



**HAL**  
open science

# Identification des cellules de Sézary au CHU de Rouen et évaluation de l'apport des marqueurs CD158k, CD7 et CD26 en cytométrie de flux

Céline Malassigné

► **To cite this version:**

Céline Malassigné. Identification des cellules de Sézary au CHU de Rouen et évaluation de l'apport des marqueurs CD158k, CD7 et CD26 en cytométrie de flux. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01299658

**HAL Id: dumas-01299658**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01299658>**

Submitted on 8 Apr 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITE DE ROUEN**

**UFR DE MEDECINE ET DE PHARMACIE**

Année

N°

**MEMOIRE**

**pour le DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE BIOLOGIE MEDICALE**

**THESE**

**pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement le 13 octobre 2015 par

*MALASSIGNÉ Céline*

Né(e) le 28/07/1986 à Rouen

**Identification des cellules de Sézary au CHU de Rouen et  
Evaluation de l'apport des marqueurs CD158k, CD7 et CD26 en  
cytométrie en flux.**

**COMPOSITION DU JURY :** Président : Professeur Fabrice JARDIN

Directeur de thèse : Docteur Gérard BUCHONNET

Membres du jury : Docteur Anne-Bénédicte DUVAL-MODESTE

Docteur Gilles GARGALA

Docteur Bernard LENORMAND

Professeur Jean-Christophe SABOURIN

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2014 - 2015**  
**U.F.R. DE MEDECINE ET DE-PHARMACIE DE ROUEN**

DOYEN : **Professeur Pierre FREGER**

ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**  
**Professeur Benoit VEBER**  
**Professeur Pascal JOLY**  
**Professeur Stéphane MARRET**

**I – MEDECINE**

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mr Frédéric <b>ANSELME</b>	HCN Cardiologie
Mme Isabelle <b>AUQUIT AUCKBUR</b>	HCN Chirurgie plastique
Mr Bruno <b>BACHY</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN Chirurgie pédiatrique
Mr Fabrice <b>BAUER</b>	HCN Cardiologie
Mme Soumeya <b>BEKRI</b>	HCN Biochimie et biologie moléculaire
Mr Jacques <b>BENICHOU</b>	HCN Bio statistiques et informatique médicale
Mr Jean-Paul <b>BESSOU</b>	HCN Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise <b>BEURET-BLANQUART</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN Commission E.P.P. D.P.C. Pôle Qualité
Mr Guy <b>BONMARCHAND</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN Réanimation médicale
Mr Olivier <b>BOYER</b>	UFR Immunologie
Mr Jean-François <b>CAILLARD</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN Médecine et santé au travail
Mr François <b>CARON</b>	HCN Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe <b>CHASSAGNE</b>	HCN Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent <b>COMPERE</b>	HCN Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Antoine <b>CUVELIER</b>	HB Pneumologie
Mr Pierre <b>CZERNICHOW</b>	HCH Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Nicolas <b>DACHER</b>	HCN Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan <b>DARMONI</b>	HCN Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre <b>DECHELOTTE</b>	HCN Nutrition
Mme Danièle <b>DEHESDIN</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN Oto-rhino-laryngologie
Mr Frédéric <b>DI FIORE</b>	CB Cancérologie
Mr Fabien <b>DOGUET</b>	HCN Chirurgie Cardio Vasculaire

Mr Jean <b>DOUCET</b>	SJ Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard <b>DUBRAY</b>	CB Radiothérapie
Mr Philippe <b>DUCROTTE</b>	HCN Hépatogastro-entérologie
Mr Frank <b>DUJARDIN</b>	HCN Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice <b>DUPARC</b>	HCN Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric <b>DURAND</b>	HCN Cardiologie
Mr Bertrand <b>DUREUIL</b>	HCN Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène <b>ELTCHANINOFF</b>	HCN Cardiologie
Mr Thierry <b>FREBOURG</b>	UFR Génétique
Mr Pierre <b>FREGER</b>	HCN Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François <b>GEHANNO</b>	HCN Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel <b>GERARDIN</b>	HCN Imagerie médicale
Mme Priscille <b>GERARDIN</b>	HCN Pédiopsychiatrie
Mr Michel <b>GODIN</b> ( <i>surnombre</i> )	HB Néphrologie
M. Guillaume <b>GOURCEROL</b>	HCN Physiologie
Mr Philippe <b>GRISE</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN Urologie
Mr Olivier <b>GUILLIN</b>	HCN Psychiatrie Adultes
Mr Didier <b>HANNEQUIN</b>	HCN Neurologie
Mr Fabrice <b>JARDIN</b>	CB Hématologie
Mr Luc-Marie <b>JOLY</b>	HCN Médecine d'urgence
Mr Pascal <b>JOLY</b>	HCN Dermato - Vénérologie
Mme Annie <b>LAQUERRIERE</b>	HCN Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent <b>LAUDENBACH</b>	HCN Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Xavier <b>LE LOET</b>	HCN Rhumatologie
Mr Joël <b>LECHEVALLIER</b>	HCN Chirurgie infantile
Mr Hervé <b>LEFEBVRE</b>	HB Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry <b>LEQUERRE</b>	HB Rhumatologie
Mr Eric <b>LEREBOURS</b>	HCN Nutrition
Mme Anne-Marie <b>LEROI</b>	HCN Physiologie
Mr Hervé <b>LEVESQUE</b>	HB Médecine interne
Mme Agnès <b>LIARD-ZMUDA</b>	HCN Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves <b>LITZLER</b>	HCN Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand <b>MACE</b>	HCN Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David <b>MALTETE</b>	HCN Neurologie
Mr Christophe <b>MARGUET</b>	HCN Pédiatrie
Mme Isabelle <b>MARIE</b>	HB Médecine interne
Mr Jean-Paul <b>MARIE</b>	HCN Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc <b>MARPEAU</b>	HCN Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane <b>MARRET</b>	HCN Pédiatrie
Mme Véronique <b>MERLE</b>	HCN Epidémiologie
Mr Pierre <b>MICHEL</b>	HCN Hépatogastro-entérologie
Mr Bruno <b>MIHOUT</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN Neurologie

Mr Jean-François <b>MUIR</b>	HB Pneumologie
Mr Marc <b>MURAINÉ</b>	HCN Ophtalmologie
Mr Philippe <b>MUSETTE</b>	HCN Dermatologie - Vénérologie
Mr Christophe <b>PEILLON</b>	HCN Chirurgie générale
Mr Jean-Marc <b>PERON</b> ( <i>surnombre</i> )	HCN Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
Mr Christian <b>PFISTER</b>	HCN Urologie
Mr Jean-Christophe <b>PLANTIER</b>	HCN Bactériologie - Virologie
Mr Didier <b>PLISSONNIER</b>	HCN Chirurgie vasculaire
Mr Bernard <b>PROUST</b>	HCN Médecine légale
Mr François <b>PROUST</b>	HCN Neurochirurgie
Mme Nathalie <b>RIVES</b>	HCN Biologie du développement et de la reproduction
Mr Jean-Christophe <b>RICHARD</b> ( <i>détachement</i> )	HCN Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Horace <b>ROMAN</b>	HCN Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe <b>SABOURIN</b>	HCN Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume <b>SAVOYE</b>	HCN Hépto-gastrologie
Mme Céline <b>SAVOYE-COLLET</b>	HCN Imagerie médicale
Mme Pascale <b>SCHNEIDER</b>	HCN Pédiatrie
Mr Michel <b>SCOTTE</b>	HCN Chirurgie digestive
Mme Fabienne <b>TAMION</b>	HCN Thérapeutique
Mr Luc <b>THIBERVILLE</b>	HCN Pneumologie
Mr Christian <b>THUILLEZ</b>	HB Pharmacologie
Mr Hervé <b>TILLY</b>	CB Hématologie et transfusion
Mr Jean-Jacques <b>TUECH</b>	HCN Chirurgie digestive
Mr Jean-Pierre <b>VANNIER</b>	HCN Pédiatrie génétique
Mr Benoît <b>VEBER</b>	HCN Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre <b>VERA</b>	CB Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric <b>VERIN</b>	CRMPR Médecine physique et de réadaptation
Mr Eric <b>VERSPYCK</b>	HCN Gynécologie obstétrique
Mr Olivier <b>VITTECOQ</b>	HB Rhumatologie
Mr Jacques <b>WEBER</b>	HCN Physiologie

### MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle <b>BARBIER-FREBOURG</b>	HCN Bactériologie – Virologie
Mr Jeremy <b>BELLIEN</b>	HCN Pharmacologie
Mme Carole <b>BRASSE LAGNEL</b>	HCN Biochimie
Mme Valérie <b>BRIDOUX HUYBRECHTS</b>	HCN Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard <b>BUCHONNET</b>	HCN Hématologie
Mme Mireille <b>CASTANET</b>	HCN Pédiatrie
Mme Nathalie <b>CHASTAN</b>	HCN Physiologie
Mme Sophie <b>CLAEYSSENS</b>	HCN Biochimie et biologie moléculaire

Mr Moïse <b>COEFFIER</b>	HCN Nutrition
Mr Stéphane <b>DERREY</b>	HCN Neurochirurgie
Mr Manuel <b>ETIENNE</b>	HCN Maladies infectieuses et tropicales
Mr Serge <b>JACQUOT</b>	UFR Immunologie
Mr Joël <b>LADNER</b>	HCN Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste <b>LATOUCHE</b>	UFR Biologie cellulaire
Mr Thomas <b>MOUREZ</b>	HCN Bactériologie
Mr Jean-François <b>MENARD</b>	HCN Biophysique
Mme Muriel <b>QUILLARD</b>	HCN Biochimie et biologie moléculaire
Mr Vincent <b>RICHARD</b>	UFR Pharmacologie
Mr Mathieu <b>SALAUN</b>	HCN Pneumologie
Mme Pascale <b>SAUGIER-VEBER</b>	HCN Génétique
Mme Anne-Claire <b>TOBENAS-DUJARDIN</b>	HCN Anatomie
Mr Olivier <b>TROST</b>	HCN Chirurgie Maxillo Faciale

