémique combiné à la photophérèse extra-corporelle). En cas d'échappement ou de non réponse aux traitements précédents des traitements de seconde ligne seront proposés: électrothérapie corporelle totale avec ou sans maintien de la caryolysine, doxorubicine liposomale, gemcitabine, alemtuzumab ou polychimiothérapie en dernier recours, denileukin diftix à titre exceptionnel ou encore inclusion dans un essai thérapeutique. Une intensification avec allogreffe (plutôt qu'autogreffe) médullaire peut être proposée dans des cas exceptionnels notamment de syndrome de Sézary en particulier chez des sujets jeunes.
- Stade IVa : Mycosis fongoïde au stade des plaques étendues (T2) ou de tumeurs (T3) avec atteinte ganglionnaire histologique ou présence de plus de 1000 cellules de Sézary circulantes/mm<sup>3</sup> et d'un clone T dominant dans le sang périphérique (stade B2) quels que soient les stades T et N : un traitement systémique est proposé par interféron alpha, bexarotène (en principe en deuxième intention selon l'AMM), méthotrexate à faibles doses, doxorubicine liposomale ou gemcitabine, alemtuzumab ou polychimiothérapie (CHOP) en dernier recours éventuellement associé à un traitement local par radiothérapie, caryolysine, ou BCNU ou encore à une PUVAthérapie.

- Stade IVb : Mycosis Fongoïde avec atteinte(s) viscérale(s) : traitement systémique par bexarotène, monochimiothérapie (doxorubicine liposomale, gemcitabine), polychimiothérapie (CHOP), alemtuzumab ou soins palliatifs éventuellement associé à un traitement local par radiothérapie, caryolysine, ou BCNU ou encore à une PUVA-thérapie. Une intensification avec allogreffe (plutôt qu'autogreffe) médullaire peut être proposée dans des cas exceptionnels.

## Bibliographie

---

- 1 Willemze R., Jaffe ES., Burg G., Cerroni L., Berti E., Swerdlow SH., *et al.* WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood*. 2005 ; 105 : 3768-85.
- 2 Grob JJ. Epidémiologie du Mycosis Fongoïde. *Ann Dermatol Venerol*. 2005 ; 132 Spec No 2 : 5S11-2.
- 3 Criscione VD., Weinstock MA. Incidence of cutaneous T-cell lymphoma in the United States, 1973-2002. *Arch Dermatol*. 2007 ; 143 : 854-9.
- 4 Whittaker S. Biological insights into the pathogenesis of cutaneous T-cell lymphomas (CTCL). *Semin Oncol*. 2006 ; 33 (1 Suppl 3) : S3-6.
- 5 Kim EJ., Hess S., Richardson SK., Newton S., Showe LC., Benoit BM., Ubriani R., Vittorio CC., Junkins-Hopkins JM., Wysocka M., Rook AH. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma. *J. Clin Invest*. 2005 ; 115 : 798-812.
- 6 Girardi M., Heald PW., Wilson LD. The pathogenesis of mycosis fungoides. *N. Engl J. Med*. 2004 ; 350 : 1978-88.
- 7 Duvic M., Foss FM. Mycosis fungoides : pathophysiology and emerging therapies. *Semin Oncol*. 2007 ; 34 (6 Suppl 5) : S21-8.
- 8 Pimpinelli N., Olsen EA., Santucci M., Vonderheid E., Haeflner AC., Stevens S. *et al.* Defining early mycosis fungoides. *J. Am Acad Dermatol*. 2005 ; 53 : 1053-63.
- 9 Foss F. Mycosis fungoides and the Sézary syndrome. *Curr Opin Oncol*. 2004 ; 16 : 421-8.
- 10 Nashan D., Faulhaber D., Ständer S., Luger TA., Stadler R. Mycosis fungoides : a dermatological masquerader. *Br J. Dermatol*. 2007 ; 15 : 1-10.
- 11 Lansigan F., Choi J., Foss FM. Cutaneous T-cell lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2008 ; 22 : 979-96.
- 12 Hwang ST., Janik JE., Jaffe ES., Wilson WH. Mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Lancet*. 2008 ; 371 (9616) : 945-57.
- 13 Wood GS., Greenberg HL. Diagnosis, staging, and monitoring of cutaneous T-cell lymphoma. *Dermatol Ther*. 2003 ; 16 : 269-75.
- 14 Scarisbrick JJ. Staging and management of cutaneous T-cell lymphoma. *Clin Exp Dermatol*. 2006 ; 31 : 181-6.
- 15 Kehn CA., Belongie IP., Shistik G., Fenske NA., Glass LF. The diagnosis, staging, and treatment options for mycosis fungoides. *Cancer Control*. 2007 ; 14 : 102-11.
- 16 Olsen E., Vonderheid E., Pimpinelli N., Willemze R., Kim Y., Knobler R., *et al.* Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sezary syndrome : a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Blood* 2007 ; 110 : 1713-22.
- 17 Vergier B., Beylot-Barry M., Beylot C., de Mascarel A., Delaunay M., de Muret A., Vaillant L., Tortel MC., Grange F., Bagot M., Laroche L., Wecshler J. Pilotropic cutaneous T-cell lymphoma without mucinosis. A variant of mycosis fungoides ? French Study Group of Cutaneous Lymphomas. *Arch Dermatol*. 1996 ; 132 : 683-7.

18. Gerami P, Guitart J. Folliculotropic Sezary syndrome : a new variant of cutaneous T-cell lymphoma. *Br J. Dermatol.* 2007 ; 156 : 781-3.
19. Thein M., Ravat F., Orchard G., Calonje E., Russell-Jones R. Syringotropic cutaneous T-cell lymphoma : an immunophenotypic and genotypic study of five cases. *Br J. Dermatol.* 2004 ; 151 : 216-26.
20. Steffen C. Ketrion-Goodman disease, Woringer-Kolopp disease, and pagetoid reticulosis. *Am. J Dermatopathol.* 2005 ; 27 : 68-85.
21. Duvic M., Hymes K., Heald P., Breneman D., Martin AG., Myskowski P., *et al.* Bexarotene is effective and safe for treatment of refractory advanced-stage cutaneous T-cell lymphoma: multinational phase II-III trial results. *J. Clin Oncol.* 2001 ; 19 : 2456-71.
22. Bachelez H., Bagot M., Beylot-Barry M., Claudy A., Grange F., Grob JJ., Dereure O., Dreno B., D'Incan M., Laroche L., Viraben R. ; Groupe d'Experts. Algorithme thérapeutique lymphomes T cutanés. *Ann Dermatol Venerol.* 2005 ; 132 Spec No 2 : 5S43-4.
23. Querfeld C., Rosen ST., Kuzel TM., Kirby KA., Roenigk HH. Jr, Prinz BM, Guitart J. Long-term follow-up of patients with early-stage cutaneous T-cell lymphoma who achieved complete remission with psoralen plus UV-A monotherapy. *Arch Dermatol.* 2005 ; 141 : 305-11.
24. De Quatrebarbes J., Esteve E., Bagot M., Bernard P., Beylot-Barry M., Delaunay M., D'Incan M., Souteyrand P., Vailland L., Cordel N., Courville P., Joly P. Treatment of early-stage mycosis fungoides with twice-weekly applications of mechlorethamine and topical corticosteroids a prospective study. *Arch Dermatol.* 2005 ; 141 : 1117-20.
25. Duvic M., Talpur R., Wen S., Kurzrock R., David CL., Apisarnthanarax N. Phase II evaluation of gemcitabine monotherapy for cutaneous T-cell lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma.* 2006 ; 7 : 51-8.
26. Trautinger F., Knobler R., Willemze R., Peris K., Stadler R., Laroche L., D'Incan M., Ranki A., Pimpinelli N., Ortiz-Romero P., Dummer R., Estrach T., Whittaker S. EORTC consensus recommendations for the treatment of mycosis fungoides/Sézary syndrome. *Eur J. Cancer.* 2006 ; 42 : 1014-30.
27. Awar O., Duvic M. Treatment of transformed mycosis fungoides with intermittent low-dose gemcitabine. *Oncology.* 2007 ; 73 : 130-5.
28. Bernengo MG., Quaglino P., Comessatti A., Ortoncelli M., Novelli M., Lisa F., Fierro MT. Low-dose intermittent alemtuzumab in the treatment of Sézary syndrome : clinical and immunologic findings in 14 patients. *Haematologica.* 2007 ; 92 : 784-94.
29. Duvic M. Systemic monotherapy vs combination therapy for CTCL : rationale and future strategies. *Oncology* 2007 Feb ; 21 (2 Suppl 1) : 33-40.
30. Hymes KB. Choices in the treatment of cutaneous T-cell lymphoma. *Oncology (Williston Park).* 2007 ; 21 (2 Suppl 1) : 18-23.
31. Whittaker SJ., Foss FM. Efficacy and tolerability of currently available therapies for the mycosis fungoides and Sezary syndrome variants of cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer Treat Rev.* 2007 ; 33 : 146-60.
32. Berthelot C., Rivera A., Duvic M. Skin directed therapy for mycosis fungoides : a review. *J. Drugs Dermatol.* 2008 ; 7 : 655-66.
33. Dummer R., Dreyling M. ; ESMO Guidelines Working Group. Primary cutaneous lymphoma : ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2008 May ; 19 Suppl 2 : ii72-6.
34. Horwitz SM., Olsen EA., Duvic M., Porcu P., Kim YH. Review of the treatment of mycosis fungoides and sézary syndrome : a stage-based approach. *J Natl Compr Canc Netw.* 2008 ; 6 : 436-42.
35. Hwang ST., Janik JE., Jaffe ES., Wilson WH. Mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Lancet.* 2008 ; 371 (9616) : 945-5.
36. Mestel DS., Assaf C., Steinhoff M., Beyer M., Moebs M., Sterry W. Emerging drugs in cutaneous T cell lymphoma. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2008 ; 13 : 345-61.
37. Papadavid E., Antoniou C., Nikolaou V., Siakantaris M., Vassilakopoulos TP., Stratigos A., Stavrianeas N., Katsambas A. Safety and efficacy of low-dose bexarotene and PUVA in the treatment of patients with mycosis fungoides. *Am J. Clin Dermatol.* 2008 ; 9 : 169-73.

38. Quereux G., Marques S., Nguyen JM., Bedane C., D'incan M., Dereure O., Puzenat E., Claudy A., Martin L., Joly P., Delaunay M., Beylot-Barry M., Vabres P., Celerier P., Sasolas B., Grange F., Khammari A., Dreno B. Prospective multicenter study of pegylated liposomal doxorubicin treatment in patients with advanced or refractory mycosis fungoides or Sézary syndrome. *Arch Dermatol.* 2008 ; 144 : 727-33. Carter J., Zug KA. Phototherapy for cutaneous T-cell lymphoma : online survey and literature review. *J. Am Acad Dermatol.* 2009 ; 60 : 39-50.
39. Dereure O., Picot E., Comte C., Bessis D., Guillot B. Treatment of early stages of mycosis fungoides with narrowband ultraviolet B. A clinical, histological and molecular evaluation of results. *Dermatology.* 2009 ; 218 : 1-6.
40. Prince, Whittaker, Hoppe How we treat mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Blood* 2009 (epub ahead of publication).
41. Willemze R., Dreyling M. ; ESMO Guidelines Working Group. Primary cutaneous lymphoma : ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2009 ; 20 Suppl 4 : 115-8.
42. Wu PA., Kim YH., Lavori PW., Hoppe RT., Stockerl-Goldstein KE. A meta-analysis of patients receiving allogeneic or autologous hematopoietic stem cell transplant in mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009 ; 15 : 982-90.



**Thérapeutiques ciblées  
dans les lymphomes :  
anticorps monoclonaux,  
anticorps radio-marqués,  
immunomodulateurs, vaccins.  
Mode d'action et applications.**

**David Sibon, Christian Gisselbrecht**

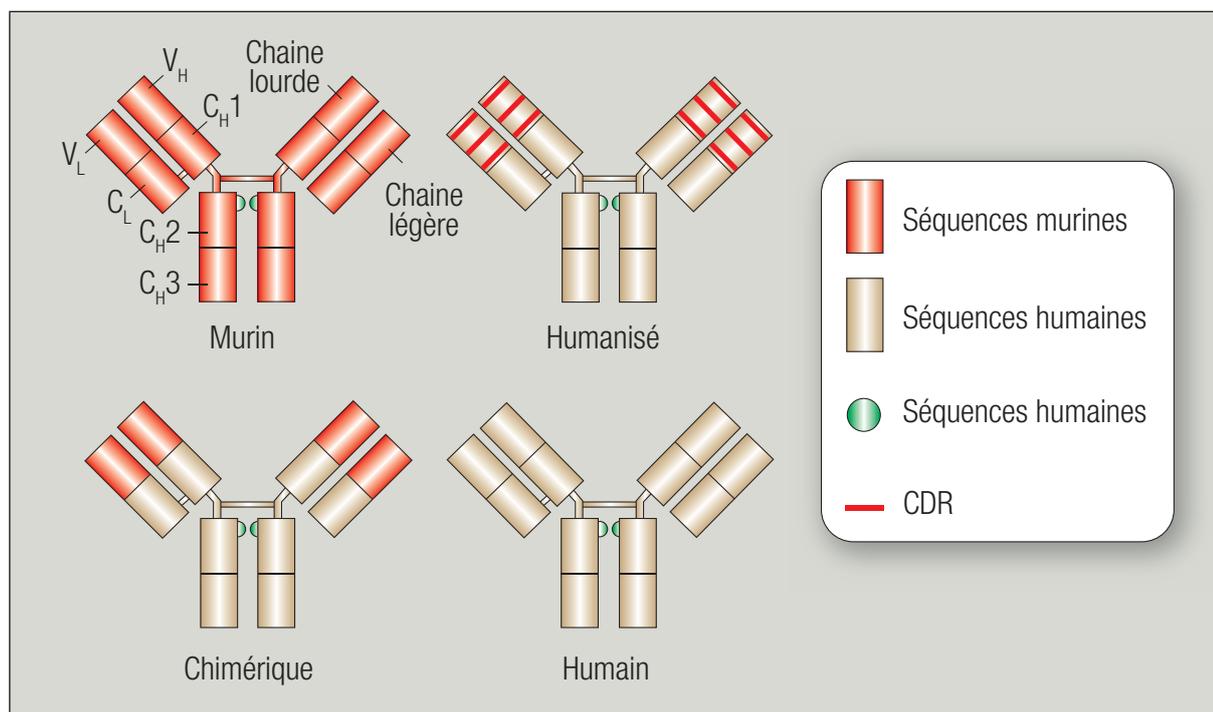
## Les anticorps monoclonaux

L'apport des anticorps monoclonaux a constitué une avancée majeure dans le traitement des lymphomes. C'est d'abord dans les lymphomes folliculaires que l'anticorps monoclonal chimérique anti-CD20, le rituximab, a montré son efficacité. Puis son intérêt a été démontré dans les lymphomes B diffus à grandes cellules, dans d'autres types de lymphomes et dans le cadre des autogreffes de cellules souches hématopoïétiques. Enfin, la radio-immunothérapie, par couplage d'un anticorps monoclonal à un radioélément a permis une augmentation de l'effet antitumoral dans certains lymphomes.

### Historique des anticorps monoclonaux thérapeutiques

Les trente dernières années ont été marquées par des progrès importants dans le développement des anticorps monoclonaux thérapeutiques, de façon parallèle à l'essor et l'évolution de la biologie moléculaire et de l'immunologie fondamentale. Plusieurs générations d'anticorps se sont ainsi succédées (figure 1).

**Figure 1 : Augmentation du degré d'humanisation des anticorps monoclonaux au cours du temps liée à l'amélioration des biotechnologies. Par ordre d'humanisation croissante : anticorps murin, anticorps chimérique, anticorps humanisé et anticorps humain. CDR : complémentarity determining regions (régions déterminant la complémentarité). D'après Carter P *et al.* [1].**



- Anticorps monoclonaux murins : le seul anticorps murin, produit par hybridomes, ayant obtenu une autorisation de mise sur le marché (1986) est un anticorps anti-CD3, le muromonab-CD3 (murine monoclonal antibody targeting CD3, Orthoclone OKT3®) utilisé comme traitement du rejet aigu de greffes rénales, hépatiques et cardiaques, résistant aux stéroïdes. Les effets indésirables liés à l'immunogénicité sont majeurs avec apparition d'anticorps spécifiques anti-muromonab (xénoprotéine murine) pouvant diminuer l'efficacité du traitement.

- Anticorps monoclonaux chimériques : en 1984, les outils de biologie moléculaire ont permis de créer des anticorps monoclonaux chimériques (suffixe –ximab) constitués par des domaines variables de souris fusionnés à des domaines constants humains. Les résultats furent spectaculaires avec des résultats cliniques importants et une immunogénicité réduite. Le chef de file de ces anticorps est l'anticorps anti-CD20 rituximab (MabThera®) utilisé dans le traitement des lymphomes, de la leucémie lymphoïde chronique et de la polyarthrite rhumatoïde.
- Anticorps monoclonaux humanisés : l'objectif d'accroître le degré d'humanisation s'est traduit par le développement d'anticorps humanisés (suffixe–zumab) où seules les régions hypervariables impliquées dans la reconnaissance de l'antigène sont encore d'origine murine. Leur chef de file, le daclizumab (Zenapax®), anticorps anti-CD25, est indiqué dans la prophylaxie du rejet aigu chez les patients recevant une transplantation rénale.
- Anticorps monoclonaux humains : deux progrès technologiques, le phage display (1990) et l'utilisation de souris transgéniques (1994) ont permis de générer des anticorps monoclonaux humains (suffixe –umab) tels que l'anti-CD4 zanolimumab (HuMax-CD4®), ou l'anti-CD20 ofatumumab (Arzerra® aux Etats-Unis).

Récemment, des modifications de structure des anticorps ont permis d'en optimiser les fonctions. Ainsi, des modifications de la glycosylation permettent d'accroître la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC, cf. infra) tout en diminuant l'immunogénicité de l'anticorps monoclonal. C'est le cas de l'anti-CD20 GA101 en cours de développement clinique.

## **Mode d'action des anticorps monoclonaux**

Les anticorps de la classe des immunoglobulines G (IgG) comportent deux sites de liaison à l'antigène Fab (fragment antigen-binding) et un fragment Fc (fragment cristallisable) par lesquels ils exercent leurs activités. Compte-tenu de leurs propriétés telles qu'une longue demi-vie ou la capacité de recruter des effecteurs de l'immunité (système du complément ou cellules effectrices exprimant des récepteurs de Fc), les IgG représentent la classe d'Ig privilégiée pour la fabrication d'anticorps monoclonaux recombinants.

Les mécanismes d'action des anticorps monoclonaux sont probablement multiples. Trois mécanismes ont été décrits in vitro, dont l'importance relative in vivo reste imprécise :

- cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps ou ADCC (antibody-dependent cell cytotoxicity) : les cellules NK, les macrophages et certains polynucléaires peuvent détruire des cellules cibles ayant fixé des anticorps dirigés contre des épitopes superficiels. Les anticorps assurent la spécificité et l'induction de la réaction par interaction avec les récepteurs de Fc
- cytotoxicité dépendante du complément ou CDC (complement-dependent cytotoxicity) : les anticorps fixés sur une cellule cible peuvent activer la voie classique du complément par leur fragment Fc et entraîner la lyse de la cellule.
- mécanisme direct : in vitro certains anticorps monoclonaux peuvent induire directement un effet antiprolifératif voire l'apoptose des cellules cibles.

## Applications des anticorps monoclonaux dans le traitement des lymphomes

Nous développerons successivement les indications du rituximab (de loin l'anticorps monoclonal le mieux étudié et le plus utilisé dans le traitement des lymphomes) dans différents lymphomes B, dans le cadre des autogreffes et enfin la place de la radio-immunothérapie.

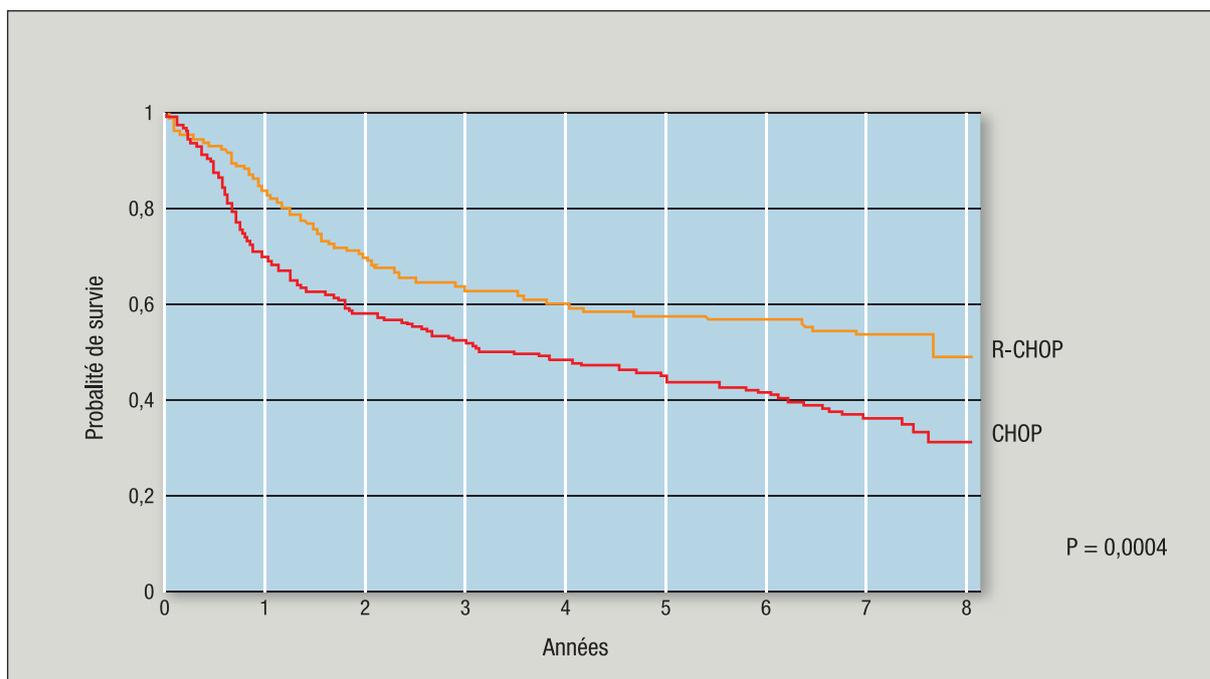
### *Rituximab et lymphome folliculaire*

Le lymphome folliculaire est le plus fréquent des lymphomes non hodgkiniens B indolents. C'est dans ce type de lymphome que les données sur l'efficacité du rituximab ont été établies initialement, aboutissant à la première autorisation de mise sur le marché de cet anticorps. Le rituximab a d'abord montré son efficacité dans les rechutes de lymphome folliculaire, avec une injection intraveineuse de 375 mg/m<sup>2</sup> toutes les semaines pendant quatre semaines, permettant d'obtenir des taux de réponse de 50% et une survie sans progression proche d'un an [1]. En première ligne thérapeutique, dans les lymphomes de faible masse tumorale, ce schéma posologique donnent des taux de réponse de 75% et une survie sans progression de 18 à 24 mois [2]. Ces résultats encourageants ont permis de proposer l'association rituximab et polychimiothérapie en première ligne dans les lymphomes folliculaires nécessitant un traitement. Les essais randomisés ont tous montré une amélioration du taux de réponse globale (80% sans rituximab vs. 90% avec l'anticorps), du taux de rémission complète et de la survie sans progression dans le bras comportant du rituximab (médiane de 30 mois sans rituximab vs. médiane non atteinte avec rituximab) et, fait nouveau dans le lymphome folliculaire, une augmentation de la survie globale dans 3 des 4 essais [3 à 6]. L'autre intérêt du rituximab dans les lymphomes folliculaires, en raison de son efficacité antitumorale et de sa très faible toxicité, réside dans le traitement d'entretien. Là encore, ce sont des essais prospectifs randomisés, en particulier l'essai de l'EORTC avec un schéma d'entretien d'une perfusion tous les 3 mois pendant 2 ans [7], qui ont permis de montrer l'intérêt du rituximab en entretien chez les patients présentant un lymphome folliculaire en rechute. D'autres essais ont montré le rôle du rituximab en monothérapie, en traitement prolongé ou en traitement d'entretien en première ligne et en rechute [8], [9]. Les résultats de l'essai international PRIMA randomisant après un traitement initial (rituximab-chimiothérapie) une injection tous les 2 mois en entretien pendant deux ans versus surveillance vont confirmer l'intérêt du traitement d'entretien par rituximab en première ligne, déjà suggéré dans une méta-analyse [10].

### *Rituximab et lymphome B diffus à grandes cellules*

L'essai du GELA (Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte) a été la première phase III randomisée comparant huit cycles de CHOP et de rituximab-CHOP chez des patients de 60 à 80 ans. Avec un recul de plus de 5 ans, cette étude démontre une amélioration du taux de réponse (75% vs. 63%), de la survie sans progression (54% vs. 30% à 5 ans) et de la survie globale (58% vs. 45% à 5 ans) avec le rituximab [11], [12] (figure 2). Ces résultats ont été reproduits dans tous les autres essais [13], [15] quelque soit l'âge et les facteurs pronostics. En revanche, à l'heure actuelle il n'y a pas d'étude randomisée claire pour proposer un traitement d'entretien par rituximab dans ces lymphomes agressifs [13].

**Figure 2 : Résultats à long terme de l'essai LNH98-5 comparant 8 cycles de Rituximab-CHOP (R-CHOP) à 8 cycles de CHOP chez des patients de 60 à 80 ans ayant un lymphome B diffus à grandes cellules. La survie globale est significativement supérieure dans le bras R-CHOP.**



### Rituximab et autres lymphomes

Dans les lymphomes du manteau, l'efficacité en monothérapie du rituximab est de 38% en première ligne et de 37% à la rechute [16]. L'association de rituximab à une chimiothérapie en première ligne ou en rechute entraîne une augmentation du taux de réponse (94% vs. 75%) [17]. Si les effectifs de ces essais sont limités, une méta-analyse indique là aussi un effet significatif de l'association tant pour la survie sans progression que pour la survie globale [18]. Néanmoins en raison de la persistance d'un taux de rechute élevé, la stratégie thérapeutique implique une consolidation chez les patients répondeurs, par autogreffe ou traitement d'entretien.

Dans les lymphomes de la zone marginale de type MALT (mucosae-associated lymphoid tissue, tissu lymphoïde associé aux muqueuses), le rituximab est actif en monothérapie [19]. Un essai randomisé international (IELSG-19) testant l'association du rituximab au chlorambucil est actuellement en cours dans ce type de lymphome.

### Rituximab et autogreffe de cellules souches hématopoïétiques

Différentes modalités d'utilisation du rituximab sont à envisager. La première consiste, dans les lymphomes B, à utiliser le rituximab pour réaliser une purge in vivo des cellules lymphoïdes de la moelle permettant de réduire la contamination lors de la collection de cellules souches périphériques. Une autre voie consiste à administrer l'anticorps monoclonal en consolidation après une réduction tumorale maximale obtenue par autogreffe, dès la récupération hématologique. Le rituximab est largement utilisé dans les associations de chimiothérapies de rattrapage avant autogreffe. Dans les rechutes de lymphome B diffus à grandes cellules, l'essai prospectif randomisé du groupe HOVON a démontré que l'adjonction du rituximab à la chimiothérapie de rattrapage avant autogreffe améliorerait la survie des patients n'ayant pas reçu du rituximab en première ligne [20]. L'étude internationale CORAL a montré une efficacité similaire d'un rattrapage par

R-DHAP et R-ICE avant autogreffe dans les lymphomes B diffus à grandes cellules ; les patients qui avaient reçu du rituximab en première ligne avaient un taux de réponse inférieur (51% vs. 83%) et une survie inférieure [21]. L'utilisation du rituximab à haute dose avant et après autogreffe a donné des résultats prometteurs dans les rechutes de lymphome B diffus à grandes cellules [22]. Dans les lymphomes folliculaires en rechute, la combinaison d'un rattrapage comportant du rituximab et d'une autogreffe donnait les meilleurs résultats [23].

### **La radio-immunothérapie**

Le couplage d'un radio-isotope à un anticorps monoclonal permet d'augmenter l'effet antitumoral. L'énergie émise par le radio-isotope permet d'endommager ou de détruire la cellule ciblée par l'anticorps, mais aussi les cellules tumorales voisines par un effet de « feu croisé ». Actuellement deux types d'anticorps monoclonaux radioactifs anti-CD20 sont disponibles, l'un utilisant l'yttrium-90, émetteur bêta (Ibritumomab tiuxetan, Zevalin®, commercialisé en Europe) et l'autre utilisant l'iode-131, émetteur bêta et gamma (Tositumomab, Bexxar®, commercialisé aux Etats-Unis). Les études de phase I et II ont montré la bonne tolérance de ces traitements, les principaux effets secondaires sont une neutropénie et une thrombopénie liées à l'irradiation du tissu hématopoïétique, survenant jusqu'à deux mois après le traitement et se corrigeant en quelques semaines. Seuls deux essais randomisés ont évalué la place de ces traitements, tous deux dans les lymphomes folliculaires. Le premier a comparé un traitement par 90Y-ibritumomab-tiuxetan à quatre injections hebdomadaires de rituximab pour des lymphomes folliculaires en rechute, réfractaires ou transformés [24] : le taux de réponse global (80% vs. 56%) et de réponse complète (30% vs. 16%) était en faveur de la radio-immunothérapie, mais la durée de réponse (14,2 vs. 11,2 mois) n'était pas différente entre les deux groupes de patients. Le deuxième essai de phase III a comparé l'intérêt d'une consolidation par 90Y-ibritumomab-tiuxetan chez des patients ayant un lymphome folliculaire en première rémission : la survie sans progression était significativement prolongée dans le bras consolidation (36,5 vs. 13,3 mois) [25]. En France, Zevalin® est indiqué d'une part dans le traitement des patients adultes atteints d'un lymphome non hodgkinien à cellules B CD20 positif, de type folliculaire, en rechute ou réfractaire après traitement par le rituximab, et d'autre part dans le traitement de consolidation après induction d'une rémission chez les patients atteints d'un lymphome folliculaire non traité antérieurement.

Des résultats préliminaires suggèrent que la radio-immunothérapie pourrait remplacer la radiothérapie adjuvante ou l'irradiation corporelle totale dans le conditionnement d'autogreffe des lymphomes B [26], [27], [28]. Dans la principale étude préliminaire du GELA, chez des patients ayant un lymphome folliculaire, l'adjonction de Zevalin® au conditionnement par BEAM (Z-BEAM) a permis d'obtenir une survie sans progression de 80% [29].