### **PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE**

Mme Dominique <b>LANIEZ</b>	UFR Anglais
Mr Thierry <b>WABLE</b>	UFR Communication

## II – PHARMACIE

### **PROFESSEURS**

Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques <b>BONNET</b>	Pharmacologie
Mr Roland <b>CAPRON</b>	(PU-PH) Biophysique
Mr Jean <b>COSTENTIN</b>	(Professeur émérite) Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b>	(PU-PH) Parasitologie
Mr Jean Pierre <b>GOULLE</b>	Toxicologie
Mr Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
Mme Isabelle <b>LEROUX - NICOLLET</b>	Physiologie
Mme Christelle <b>MONTEIL</b>	Toxicologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b>	(PU-PH) Microbiologie
Mme Elisabeth <b>SEGUIN</b>	Pharmacognosie
Mr Rémi <b>VARIN</b>	(PU-PH) Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie <b>VAUGEOIS</b>	Pharmacologie
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

## MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique <b>BOUCHER</b>	Pharmacologie
Mr Frédéric <b>BOUNOURE</b>	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam <b>CHAGRAOUI</b>	Physiologie
Mr Jean <b>CHASTANG</b>	Biomathématiques
Mme Marie Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mme Cécile <b>CORBIERE</b>	Biochimie
Mr Eric <b>DITTMAR</b>	Biophysique
Mme Nathalie <b>DOURMAP</b>	Pharmacologie
Mme Isabelle <b>DUBUC</b>	Pharmacologie
Mr Abdelhakim <b>ELOMRI</b>	Pharmacognosie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie Organique
Mr Gilles <b>GARGALA</b>	(MCU-PH) Parasitologie
Mme Najla <b>GHARBI</b>	Chimie analytique
Mme Marie-Laure <b>GROULT</b>	Botanique
Mr Hervé <b>HUE</b>	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia <b>LE GOFF</b>	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong <b>LU</b>	Biologie
Mme Sabine <b>MENAGER</b>	Chimie organique
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Malika <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mme Christine <b>THARASSE</b>	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric <b>ZIEGLER</b>	Biochimie

## PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile <b>GUERARD-DETUNCQ</b>	Pharmacie officinale
Mr Jean-François <b>HOUIVET</b>	Pharmacie officinale

## PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde <b>GUERIN</b>	Anglais
----------------------------	---------

## ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mr Jérémie <b>MARTINET</b>	Immunologie
Mme Sandrine <b>DAHYOT</b>	Bactériologie

## ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mr Romy <b>RAZAKANDRAINIBE</b>	Parasitologie
Mr François <b>HALLOUARD</b>	Galénique
Mme Caroline <b>LAUGEL</b>	Chimie organique
Mr Souleymane <b>ABDOUL-AZIZE</b>	Biochimie
Mme Maïté <b>NIEPCERON</b>	Microbiologie

## LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile <b>BARBOT</b>	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry <b>BESSON</b>	Chimie thérapeutique
Mr Roland <b>CAPRON</b>	Biophysique
Mr Jean <b>CHASTANG</b>	Mathématiques
Mme Marie-Catherine <b>CONCE-CHEMTOB</b>	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth <b>CHOSSON</b>	Botanique
Mr Jean-Jacques <b>BONNET</b>	Pharmacodynamie
Mme Isabelle <b>DUBUS</b>	Biochimie
Mr Loïc <b>FAVENNEC</b>	Parasitologie
Mr Michel <b>GUERBET</b>	Toxicologie
Mr François <b>ESTOUR</b>	Chimie organique
Mme Isabelle <b>LEROUX-NICOLLET</b>	Physiologie
Mme Martine <b>PESTEL-CARON</b>	Microbiologie
Mme Elisabeth <b>SEGUIN</b>	Pharmacognosie
Mr Mohamed <b>SKIBA</b>	Pharmacie galénique
Mr Philippe <b>VERITE</b>	Chimie analytique

### III – MEDECINE GENERALE

## PROFESSEUR

Mr Jean-Loup <b>HERMIL</b>	UFR Médecine générale
----------------------------	-----------------------

## PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

Mr Emmanuel <b>LEFEBVRE</b>	UFR Médecine Générale
Mr Alain <b>MERCIER</b>	UFR Médecine générale
Mr Philippe <b>NGUYEN THANH</b>	UFR Médecine générale

## **MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS**

Mr Pascal <b>BOULET</b>	UFR Médecine générale
Mme Elisabeth <b>MAUVIARD</b>	UFR Médecine générale
Mme Yveline <b>SEVRIN</b>	UFR Médecine générale
Mme Marie Thérèse <b>THUEUX</b>	UFR Médecine générale

<h2><b><u>ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS</u></b></h2>
--

## **PROFESSEURS**

Mr Serguei <b>FETISSOV</b>	(med) Physiologie (ADEN)
Mr Paul <b>MULDER</b>	(phar) Sciences du Médicament
Mme Su <b>RUAN</b>	(med) Génie Informatique

## **MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Sahil <b>ADRIOUCH</b>	(med) Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle <b>BOUGEARD-DENOYELLE</b>	(med) Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine <b>CLEREN</b>	(phar) Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline <b>GAILDRAT</b>	(phar) Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas <b>GUEROUT</b>	(phar) Chirurgie Expérimentale
Mr Antoine <b>OUVRARD-PASCAUD</b>	(med) Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric <b>PASQUET</b>	Sciences du langage, orthophonie
Mme Isabelle <b>TOURNIER</b>	(phar) Biochimie (UMR 1079)

## **CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS**

Mme Véronique **DELAFONTAINE**

*HCN - Hôpital Charles Nicolle HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME*

*CB - Centre Henri Becquerel CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray*

*CRMPPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation SJ – Saint Julien Rouen*

## **REMERCIEMENTS**

### **A Monsieur le Professeur Fabrice JARDIN,**

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse, soyez assuré de ma sincère gratitude.

### **A Monsieur le Docteur Bernard LENORMAND,**

Merci pour votre présence au sein de mon jury de thèse en ce jour important et pour l'aide que vous m'avez apportée durant ce travail. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance pour votre présence bienveillante durant ces années d'internat ainsi que pour votre soutien pour mon poste à venir.

### **A Monsieur le Docteur Gilles GARGALA,**

Je te remercie d'avoir accepté d'être présent pour juger mon travail. Merci également pour ta gentillesse et ta disponibilité en toute circonstance, sois assuré de ma profonde estime.

### **A Monsieur Jean-Christophe SABOURIN,**

Vous me faites l'honneur de participer au jury de cette thèse, soyez assuré de l'expression de mon plus grand respect.

### **A Madame le Docteur Anne-Bénédicte DUVAL-MODESTE,**

Merci d'être présente pour juger ce travail du point de vue dermatologique et pour m'avoir enseigné cette discipline dans mes jeunes années d'externat à l'unité Bazin. Soyez assurée de ma gratitude.

### **A toi Gérard,**

Un grand merci pour avoir encadré ce travail, pour tes précieux conseils et ton soutien dans cette dernière ligne droite. Merci également pour ta gentillesse, ta disponibilité, ton humour au quotidien et surtout ton sens de la pédagogie reconnu par tous.

**A Catherine BOUTET,**

Merci pour ton aide précieuse durant l'élaboration de mon protocole, pour l'interprétation de mes données en cytométrie ainsi que pour la douceur et la gentillesse qui te caractérisent.

**A Dominique BASTIT et aux techniciennes de l'EFS Bois Guillaume,**

Un grand merci à vous toutes pour votre accueil lors ma visite dans vos locaux et sans qui une partie de ce travail n'aurait pu être possible. Soyez assurées de ma profonde gratitude pour cette aide et ce temps que vous m'avez accordés.

**A Sylvie DALIPHARD,**

Merci à toi d'avoir été à l'initiative de ce travail de thèse. Merci également pour ton enseignement de la cytologie ; ta bonne humeur et ton caractère ont égayé ces 2 derniers semestres en hématologie. A bientôt en mer peut être ! ...

**A toute l'équipe d'hématologie, chefs et techniciens,**

Un grand merci pour ces 3 semestres passés à vos côtés alliant bons moments et enseignement de qualité.

**A l'équipe du Havre,**

Merci à Catherine, Jean-Pierre et Muriel, votre soutien et le temps que vous m'avez accordé m'ont été très précieux pour mener ce projet de thèse à bien. Merci à Patrick pour ses précieux conseils statistiques qui m'ont sortie de l'obscurité ! Soyez tous assurés de ma sincère gratitude.

**A mes co internes,**

Merci pour tous ces bons moments passés en votre compagnie au labo ou ailleurs...

Merci à Jennifer, ton soutien « ferroviaire » durant ce semestre et nos discussions m'ont été très précieux tout comme tes conseils.

**A mes amis rouennais ou expatriés, tout particulièrement à Nadia et Marie Coquette !!**

**A toi petite Camille,**

Merci pour ton soutien sans faille et tes conseils depuis le début de notre amitié qui m'est très précieuse. Merci pour ta gentillesse et ton écoute, pour tous ces bons moments passés ensemble ... Ne change rien, le meilleur reste à venir !

**Je dédie cette thèse à ma famille,**

**A mes grand- parents,**

**A mes frères Florian et Vianney,**

J'espère avoir été une grande sœur à la hauteur, merci pour tous ces instants passés ensemble et pour ceux à venir.

**A mes parents,**

Merci pour toutes ces années de soutien tant affectif que matériel, sans vous je ne serais pas là aujourd'hui. Merci pour votre amour et pour les valeurs que vous m'avez transmises au fil de ces années. Je vous aime fort.