Les anticorps monoclonaux ont modifié de façon importante la prise en charge des lymphomes non hodgkiniens ces dix dernières années. La recherche clinique a permis de montrer l'apport majeur de ces nouvelles thérapeutiques avec des bénéfices en survie sans événement et en survie globale dans les principaux types de lymphomes. De nouveaux anticorps dirigés contre l'antigène CD20 ou d'autres cibles moléculaires sont en développement, complétant l'arsenal thérapeutique à disposition pour traiter les lymphomes.

# La vaccination anti-idiotypique dans les lymphomes non hodgkiniens de type B

## Généralités

Certains arguments suggèrent que les lymphomes non hodgkiniens B, notamment folliculaires, pourraient bénéficier d'une immunothérapie active, c'est-à-dire de l'induction d'une immunité spécifique de la tumeur :

- des rémissions spontanées de plus d'un an sont observées jusqu'à 23% des patients atteints de lymphome folliculaire [30]
- des tentatives de stimulation non spécifique de la réponse immunitaire avec l'interféron [31] et l'interleukine-2 [32] ont montré une efficacité partielle dans la diminution du taux de rechutes, y compris après greffe de cellules souches hématopoïétiques. Le transfert de cellules LAK (lymphokine-activated killer cells) et la transfusion de lymphocytes du donneur après greffe de cellules souches hématopoïétiques ont montré que les lymphocytes B tumoraux pouvaient être sensibles à la cytotoxicité in vivo [33]. Ces résultats ont encouragé le développement de protocoles de stimulation spécifique du système immunitaire du malade contre la tumeur
- plus récemment, il a été montré que la survie des patients atteints de lymphome folliculaire semblait corrélée avec le profil d'expression génique des cellules immunes non malignes infiltrant la tumeur [34]
- un effet allogénique de type graft-versus-lymphoma a été mis en évidence dans plusieurs lymphomes, après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques [35].

## Les vaccins thérapeutiques contre le cancer

La majorité des vaccins thérapeutiques anti-cancéreux ont trois composantes : un antigène tumoral, un vecteur et un adjuvant. L'antigène tumoral est généralement une protéine ou un peptide dérivé de la tumeur, qui est soit exprimé uniquement par la tumeur, soit surexprimé par la tumeur par rapport aux tissus normaux. L'expression sélective ou la surexpression de l'antigène tumoral par la tumeur est la situation idéale car elle permet de limiter le risque d'induction d'une réponse auto-immune contre les tissus normaux après vaccination. Le vecteur est nécessaire pour transporter l'antigène tumoral aux cellules présentatrices d'antigènes, afin d'induire une réponse immunitaire contre cet antigène. Ainsi, la protéine porteuse KLH (keyhole limpet hemocyanin), fortement immunogène, permet une immunisation optimale lorsqu'elle est conjuguée à l'antigène. L'adjuvant est habituellement une cytokine comme le GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) ou l'interleukine-2 qui permet d'augmenter la réponse contre l'antigène tumoral, probablement par le recrutement de cellules dendritiques au site de vaccination.

## L'idiotype

Un antigène tumoral idéal est exprimé sélectivement par la tumeur, est présent chez tous les patients atteints de cette tumeur, est essentiel à la survie des cellules tumorales et peut induire une réponse polyclonale humorale et cellulaire. L'idiotype est l'antigène tumoral le plus fréquemment utilisé dans les études de vaccination thérapeutique contre les lymphomes B. Les lymphocytes B expriment une immunoglobuline de surface qui permet de distinguer les cellules tumorales des cellules B normales par l'expression de déterminants idiotypiques spécifiques situés dans les régions variables. Après

transformation maligne, un clone cellulaire B continue à exprimer ces déterminants idiotypiques qui constituent donc des antigènes tumoraux.

## Méthodes de fabrication d'un vaccin anti-idiotype

Traditionnellement, la protéine idiotypique est produite par une technique d'hybridation : dans cette méthode, les cellules lymphomateuses obtenues à partir d'une biopsie ganglionnaire sont fusionnées in vitro avec des cellules d'un hétérohybridome K6H6/B5 pour produire un hybridome sécrétant l'immunoglobuline tumorale. Les hybridomes sécrétant l'immunoglobuline avec l'idiotype d'intérêt sont identifiés en comparant les séquences CDR3 de la chaîne lourde de l'immunoglobuline avec la tumeur du patient. Les clones d'hybridome sélectionnés sont mis en culture et la protéine idiotypique est purifiée par chromatographie d'affinité à partir du surnageant, puis conditionnée sous forme de vaccin avec un adjuvant [36], [37]. Bien que cette technique soit efficace, elle est lourde à utiliser, requérant jusqu'à 3 à 6 mois pour fabriquer un vaccin pour chaque patient.

Plus récemment, les technologies d'ADN recombinant ont été utilisées pour générer des protéines idiotypiques avec pour objectif de raccourcir le délai de production de vaccin. Avec cette approche, les régions variables des chaînes lourde et légère de l'immunoglobuline tumorale sont amplifiées par PCR (polymerase chain reaction) à partir d'une biopsie tumorale puis les produits de PCR sont insérés dans un vecteur d'expression pour produire la protéine idiotypique in vitro dans des cellules de mammifères, dans des cellules d'insecte, ou dans des bactéries [38], [39]. Cette technique permet de raccourcir le délai de production du vaccin à 2 mois. Dans une autre approche, l'ADN recombinant codant l'idiotype est couplé à un ADN codant pour une protéine adjuvante et l'ADN est directement injecté au patient ; les cellules du patient se chargent alors de synthétiser la protéine in vivo [40].

## Essais cliniques

Les essais cliniques de vaccination thérapeutique dans le cancer ne suivent pas le modèle traditionnel de développement des médicaments de chimiothérapie. Ainsi, les études de sécurité en phase I chez les patients ayant une maladie maligne avancée (patients immunodéprimés) ne sont pas optimales, la toxicité du vaccin étant probablement liée à la réponse immune elle-même, déficiente chez ces patients. De plus, les réponses immunitaires induites par la vaccination sont probablement plus efficaces pour éliminer la maladie résiduelle plutôt que les fortes masses tumorales. Il semble donc approprié de réduire la masse tumorale avec la chimiothérapie, puis d'attendre une reconstitution immunitaire avant la vaccination. D'autre part, le critère d'évaluation est plus difficile et différent des essais classiques de médicaments. Si les malades sont en réponse il est plus facile de déterminer le taux de rémission moléculaire plutôt qu'un taux de réponse clinique. Pour ces différentes raisons, la majorité des essais cliniques de vaccination anti-idiotypique dans les lymphomes ont été réalisés après induction d'une rémission par chimiothérapie standard.

Un autre facteur à considérer dans ces essais cliniques sur les lymphomes B est l'utilisation du rituximab au cours du traitement d'induction. En effet cet anticorps monoclonal entraîne une déplétion des cellules B malignes, mais aussi des cellules B normales. Par conséquent, les patients traités par rituximab ont théoriquement une faible probabilité de générer une réponse humorale à la suite d'une immunothérapie active.

La forte immunogénicité et l'induction de rémissions cliniques et moléculaires obtenues avec les vaccins anti-idiotypiques couplés à la protéine KLH en association avec le GM-CSF (Id-KLH + GM-CSF) au cours d'essais de phase I et II ont conduit à initier trois essais randomisés en double aveugle contre placebo afin de répondre définitivement à la question d'un bénéfice clinique de la vaccination ([tableau 1](#)).

A ce jour, seuls les résultats de l'essai Favrille ont été publiés [41] : il n'y avait pas de différence significative entre les deux bras de traitement pour le délai jusqu'à progression, le taux de réponse et la durée de la réponse.

**Tableau 1 : Essais de phase III randomisés de vaccination anti-idiotypique dans les lymphomes folliculaires.**

Etude	Patients	Biopsie ganglionnaire	Traitement d'induction	Vaccination (randomisation)	Protocole de vaccination (nombre d'injections)	Critère principal d'évaluation
<b>NCI / BiovaxID n= 629</b>	Lymphome folliculaire non traité	Exérèse chirurgicale	PACE puis depuis 2004 R-CHOP x 6 à 8 J1=J21	Id-KLH + GM-CSF (2 : 1) KLH + GM-CSF	5	Survie sans maladie
<b>Genitope n=360</b>	Lymphome folliculaire non traité	Biopsie à l'aiguille	CVP x 8 J1=J21	Id-KLH + GM-CSF (2 : 1) KLH + GM-CSF	7	Survie sans progression
<b>Favrille n= 342</b>	Lymphome folliculaire non traité ou en rechute	Biopsie à l'aiguille	Rituximab x 4 J1=J8	Id-KLH + GM-CSF (1 : 1) GM-CSF	Jusqu'à progression	Temps jusqu'à progression

Dans les 3 essais (BiovaxID, Genitope et Favrille), les patients ont eu une biopsie ganglionnaire permettant la production du vaccin. Les patients ont ensuite reçu le traitement d'induction avant d'être randomisés entre le bras expérimental et le bras contrôle. Les traitements d'induction étaient différents dans les 3 essais : ainsi BiovaxID utilisait une chimiothérapie à base d'anthracycline (PACE ou R-CHOP), Genitope utilisait une chimiothérapie de type CVP (absence d'anthracycline) et l'essai Favrille uniquement le rituximab. De plus, seuls les patients en réponse complète (RC) étaient vaccinés dans BiovaxID, alors que les patients en réponse partiels (RP) étaient randomisés dans Genitope, auxquels il faut ajouter les patients ayant une maladie stable (MS) dans Favrille.

PACE : prednisone, adriamycine, cyclophosphamide, étoposide

CHOP : cyclophosphamide, adriamycine, vincristine, prednisone

CVP : cyclophosphamide, vincristine, prednisone

KLH : keyhole limpet haemocyanin

GM-CSF : granulocyte-macrophage colony-stimulating factor

## Les thérapeutiques innovantes dans les lymphomes

De nouvelles molécules sont en développement dans le traitement des lymphomes. La grande majorité de ces nouveaux agents n'ont pas encore d'autorisation de mise sur le marché dans le traitement des lymphomes, mais les données précliniques et cliniques les concernant suscitent un grand intérêt. On peut citer ainsi les « IMiD » (thalidomide et lenalidomide), les inhibiteurs de mTOR (temsirolimus), les inhibiteurs du protéasome (bortezomib), les inhibiteurs de la protéine kinase C (enzastaurine), les anti-angiogéniques (bevacizumab), et les oligonucléotides antisens :

- les lMid ont une action immunomodulatrice et antitumorale. Leur action est pléiotropique, à la fois sur la cellule tumorale et le microenvironnement, notamment par la modulation de production de nombreuses cytokines et l'activation de cellules immunitaires [42]. La thalidomide en monothérapie a une faible efficacité dans les lymphomes indolents en rechute/réfractaires (taux de réponse d'environ 10%) [43]. Le lenalidomide (Revlimid®) en monothérapie induit 23% de réponses dans les lymphomes indolents en rechute/réfractaires [44], 35% de réponses dans les lymphomes agressifs en rechute/réfractaires [45] et 53% de réponses dans les lymphomes du manteau en rechute/réfractaires [46]
- le temsirolimus (Torisel®) agit en inhibant la voie mTOR, impliquée notamment dans la régulation de la division cellulaire. Il a récemment obtenu une AMM pour le traitement des patients ayant un lymphome du manteau en rechute ou réfractaire [47]
- le bortezomib, en inhibant le protéasome, agit sur de nombreuses voies de signalisation. Dans les lymphomes du manteau en rechute/réfractaires, les taux de réponse sont de 30 à 45% [48], [49]. Dans les lymphomes folliculaires et de la zone marginale en rechute/réfractaires, le taux de réponse est de 15% en monothérapie [50], et de 45% en association avec le rituximab [51]
- l'enzastaurine inhibe la protéine kinase C, enzyme clé dans la signalisation et la survie des lymphocytes B. En monothérapie, elle a permis de retarder la progression chez des patients atteints de lymphome du manteau en rechute/réfractaires [52] ou de lymphome B diffus à grandes cellules en rechute/réfractaires [53]
- les anti-angiogéniques agissent en inhibant l'action du VEGF (vascular endothelial growth factor). Le bevacizumab (Avastin®), un anticorps monoclonal anti-VEGF, utilisé en association avec le R-CHOP (RA-CHOP) dans les lymphomes B diffus à grandes cellules en première ligne a permis d'obtenir un taux de réponse de 85% dont 38% de réponses complètes [54]. Une étude randomisée internationale de phase III comparant R-CHOP et RA-CHOP est actuellement en cours
- l'oblimersen est un oligonucléotide antisens dirigé contre l'ARN du gène antiapoptotique bcl-2. Dans les lymphomes B en rechute/réfractaires, en association avec le rituximab, le taux de réponse est de 40% (60% dans les lymphomes folliculaires) [55].

Ainsi, ces nouveaux agents sont source d'optimisme, mais des études cliniques rigoureuses sont nécessaires pour démontrer leur efficacité, et le cas échéant déterminer au mieux leur mode d'intégration et de combinaison avec les traitements actuellement disponibles des lymphomes.

## Bibliographie

---

1. Carter P. Improving the efficacy of antibody-based cancer therapies. *Nat Rev Cancer*. 2001 ; 1 : 118-129.
2. McLaughlin P., Grillo-Lopez AJ., Link BK., *et al.* Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma : half of patients respond to a four-dose treatment program. *J. Clin Oncol.* 1998 ; 16 : 2825-2833.
3. Colombat P., Salles G., Brousse N., *et al.* Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) as single first-line therapy for patients with follicular lymphoma with a low tumor burden : clinical and molecular evaluation. *Blood*. 2001 ; 97 : 101-106.
4. Marcus R., Imrie K., Solal-Celigny P., *et al.* Phase III study of R-CVP compared with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone alone in patients with previously untreated advanced follicular lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2008 ; 26 : 4579-4586.

5. Hiddemann W., Kneba M., Dreyling M., *et al.* Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone : results of a prospective randomized study of the German Low-Grade Lymphoma Study Group. *Blood.* 2005 ; 106 : 3725-3732.
6. Herold M., Haas A., Srock S., *et al.* Rituximab added to first-line mitoxantrone, chlorambucil, and prednisolone chemotherapy followed by interferon maintenance prolongs survival in patients with advanced follicular lymphoma : an East German Study Group Hematology and Oncology Study. *J. Clin Oncol.* 2007 ; 25 : 1986-1992.
7. Salles G., Mounier N., de Guibert S., *et al.* Rituximab combined with chemotherapy and interferon in follicular lymphoma patients : results of the GELA-GOELAMS FL2000 study. *Blood.* 2008 ; 112 : 4824-4831.
8. Van Oers MH., Klasa R., Marcus RE., *et al.* Rituximab maintenance improves clinical outcome of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin lymphoma in patients both with and without rituximab during induction: results of a prospective randomized phase 3 intergroup trial. *Blood.* 2006 ; 108 : 3295-3301.
9. Hainsworth JD., Litchy S., Shaffer DW., Lackey VL., Grimaldi M., Greco FA. Maximizing therapeutic benefit of rituximab : maintenance therapy versus re-treatment at progression in patients with indolent non-Hodgkin's lymphoma--a randomized phase II trial of the Minnie Pearl Cancer Research Network. *J. Clin Oncol.* 2005 ; 23 : 1088-1095.
10. Ghielmini M., Schmitz SF., Cogliatti SB., *et al.* Prolonged treatment with rituximab in patients with follicular lymphoma significantly increases event-free survival and response duration compared with the standard weekly x 4 schedule. *Blood.* 2004 ; 103 : 4416-4423.
11. Vidal L., Gafter-Gvili A., Leibovici L., *et al.* Rituximab maintenance for the treatment of patients with follicular lymphoma: systematic review and meta-analysis of randomized trials. *J. Natl Cancer Inst.* 2009 ; 101 : 248-255.
12. Coiffier B., Lepage E., Briere J., *et al.* CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N. Engl J. Med.* 2002 ; 346 : 235-242.
13. Feugier P., Van Hoof A., Sebban C., *et al.* Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J. Clin Oncol.* 2005 ; 23 : 4117-4126.
14. Habermann TM., Weller EA., Morrison VA., *et al.* Rituximab-CHOP versus CHOP alone or with maintenance rituximab in older patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2006 ; 24 : 3121-3127.
15. Pfreundschuh M., Schubert J., Ziepert M., *et al.* Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20+ B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Oncol.* 2008 ; 9 : 105-116.
16. Pfreundschuh M., Trumper L., Osterborg A., *et al.* CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma : a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol.* 2006 ; 7 : 379-391.
17. Foran JM., Rohatiner AZ., Cunningham D., *et al.* European phase II study of rituximab (chimeric anti-CD20 monoclonal antibody) for patients with newly diagnosed mantle-cell lymphoma and previously treated mantle-cell lymphoma, immunocytoma, and small B-cell lymphocytic lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2000 ; 18 : 317-324.
18. Lenz G., Dreyling M., Hoster E., *et al.* Immunochemotherapy with rituximab and cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone significantly improves response and time to treatment failure, but not long-term outcome in patients with previously untreated mantle cell lymphoma : results of a prospective randomized trial of the German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG). *J. Clin Oncol.* 2005 ; 23 : 1984-1992.
19. Schulz H., Bohlius JF., Trelle S., *et al.* Immunochemotherapy with rituximab and overall survival in patients with indolent or mantle cell lymphoma: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99:706-714.
20. Conconi A., Martinelli G., Thieblemont C., *et al.* Clinical activity of rituximab in extranodal marginal zone B-cell lymphoma of MALT type. *Blood.* 2003 ; 102 : 2741-2745.
21. Vellenga E., van Putten WL., van 't Veer MB., *et al.* Rituximab improves the treatment results of DHAP-VIM-DHAP and ASCT in relapsed/progressive aggressive CD20+ NHL : a prospective randomized HOVON trial. *Blood.* 2008 ; 111 : 537-543.

22. Gisselbrecht C. R-ICE versus R-DHAP in relapsed patients with CD20 diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) followed by autologous stem cell transplantation: CORAL study. *J. Clin Oncol.* 2009 ; 27.
23. Khouri IF., Saliba RM., Hosing C., *et al.* Concurrent administration of high-dose rituximab before and after autologous stem-cell transplantation for relapsed aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J. Clin Oncol.* 2005 ; 23 : 2240-2247.
24. Sebban C., Brice P., Delarue R., *et al.* Impact of rituximab and/or high-dose therapy with autotransplant at time of relapse in patients with follicular lymphoma : a GELA study. *J. Clin Oncol.* 2008 ; 26 : 3614-3620.
25. Witzig TE., Gordon LI., Cabanillas F., *et al.* Randomized controlled trial of yttrium-90-labeled ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy versus rituximab immunotherapy for patients with relapsed or refractory low-grade, follicular, or transformed B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2002 ; 20 : 2453-2463.
26. Morschhauser F., Radford J., Van Hoof A., *et al.* Phase III trial of consolidation therapy with yttrium-90-ibritumomab tiuxetan compared with no additional therapy after first remission in advanced follicular lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2008 ; 26 : 5156-5164.
27. Nademanee A., Forman S., Molina A., *et al.* A phase 1/2 trial of high-dose yttrium-90-ibritumomab tiuxetan in combination with high-dose etoposide and cyclophosphamide followed by autologous stem cell transplantation in patients with poor-risk or relapsed non-Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2005 ; 106 : 2896-2902.
28. Krishnan A., Nademanee A., Fung HC., *et al.* Phase II trial of a transplantation regimen of yttrium-90 ibritumomab tiuxetan and high-dose chemotherapy in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2008 ; 26 : 90-95.
29. Gisselbrecht C., Bethge W., Duarte RF., *et al.* Current status and future perspectives for yttrium-90 ((90)Y)-ibritumomab tiuxetan in stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* 2007 ; 40 : 1007-1017.
30. Gisselbrecht C. 90Yttrium Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin) Combined with BEAM (Z -BEAM) Conditioning Regimen Plus Autologous Stem Cell Transplantation in Relapsed or Refractory Follicular Lymphoma. GELA Phase II Study. *Blood.* 2007 ; 110 : Abstract 22.
31. Horning SJ., Rosenberg SA. The natural history of initially untreated low-grade non-Hodgkin's lymphomas. *N Engl J Med.* 1984 ; 311 : 1471-1475.
32. McLaughlin P. The role of interferon in the therapy of low grade lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 1993 ;10 Suppl :17-20.
33. Gisselbrecht C., Maraninchi D., Pico JL., *et al.* Interleukin-2 treatment in lymphoma: a phase II multicenter study. *Blood.* 1994 ; 83 : 2081-2085.
34. Weber JS., Yang JC., Topalian SL., Schwartzentruber DJ., White DE., Rosenberg SA. The use of interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells for the treatment of patients with non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin Oncol.* 1992 ; 10 : 33-40.
35. Dave SS., Wright G., Tan B., *et al.* Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. *N Engl J Med.* 2004 ; 351 : 2159-2169.
36. Thomson KJ., Mackinnon S. Role of allogeneic transplantation in low-grade lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Curr Opin Hematol.* 2006 ; 13 : 273-279.
37. Carroll WL., Thielemans K., Dille J., Levy R. Mouse x human heterohybridomas as fusion partners with human B cell tumors. *J Immunol Methods.* 1986 ; 89 : 61-72.
38. Lee ST., Jiang YF., Park KU., Woo AF., Neelapu SS. BiovaxID : a personalized therapeutic cancer vaccine for non-Hodgkin's lymphoma. *Expert Opin Biol Ther.* 2007 ; 7 : 113-122.
39. Hurvitz SA., Timmerman JM. Recombinant, tumour-derived idiotype vaccination for indolent B cell non-Hodgkin's lymphomas : a focus on Favld. *Expert Opin Biol Ther.* 2005 ; 5 : 841-852.
40. Kanter G., Yang J., Voloshin A., Levy S., Swartz JR., Levy R. Cell-free production of scFv fusion proteins: an efficient approach for personalized lymphoma vaccines. *Blood.* 2007 ; 109 : 3393-3399.
41. Stevenson FK., Ottensmeier CH., Johnson P., *et al.* DNA vaccines to attack cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 ; 101 Suppl 2 : 14646-14652.

42. Freedman A., Neelapu SS., Nichols C., *et al.* Placebo-controlled phase III trial of patient-specific immunotherapy with mitumprotimut-T and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor after rituximab in patients with follicular lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2009 ; 27 : 3036-3043.
43. Chanan-Khan AA., Cheson BD. Lenalidomide for the treatment of B-cell malignancies. *J Clin Oncol.* 2008 ; 26 : 1544-1552.
44. Smith SM., Grinblatt D., Johnson JL., *et al.* Thalidomide has limited single-agent activity in relapsed or refractory indolent non-Hodgkin lymphomas : a phase II trial of the Cancer and Leukemia Group B. *Br J Haematol.* 2008 ; 140 : 313-319.
45. Witzig TE., Wiernik PH., Moore T., *et al.* Lenalidomide oral monotherapy produces durable responses in relapsed or refractory indolent non-Hodgkin's Lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2009 ; 27 : 5404-5409.
46. Wiernik PH., Lossos IS., Tuscano JM., *et al.* Lenalidomide monotherapy in relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2008 ; 26 : 4952-4957.
47. Habermann TM., Lossos IS., Justice G., *et al.* Lenalidomide oral monotherapy produces a high response rate in patients with relapsed or refractory mantle cell lymphoma. *Br J. Haematol.* 2009 ; 145 : 344-349.
48. Hess G., Herbrecht R., Romaguera J., *et al.* Phase III study to evaluate temsirolimus compared with investigator's choice therapy for the treatment of relapsed or refractory mantle cell lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2009 ; 27 : 3822-3829.
49. Goy A., Younes A., McLaughlin P., *et al.* Phase II study of proteasome inhibitor bortezomib in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2005 ; 23 : 667-675.
50. O'Connor OA., Moskowitz C., Portlock C., *et al.* Patients with chemotherapy-refractory mantle cell lymphoma experience high response rates and identical progression-free survivals compared with patients with relapsed disease following treatment with single agent bortezomib: results of a multicentre Phase 2 clinical trial. *Br J. Haematol.* 2009 ; 145 : 34-39.
51. Di Bella N., Taetle R., Kolibaba K., *et al.* Results of a phase II study of bortezomib in patients with relapsed or refractory indolent lymphoma. *Blood.* 2009.
52. de Vos S., Goy A., Dakhil SR., *et al.* Multicenter randomized phase II study of weekly or twice-weekly bortezomib plus rituximab in patients with relapsed or refractory follicular or marginal-zone B-cell lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2009 ; 27 : 5023-5030.
53. Morschhauser F., Seymour JF., Kluijn-Nelemans HC., *et al.* A phase II study of enzastaurin, a protein kinase C beta inhibitor, in patients with relapsed or refractory mantle cell lymphoma. *Ann Oncol.* 2008 ; 19 : 247-253.
54. Robertson MJ., Kahl BS., Vose JM., *et al.* Phase II study of enzastaurin, a protein kinase C beta inhibitor, in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *J. Clin Oncol.* 2007 ; 25 : 1741-1746.
55. Ganjoo KN., An CS., Robertson MJ., *et al.* Rituximab, bevacizumab and CHOP (RA-CHOP) in untreated diffuse large B-cell lymphoma : safety, biomarker and pharmacokinetic analysis. *Leuk Lymphoma.* 2006 ; 47 : 998-1005.
56. Pro B., Leber B., Smith M., *et al.* Phase II multicenter study of oblimersen sodium, a Bcl-2 antisense oligonucleotide, in combination with rituximab in patients with recurrent B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Br J. Haematol.* 2008 ; 143 : 355-360.



# **Les lymphomes hodgkiniens**

**Gérard Sébahoun**

**CHAPITRE XVII**

La maladie de Hodgkin est une affection maligne du tissu lymphoïde, maintenant dénommée lymphome hodgkinien (LH) dans la classification OMS des néoplasies lymphoïdes. Il s'agit d'une hémopathie fréquente avec une incidence de 3 nouveaux cas par an et par 100 000 habitants. Deux pics de fréquence sont observés selon l'âge : un pic chez le sujet jeune (15 à 35 ans) et un pic tardif après 50 ans. Des facteurs étiologiques infectieux, environnementaux, immunologiques, génétiques, épigénétiques sont incriminés, mais l'étiologie exacte du LH reste encore inconnue.

Les cellules malignes ont des aspects morphologiques variables, la cellule de Hodgkin et la cellule de Reed-Sternberg (HRS) sont les plus caractéristiques. Leur origine lymphoïde B est maintenant démontrée.

De récentes données histologiques et immunophénotypiques ont restreint le concept de LH. Ainsi, le paragranulome nodulaire qui représentait jusqu'alors une forme de maladie de Hodgkin à prédominance lymphocytaire est aujourd'hui considéré comme un lymphome B de faible grade de malignité.

## **Lymphome hodgkinien classique et lymphome hodgkinien à prédominance lymphocytaire**

Le LH est divisé en lymphome hodgkinien classique (LHC) qui représente 95% des cas, et lymphome hodgkinien nodulaire à prédominance lymphocytaire (LHPL) (autrefois appelé paragranulome hodgkinien de Poppepa-Lennert) qui représente 5% des cas. Les différences architecturales et de composition cellulaire permettent de subdiviser le LHC en formes à sclérose nodulaire, à cellularité mixte, à déplétion lymphocytaire et forme riche en lymphocytes. L'architecture est au moins partiellement nodulaire dans le LHPL. Dans le LHC, les cellules tumorales sont les cellules de Hodgkin et les cellules de Reed Sternberg (HRS), tandis que dans le LHPL ces cellules sont rares et les cellules tumorales sont des cellules à prédominance lymphocytaire (LP) (antérieurement appelées cellules lympho-histiocytaires ou cellules « popcorn »). Le phénotype immunologique des cellules tumorales diffère dans ces deux types de LH. Les cellules HRS expriment le CD15, et le CD30, mais pas le CD20 ou le CD45 [1]. Elles dérivent de cellules du centre germinatif qui ont acquis des mutations défavorables de la partie variable du gène des immunoglobulines et qui auraient dû normalement entrer en apoptose [2]. Au contraire les cellules LP expriment les antigènes B CD19, CD20, CD22, CD79a. Elles dérivent de cellules B du centre germinatif sélectionnées par l'antigène [2].

## **Physiopathologie**

### **La nature lymphoïde B des cellules de HRS**

Les cellules de HRS représentent habituellement 0,1% à 10% des cellules du tissu atteint, rendant difficiles les analyses immunophénotypiques, cytogénétiques et moléculaires.

L'anticorps Ki-1, développé par immunisation de souris avec des lignes cellulaires de LH, reconnaît l'antigène CD30 qui est exprimé par les cellules de HRS.

Les méthodes permettant d'isoler les cellules de HRS par microdissection sur coupes congelées ont permis de démontrer que ces cellules de HRS étaient des cellules clonales B.

C'est l'étude du réarrangement des gènes des immunoglobulines et du récepteur T par PCR à partir de

l'ADN extrait d'une seule cellule tumorale qui a permis d'établir l'origine lymphocytaire B des cellules de HRS. Ce réarrangement est identique pour les cellules tumorales d'un même patient, démontrant la clonalité de la prolifération. De plus, les cellules de HRS ont un taux élevé de mutations somatiques des régions variables des gènes des immunoglobulines, suggérant que le précurseur est une cellule d'origine centro ou post-folliculaire [3].

Cependant les cellules de HRS n'expriment que peu d'antigènes cellulaires B, n'expriment pas d'immunoglobulines de surface, expriment des marqueurs qui ne sont pas habituellement exprimés par les cellules B comme le CD15, TARC ou des antigènes associés aux cellules T.

## **Dérégulation des facteurs de transcription et perte du phénotype cellulaire B des cellules HRS**

De nombreuses altérations épigénétiques sont impliquées dans la physiopathologie du LH.

Contrairement à la plupart des lymphomes B qui gardent leur phénotype cellulaire d'origine au cours de leur transformation maligne, la perte de l'identité cellulaire B est la caractéristique essentielle des cellules de HRS. Ce phénotype aberrant associe la perte de l'expression des marqueurs de surface spécifiques des cellules B, la perte des facteurs de transcription spécifiques de la lignée B, et surtout la perte de la fonctionnalité du BCR.

La plupart des marqueurs caractéristiques des cellules B comme le BCR, le CD 19, le CD 20 ne sont que faiblement exprimés par les cellules HRS. Plusieurs facteurs de transcription qui régulent l'expression de nombreux gènes spécifiques des cellules B sont faiblement ou ne sont pas exprimés, comme les facteurs de transcription Oct-2, Pu.1, Bob 1, et EBF (early B cell factor) [4], [5]. Les facteurs de transcription E12 et E47 qui sont codés par le gène E2A sont exprimés dans les cellules de HRS mais leur fonction est inhibée par la forte expression de deux inhibiteurs ID2 et ABF1 [5], [6].