## ~ Serment d'Hippocrate ~

---

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,  
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES  
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES  
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

## Liste des abréviations

SS : Syndrome de Sézary

CS : Cellules de Sézary

LCP : Lymphomes Cutanés Primitifs

CTCL : Cutaneous T-Cell Lymphomas

NCI : National Cancer Institut

MFCG : Mycosis Fungoides Cooperative Group

TNM : Tumor Nodes Metastasis

HSV : Herpes Simplex Virus

MF : Mycosis Fungoide

ISCL : International Society of Cutaneous Lymphomas

NCCN : National Comprehensive Cancer Network

EORTC : European Organisation for Research and Treatment of Cancer

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

RCP : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire

SLP : Syndromes Lymphoprolifératifs

LF : Lymphome Folliculaire

LCM : Lymphome à Cellules du Manteau

LLCa : Leucémies Lymphoïde Chronique atypiques

LPLT : Leucémie Prolymphocytaire T

ATLL : Leucémie-Lymphome T de l'Adulte

CLA : Cutaneous Lymphocyte Antigene

KIRs : Killer Immunoglobulin-like Receptor

PCR-DGGE : Polymerase Chain Reaction - Denaturing Gradient Gel Electrophoresis)

PCE : Photochimiothérapie Extracorporelle

RC : Réponse Complète

RP : Réponse Partielle

MS : Maladie Stable

MP : Maladie en Progression

RFI : Rapport des Intensités de Fluorescence

AHC : Automate d'Hématologie Cellulaire

## Table des matières

<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>9</b>
<b>~ SERMENT D'HIPPOCRATE ~ .....</b>	<b>12</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>14</b>
<b>TABLE DES MATIERES .....</b>	<b>15</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>17</b>
<b>PARTIE 1 : GENERALITES SUR LE SYNDROME DE SEZARY .....</b>	<b>17</b>
1) LE SYNDROME DE SEZARY .....	17
<i>Historique .....</i>	17
<i>Epidémiologie .....</i>	18
<i>Physiopathologie / lymphomagenèse .....</i>	19
<i>Clinique et anatomopathologie .....</i>	24
<i>Critères et bilan diagnostiques .....</i>	27
<i>Classification .....</i>	31
<i>Diagnostics différentiels .....</i>	36
<i>Traitements et prise en charge .....</i>	37
2) LA CELLULE DE SEZARY ET L'INTERET DES DIFFERENTES METHODES D'ANALYSE .....	42
<i>Description cytologique .....</i>	42
<i>Caractéristiques en cytométrie de flux .....</i>	45
<i>Recherche d'une clonalité .....</i>	53
<i>Cytogénétique .....</i>	54
<i>Rôle des différentes techniques dans le diagnostic et le suivi .....</i>	56
<b>PARTIE 2 : EVALUATION DE L'APPORT DE LA CYTOMETRIE EN FLUX DANS LA RECHERCHE DE CELLULES DE SEZARY PAR UNE COMPARAISON AVEC LA CYTOLOGIE .....</b>	<b>58</b>
1) RATIONNEL ET OBJECTIF .....	58
2) MATERIEL ET METHODE .....	59
<i>Patients .....</i>	59
<i>Cytomorphologie .....</i>	60

<i>Cytométrie en flux</i> .....	60
<i>Statistiques</i> .....	61
<b>3) RESULTATS</b> .....	<b>62</b>
<i>Caractéristiques de la population étudiée</i> .....	62
<i>Caractéristiques lymphocytaires</i> .....	62
<i>Analyse des rapports CD4/CD8</i> .....	63
<i>Analyse de la population CD3+CD4+CD158k+</i> .....	64
<i>Analyse de la population CD3+CD4+CD26-</i> .....	65
<i>Analyse de la population CD3+CD4+CD7-</i> .....	65
<i>Etude de la corrélation entre cytologie et immunophénotypage</i> .....	68
 <b>PARTIE 3 : EVALUATION DE L'EFFICACITE DE LA PHOTOCHEMIOETHERAPIE EXTRACORPORELLE PAR LE SUIVI DU MARQUEUR CD158K AU COURS DU TEMPS... 70</b>	
1) RATIONNEL ET OBJECTIF .....	70
2) MATERIEL ET METHODE .....	74
<i>Patients et échantillons</i> .....	74
<i>Cytométrie en flux</i> .....	74
<i>Statistiques</i> .....	76
3) RESULTATS .....	76
<i>Analyse des cellules CD3+CD4+CD158k+ (cellules de Sézary) avant et après PCE</i> .....	76
<i>Analyse de la masse tumorale circulante au fil des séances de PCE</i> .....	80
<b>DISCUSSION ET CONCLUSION</b> .....	<b>82</b>
<b>RESUME</b> .....	<b>101</b>

## **INTRODUCTION**

Le syndrome de Sézary (SS), lymphome cutané à cellules T, est une pathologie rare de mauvais pronostic à assez court terme devant l'absence de traitement ayant montré une réelle efficacité. L'un des quatre critères retenus pour le diagnostic de cette pathologie est la quantification en valeur absolue de la masse tumorale circulante en nombre de cellules de Sézary par mm<sup>3</sup>. A l'heure actuelle, au laboratoire d'hématologie du CHU de Rouen, la recherche des cellules de Sézary (CS) est effectuée uniquement en microscopie optique et l'évaluation est rendue aux cliniciens en pourcentage de CS pour 100 lymphocytes examinés. La cytométrie n'est utilisée que pour un panel dit « de base » afin de renseigner principalement sur le ratio CD4/CD8.

Il nous est apparu important d'évaluer d'une part, nos pratiques au sein du laboratoire, et d'autre part, de confirmer le potentiel de la cytométrie en flux à l'aide des marqueurs CD7, CD26 et CD158k. En effet, leur utilisation en routine pourrait avoir une valeur ajoutée réelle aussi bien au diagnostic pour affirmer la présence de CS et quantifier la masse tumorale que dans le suivi pour évaluer la maladie résiduelle et ainsi optimiser le traitement.

## **PARTIE 1 : Généralités sur le syndrome de Sézary**

### 1) Le syndrome de Sézary

#### Historique

Le syndrome de Sézary appartient à la famille des lymphomes cutanés primitifs (LCP) d'origine lymphoïde T, tout comme le mycosis fongoïde. La première description de cette pathologie remonte à 1938 ; Sézary et Bouvrain signalent la présence de grandes cellules mononucléées

atypiques dans le sang d'une patiente présentant une érythrodermie chronique ainsi que des signes histologiques cutanés de mycosis fongoïde (1).

En 1961, Taswell et Winkelmann décrivent l'aspect convoluté et cérébriforme si caractéristique du noyau de la cellule de Sézary (2), qui sera confirmé en 1968 par Lutzner grâce à la microscopie électronique (3). Cet aspect particulier est dû, d'après Main et Goodall (4), à la division nucléaire d'un grand lymphocyte n'ayant pas subi de division cytoplasmique. Lutzner décrit par ailleurs, en 1973, l'existence d'une variante de taille plus petite (10 à 12µ de diamètre) ressemblant à des lymphocytes normaux contrairement aux « cellules monstrueuses » décrites par Sézary faisant plutôt 12 à 20µ (5). Et c'est en 1973 que Brouet montra que ces cellules de Sézary sont des lymphocytes T (6).

Avec le développement des techniques pouvant affirmer la nature T des lymphocytes, le terme de CTCL (*Cutaneous T-Cell Lymphomas*) fut proposé en 1975 afin de regrouper mycosis fongoïde, syndrome de Sézary et autres lymphomes T primitifs ayant une origine cutanée ; dont les caractéristiques se chevauchent d'ailleurs fréquemment (7). Trois ans plus tard, ce terme fut officiellement approuvé par le NCI (*National Cancer Institut*) et le MFCG (*Mycosis Fungoides Cooperative Group*) qui développèrent la première classification basée sur le schéma TNM (Tumor Nodes Metastasis) pour les lymphomes T cutanés (8).

### Epidémiologie

Les lymphomes cutanés primitifs de type mycosis fongoïde (MF) et syndrome de Sézary (SS) représentent 2 à 3 % de l'ensemble des lymphomes et environ 70% des lymphomes cutanés à cellules T (CTCL) (regroupés dans le **tableau 1** ci-dessous).

Si l'on isole le syndrome de Sézary (2.5% des CTCL), on peut observer une incidence de moins de 1 nouveau cas par an pour 10<sup>6</sup> habitants. Il touche préférentiellement les hommes âgés de plus de 60 ans et contrairement au MF, il touche plus les personnes à peau blanche. Le syndrome de Sézary a une évolution plus agressive que le mycosis fongoïde, qui est le plus fréquent

des CTCL (9). Une étude épidémiologique américaine réalisée entre 1973 et 2002 rapporte une augmentation de l'incidence annuelle des CTCL : 2.8 pour 10<sup>6</sup> habitants entre 1973 et 1977 contre 9.6 pour 10<sup>6</sup> habitants entre 1998 et 2002 (10). Toutefois, il est difficile de faire la part des choses entre une réelle augmentation de l'incidence ou de meilleures méthodes diagnostiques.

Classification
<ul style="list-style-type: none"> <li>Mycosis fongoïde MF</li> <li>MF, variants et sous types               <ul style="list-style-type: none"> <li>MF folliculotrope</li> <li>Lymphome pagétoïde (Woringer-Kolopp)</li> <li>Lymphome chalazodermique (GSS)</li> </ul> </li> <li>Syndrome de Sézary</li> <li>Leucémie / lymphome T de l'adulte</li> <li>Lymphoproliférations CD30+               <ul style="list-style-type: none"> <li>Lymphome cutané à grandes cellules anaplasiques</li> <li>Papulose lymphomatoïde</li> </ul> </li> <li>Lymphome sous cutané à type de panniculite</li> <li>Lymphome T cutané à cellules NK de type nasal</li> <li>Lymphome T cutané périphérique SAI (grandes cellules CD30-)               <ul style="list-style-type: none"> <li>Lymphome T épidermotrope agressif CD8+ (entité provisoire)</li> <li>Lymphome T cutané à cellules <math>\gamma\delta</math>+ (entité provisoire)</li> <li>Lymphome T pléiomorphe à petites et moyennes cellules CD4+ (entité provisoire)</li> </ul> </li> </ul>

**Tableau 1 : Classification des CTCL** d'après « Classification OMS 2008 des lymphomes T cutanés primitifs ». (11)

### Physiopathologie / lymphomagenèse

Les lymphomes cutanés sont des lymphomes non hodgkiniens d'origine lymphoïde B ou T (rarement NK) ; ils sont appelés primitifs lorsque la peau est l'unique ou le premier organe atteint, et secondaires lorsque l'atteinte cutanée est concomitante au diagnostic ou apparaît au cours de l'évolution (12). Les lymphomes T cutanés sont liés à une accumulation de lymphocytes T à tropisme cutané et réalisent des tableaux clinico-histologiques variés (9).