Notch1, qui est normalement exprimé par les cellules T, est activé de façon constitutive dans les cellules de HRS et joue un rôle dans la reprogrammation des cellules de HRS. Il induit l'expression des facteurs de transcription cellulaire B E2A et EBF et induit aussi l'expression de ABF1 [7].

L'activation constitutive des facteurs de transcription de la voie NF- $\kappa$ B dans les cellules tumorales est responsable de leur résistance à l'apoptose, favorisant leur prolifération. Elle joue aussi un rôle dans la régulation de la production de cytokines et chemokines par les cellules de HRS.

## **Mécanismes responsables de l'activité constitutive NF- $\kappa$ B**

NF- $\kappa$ B est une famille de 5 facteurs de transcription. Les cellules de HRS montrent une forte activité constitutive de NF- $\kappa$ B, activité qui n'est normalement que transitoire dans les cellules B [8]. L'activation de NF- $\kappa$ B peut se faire par activation du CD40 (membre de la famille des récepteurs TNF) exprimé par les cellules de HRS. Elle peut se faire par activation d'autres récepteurs exprimés par les cellules de HRS tels CD30, TACI, BCMA, RANK et Notch 1 [7], [9], [10]. Surtout 40 à 50 % des cas de LHC montrent des anomalies à type de gains génomiques avec amplification génique de gènes codant pour un facteur NF- $\kappa$ B [11].

## **Les altérations génomiques dans les cellules de HRS**

Les anomalies du caryotype des cellules HRS sont complexes et traduisent une instabilité génomique. Des associations chromosomiques multiples sont régulièrement retrouvées, avec des translocations de petits segments chromosomiques. En particulier ces translocations de petits segments apparaissent

directement liées à des amplifications géniques comme pour Jak2, FGFR3, REL, ID2. Des gains génomiques pour les chromosomes 2p et 9p ont été rapportés comme altérations récurrentes et les analyses en FISH de ces régions ont montré une augmentation du nombre de copies pour les gènes REL et Jak2 [11], [12].

## **Rôle de l'EBV dans le LH**

L'EBV infecte essentiellement les lymphocytes B et son interaction avec la cellule-hôte peut générer soit une réplication virale, soit une latence. Les cellules de HRS hébergent, sous une forme latente, le virus d'Epstein-Barr (EBV) dans 40 % des cas de LHC [1]. Elles expriment EBNA1 qui est essentiel dans la réplication du génome viral dans les cellules prolifératives, et deux protéines membranaires latentes LMP1 et LMP2a. De façon intéressante LMP1 simule un récepteur CD40 et LMP2a simule un BCR [13], [14]. L'EBV pourrait jouer un rôle dans la genèse du LH. Ainsi, a-t-on pu constater une fréquence augmentée de LH dans les suites d'une mononucléose infectieuse [15].

## **Les cellules de HRS dans leur micro-environnement**

Les cellules de HRS se situent dans un micro-environnement particulier composé de différents types cellulaires (cellules B, cellules T, plasmocytes, éosinophiles, mastocytes). Il joue un rôle essentiel pour la survie de cellules de HRS, comme le montre la difficulté de faire pousser des cellules de HRS en culture. Les cellules de HRS jouent un rôle dans la régulation de leur micro-environnement et jouent un rôle d'attraction qui attire un infiltrat cellulaire par la sécrétion de cytokines et chemokines. Les cellules de HRS produisent de grandes quantités de thymus and activation regulated chemokine TARC/CCL17 et de macrophage derived chemokine (MDC)/CCL22, deux chemokines capables de recruter des cellules exprimant CCR4, incluant des cellules T helper 2 et des cellules T régulatrices (Tregs) [3]. Les cellules de HRS expriment CCL5/RANTES (regulated on activation normal T cell expressed and secreted) et son récepteur CCR5. CCL5/RANTES est une chémokine capable d'attirer les cellules exprimant CCR3 et CCR5, incluant Tregs, cellules Th2, éosinophiles et mastocytes. De façon intéressante CCR3 et CCR5 sont exprimés sur les cellules T du micro-environnement hodgkinien mais pas sur les cellules T de ganglions normaux. Ces chemokines et les cellules T helper CD4+ jouent un rôle critique dans la croissance et la survie tumorale. Bien que les cellules HRS aient perdu la plupart des gènes typiques des cellules B, elles retiennent l'expression HLA II, CD40, CD80 et CD86 qui sont des molécules jouant un rôle dans l'interaction entre cellules B et cellules T helper [16], [17].

## **VIH et LH**

Les LH survenant au cours de l'infection VIH comportent des particularités [18]. Tout d'abord il existe une association presque constante à EBV. Leur survenue a tendance à se faire à un âge plus avancé. Ils sont souvent associés à des signes généraux, à des localisations extra-ganglionnaires et sont le plus souvent à cellularité mixte. Le risque de LH est 15 fois supérieur à la population générale chez les patients ayant une immunosuppression modérée (CD4 entre 225 à 250/mm<sup>3</sup>) [19]. LMP2a est un gène EBV exprimé à la surface cellulaire, et qui fournit un signal qui inhibe l'apoptose. La présence ou l'absence de l'EBV n'est pas associée à des différences de survie, sauf peut-être chez les patients très jeunes ou très âgées. Les cellules tumorales sont le plus souvent CD20 et expriment CD138, suggérant un phénotype post-folliculaire.

## Diagnostic

La conduite essentielle est d'initier la démarche clinique qui conduira à réaliser la biopsie d'un ganglion ou, plus rarement, d'un site tumoral extra-ganglionnaire.

### Les adénopathies périphériques

sont la circonstance de découverte la plus fréquente, uniques ou multiples. Elles sont généralement de topographie cervicale et sus-claviculaire.

### Les signes généraux

sont inconstants et peuvent être isolés ou associés à des adénopathies.

- Une fièvre au long cours (fébricule vespérale), en l'absence d'infection concomitante.
- Une altération de l'état général, en particulier un amaigrissement.
- Des sueurs nocturnes, obligeant le patient à changer de linge, doivent être recherchées par l'interrogatoire.
- Un prurit, surtout s'il est isolé, doit de principe faire rechercher un LH.
- Les douleurs survenant après ingestion d'alcool au niveau d'une atteinte ganglionnaire sont classiques bien qu'inexpliquées.

### Des signes compressifs

peuvent parfois inaugurer la maladie et la séméiologie observée est alors fonction de la topographie de la compression. Dans la majorité des cas, la compression est la conséquence de volumineux amas ganglionnaires profonds.

- Un syndrome cave supérieur, une toux sèche, une dyspnée, une dysphonie peuvent faire révéler l'existence d'adénopathies médiastinales.
- Des manifestations neurologiques peuvent également constituer une circonstance de découverte. Elles sont rares et témoignent d'une compression médullaire et/ou radiculaire par localisation spécifique rachidienne osseuse et/ou épidurale.
- Les adénopathies sous-diaphragmatiques (rétro-péritonéales, mésentériques) sont rarement compressives.

### L'examen physique

Au delà de l'examen de tous les sites ganglionnaires périphériques, l'examen doit rechercher de principe un certain nombre de localisations.

- La rate est assimilée à un territoire ganglionnaire. La splénomégalie est rare mais une atteinte infra-clinique peut-être découverte sur le scanner abdominal.
- L'atteinte hépatique se manifeste rarement par une hépatomégalie mais peut se résumer à une perturbation du bilan hépatique (cholestase, cytolyse, insuffisance hépato-cellulaire). Elle est habituellement découverte sur le scanner abdominal.
- Une atteinte des séreuses, pleurésie ou péricardite, peut également se rencontrer.
- Des douleurs osseuses, prédominant sur le squelette axial, peuvent révéler des localisations osseuses.

- Les localisations ORL, principalement au niveau de l'anneau de Waldeyer ou du cavum, imposent la pratique d'une fibroscopie naso-pharyngée.
- Les localisations digestives, cutanées sont rares.
- Les localisations pulmonaires sont généralement muettes à l'examen physique et sont découvertes sur le scanner thoracique.

## Les examens biologiques

Les anomalies ne sont ni constantes, ni spécifiques :

- syndrome inflammatoire : augmentation de la VS, de la CRP, hyperfibrinogénémie, hypoalbuminémie, hyper  $\alpha_2$  et hyper  $\gamma$  globulinémie, hyposidérémie, hyperleucocytose avec polynucléose neutrophile, anémie
- hyperéosinophilie et lymphopénie. LDH élevées
- l'existence d'une tricytopenie sanguine doit faire rechercher un envahissement médullaire
- une anergie à la tuberculine (IDR à 10 U) est fréquente.

## La cytologie ganglionnaire

La ponction d'un ganglion à l'aiguille est un geste simple et d'interprétation rapide, mais elle n'a de valeur que positive. Dans tous les cas, elle ne saurait constituer qu'une étape dans le diagnostic.

Si le diagnostic peut être orienté sur des données cytologiques mettant en évidence des cellules de HRS, et un fond inflammatoire polymorphe comprenant des lymphocytes, des plasmocytes, des histiocytes, il ne peut être affirmé que sur des données histo-pathologiques sur tissu fixé et inclus en paraffine.

## Le diagnostic positif repose sur l'examen histologique

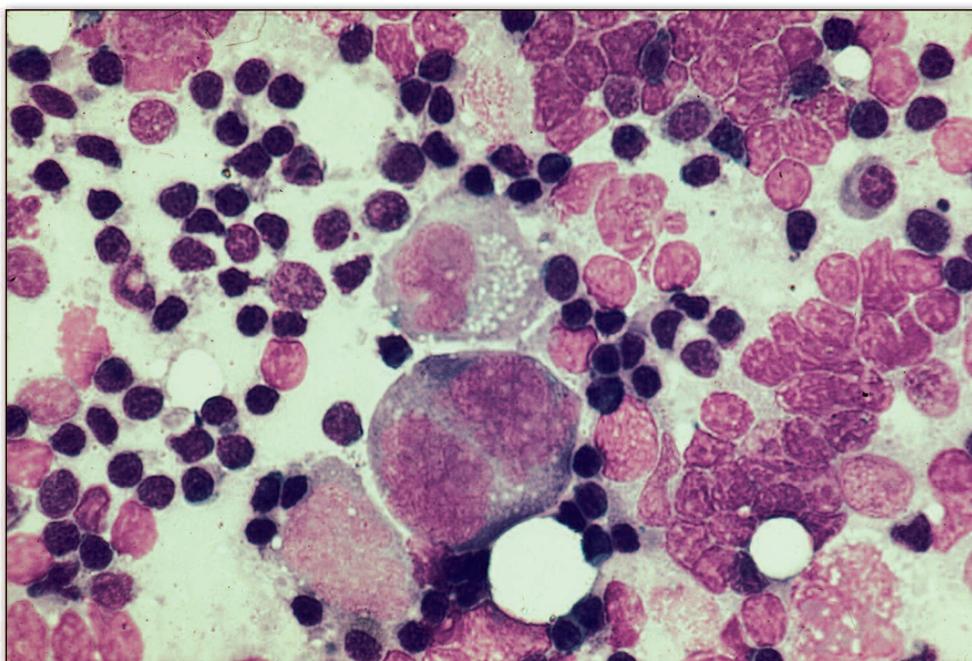
d'un ganglion biopsié chirurgicalement ou d'un tissu infiltré (biopsie ostéo-médullaire, biopsie pulmonaire, ponction biopsie hépatique) en l'absence d'adénopathie biopsiable.

Si l'abord chirurgical est anodin pour les adénopathies périphériques, la réalisation d'un geste chirurgical plus lourd pour l'abord des adénopathies profondes isolées ne se discute pas (médiastinoscopie, thoracotomie, mini-laparotomie).

Le tissu biopsié doit être en quantité suffisante pour permettre un diagnostic optimal. Le diagnostic est affirmé sur des données cytologiques, immunophénotypiques et architecturales,

Le diagnostic histologique de LH repose sur l'association de cellules de HRS à une destruction partielle ou totale de l'architecture ganglionnaire. La cellule de RS ([figure 1](#)), de très grande taille comporte un noyau volumineux bi ou multilobé, fortement nucléolé. La cellule de Hodgkin et la cellule lacunaire sont les 2 principales variantes de la cellule de RS. La cellule de Hodgkin, de grande taille, contient un noyau mono lobé avec un gros nucléole. La cellule lacunaire se distingue des cellules de RS par un grand cytoplasme clair et souvent rétracté. Les cellules tumorales expriment CD30 et CD15. Elles expriment de façon hétérogène et inconstante CD20 et CD79a. Elles n'expriment pas le CD45, l'EMA et ALK1. Dans 40 % des cas, elles expriment la protéine LMP-1 et EBNA1 du virus EBV.

Figure 1 : Cellules de HRS.



Quatre formes histologiques du LHC sont individualisées :

- la forme à sclérose nodulaire (65% des cas) comporte une fibrose annulaire délimitant des nodules constitués de cellules tumorales et de cellules réactionnelles
- la forme à cellularité mixte (20% des cas) est d'architecture diffuse. La lésion est de topographie interfolliculaire. Les cellules de HRS sont présentes au sein d'une population réactionnelle polymorphe constituée de lymphocytes, de plasmocytes et de polynucléaires éosinophiles. Il n'y a pas de cellules lacunaires. L'expression de la protéine LMP-1 est fréquente
- la forme riche en lymphocytes, (5% des cas) où les cellules de HRS sont relativement rares
- la forme à déplétion lymphoïde (2% des cas) comporte des cellules de HRS nombreuses associées à une fibrose diffuse et de rares cellules inflammatoires.

## Bilan d'extension de la maladie

### L'extension anatomo-clinique

Outre l'examen physique soigneux, certains examens sont de règle dans tout LH : radiographie thoracique, tomodensitométrie thoraco-abdomino-pelvienne, tomographie par émission de positons, biopsie médullaire, examen ORL spécialisé. Ce bilan permet de stratifier 4 stades anatomo-cliniques de I à IV selon la classification de Ann-Arbor, modifiée Cotswolds ([tableau 1](#)).

**Tableau 1 : La classification d'Ann Arbor, modifiée Cotswolds des LH.**

<b>Stade I :</b> atteinte d'un seul groupe ganglionnaire ou d'une seule structure lymphoïde ou d'un seul territoire extraganglionnaire (IE)
<b>Stade II :</b> atteinte de deux ou plusieurs groupes ganglionnaires d'un seul côté du diaphragme ou atteinte contiguë d'un groupe ganglionnaire et d'un seul organe extraganglionnaire du même côté du diaphragme (IIE)
<b>Stade III :</b> atteinte ganglionnaire des deux côtés du diaphragme. Il peut exister une localisation splénique (IIIS) ou une localisation viscérale contiguë à une atteinte ganglionnaire (IIIE)
<b>Stade IV :</b> atteinte extra ganglionnaire distincte d'une localisation viscérale contiguë à une atteinte ganglionnaire.
<b>A :</b> absence de signes généraux.
<b>B :</b> présence d'un ou plusieurs signes généraux (fièvre supérieure à 38° plus d'une semaine sans affection documentée, amaigrissement de plus de 10 % du poids du corps au cours des six derniers mois, sueurs nocturnes profuses.
<b>X :</b> masse tumorale volumineuse (masse médiastinale de diamètre supérieur ou égal au tiers du diamètre transverse thoracique au niveau de T5-T6 sur un cliché thoracique de face, ou masse ganglionnaire supérieure ou égale à 10 cm).
<b>E :</b> atteinte viscérale contiguë à un territoire ganglionnaire atteint.