La physiopathologie des CTCL est, aujourd'hui encore, en grande partie inconnue. Bien que des origines environnementales ou infectieuses aient été envisagées, aucune n'a été formellement identifiée malgré des

études centrées sur d'éventuels facteurs professionnels, environnementaux ou encore iatrogéniques (13).

Les étapes de l'oncogenèse ne sont pas bien individualisées mais la transformation néoplasique en cellule T anormale semble liée à une activation cellulaire T permanente consécutive à une stimulation antigénique chronique (prolifération et réplication génomique accrue) (14). Cette stimulation antigénique permanente des cellules T pourrait avoir comme source les cellules de Langerhans épidermiques. Il a été démontré par immunohistochimie et études ultra structurales que les micro-abcès de Pautrier, caractéristiques du MF et du SS, vus en histopathologie, sont constitués de groupes de cellules T malignes entourées et au contact de cellules de Langerhans (cellules dendritiques immatures résidentes de la peau) (15,16). Cette stimulation antigénique chronique engendrerait alors une activation des cellules tumorales et leur expansion clonale.

L'hypothèse, très débattue, d'une origine infectieuse pour le MF/SS (17,18,19,20,21) a pu récemment trouver écho dans une étude concernant la molécule KIR3DL2 (marqueur positif du SS, que nous détaillerons par la suite). En effet, cette molécule semble capable de servir de récepteur et d'internaliser les oligodéoxynucléotides CpG d'origine microbienne (22).

Les profils d'expression des cellules lymphomateuses sont caractérisés par le dérèglement de multiples voies de signalisation impliquées dans la croissance et la régulation cellulaires, telles que celle du récepteur du TGF- $\beta$  (facteur de croissance tissulaire, inhibiteur de la prolifération cellulaire T), c-myc (proto oncogène), les voies TNF et NF- $\kappa$ B (résistance aux stimuli apoptotiques) (23,24,25,26). Dans les lymphomes T cutanés, et en particulier dans le SS, l'accumulation de lymphocytes tumoraux dans la peau semble liée à une résistance à l'apoptose et non à une prolifération excessive (27). L'augmentation d'expression de bcl-2 (proto oncogène) pourrait être un des mécanismes contribuant à la persistance et à la dissémination de la maladie lymphomateuse (28).

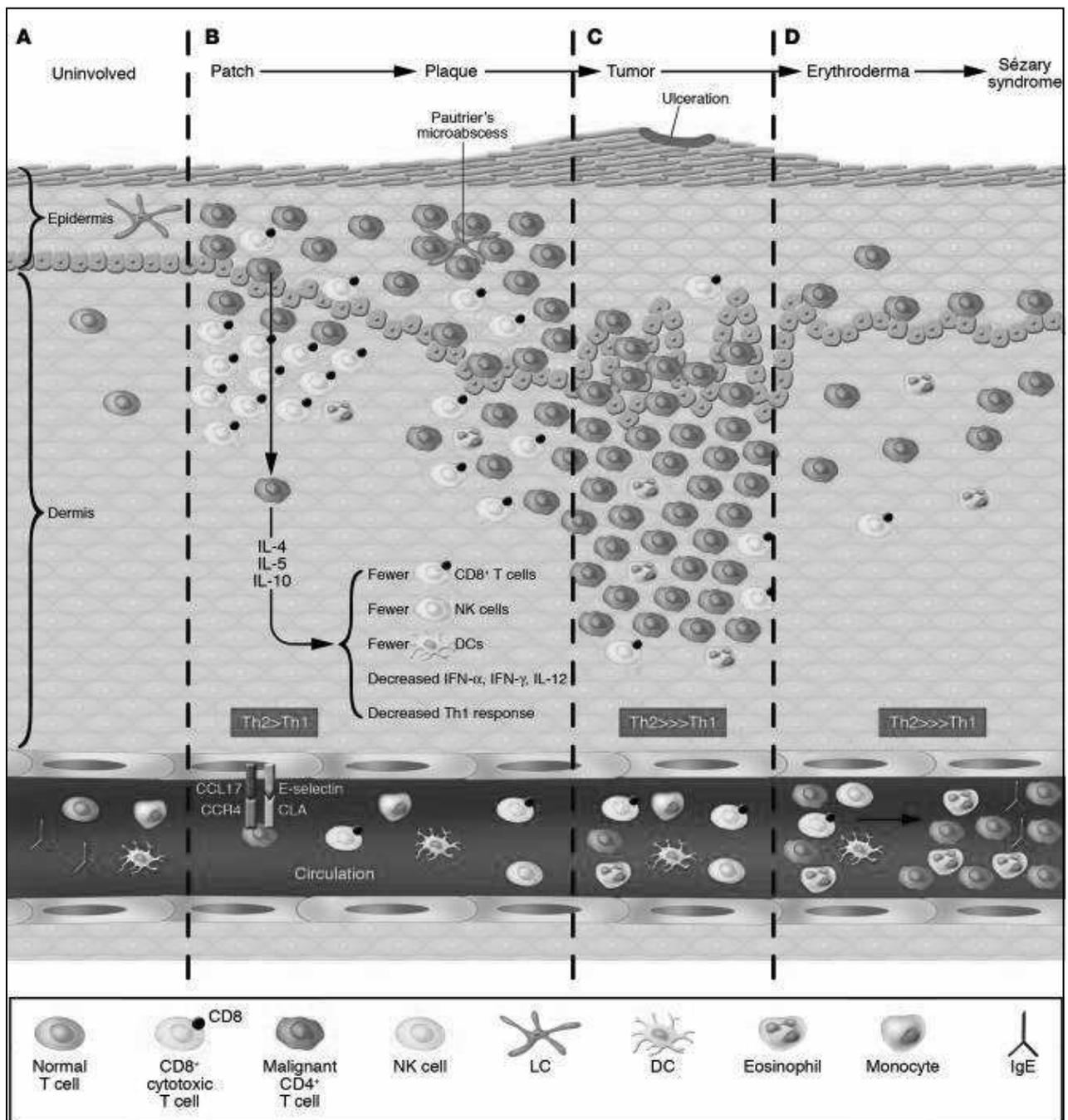
Au cours de l'évolution de la pathologie MF/SS, on observe une accumulation de cellules malignes concomitamment à une diminution du nombre et de la fonction des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques activés (29), des cellules dendritiques (30) et des lymphocytes NK (31); il en résulte la

quasi suppression de l'immunité cellulaire et donc une immunodéficience sévère pour le patient. Les lignées tumorales T produisent du TGF- $\beta$  en quantité importante (32), ce qui expliquerait le phénomène d'immunosuppression locale observé chez environ 50% des patients ayant un CTCL, particulièrement ceux à un stade avancé. Cela se traduit par des infections cutanées et sous-cutanées bactériennes sévères et récidivantes mais aussi des infections extensives à HSV (33,34). Cette production de TGF- $\beta$  par le clone tumoral pourrait également être, dans certains cas, l'un des mécanismes d'échappement au système immunitaire (23). En effet, à l'état normal, le TGF- $\beta$  peut, entre autre, car ses fonctions sont nombreuses, induire l'apoptose cellulaire via la voie de signalisation SMAD (contraction de Sma et Mad, les 2 premiers facteurs identifiés pour cette voie). Lors de la transformation tumorale, des mutations codant les molécules de cette voie de signalisation sont fréquemment observées. Ce TGF- $\beta$  modifié agit alors en favorisant l'angiogenèse et l'immunosuppression rendant la prolifération tumorale invasive (35).

Un autre mécanisme de résistance à l'apoptose pouvant être évoqué est la perte d'expression de CD7, trait phénotypique des cellules de Sézary. En effet, il a été montré que CD7 initie une cascade de signalisation de l'apoptose des cellules CD7+ (36), les CS échappent donc à cette voie de destruction cellulaire.

Les cytokines sont un groupe de molécules régulatrices représentant d'importantes fonctions telles que la communication, la prolifération et la différenciation cellulaires. Leur possible rôle dans la genèse des CTCL a été évoqué par plusieurs auteurs (37). La baisse de production de certaines cytokines est directement corrélée à la chute du nombre de cellules périphériques dendritiques myéloïdes et plasmocytoïdes. La sécrétion défectueuse en IL12 (puissant activateur des cellules T cytotoxiques et sécrété par les monocytes macrophages et les cellules dendritiques) qui en résulte entraîne un déficit de production d'IL15 et IL18 qui représentent tous deux d'importants agents stimulateurs pour l'IFN- $\gamma$  et donc pour la réponse immunitaire de type Th1 (à médiation cellulaire). De ce fait, les cellules sanguines périphériques des patients ayant un CTCL possèdent clairement une production d'IFN- $\gamma$  amoindrie pour la réponse aux éventuels stimuli (38).