### **Les signes généraux d'évolutivité**

- Une fièvre inexplicée avec température  $\geq$  à 38° évoluant depuis plus de 15 jours.
- Un amaigrissement > 10% du poids du corps survenu dans les 6 derniers mois.
- Des sueurs nocturnes.

On utilise alors les lettres A ou B selon qu'il n'existe aucun signe (A) ou au moins un signe (B) d'évolutivité au diagnostic.

Un prurit inexplicé ne constitue par un signe "B", ni une douleur à l'ingestion d'alcool ; il s'agit néanmoins de 2 signes classiquement décrits dans la séméiologie clinique d'un LH.

### **Les signes biologiques d'évolutivité**

Certains paramètres biologiques reflètent classiquement le degré d'agressivité de la maladie :

- vitesse de sédimentation > 40 mm à la 1<sup>ère</sup> heure
- hyperfibrinogénémie > 5 g/l
- hypoalbuminémie < 30 g/l
- hyper  $\alpha_2$  globulinémie > 10 g/l
- hyper  $\gamma$  globulinémie > 20 g/l
- hyposidérémie < 9  $\mu$ moles/l
- hyperleucocytose > 12.10<sup>9</sup>/l.

L'évolutivité biologique est désignée par la lettre **a** (< 2 signes) ou **b** ( $\geq$  2 signes).

## La TEP-FDG dans le bilan d'extension du LH

La tomographie par émission de positons après marquage au 18FDG (TEP) permet d'évaluer l'activité métabolique du corps entier et de dépister une hyperactivité métabolique au niveau d'un site tumoral (figures 2 et 3). Cependant des faux-positifs peuvent être dus à diverses causes comme une infection, une affection granulomateuse, la présence de graisse brune, ou un examen trop rapproché d'un traitement. De faux-négatifs peuvent aussi se voir, notamment chez les patients hypoglycémiques.

La concordance entre la tomodensitométrie et la TEP-FDG dans le bilan d'extension du LH est de l'ordre de 60 à 80 %, moins que dans les autres lymphomes. Mais, dans le LH, la sensibilité est supérieure et les faux-positifs sont plus rares. Cependant la détection d'une atteinte médullaire par TEP-FDG dans le LH n'est pas fiable et la biopsie médullaire continue à être nécessaire. Malgré une sensibilité plus importante par comparaison à la tomodensitométrie, la TEP-FDG entraîne peu de changements de stade et de traitement.

Figure 2 : Hyperactivité métabolique au niveau d'une adénopathie médiastinale supérieure droite.

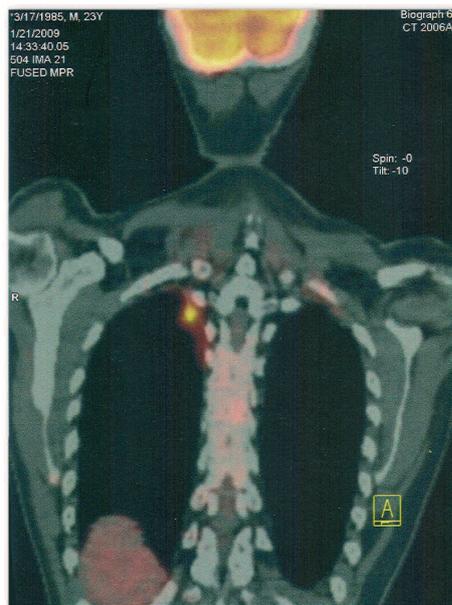
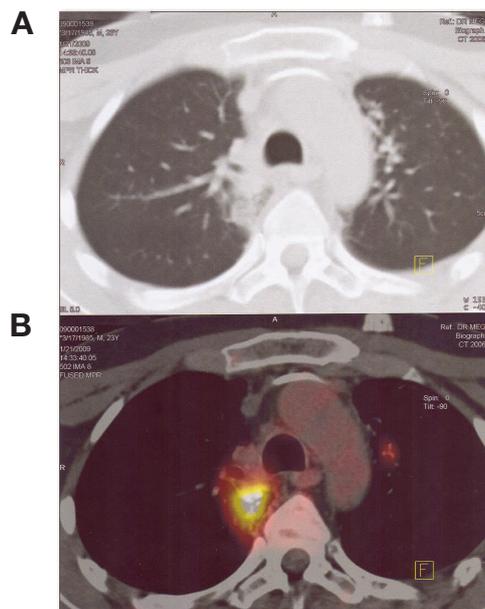


Figure 3 : Scanner thoracique montrant une adénopathie médiastinale postérieure droite (A) avec hyperactivité métabolique sur la TEP (B).



## Nouveaux facteurs pronostiques

L'extension anatomo-clinique et l'évolutivité clinico-biologique n'ont pas toujours une valeur pronostique prédictive régulière pour la survie des patients traités. Ceci est vrai notamment pour les formes avancées de LH (stades IIB, IIIB et IV). Certains paramètres présents au diagnostic ont démontré leur influence péjorative sur l'évolution des patients. Ainsi on a pu définir pour les stades I et II des groupes favorables et des groupes défavorables (tableau 2). Pour les stades III et IV, on a pu définir un score pronostique international (IPS) (tableau 2) [20] influençant la survie sans progression (SSP) et la survie globale, avec des patients à faible risque et des patients à haut risque (tableau 3).

**Tableau 2 : Facteurs pronostiques et groupes thérapeutiques.**

<b>Facteurs pronostiques défavorables de l'EORTC pour les stades I et II sus-diaphragmatiques</b>	<b>Groupes thérapeutiques</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Âge &gt; 50 ans</li> <li>- &gt; 3 aires ganglionnaire atteintes</li> <li>- Signes généraux et VS &gt; 30 ou absence de signes généraux et VS &gt; 50</li> <li>- Volumineuse masse ganglionnaire (&gt; 10cm ou rapport MT &gt; 0.35)</li> </ul>	<p>Favorable : aucun facteur défavorable</p> <p>Défavorable : au moins un facteur</p>
<b>Score pronostique international pour les stades III et IV</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Âge ≥ 45 ans</li> <li>- Sexe masculin</li> <li>- Stade IV Ann Arbor</li> <li>- Albuminémie &lt; 40 g/L</li> <li>- Hémoglobine &lt; 10,5 g/dL</li> <li>- Leucocytose ≥ 15 G/L</li> <li>- Lymphopénie &lt; 0.6 G/L ou &lt; 8% des GB</li> </ul>	<p>Favorable : de 0 à 2 facteurs</p> <p>Défavorable : ≥ 3 facteurs</p>

**Tableau 3 : Survie sans progression et survie globale à 5 ans selon l'index pronostic international dans les LH.**

<b>Score IPS</b>	<b>% survie sans progression à 5 ans</b>	<b>% survie globale à 5 ans</b>
0	84	89
1	77	90
2	67	81
3	60	78
4	51	61
≥ 5	42	56
0 à 2	74	86
≥ 3	55	70

## Le bilan pré-thérapeutique

### Le patient doit être informé

sur sa maladie, sur le programme thérapeutique et sur les effets secondaires du traitement, sur le retentissement du traitement sur son activité socio-professionnelle.

### Un bilan général et un bilan organe par organe

est réalisé avant toute initiation de traitement par chimiothérapie et/ou radiothérapie (RT) :

- peser et mesurer le patient pour pouvoir calculer une surface corporelle nécessaire à la prescription des doses de chimiothérapie
- bilan cardiaque comprenant examen physique, pouls et tension artérielle, radiographie thoracique, électrocardiogramme, échographie cardiaque avec mesure de la fraction d'éjection ventriculaire, en vue de l'administration d'anthracyclines
- bilan de la fonction rénale avec mesure de la clairance de la créatinine, une échographie rénale si nécessaire
- un bilan biologique hépatique (transaminases, gamma GT, phosphatases alcalines) ; une ponction-biopsie hépatique peut être proposée en cas d'anomalies biologiques ou d'imagerie
- le contrôle de la fonction respiratoire avec mesure de la capacité de diffusion du CO est utile en vue de l'administration de bléomycine
- une cryoconservation de sperme sera proposée à tout patient en âge de procréer avant de débiter une chimiothérapie en raison du risque de retentissement sur la fertilité
- une contraception doit être recommandée chez la femme en âge de procréer, pendant toute la durée du traitement et pour un délai minimum de deux ans après traitement.

### La pose d'un site implantable

pour l'administration de la chimiothérapie doit être envisagée. En cas d'atteinte médiastinale volumineuse ou de suspicion de thrombose veineuse, un angio-scanner peut-être recommandé pour contrôler la bonne perméabilité des troncs sous-claviers.

## Les LH du sujet âgé

Ils ont souvent une présentation agressive. Les circonstances de découverte classiques telles les adénopathies peuvent manquer et le diagnostic doit être parfois évoqué devant une altération de l'état général isolée. Les signes d'évolutivité comme la fièvre et l'amaigrissement sont souvent au premier plan. L'atteinte ganglionnaire prédomine souvent en territoire sous-diaphragmatique. L'atteinte médullaire est fréquente et se manifeste sous forme de pancytopénies. L'évolution de ces formes a longtemps été considérée comme très péjorative, reflet d'une attitude thérapeutique volontairement minimaliste chez des patients âgés et présentant un état général altéré. Les comorbidités sont fréquentes. Elles jouent un rôle important dans la tolérance du traitement et sont responsables de réductions de doses de la chimiothérapie chez 50% des patients. Mais lorsque la chimiothérapie peut-être instituée à pleines doses, plus de la moitié des patients sont mis en rémission complète (RC) et, secondairement, guéris.

## Localisations neurologiques

Les localisations épidurales responsables de compressions médullaires ou de signes radiculaires constituent des urgences thérapeutiques nécessitant une décompression chirurgicale suivie rapidement d'un traitement par chimiothérapie et RT. Si la RT peut-être discutée en première intention sur le segment rachidien concerné, la chimiothérapie en urgence est aussi efficace. De plus, le choix d'une chimiothérapie première à l'avantage de ne pas compromettre les possibilités d'irradiation conventionnelle ultérieure.

## LH et infection VIH

Le LH au cours d'une infection par le VIH est beaucoup moins fréquent que la survenue d'un lymphome agressif. Cependant il y a 7 fois plus de LH chez le VIH. Il s'agit habituellement d'une infection VIH évoluée avec un pic d'incidence entre 225 et 250 CD4 /mm<sup>3</sup>. Les types histologiques à cellularité mixte et à déplétion lymphocytaire sont fréquents. 100 % des cas sont liés à l'EBV et les cellules de HRS expriment LMP-1. L'existence d'un syndrome lymphadénopathique peut retarder la décision de biopsie ganglionnaire et, de ce fait, le diagnostic. Les stades III et IV sont fréquents, avec une fréquence des signes généraux et des localisations extra ganglionnaires.

La tolérance hématologique médiocre de la chimiothérapie entraîne des résultats médiocres sur la survie à court terme. Les facteurs de bon pronostic sont l'âge < 45 ans, la réponse à la chimiothérapie, la réponse au traitement antirétroviral.

## LH et grossesse

Selon le moment de la survenue du LH par rapport au terme de la grossesse, il est nécessaire de proposer soit une interruption thérapeutique de grossesse, soit un accouchement prématuré à partir du 7<sup>ème</sup> mois, afin de limiter l'extension dans le temps de la maladie.

## Evolution et pronostic

L'objectif du traitement est l'obtention d'une RC, définie comme la normalisation de toutes les anomalies présentes au diagnostic, pendant une durée au moins égale à 6 mois après la fin du traitement. La régression totale des adénopathies n'est pas toujours obtenue, notamment dans le cas des volumineuses masses ganglionnaires médiastinales. Ceci soulève le problème de la signification des masses résiduelles après traitement entre une nature fibreuse cicatricielle ou une nature spécifique persistante. L'absence d'hyperactivité métabolique des masses résiduelles sur la TEP plaide en faveur de leur nature séquellaire cicatricielle.

Après RC, l'évolution peut schématiquement se faire selon 2 modalités :

- la **RC continue** dans le temps et l'absence de rechute

Les patients en RC continue à 10 ans sont considérés comme guéris.

- la survenue d'une **rechute**.

La majorité des rechutes survient au cours de 3 premières années mais certaines (< 5%) peuvent être très tardives, d'où l'intérêt d'une surveillance prolongée. Elles sont identifiées dans 80% des cas chez des sujets symptomatiques, ce qui pose la question de savoir si un dépistage précoce confère un bénéfice. Une étude de Jérusalem [21] avec une TEP tous les quatre à six mois chez 36 patients atteints de LH a permis de détecter 4 rechutes dont 2 étaient symptomatiques avec 6 faux-positifs. Ainsi l'utilisation en routine de la TEP dans le suivi n'est actuellement pas justifiée et nécessite de plus amples investigations. Le pronostic d'un patient en rechute est fonction de plusieurs paramètres : le délai de survenue de la rechute, les rechutes tardives (>1 an) étant de meilleur pronostic que les rechutes précoces ; le site de la rechute en territoire ganglionnaire, irradié ou non irradié préalablement, ou en territoire extra-ganglionnaire.

## Les complications thérapeutiques

### Complications communes à la chimiothérapie et à la RT

#### Complications infectieuses

Les troubles de l'immunité cellulaire observés au cours du LH favorisent la survenue d'infections virales (herpès, zona) et les neutropénies liées à la chimiothérapie peuvent se compliquer d'infections bactériennes.

#### Complications hématologiques

Les cytopénies, transitoires et rarement profondes, sont rencontrées chez la majorité des patients en chimiothérapie. L'adaptation des doses aux constantes hématologiques ne se justifie plus grâce à l'utilisation des facteurs de croissance hématopoïétiques. En effet, le respect des doses et des intervalles est une condition nécessaire à l'obtention d'une RC de qualité.

#### Complications gonadiques

L'**azoospermie** observée après chimiothérapie dépend avant tout du protocole utilisé et de la durée du traitement. Elle était quasi-constante après un régime de type MOPP. Sa fréquence est moindre après un régime de type ABVD ou BEACOPP, et elle est plus souvent réversible. Le recueil de sperme avant toute chimiothérapie est toujours proposé, en sachant que la qualité du sperme chez un patient porteur d'un LH est médiocre chez 50% d'entre eux. La présence de signes généraux et l'élévation de la VS influencent négativement la qualité du prélèvement.

Chez la femme, la chimiothérapie est responsable d'**aménorrhée** et de ménopause précoce, notamment après l'âge de 30 ans. Le BEACOPP est responsable de plus de stérilité que l'ABVD chez la femme.

#### Cancers secondaires

- Les syndromes myélodysplasiques et les leucémies aiguës myéloïdes : Ils représentent le risque à long terme le plus grave, survenant 3 à 10 ans après la fin du traitement. L'incidence est faible chez des patients traités par RT exclusive (< 1%) et reste modérée pour les patients soumis à des régimes courts de chimiothérapie (2%). Par contre, en cas de régime long et surtout en cas d'association chimiothérapie-RT, l'incidence varie entre 5% et 8% selon les séries. Le régime de chimiothérapie le plus souvent incriminé était le MOPP. Le BEACOPP donne plus de MDS/LAM que l'ABVD.