Dans les stades précoces de CTCL, les gènes impliqués dans le phénotype Th2 (lymphocytes T helper), tel que GATA3, sont régulés négativement tandis que ceux liés à la lignée Th1, tel que STAT4, le sont positivement. Dans les stades avancés, l'inverse est retrouvé avec une activation du phénotype Th2 (39). La **figure 1** explicite cette évolution de profil au cours de la pathologie MF/SS (40). Les cellules de Sézary montrent d'ailleurs une réponse à la lyse par les cellules NK, mais assez difficile, sauf si l'activité cytotoxique à médiation cellulaire est stimulée par exemple par l'IL2, via un traitement anti CD52 humanisé (alemtuzumab) (31). Parmi les cytokines, l'IL7 joue un rôle majeur dans les lymphomes T cutanés, qui l'expriment en majorité (41). Il représente un facteur de croissance pour les cellules de Sézary (42) et empêche l'apoptose des cellules tumorales en induisant et en maintenant un niveau intra cytoplasmique élevé de bcl2 (43), proto oncogène bien connu. De même, il a été montré que les cellules de Sézary ont une expression aberrante de la T-plastine, une isoforme de protéines liées à l'actine qui contribue de manière majeure à des fonctions essentielles comme l'activation, la survie et la migration des cellules tumorales (25,44).



**Figure 1 : Evolution du microenvironnement cutané au cours du MF/SS** d'après « Kim et al. (2007). Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma. *Journal of Clinical Investigation*, 117(3), 836 ».: **(A)** peau normale ; **(B)** MF en taches ou plaques, les cellules malignes CD4+ migrent vers l'épiderme et se positionnent autour des cellules de Langerhans ; **(C)** MF stade tumeur, infiltration du derme et des tissus sous cutanés de cellules T malignes et début d'atteinte des CD8+ ; **(D)** cellules malignes devenant détectables au niveau sanguin avec production de cytokines de type Th2 et retentissement sur le nombre et la fonction des cellules CD8+, des cellules NK et des CPA.

Pour finir, le SS et le MF, qui sont parfois considérés comme des entités évolutives, présentent néanmoins des profils immunologiques suggérant des origines distinctes. Les cellules de Sézary ont un profil de lymphocytes T mémoires centraux CCR7+, L-selectine+, CD27+, CCR4+ et CLA± alors que les cellules de MF ont un phénotype de lymphocytes T mémoires effecteurs CCR7-, L-selectine-, CD27- et exprimant fortement CCR4 ainsi que CLA.

Cette différence fondamentale de cellule originelle rend cohérente la différence entre les profils cliniques observés : les lymphocytes T mémoires centraux (SS) peuvent être retrouvés à la fois dans le sang périphérique, les ganglions et la peau (grâce à l'expression de CCR7 et L-selectine) alors que les lymphocytes T mémoires effecteurs résidants de la peau (MF) sont domiciliés au niveau cutané et circulent peu afin de pouvoir assurer une éventuelle réponse effectrice immédiate et locale (45). Cette observation a été confirmée par caryotype moléculaire (CGH) et micro arrays mettant en évidence, grâce au profil d'expression génomique, que ces deux sous types de CTCL sont génétiquement distincts(46).

### Clinique et anatomopathologie

Le lymphome T cutané le plus fréquent est le mycosis fongoïde, caractérisé par une évolution très lente, sur plusieurs années, voire dizaines d'années. Les patients présentent des macules et des plaques érythémateuses fixes, plus ou moins prurigineuses, ayant tendance à s'infiltrer et à se multiplier au cours des années. Chez une minorité de patients, ces lésions évoluent vers des tumeurs parfois ulcérées ou vers une érythrodermie. Un syndrome de Sézary est rarement secondaire à un MF typique, aussi, l'ISCL recommande de nommer ces formes « syndrome de Sézary précédé d'un mycosis fongoïde » (47).

Le SS est quant à lui historiquement défini par la triade érythrodermie, polyadénopathies généralisées et présence de cellules T néoplasiques (cellules de Sézary) dans le sang périphérique et la peau ; elles peuvent être présentes dans les ganglions mais pas de façon systématique (48,49). L'érythrodermie, d'apparition rapide, prédomine avec une exfoliation

marquée sur fond pigmenté accompagnée d'un œdème et d'un prurit intense. Il peut parfois persister quelques espaces réservés bien limités de peau saine. D'autres signes cliniques y sont fréquemment associés : onychodysplasie, alopecie, kératodermie palmoplantaire, ectropion et parfois une hépatosplénomégalie (**Figure 2**) (47,49,28,48).



**Figure 2** : Aspects cliniques du syndrome de Sézary : photographies issues du site « *Dermis* » (atlas en ligne des pathologies dermatologiques, [www.dermis.net](http://www.dermis.net)) représentant respectivement la kératodermie palmoplantaire (A et B), l'érythrodermie (C) et l'onychodysplasie (D).

Les symptômes apparaissent généralement *de novo* dans un intervalle de temps restreint, bien que certains cas soient précédés de prurit isolé ou d'une dermatite non spécifique (47). Dans le consensus de 2007, il est

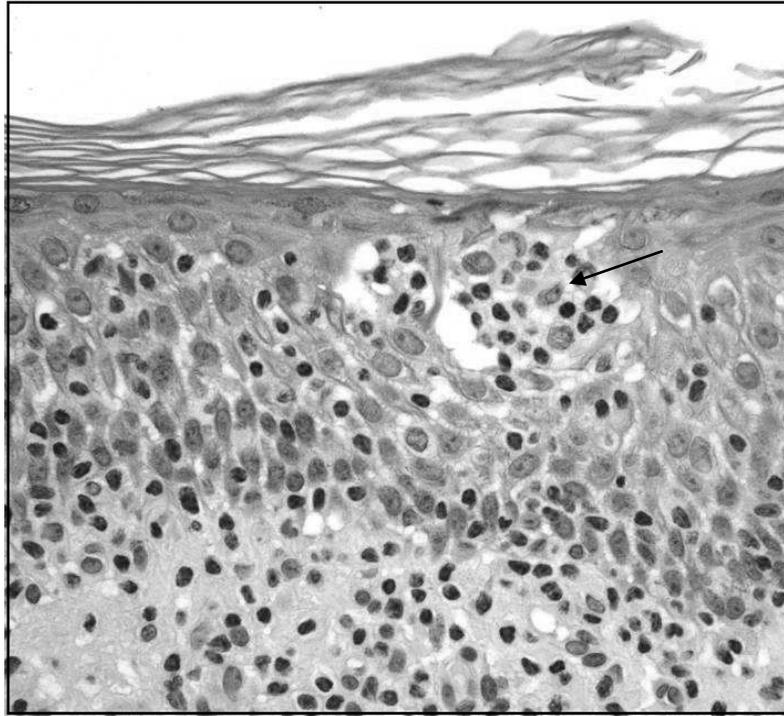
précisé que le diagnostic de SS ne doit être évoqué que devant une érythrodermie généralisée avec un envahissement sanguin de type leucémique (>5% de cellules atypiques circulantes) (50).

L'atteinte ganglionnaire est fréquemment retrouvée dans le SS ; mais seules les adénopathies de taille > 1.5 cm ou cliniquement palpables sont prises en compte. Une dissémination métastatique avec infiltration de divers organes (foie, rein, poumon, système nerveux) est assez fréquente ; la splénomégalie est considérée comme envahissement viscéral sans besoin de confirmation histologique. La moelle osseuse peut être envahie mais l'infiltration est souvent modérée, diffuse et interstitielle (9).

Les principales complications observées (dues à la pathologie elle-même) sont les infections qui représentent une cause majeure de décès chez les patients atteints de MF/SS. Les germes les plus fréquemment isolés sont *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (51,52).

Le diagnostic histopathologique de SS est souvent difficile de par sa similarité avec certaines dermatoses inflammatoires bénignes (principalement la réticulose actinique (53) et les réactions pseudolymphomateuses induites par les médicaments (54)) mais aussi par le peu de cellules tumorales retrouvées dans les échantillons (55). L'histologie des lésions cutanées est très proche de celle du MF. On y retrouve un infiltrat lymphocytaire dans le derme superficiel ; les lymphocytes T, petits à moyens, pléiomorphes, s'associent aux cellules de Langerhans pour former les micro-abcès de Pautrier ; image caractéristique mais rarement observée (**Figure 3**). Ils sont préférentiellement localisés en sous épidermique et organisés en bandes confluentes pour migrer dans l'épiderme (épidermotropisme). Dans le SS, les cellules de Sézary observées sont plus nombreuses, en infiltrat monomorphe et l'épidermotropisme peut avoir disparu. L'aspect histologique cutané est cependant non spécifique dans un tiers des cas de SS même quand la clinique est évidente. L'atteinte la plus caractéristique observée est un infiltrat lymphocytaire péri vasculaire du derme avec une atypie cytologique légère à modérée ainsi qu'un nombre variable d'éosinophiles (9,28). Un marquage d'immunohistochimie peut être également utilisé afin d'affirmer le phénotype des cellules de l'infiltrat. Les marqueurs CD3, CD4, CD8, CD45

et CD30 sont les plus couramment utilisés ; on retrouve un phénotype CD3+CD4+CD8-CD30-. L'envahissement ganglionnaire se manifeste quant à lui par une infiltration diffuse et monotone de cellules malignes avec un effacement variable mais souvent marqué de l'architecture ganglionnaire (9,56).



**Figure 3** : Anatomopathologie d'un micro abcès de Pautrier (flèche) tirée du site « *Anabible* » ([anabible.webethan.org](http://anabible.webethan.org)), site d'images d'anatomie pathologique du Centre François Baclesse de Caen.

### Critères et bilan diagnostiques

#### ***Critères diagnostiques***

Depuis 2002, les critères biologiques diagnostiques internationaux reconnus par la *Société Internationale des Lymphomes Cutanées* (ISCL) pour le diagnostic du syndrome de Sézary sont les suivants :

- Un nombre absolu d'au moins 1000 cellules de Sézary par millimètre cube de sang périphérique
- La démonstration d'une anomalie immunophénotypique ; soit un rapport CD4/CD8 élevé dû à une expansion de la population CD4+ concomitamment à la diminution de la

masse des lymphocytes T CD8+ ; soit une perte d'expression aberrante de tout ou partie des marqueurs pan cellulaires T (CD2, CD3, CD4, CD5)

- La mise en évidence d'un clone T cellulaire sanguin détecté par Southern Blot ou PCR
- La mise en évidence d'anomalies chromosomiques du clone T tumoral. (47)

L'ISCL a sélectionné ces critères de façon rigoureuse afin d'éviter les erreurs de diagnostic quand l'étude des atteintes cutanées et ganglionnaires échoue à établir le diagnostic de CTCL avec certitude. Ces critères hématologiques doivent être associés à une érythrodermie et attestent d'un envahissement sanguin de type leucémique rattaché à un score B2 dans la classification TNM.

Le compte absolu de CS est utilisé depuis plus de vingt-cinq ans et l'a été initialement par la Mayo Clinic dans les années dix-neuf cent soixante-dix. Cette approche quantitative était exprimée en pourcentage de CS parmi les leucocytes totaux. Un taux de 10%, puis de 15% était considéré comme significatif pour le diagnostic de SS (57,58). Par la suite, il a été reconnu que le compte absolu exprimé en nombre de CS par millimètre cube était plus fiable pour surveiller les patients au long cours (59). Le seuil de 1000 CS par millimètre cube fut alors adopté comme critère pour le SS.

Une méthode alternative pour quantifier les cellules de Sézary est la détermination du pourcentage de CS observées parmi la population lymphoïde sanguine périphérique. L'avantage de cette méthode est que le diagnostic peut être envisagé chez des patients ayant des leucocytes abaissés (par un traitement systémique ou une myélodysplasie par exemple). Toutefois, un seuil pertinent pour le diagnostic de SS n'a pas encore été établi (47). Il semblerait que la limite de 20% permette de distinguer les CTCL des pathologies bénignes (60,61). Mais certaines érythrodermies bénignes sévères dépassent fréquemment ce seuil, en particulier la réticulose actinique et les pseudo lymphomes induits par les médicaments (53,54). Ce pourcentage de CS parmi les lymphocytes est

cependant utilisé pour les stades B0 et B1 de la classification TNM mais nous reviendrons dessus par la suite.

L'augmentation du ratio CD4/CD8 supérieure ou égale à 10 se retrouve chez environ 80% des patients avec un SS et occasionnellement dans les érythrodermies bénignes. Ce critère doit être accompagné de la preuve moléculaire d'une clonalité cellulaire T pour entrer en compte dans le diagnostic (62). En effet, l'ISCL reconnaît qu'un ratio CD4/CD8 supérieur ou égal à 10 est un critère hématologique approprié mais la preuve d'un envahissement sanguin est nécessaire en l'absence de preuve diagnostique cutanée ou ganglionnaire.

En ce qui concerne l'immunophénotypage, seule la perte du CD7 a été mentionnée par l'ISCL et comme critère provisoire. Ainsi, un pourcentage de cellules CD4+CD7- supérieur ou égal à 40% peut servir de critère hématologique. Non reconnu, mais pouvant aussi être considéré dans la démarche diagnostique, un taux de CD4+CD26- supérieur ou égal à 30% est fréquemment retrouvé chez les patients Sézary avec preuve d'envahissement leucémique sur leurs frottis sanguins (63).

La clonalité T est préférentiellement recherchée par les méthodes basées sur la PCR qui sont dix fois plus sensibles que celles basées sur le *Southern Blot*. Par contre, il faut savoir que la haute sensibilité de cette technique détecte souvent des clones cellulaires T dans le sang des patients avec un parapsoriasis ou un CTCL non érythrodermique sans preuve d'envahissement sanguin (64). C'est pour cette raison que l'ISCL recommande d'associer la preuve de clonalité T à une preuve de masse tumorale sanguine (compte absolu de CS ou preuve immunophénotypique) pour s'en servir comme critère hématologique.

Le dernier versant des critères concerne les anomalies cytogénétiques. Elles sont définies par convention : même aberration structurale ou extra chromosomique dans deux mitoses ou plus ou chromosome manquant dans trois mitoses ou plus. Ces anomalies ne sont retrouvées que chez quelques patients Sézary mais quand elles sont présentes, sont hautement associées un mauvais pronostic (47). L'ISCL indique que la présence d'un clone avec une anomalie chromosomique chez un patient ayant un CTCL

érythrodermique (E-CTCL) peut être adoptée comme critère hématologique indépendant.

D'après les recommandations de 2014 du NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*), les examens essentiels au diagnostic pour le MF/SS sont les suivants : biopsie cutanée des sites suspects et revue des lames en anatomopathologie dermatologique. Et selon les circonstances sont à rajouter : immunohistochimie sur la biopsie cutanée, recherche d'un réarrangement des gènes du TCR par méthode PCR sur la peau (et dans le sang périphérique si échec du diagnostic cutané), évaluation du sang périphérique par cytométrie en flux (si échec du diagnostic cutané ; CD3, CD4, CD8, CD7 et CD26), biopsie des adénopathies suspectes (en l'absence d'un diagnostic cutané définitif) et une sérologie HTLV-1 dans les populations à risque.

### ***Bilan au diagnostic***

D'après le NCCN (recommandations 2014), il est nécessaire d'effectuer, de façon systématique:

- Un examen physique complet évaluant le pourcentage de surface corporelle atteinte avec le type de lésions cutanées présentes (tache/plaque, tumeur, érythrodermie), la palpation des aires ganglionnaires et la recherche d'une organomégalie.
- Un bilan biologique comprenant une numération formule sanguine avec recherche de CS (chiffrée en valeur absolue), un immunophénotypage lymphocytaire, une recherche de réarrangement des gènes du TCR dans le sang périphérique (si un envahissement sanguin est suspecté), un bilan biochimique de base, l'évaluation des fonctions rénale et hépatique et un dosage des LDH.
- Un dosage des  $\beta$ -hCG chez les femmes en âge de procréer

- Un bilan d'imagerie avec scanner thoraco-abdomino-pelvien avec injection de produit de contraste ou PET-scanner corps entier si le stade est supérieur ou égal à T2 ou s'il y a des adénopathies palpables (pour orienter la biopsie) ou encore si le bilan biologique est perturbé. En cas d'anomalie retrouvée à l'imagerie, une confirmation histologique est fortement recommandée.

Dans certains cas, un myélogramme peut être réalisé afin de documenter un envahissement médullaire ou d'explorer une anomalie hématologique inexplicée. De même, une biopsie sera à envisager en cas d'adénopathies ou de lésions extra cutanée suspectes afin d'identifier un éventuel clone tumoral. (65,66) (*NCCN Guidelines 2014, Non Hodgkin's Lymphomas*)

### Classification

Le principal objectif d'une classification clinique pertinente est une meilleure prise en charge et un traitement adapté au patient. La première classification des CTCL de type MF/SS a été mise au point à la fin des années soixante-dix par le *Mycosis Fungoides Cooperative Group* et s'appuyait sur des critères cliniques, histologiques et cytologiques. Elle est détaillée dans le **tableau 2**.

Depuis, grâce aux progrès dans des domaines tels que la biologie moléculaire ou l'immunophénotypage, de nouvelles données ont pu être incluses dans la classification. Ainsi lors de la dernière classification EORTC/OMS de 2007 (**Tableau 3**), le statut ganglionnaire et l'envahissement sanguin ont été révisés grâce à l'ajout de critères de clonalité.

Dans cette nouvelle classification, le stade T0 concernant l'atteinte cutanée a été supprimé et la taille tumorale minimale pour le stade T3 (>1cm) a été précisée.

En ce qui concerne le statut ganglionnaire, seront considérées uniquement les adénopathies périphériques palpables présentant ces

caractéristiques : fermes, irrégulières, disposées en grappe, fixées et/ou faisant 1.5 cm de diamètre ou plus. Les zones examinées sont les aires ganglionnaires cervicales, supra claviculaires, épitrochléennes, axillaires et inguinales. Les chaînes ganglionnaires profondes, difficilement palpables lors de l'examen clinique, ne sont généralement pas incluses dans la classification, sauf si elles permettent d'établir un stade anatomopathologique N3. La stadification anatomopathologique est détaillée dans le **tableau 5**.

Pour l'envahissement viscéral, l'hépatomégalie ainsi que la splénomégalie peuvent être diagnostiquées par imagerie.

L'envahissement sanguin comprend désormais 3 stades d'envahissement : B0 s'il y a moins de 5% de cellules de Sézary circulantes (parmi les lymphocytes sanguins), B1 si les 5% de CS sont dépassés mais que le critère B2 n'est pas atteint et B2 correspondant à une masse tumorale sanguine importante c'est-à-dire plus de 1000 CS/ mm<sup>3</sup>. Si l'évaluation du nombre de CS ne peut pas être utilisé pour le stade B2, alors on peut utiliser en remplacement l'un de ces critères (à condition d'avoir déjà la preuve d'un réarrangement clonal du TCR via une méthode PCR) : majoration des cellules CD4+ avec un ratio CD4/CD8 supérieur ou égal à 10 ou majoration des cellules CD4+ avec un phénotype anormal (perte du CD7 ou perte du CD26) (50).

Plusieurs critères ont été retenus comme facteurs de mauvais pronostic : une masse tumorale sanguine > 1000 CS / mm<sup>3</sup> (stade B2) (un taux supérieur à 10000 étant d'encore plus mauvais pronostic) (67,68), un taux élevé de LDH sanguin (facteur prédictif à la fois d'une faible survie et d'un risque élevé de progression tumorale) (69), un âge avancé (70,67), la présence d'une hyperéosinophilie (71), un clone sanguin CD3+CD7- et la présence de grandes cellules de Sézary (>15µ) (72). A l'inverse, une hétérogénéité clonale sanguine et une faible masse tumorale semblent être des facteurs de bon pronostic (73).