Ces leucémies ont pour caractéristique principale une période inaugurale où peuvent être observées des cytopénies modérées, une macrocytose en rapport avec un état myélodysplasique. Leur chimiosensibilité est mauvaise et seule l'allogreffe, quand elle est possible, permet d'espérer une guérison.

- Les tumeurs solides.

Vingt ans après le diagnostic de LH, le risque actuariel de développer une tumeur solide est de 21,9 %. Le risque relatif diminue avec l'âge au diagnostic. Les sujets de 50 à 60 ans au diagnostic ont le risque le plus élevé. Les principales localisations décrites sont le sein, l'estomac, le poumon, la thyroïde, le colon, le col utérin. Il n'y a pas de différence de risque de néoplasies secondaires entre ABVD et BEACOPP.

## Complications secondaires à la RT

Elles peuvent être immédiates et témoignent alors d'une mauvaise tolérance (troubles digestifs, hyposialorrhée, toxicité cutanée). Elles peuvent également s'installer secondairement quelques mois à quelques années après la fin du traitement, elles traduisent alors des fibroses tissulaires organisées et généralement définitives (fibrose pulmonaire ou médiastinale, hypothyroïdie, myélite, péricardite chronique, grêle radique). L'irradiation thoracique chez la femme est associée à une augmentation de 3,2 fois du risque de cancer du sein, surtout s'il s'agit d'une femme jeune, et le risque persiste pendant plus de 25 ans après la RT.

Le risque de maladie artérielle coronaire est de 6% à 10 ans et de 10 à 20 % à 20 ans.

## Complications secondaires à la chimiothérapie

Elles sont réversibles et transitoires survenant pendant le temps d'exposition au traitement (troubles digestifs, alopécie, diminution de la libido...). Certaines drogues de chimiothérapie sont à l'origine de séquelles souvent définitives : polyneuropathies périphériques secondaires aux alcaloïdes de la pervenche, toxicité cardiaque secondaire à l'adriamycine, fibrose pulmonaire secondaire à la bléomycine.

## Traitement

Le LH est curable chez la majorité des patients présentant une maladie localisée. Les formes avancées de LH (masse tumorale supérieure à 10 cm, présence de signes B et/ou stade III /IV) sont associées à un échec dans 30 à 40 % des cas sous polychimiothérapie incluant une anthracycline. Pour les rechutes ou les LH réfractaires, une chimiothérapie de deuxième ligne suivie d'une autogreffe de cellules souches représente le standard basé sur les résultats d'essais randomisés.

Le traitement du LHPL n'est pas standardisé. Le diagnostic est fait habituellement sur des formes localisées (I et II). Le bénéfice de la chimiothérapie n'est pas établi et la RT limitée aux territoires atteints est proposée. L'addition d'une chimiothérapie n'apporte pas de bénéfice en termes de SSP ou de survie globale. Le rituximab en monothérapie est efficace, même dans les rechutes [2].

## La chimiothérapie

La première polychimiothérapie réellement efficace a été le **MOPP**, abandonnée en raison de sa toxicité [22]. L'**ABVD** [23] ([tableau 4](#)) proposé ultérieurement, avec un profil de toxicité plus favorable, s'est également révélé efficace, de même que les protocoles hybrides MOPP/ABVD [24] ou MOPP/ABV.

Le groupe allemand (German Hodgkin Study Group) a considéré l'ABVD comme un traitement suboptimal et a proposé la combinaison BEACOPP [25], avec une version standard et une version renforcée

(tableau 5). Ces combinaisons, avec le support de facteurs de croissance hématopoïétique, sont destinées à délivrer une dose plus importante de cytotoxiques pour améliorer le contrôle tumoral et augmenter les taux de guérison. Leur toxicité est cependant inacceptable chez les sujets âgés de plus de 65 ans (21% de mortalité) [26].

**Tableau 4 : Le protocole ABVD.**

ADRIBLASTINE (Doxorubicine) 25 mg/m <sup>2</sup> J1-J15 IV
BLEOMYCINE (Bléomycine) 10 mg/m <sup>2</sup> J1-J15 IV
VELBE (Vinblastine) 6 mg/m <sup>2</sup> J1-J15 IV
DETICENE (Dacarbazine) 375 mg/m <sup>2</sup> J1-J15 IV

**Tableau 5 : Le protocole BEACOPP.**

	<b>BEACOPP standard mg/m<sup>2</sup></b>	<b>BEACOPP renforcé mg/m<sup>2</sup></b>	
B Bléomycine	10	10	IV J8
E Etoposide	100	200	IV J1 à J3
A Adriamycine	25	35	IV J1
C Cyclophosphamide	650	1200	IV J1
O Oncovin	1.4	1.4	IV max 2 mg J8
P Procarbazine	100	100	PO J1 à J7
P Prednisone	40	40	PO J1 à J14
+ G-CSF SC J7 à J12			

## La radiothérapie

La RT a été la première thérapeutique curatrice utilisée dans le LH, avec irradiation des aires ganglionnaires contiguës à l'atteinte initiale, débouchant sur la technique des champs d'irradiation élargis. Grâce à la combinaison chimiothérapie + RT, des champs d'irradiation restreints aux seuls territoires atteints sont actuellement appliqués dans le souci de réduire les complications à long terme de la RT (risque élevé de myélodysplasies secondaires et de complications cardiaques tardives).

Enfin, si les doses curatives sont de 40 grays, la RT peut s'envisager de façon préventive en complément de la chimiothérapie, les doses alors délivrées ne dépassant pas 20 à 30 grays.

## Les stratégies thérapeutiques

Elles entrent dans le cadre de protocoles thérapeutiques et dépendent de l'extension initiale et de l'analyse des facteurs pronostiques.

### **Les formes localisées**

Ce sont les stades I et IIA, en l'absence de forte masse tumorale (> 10cm). Les stades IIB et les stades I-II avec forte masse tumorale sont traités avec les mêmes protocoles que les stades III et IV.

**Les formes localisées favorables** concernent les patients de moins de 50 ans stade I et II, sans symptôme B et sans gros médiastin, avec une VS < 50 mm, et moins de 4 sites ganglionnaires atteints.

C'est dans ces stades I et II, notamment sus-diaphragmatiques et dépourvus de signes cliniques d'évolutivité (A), que la radiothérapie seule a obtenu ses meilleurs résultats. Néanmoins, si le taux de RC est généralement > 90%, des rechutes surviennent au cours des premières années, et le taux de RC continue à 5 ans est de l'ordre de 50%. Les patients qui rechutent correspondent généralement aux porteurs de facteurs pronostiques d'agressivité. Pour beaucoup, ces rechutes s'avèrent sensibles à la chimiothérapie. Finalement, l'efficacité des régimes de chimiothérapie a contribué à valider l'utilisation d'emblée de l'association chimiothérapie + RT.

Le traitement combiné ABVD + RT intéressant les territoires atteints est devenu le standard pour les patients atteints de formes localisées favorables de LH. Cependant le nombre optimal de cycles de chimiothérapie n'est pas défini (2 à 6), ni la dosimétrie de la RT. Pour ce faire, l'essai allemand HD10 (1375 patients) a comparé 2 versus 4 ABVD et une RT à 20 versus 30 grays. S'il y a plus de toxicité dans le groupe 4 ABVD par rapport à 2 (52% de grade OMS 3/4 versus 33%), il n'y a pas de différence en taux de RC finale (97%). Il y a moins de toxicité aiguë avec 20 Gy par rapport à 30 Gy (3% de grade OMS 3/4 versus 9%). La toxicité tardive évaluée à 91 mois est identique. Le résultat avec 20 Gy n'est pas inférieur à celui obtenu avec 30 Gy.

Le nouveau standard dans les formes localisées favorables devient 2 ABVD + RT des territoires atteints à 20 Gy (93% de SSP à 5 ans). Certains auteurs [27] ont proposé d'épargner aux sujets jeunes le risque de toxicité de la RT dans les formes localisées favorables, en limitant le traitement à 6 ABVD.

**Dans les formes localisées défavorables** le standard thérapeutique est 4 ABVD + RT à 30 Gy.

L'essai GHSG-HD11 (1395 patients) compare 4 BEACOPP à 4 ABVD et 30 à 20 Gy. Il y a plus de toxicité dans le bras BEACOPP + 30 Gy. Le bras 4 ABVD + 30 Gy est équivalent aux bras BEACOPP. Le bras 4 ABVD + 20 Gy est inférieur, si bien qu'une réduction de la RT à 20 Gy doit être associée à une chimiothérapie intensifiée. Sinon 4 ABVD + 30 Gy restent le standard.

### **Les formes étendues**

Avec l'ABVD et les protocoles dérivés de l'ABVD, le contrôle tumoral à long terme est de 65 à 75 % après 6 à 8 cures avec une survie globale de 80% à 85% [28], [29]. Ce qui veut dire que 25 à 35 % des patients sont en échec de la première ligne thérapeutique et nécessitent un traitement de rattrapage par intensification et autogreffe de cellules souches dans la plupart des cas [30].

Le BEACOPP renforcé proposé par le German Hodgkin Study Group a la meilleure efficacité en matière de SSP et survie globale. Ce régime est cependant associé à plus de toxicité hématologique et à plus de complications infectieuses.

La comparaison dans l'essai multicentrique GHSG-HD9 (1196 patients) [31] 8 COPP/ABVD, 8 BEACOPP standard, 8 BEACOPP renforcé, montre une SSP à 10 ans de 64%, 70%, 82%. Cependant le BEACOPP est plus toxique en termes de toxicité immédiate et de toxicité à long terme.

L'intensification de l'ABVD (dose-dense ABVD et dose-dense/dose-intense ABVD) est cliniquement faisable et permet d'augmenter la dose-intensité délivrée (plus de 50% pour l'adriamycine et plus de 20% pour les autres drogues). L'ABVD intensifié permet des taux plus élevés de RC et de survie sans évènement en comparaison avec l'ABVD standard. Sa toxicité est acceptable et un essai prospectif est justifié.

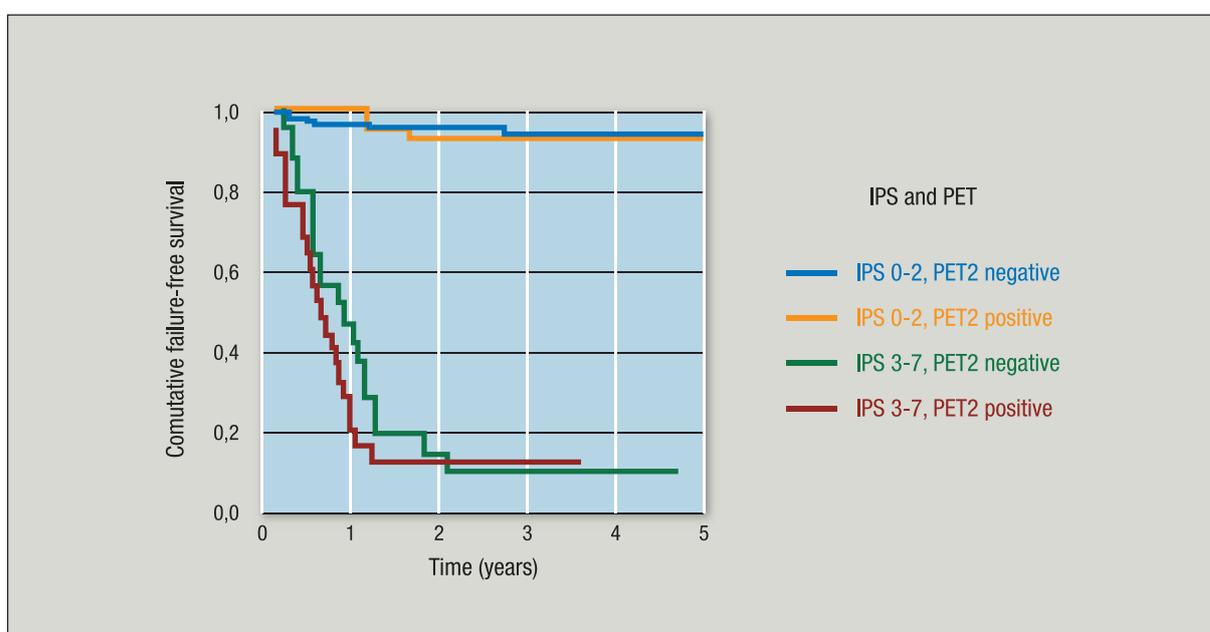
## Les questions d'actualité sur la TEP

### La TEP peut-elle identifier les patients qui vont bénéficier d'une RT de consolidation après chimiothérapie ?

Une étude est en cours pour savoir si une TEP négative après chimiothérapie dans des stades IA et IIA permet d'éviter une RT ayant un effet potentiellement délétère pour l'avenir du patient. Les résultats intérimaires sur 258 patients indiquent après 3 cycles d'ABVD que 81 % ont une TEP négative et 19 % ont une TEP positive. À ce jour les patients ayant une TEP négative sont randomisés entre RT ou abstention thérapeutique. Le recul de l'étude est faible et le recrutement continue.

Dans une étude portant sur 260 patients porteurs de LH étendus et de stade II défavorables traités par ABVD + RT, la SSP à 2 ans est de 95% chez ceux qui avaient une TEP négative après 2 ABVD, de 12,8% pour ceux qui avaient une TEP restée positive [32]. La TEP après 2 ABVD est donc un indicateur pronostique majeur, et il est supérieur à l'IPS (figure 4).

Figure 4 : Survie sans progression selon l'IPS et la TEP après 2 cycles de chimiothérapie.



### La TEP peut-elle identifier des patients qui peuvent bénéficier d'un traitement plus intensif ?

L'étude d'Avigdor [33] porte sur 45 nouveaux patients ayant un LH avancé et un IPS  $\geq 3$ , recevant 2 cycles de BEACOPP renforcé puis une évaluation par TEP-scan. En cas de réponse ils reçoivent 4 cycles d'ABVD. A la fin du traitement, 89% sont en rémission complète, 7% en réponse partielle (réponse >50%) et 4% sont en progression. La SSP à 4 ans est de 87% pour les patients qui avaient négativé leur TEP après 2 BEACOPP renforcés, alors qu'elle est de 53% chez ceux qui avaient une TEP précoce restée positive.

Gallamini [32] a démontré que la TEP a une forte valeur pronostique prédictive. Après 2 cycles de traitement, la négativité de la TEP confère un meilleur pronostic que la persistance d'une activité métabolique et ceci quel que soit le score IPS (figure 4). Après 2 cycles de chimiothérapie la SSP est de

95 % à 2 ans pour les TEP négatives versus 12,8 % pour les patients TEP positifs [32] .

Il apparaît donc que l'activité TEP permet de prévoir l'avenir à long terme des patients ayant un LH étendu ; mais il n'est cependant pas démontré à ce jour que les ajustements thérapeutiques basés sur la TEP entraînent une amélioration de la survie.

Un essai européen randomisé portant sur des LH de pronostic défavorable qui sont en RC ou RP après 4 cycles de chimiothérapie a comparé 4 autres cycles de chimiothérapie à une intensification par autogreffe de cellules souches. L'intensification précoce avec autogreffe n'apporte aucun bénéfice [34]. L'étude allemande HD15-Pet [35] évalue la valeur prédictive négative de la TEP après chimiothérapie première. Les patients à TEP positive (maladie résiduelle > 2,5 cm) après BEACOPP avaient une RT de consolidation ; la SSP à 12 mois des patients qui avaient une TEP positive après chimiothérapie est de 86%, alors qu'elle est de 96% pour ceux qui avaient une TEP négative. Le rôle d'un traitement par RT de consolidation chez les patients en rémission partielle semble efficace mais n'a pas été validé par un essai contrôlé.

## **Les rechutes et les échecs**

Une chimiothérapie d'intensification suivie d'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques est le traitement de choix des patients qui ont rechuté ou qui sont réfractaires à une chimiothérapie première [36], [37].

Il n'existe pas de consensus pour la chimiothérapie la plus efficace en 2<sup>ème</sup> ligne, avec des taux de réponse de 60 à 85%. DEXA-BEAM ou mini BEAM, DHAP, ICE sont les protocoles les plus utilisés. La toxicité de ces régimes est essentiellement hématologique. Certains régimes peuvent être responsables de difficultés de mobilisation des cellules souches (DEXA-BEAM, mini BEAM, DHAP).

Cependant l'autogreffe n'est pas réalisable chez tous les patients (âge avancé, comorbidités). Des traitements alternatifs comme la chimiothérapie sans autogreffe ou la RT peuvent être considérés.

### **Les échecs**

Les patients réfractaires ou en échec primaire sont les patients non mis en RC par la première ligne thérapeutique ou progressant dans les 3 mois qui suivent la fin du traitement, ou qui ont rechuté dans un délai inférieur à 6 mois suivant l'obtention de la RC. Ils ont un pronostic très péjoratif et représentent 2 à 5 % des stades localisés et 10 à 20% des stades avancés. Leur espérance de survie à long terme est inférieure à 30%, même après traitement intensif.

Les facteurs péjoratifs les plus discriminants pour la survie sont la précocité de la rechute, définie par un intervalle de moins de 12 mois par rapport à la fin du traitement et l'existence d'un stade III ou IV au moment de la rechute. Les rechutes tardives, au-delà de 5 ans, ne justifient pas obligatoirement un traitement intensif.

### **Les rechutes**

Leur thérapeutique doit prendre en compte plusieurs paramètres : stade initial de la maladie, traitement de première intention, site de la rechute, délai de survenue de la rechute.

Les rechutes survenant plus de 12 mois après la fin du traitement, localisées, et intéressant un territoire non préalablement irradié, sont généralement une indication classique de RT complémentaire avec des résultats à long terme satisfaisants.

Les rechutes observées après traitement des formes localisées et intéressant des territoires préalablement irradiés, ou des stades III ou IV à la rechute, doivent nécessairement être traitées par des régimes de polychimiothérapie. Le type de chimiothérapie et l'intensité de la procédure doivent prendre en compte la

date de la récurrence. Si elle survient plus d'un an après la fin du traitement de première intention, une chimiothérapie alternative ou de rattrapage pourra être discutée, avec des résultats de RC continue à 10 ans généralement > 50%. Lorsque la rechute survient dans un délai supérieur à un an, le pronostic après chimiothérapie conventionnelle reste décevant (10 à 30% de survivants sans maladie à 5 ans), et le recours à une intensification thérapeutique sous couvert d'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques est légitime.

Les patients rechuteurs qui reçoivent une chimiothérapie de sauvetage et qui gardent une avidité résiduelle pour le FDG avant la chimiothérapie à haute dose ont un haut risque de rechute et un mauvais pronostic.

Après plusieurs rechutes chez un sujet jeune l'allogreffe a pu être proposée. La greffe après traitement myéloablatif comporte une mortalité excédant souvent 50% et avec des rechutes. Le rôle du conditionnement myéloablatif apparaît donc limité et le bénéfice clinique d'un effet « graft versus LH » n'est pas clairement démontré. Le conditionnement non myéloablatif permet d'utiliser l'effet allogénique seul et non l'effet cytoréducteur du conditionnement. Cette technique a permis de réduire la mortalité liée à la greffe. À trois ans, 21% des patients sont décédés d'une complication liée à la greffe, et l'incidence des rechutes est quand même de 53% si bien qu'il n'y a pas de contrôle à long terme de la maladie [38].

## **Les traitements ciblés**

Les avancées dans la biologie du LH ont permis d'identifier plusieurs cibles thérapeutiques et le développement de traitements ciblés pour l'avenir.

### ***Ciblage des antigènes et récepteurs de surface***

- L'expression du CD30 par les cellules de HRS est une cible évidente pour un traitement par anticorps monoclonal. Cependant l'existence d'une forme soluble du CD30 risque d'en diminuer l'efficacité. Différentes approches sont alors possibles : anticorps anti CD30 se liant sélectivement au CD30 transmembranaire, anticorps couplé à une immunotoxine.
- CD40.

Le récepteur CD40 est largement exprimé à l'état physiologique sur les cellules B, les monocytes, les cellules dendritiques, des cellules épithéliales et endothéliales, et sur les lymphomes B, les cellules de HRS et du cancer du sein. L'activation du récepteur CD40 dans les cellules de HRS induit la voie NF- $\kappa$ B, la sécrétion de cytokines et chemokines, et favorise l'expression des protéines de survie. Le ciblage du CD40 est certainement complexe et sa place pourrait se situer en association avec la chimiothérapie.

### ***Ciblage de voies de survie intracellulaire***

Les cellules de HRS expriment de façon aberrante des protéines de survie : NF- $\kappa$ B, Jak/Stats, Akt/mTOR, Notch-1 qui peuvent être ciblées par de petites molécules inhibitrices (inhibiteurs de Jak2, mTOR, Bcl2) ou par des inhibiteurs plus larges qui modulent des molécules comme l'histone-déacétylase, le protéasome, la protéine du choc thermique.

### ***Ciblage du microenvironnement et autres immunothérapies***

Les cellules de HRS sont entourées d'un microenvironnement de cellules réactionnelles qui souvent fournissent des signaux de survie. Plusieurs stratégies sont possibles : déplétion d'un compartiment cellulaire par anticorps monoclonal (Rituximab), immunomodulateurs comme le légalidomide qui active les cellules T et NK pour créer une réponse anti tumorale favorable.

Les progrès thérapeutiques de ces dernières années ont transformé le LH en une affection maligne curable dans la majorité des cas. Les objectifs actuels demeurent la réduction des effets secondaires à long terme des traitements, en particulier la réduction de cancers secondaires chez des patients guéris, et une meilleure connaissance des facteurs prédictifs de la réponse et de la rechute. Ceci implique nécessairement un allègement thérapeutique des formes à bon pronostic, et l'utilisation de traitements lourds en première intention dans les formes à pronostic très défavorable, ou de façon très précoce devant une situation d'échec primaire.

## Bibliographie

---

1. Thomas RK., Re D., Wolf J., Diehl V. Part I : Hodgkin's lymphoma--molecular biology of Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *Lancet Oncol* 2004 ; 5 : 11-8.
2. Schulz H., Rehwald U., Morschhauser F., *et al.* Rituximab in relapsed lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma : long-term results of a phase 2 trial by the German Hodgkin Lymphoma Study Group (GHSG). *Blood* 2008 ; 111 : 109-11.
3. Kuppers R. The biology of Hodgkin's lymphoma. *Nat Rev Cancer* 2009 ; 9: 15-27.
4. Stein H., Marafioti T., Foss HD., *et al.* Down-regulation of BOB.1/OBF.1 and Oct2 in classical Hodgkin disease but not in lymphocyte predominant Hodgkin disease correlates with immunoglobulin transcription. *Blood* 2001 ; 97 : 496-501.
5. Mathas S., Janz M., Hummel .F, *et al.* Intrinsic inhibition of transcription factor E2A by HLH proteins ABF-1 and Id2 mediates reprogramming of neoplastic B cells in Hodgkin lymphoma. *Nat Immunol* 2006 ; 7 : 207-15.
6. Renne C., Martin-Subero JI., Eickernjager M., *et al.* Aberrant expression of ID2, a suppressor of B-cell-specific gene expression, in Hodgkin's lymphoma. *Am J Pathol* 2006 ; 169 : 655-64.
7. Jundt F., Acikgoz O., Kwon SH., *et al.* Aberrant expression of Notch1 interferes with the B-lymphoid phenotype of neoplastic B cells in classical Hodgkin lymphoma. *Leukemia* 2008 ; 22 : 1587-94.
8. Bargou RC., Emmerich F., Krappmann D., *et al.* Constitutive nuclear factor-kappaB-RelA activation is required for proliferation and survival of Hodgkin's disease tumor cells. *J Clin Invest* 1997 ; 100 : 2961-9.
9. Chiu A., Xu W., He B., *et al.* Hodgkin lymphoma cells express TACI and BCMA receptors and generate survival and proliferation signals in response to BAFF and APRIL. *Blood* 2007 ; 109 : 729-39.
10. Fiumara P., Snell V., Li Y., *et al.* Functional expression of receptor activator of nuclear factor kappaB in Hodgkin disease cell lines. *Blood* 2001 ; 98 : 2784-90.
11. Joos S., Menz CK., Wrobel G., *et al.* Classical Hodgkin lymphoma is characterized by recurrent copy number gains of the short arm of chromosome 2. *Blood* 2002 ; 99 : 1381-7.
12. Martin-Subero JI., Gesk S., Harder L., *et al.* Recurrent involvement of the REL and BCL11A loci in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2002 ; 99 : 1474-7.
13. Kilger E., Kieser A., Baumann M., Hammerschmidt W. Epstein-Barr virus-mediated B-cell proliferation is dependent upon latent membrane protein 1, which simulates an activated CD40 receptor. *Embo J* 1998 ; 17 : 1700-9.
14. Mancao C., Hammerschmidt W. Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A is a B-cell receptor mimic and essential for B-cell survival. *Blood* 2007 ; 110 : 3715-21.
15. Hjalgrim H., Smedby KE., Rostgaard K., *et al.* Infectious mononucleosis, childhood social environment, and risk of Hodgkin lymphoma. *Cancer Res* 2007 ; 67:2382-8.

16. Carbone A., Gloghini A., Gattei V., *et al.* Expression of functional CD40 antigen on Reed-Sternberg cells and Hodgkin's disease cell lines. *Blood* 1995 ; 85 : 780-9.
17. Van Gool SW., Delabie J., Vandenberghe P., Coorevits L., De Wolf-Peeters C., Ceuppens JL. Expression of B7-2 (CD86) molecules by Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. *Leukemia* 1997 ; 11 : 846-51.
18. Tirelli U., Errante D., Dolcetti R., *et al.* Hodgkin's disease and human immunodeficiency virus infection : clinicopathologic and virologic features of 114 patients from the Italian Cooperative Group on AIDS and Tumors. *J Clin Oncol* 1995 ; 13 : 1758-67.
19. Biggar RJ., Jaffe ES., Goedert JJ., Chaturvedi A., Pfeiffer R., Engels EA. Hodgkin lymphoma and immunodeficiency in persons with HIV/AIDS. *Blood* 2006 ; 108 : 3786-91.
20. Hasenclever D., Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med* 1998 ; 339 : 1506-14.
21. Jerusalem G., Beguin Y., Fassotte MF., *et al.* Whole-body positron emission tomography using 18F-fluorodeoxyglucose for posttreatment evaluation in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma has higher diagnostic and prognostic value than classical computed tomography scan imaging. *Blood* 1999 ; 94 : 429-33.
22. DeVita VT., Jr., Simon RM., Hubbard SM., *et al.* Curability of advanced Hodgkin's disease with chemotherapy. Long-term follow-up of MOPP-treated patients at the National Cancer Institute. *Ann Intern Med* 1980 ; 92 : 587-95.
23. Bonadonna G., Zucali R., Monfardini S., De Lena M., Uslenghi C. Combination chemotherapy of Hodgkin's disease with adriamycin, bleomycin, vinblastine, and imidazole carboxamide versus MOPP. *Cancer* 1975 ; 36 : 252-9.
24. Connors JM., Klimo P., Adams G., *et al.* Treatment of advanced Hodgkin's disease with chemotherapy--comparison of MOPP/ABV hybrid regimen with alternating courses of MOPP and ABVD: a report from the National Cancer Institute of Canada clinical trials group. *J Clin Oncol* 1997 ; 15 : 1638-45.
25. Diehl V., Franklin J., Pfreundschuh M., *et al.* Standard and increased-dose BEACOPP chemotherapy compared with COPP-ABVD for advanced Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 2003 ; 348 : 2386-95.
26. Ballova V., Ruffer JU., Haverkamp H., *et al.* A prospectively randomized trial carried out by the German Hodgkin Study Group (GHSG) for elderly patients with advanced Hodgkin's disease comparing BEACOPP baseline and COPP-ABVD (study HD9elderly). *Ann Oncol* 2005 ; 16 : 124-31.
27. Canellos GP., Abramson JS., Fisher DC., Lacasce AS. Treatment of Favorable, Limited-Stage Hodgkin's Lymphoma With Chemotherapy Without Consolidation by Radiation Therapy. *J Clin Oncol* 2010.
28. Canellos GP., Niedzwiecki D. Long-term follow-up of Hodgkin's disease trial. *N Engl J Med* 2002 ; 346 : 1417-8.
29. Duggan DB., Petroni GR., Johnson JL., *et al.* Randomized comparison of ABVD and MOPP/ABV hybrid for the treatment of advanced Hodgkin's disease : report of an intergroup trial. *J Clin Oncol* 2003 ; 21 : 607-14.
30. Horning SJ., Chao NJ., Negrin RS., *et al.* High-dose therapy and autologous hematopoietic progenitor cell transplantation for recurrent or refractory Hodgkin's disease : analysis of the Stanford University results and prognostic indices. *Blood* 1997 ; 89 : 801-13.
31. Engert A., Diehl V., Franklin J., *et al.* Escalated-dose BEACOPP in the treatment of patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma: 10 years of follow-up of the GHSG HD9 study. *J Clin Oncol* 2009 ; 27 : 4548-54.
32. Gallamini A., Hutchings M., Rigacci L., *et al.* Early interim 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography is prognostically superior to international prognostic score in advanced-stage Hodgkin's lymphoma : a report from a joint Italian-Danish study. *J Clin Oncol* 2007 ; 25 : 3746-52.
33. Avigdor A., Bulvik S., Levi I., *et al.* Two cycles of escalated BEACOPP followed by four cycles of ABVD utilizing early-interim PET/CT scan is an effective regimen for advanced high-risk Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2010 ; 21 : 126-32.
34. Federico M., Bellei M., Brice P., *et al.* High-dose therapy and autologous stem-cell transplantation versus conventional therapy for patients with advanced Hodgkin's lymphoma responding to front-line therapy. *J Clin Oncol* 2003 ; 21 : 2320-5.
35. Kobe C., Dietlein M., Franklin J., *et al.* Positron emission tomography has a high negative predictive value for progression or early relapse for patients with residual disease after first-line chemotherapy in advanced-stage

Hodgkin lymphoma. *Blood* 2008 ; 112 : 3989-94.

36. Linch DC., Winfield D., Goldstone AH., *et al.* Dose intensification with autologous bone-marrow transplantation in relapsed and resistant Hodgkin's disease: results of a BNLI randomised trial. *Lancet* 1993 ; 341 : 1051-4.
37. Schmitz N., Pfistner B., Sextro M., *et al.* Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet* 2002 ; 359 : 2065-71.
38. Robinson SP., Sureda A., Canals C., *et al.* Reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation for Hodgkin's lymphoma : identification of prognostic factors predicting outcome. *Haematologica* 2009 ; 94 : 230-8.



ISSN : 1293-2892  
ISBN : 2-913633-57-9  
SOUS-TITRE  
19, avenue d'Italie 75013 Paris  
Dépôt légal : Septembre 2010