Classification	Description
<b><u>T = atteinte cutanée</u></b>	
T0	Lésions suspectes cliniquement et/ou histologiquement
T1	Plaques limitées, papules ou taches érythémateuses < 10% de la surface corporelle
T2	Plaques généralisées, papules, taches érythémateuses ≥ 10% de la surface corporelle
T3	Présence d'une ou plusieurs tumeurs
T4	Erythrodermie généralisée (≥ 80% de la surface corporelle)
<b><u>N = statut ganglionnaire</u></b>	
N0	Absence d'adénopathie périphérique
N1	Adénopathie périphérique palpable ; histologie négative pour un CTCL
N2	Absence d'adénopathie périphérique palpable ; histologie positive en faveur d'un CTCL
N3	Adénopathie périphérique palpable ; Histologie positive en faveur d'un CTCL
<b><u>M = statut viscéral</u></b>	
M0	Absence d'atteinte viscérale
M1	Atteinte viscérale à confirmer histologiquement
<b><u>B = envahissement sanguin</u></b>	
B0	< 5% de cellules atypiques circulantes parmi les lymphocytes circulants
B1	> 5% de cellules atypiques circulantes

**Tableau 2 : Première classification des MF/SS** : d'après « Classification TNM originale du Mycosis Fungoides Cooperative Group pour les CTCL ». (74,75)

<b>TNMB stages</b>	
<b><u>Skin</u></b>	
<b>T1</b>	Limited patches, papules and/or plaques covering < 10% of the skin surface. May further stratify into T1a (patch only) vs T2b (plaque ± patch)
<b>T2</b>	Patches, papules or plaques covering ≥ 10% of the skin surface. May further stratify into T2a (patch only) vs T2b (plaque ± patch)
<b>T3</b>	Confluence of erythema covering ≥ 80% body surface area
<b><u>Node</u></b>	
<b>N0</b>	No clinically abnormal peripheral lymph nodes ; biopsy not required
<b>N1</b>	Clinically abnormal peripheral lymph nodes ; histopathology Dutch grade 1 or NCI LN0-2
<b>N1a</b>	Clone negative*
<b>N1b</b>	Clone positive*
<b>N2</b>	Clinically abnormal peripheral lymph nodes ; histopathology Dutch grade 2 or NCI LN3
<b>N2a</b>	Clone negative*
<b>N2b</b>	Clone positive*
<b>N3</b>	Clinically abnormal peripheral lymph nodes ; histopathology Dutch grade 3-4 or NCI LN4 ; clone positive or negative*
<b>Nx</b>	Clinically abnormal peripheral lymph nodes ; no histologic confirmation
<b><u>Visceral</u></b>	
<b>M0</b>	No visceral organ involvement
<b>M1</b>	Visceral involvement (must have pathology confirmation and organ involved should be specified)
<b><u>Blood</u></b>	
<b>B0</b>	Absent of significant blood involvement : < 5% of peripheral blood lymphocytes are atypical (Sézary) cells
<b>B0a</b>	Clone negative*
<b>B0b</b>	Clone positive*
<b>B1</b>	Low blood tumor burden : > 5% of peripheral lymphocytes are atypical (Sézary) cells but does not meet the criteria of B2
<b>B1a</b>	Clone negative*
<b>B1b</b>	Clone positive*
<b>B2</b>	High blood tumor burden : ≥ 1000/μL Sézary cells** with positive clone*

\*A T-cell clone is defined by PCR or Southern blot analysis of the T-cell receptor gene

\*\*If Sézary cells are not able to be used to determine tumor burden for B2, then one of the following modified ISCL criteria along with a positive clonal rearrangement of the TCR may be used instead:

(1) expanded CD4+ or CD3+ cells with CD4/CD8 ratio of 10 or more,

(2) expanded CD4+ cells with abnormal immunophenotype including loss of CD7 or CD26.

**Tableau 3 : Classification TNM actuelle des MF/SS** d'après « Olsen E 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 Sep 15;110(6):1713–22.(50)

	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>	<b>B</b>
<b>IA</b>	1	0	0	0 ou 1
<b>IB</b>	2	0	0	0 ou 1
<b>II</b>	1 ou 2	1 ou 2	0	0 ou 1
<b>IIB</b>	3	0-2	0	0 ou 1
<b>III</b>	4	0-2	0	0 ou 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

**Tableau 4 : Correspondance entre stadification et classification TNM dans le MF/SS** d'après « Olsen E 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 Sep 15;110(6):1713–22.(50)

<b>ISCL/EORTC classification</b>	<b>Dutch system</b>	<b>NCI-VA classification</b>
<b>N<sub>1</sub></b>	Grade 1 : dermatopathic lymphadenopathy (DL)	LN0 : no atypical lymphocytes LN1 : occasionnal and isolated atypical lymphocytes (not in clusters) LN2 : many atypical lymphocytes or in 3-6 cells clusters
<b>N<sub>2</sub></b>	Grade 2 : early involvement by MF (presence of cerebriform nuclei > 7.5µm)	LN3 : aggregates of atypical lymphocytes; nodal architecture preserved
<b>N<sub>3</sub></b>	Grade 3 : partial effacement of LN architecture ; many atypical cerebriform mononuclear cells Grade 4 : complete effacement	LN4 : partial/complete effacement of nodal architecture by atypical lymphocyte or frankly neoplastic cells

**Tableau 5 : Stadification ganglionnaire histopathologique dans le MF/SS** d'après « Olsen E 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 Sep 15;110(6):1713–22.(50)

## Diagnosics différentiels

Les diagnostics différentiels sont assez nombreux et seront abordés selon 3 angles différents : l'érythrodermie, la présence de cellules de Sézary circulantes et les pathologies lymphoprolifératives cutanées.

Bien que l'érythrodermie et le prurit intense suggèrent fortement le diagnostic de syndrome de Sézary, beaucoup d'autres pathologies, bénignes quant à elles, peuvent aussi correspondre à ces symptômes. Ces autres causes bénignes d'érythrodermie ont été mises en évidence en 1986 grâce à une série de 82 patients. Les principales étiologies étaient le psoriasis, la dermatite atopique, les réactions médicamenteuses, la dermatite de contact, la dermatite séborrhéique, le lupus subaigu cutané, les érythrodermies idiopathiques et bien sur les CTCL (76,77).

De même, on peut retrouver des cellules de Sézary circulantes dans un certain nombre de pathologies, bénignes ou non : dermatoses chroniques, kératose solaire, dermatite atopique, carcinome basocellulaire, psoriasis, lichen, parapsoriasis, lupus érythémateux discoïde, vascularites et lymphomes B (78,79). La plupart de ces pathologies étant aussi chroniques, cela peut entraîner un retard important dans le diagnostic du syndrome de Sézary ; d'où la nécessité d'une utilisation rigoureuse des critères diagnostiques et des examens cités précédemment.

Enfin, il est important de distinguer les pathologies lymphoprolifératives cutanées malignes des proliférations lymphoïdes atypiques ou encore des réponses immunitaires anormales pouvant mimer le même type de lésions lymphomateuses (37). Toutes ces proliférations cutanées lymphoïdes sont résumées dans le **tableau 6** ci-dessous.

<b>Réticulose actinique</b> : dermatite chronique sévère photosensible ± érythrodermique / bénigne / lésions MF/SS like (80)
<b>Infiltrat de Jessner</b> : lésions solitaires visage et tronc / lésions type MF stade tumeur (81,37)
<b>Pseudo lymphome cutané T</b> : lésions solitaires mimant celles du MF (82,83,84)
<b>Parapsoriasis en plaques</b> : lésions atrophiques érythémateuses pouvant évoluer en MF (85,86)
<b>Papulose lymphomatoïde</b> : éruption papuleuse qui nécrose et guérit spontanément / associée ou précédant un lymphome (87,88,89)
<b>Mucinose folliculaire</b> : alopécie avec plaques indurées et papules / peut évoluer en MF (90,91,92)
<b>Réticulose pagétoïde</b> : localisée (lésion unique) pouvant être un variant de MF ou généralisée (plaques hyperkératosiques) de mauvais pronostic (93,94,95)
<b>Lymphome chalazodermique</b> : plaques érythémateuses évoluant vers un <i>cutis laxa</i> / variant des CTCL stade tumeur (96)
<b>Lymphome cutané primitif à grandes cellules CD30+</b> : lésions localisées à type de papules, nodules ou tumeurs / entité des CTCL (97)
<b>Leucémie / Lymphome T de l'adulte</b> : pathologie agressive liée à HTLV-1 / mimant un MF/SS (98)

**Tableau 6** : Principales lymphoproliférations cutanées pouvant faire évoquer un CTCL.

#### Traitements et prise en charge

De nombreux traitements font partie de l'arsenal thérapeutique du syndrome de Sézary ; il peut s'agir de traitements locaux ou de traitements systémiques (28). Aucun des traitements utilisés actuellement n'a démontré de réelle efficacité en terme de survie ; ainsi le traitement du SS reste principalement palliatif, le maintien d'une qualité de vie correcte restant la principale préoccupation des soignants (12). De plus, devant le peu d'études randomisées concernant la stratégie thérapeutique à adopter devant un MF/SS, il n'existe pas de standard universellement accepté quant au déroulement de la prise en charge (99). La variété des présentations cliniques rend une approche stratifiée difficile ; la prise en charge reste

individualisée, prenant en compte l'âge, les comorbidités et les risques infectieux (auxquels ces patients sont particulièrement sujets). Le but de la prise en charge est d'atteindre une rémission à la fois cutanée et non cutanée (lors qu'il y a envahissement sanguin ou autre) ; ceci afin de retarder ou prévenir la progression de la maladie et d'améliorer la qualité de vie, souvent très altérée par la xérose cutanée et le prurit (100). L'utilisation d'agents pouvant induire l'apoptose des cellules malignes et simultanément améliorer la capacité de l'organisme à gérer ces cellules apoptotiques, en générant une réponse T cytotoxique efficace, semble centrale dans la stratégie thérapeutique (40).

Il est recommandé que chaque lymphome cutané primitif soit présenté à une réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) locale ou régionale (comprenant dermatologues, oncohématologues, radiothérapeutes, anatomopathologistes, tous référents dans le domaine des lymphomes cutanés primitifs) afin de valider le diagnostic et la prise en charge thérapeutique. Il pourra y être discutée une éventuelle inclusion dans un essai thérapeutique (65).

La stratégie initiale devant un lymphome cutané primitif T se décline en 3 étapes principales :

- Etablissement d'un diagnostic de certitude et classification du lymphome selon l'EORTC/OMS
- Stadification
- Choix de la méthode thérapeutique en fonction du stade, en favorisant les traitements combinés qui permettent de limiter la toxicité. L'efficacité et les effets indésirables doivent être réévalués régulièrement (65)

Deux écueils doivent être évités : engager trop précocement un traitement inutilement agressif et être trop prudent en laissant les lésions évoluer vers un stade où un traitement lourd et toxique devient nécessaire (65).

Les principaux traitements pouvant être utilisés dans les CTCL de type MF/SS sont regroupés dans les **tableaux 7 et 7bis** avec les principaux mécanismes d'action et les principaux effets secondaires.

Traitements locaux	Mécanismes d'action / effets indésirables
<u>Corticostéroïdes topiques</u> (101,102)	induction de l'apoptose et influence sur l'adhésion des lymphocytes à l'endothélium (inhibition de la production de cytokines, molécules d'adhésion et facteurs de croissance) EI : atrophie cutanée, télangiectasies, vergetures, fragilité cutanée, infections secondaires
<u>Moutarde azotée</u> (mustargen, chlorméthine) (103,104)	agent alkylant affectant l'interaction entre kératinocytes, cellules de Langerhans et lymphocytes T EI : brûlures, prurit, dermatite, risque accru de cancer cutané non mélanome surtout si PUVA ou radio thérapie concomitante
<u>Rétinoïde topique</u> (bexarotène = Targretin) (105,106,107)	induit l'apoptose des cellules tumorales et la suppression de l'expression de CCR4 EI : hypertriglycéridémies importantes, leucopénies, hypothyroïdie, sécheresse oculaire, prurit, surdité
Autres : <u>BCNU (carmustine)</u> <u>immunomodulateur local</u> (Imiquimod) (108,109,110,111)	BCNU = agent alkylant avec nombreux EI cutanés (érythème, brûlure, télangiectasies), fibrose pulmonaire et cytopénies imiquimod = active la voie NF-κB, induit l'apoptose des cellules tumorales à forte dose via Bcl-2 EI cutanés (dyspigmentation localisée, érythème) et cytopénies
<u>Photothérapie UV</u> (PUVA thérapie) (52,112)	irradiation UV après ingestion de 8-méthoxypsoralène : induit l'apoptose des cellules tumorales, des dommages ADN, l'arrêt de la production de cytokines par les kératinocytes et réduction des cellules de Langerhans
<u>Radiothérapie locale</u> (113)	pour des tumeurs isolées ± en association à un agent radiosensibilisant tel qu'un inhibiteur d'histone déacétylase (qui arrête le cycle cellulaire et induit l'apoptose rendant les cellules tumorales radiosensibles)
<u>Electronthérapie corporelle totale</u> (114,115)	surtout dans le MF, peu de disponibilité, pénétration cutanée plus profonde EI : alopecie, dysidrose, xérose, atrophie cutanée

**Tableau 7 : Récapitulatif des principaux traitements locaux existants et leurs effets indésirables (EI).**

<b>Traitements systémiques</b>	<b>Mécanismes d'action / effets indésirables</b>
<b>Immunomodulateurs</b>	
<u>Interféron alpha</u> (116,100)	augmente la réponse immunitaire Th1 contre les lymphocytes tumoraux  infections secondaires, leucopénies, troubles neurologiques et digestifs
<u>Rétinoïdes</u> (107)	liaison au récepteur X rexinoid RXR / action anti proliférative, apoptose des cellules tumorales, inhibition de la production cytokinique  sécheresse cutanée, prurit, desquamation
<u>Photophérèse extracorporelle</u> (112)	extraction des cellules mononucléées périphériques puis ajout de 8-methoxypsoralene et irradiation par UVA avant réinjection / active la réponse immunitaire systémique anti tumorale
<b>Thérapies ciblées</b>	
<u>Anticorps monoclonaux</u> (117,118,119)	alemtuzumab : anti CD52 L'anticorps provoque la lyse des lymphocytes par l'intermédiaire d'une fixation du complément et d'une cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante de l'anticorps zanolimumab : anti CD4 mogamulizumab : anti CCR4
<u>Inhibiteurs des histones déacétylases (Vorinostat)</u> (120,121)	arrêt du cycle cellulaire et apoptose  symptômes digestifs, fatigue, cytopénies, modifications ECG
<u>Protéine de fusion (denikeukin)</u> (100)	cible l'IL-2 (CD25) et lyse les cellules l'exprimant  fièvre, syndrome pseudo grippal, lymphopénie, hyperperméabilité capillaire
<b>Agents cytotoxiques</b>	
<u>Antifoliques (MTX et Pralatrexate)</u> (122,100)	inhibition des mitoses et de la synthèse de l'ADN  effets indésirables gastro-intestinaux, anomalie bilans hématologique et hépatique
<u>gemcitabine (Gemzar)</u> (123,124)	analogue nucléosidique / inhibe l'ADN polymérase et la ribonucléotide réductase donc la synthèse d'ADN  leucopénies, perturbations du bilan hépatique, éruption cutanée, symptômes grippaux
<u>Doxorubicine liposomale non pégylée (Caelyx)</u> (125,100)	anthracycline : inhibition des topoisomérases entraînant des lésions de l'ADN  toxicité cardiaque mais réduite par la forme non pégylée
<b>Allogreffe de CSH (126,127)</b>	
Patients à haut risque de MF/SS et effet positif de la maladie du rejet du greffon contre l'hôte pour l'évolution de la pathologie	

**Tableau 7 bis : Récapitulatif des principaux traitements systémiques existants et leurs effets indésirables (EI).**

Dans le SS, un traitement systémique est proposé systématiquement en première ligne (65). La photochimiothérapie extracorporelle doit être envisagée en première intention selon la disponibilité de ce dispositif, qui représente un facteur limitant. Il s'agit d'un traitement montrant de bons résultats au stade d'envahissement sanguin (même modéré), qui est très bien toléré avec peu d'effets indésirables et qui n'a presque aucune contre-indication. La photophérèse est réalisée selon un rythme variable (2 séances par mois en moyenne) soit en monothérapie (au moins à l'initiation du traitement) soit en association le plus souvent secondairement et avec un autre traitement systémique (méthotrexate faible dose, interféron alpha ou bexarotène en cas de réponse insuffisante). Quand la photochimiothérapie extracorporelle est contre-indiquée ou non accessible, on peut discuter : interféron alpha, bexarotène, méthotrexate faible dose ou chlorambucil avec prednisone faible dose. Ces traitements peuvent être combinés entre eux en fonction de la réponse : par exemple interféron alpha et bexarotène, bexarotène et PUVAthérapie, bexarotène et méthotrexate. Parallèlement on peut associer, selon l'état du patient et ses lésions, un traitement local par dermocorticoïdes, PUVAthérapie, chlormétine, carmustine voire électrothérapie corporelle totale. En cas de non réponse ou d'échappement, une inclusion dans un essai thérapeutique doit être proposée en priorité. Sinon, l'administration d'alemtuzumab, de doxorubicine liposomale, de gemcitabine, de denileukin diftinox à titre exceptionnel ou d'une polychimiothérapie en dernier recours peut être discutée en RCP. L'intensification avec allogreffe médullaire (plutôt qu'autogreffe) peut être proposée dans de rares cas, notamment de MF transformés ou de SS chez des sujets jeunes (65).

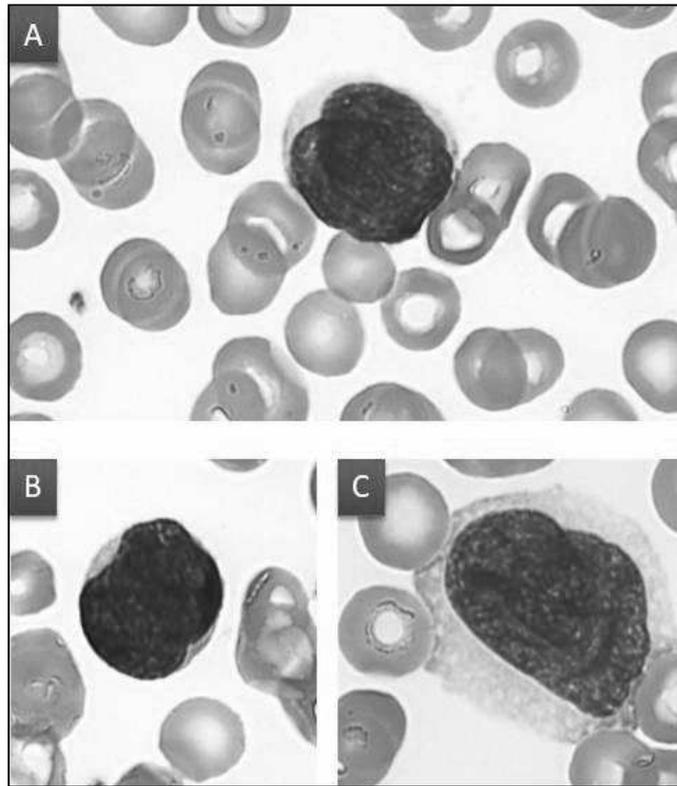
Aux stades avancés de lymphome cutané T, il n'existe pas encore de traitement permettant d'obtenir une rémission complète prolongée. La mise au point de nouveaux outils thérapeutiques est donc indispensable. Plusieurs cibles potentielles ont été mises en évidence : inhibition de la voie NF- $\kappa$ B, inhibiteurs des récepteurs à activité tyrosine kinase, anticorps humanisés dirigés contre les antigènes tumoraux (par exemple, anti CD158k induisant une lyse directe et une cytotoxicité anticorps dépendant à médiation cellulaire) (23).

## 2) La cellule de Sézary et l'intérêt des différentes méthodes d'analyse

### Description cytologique

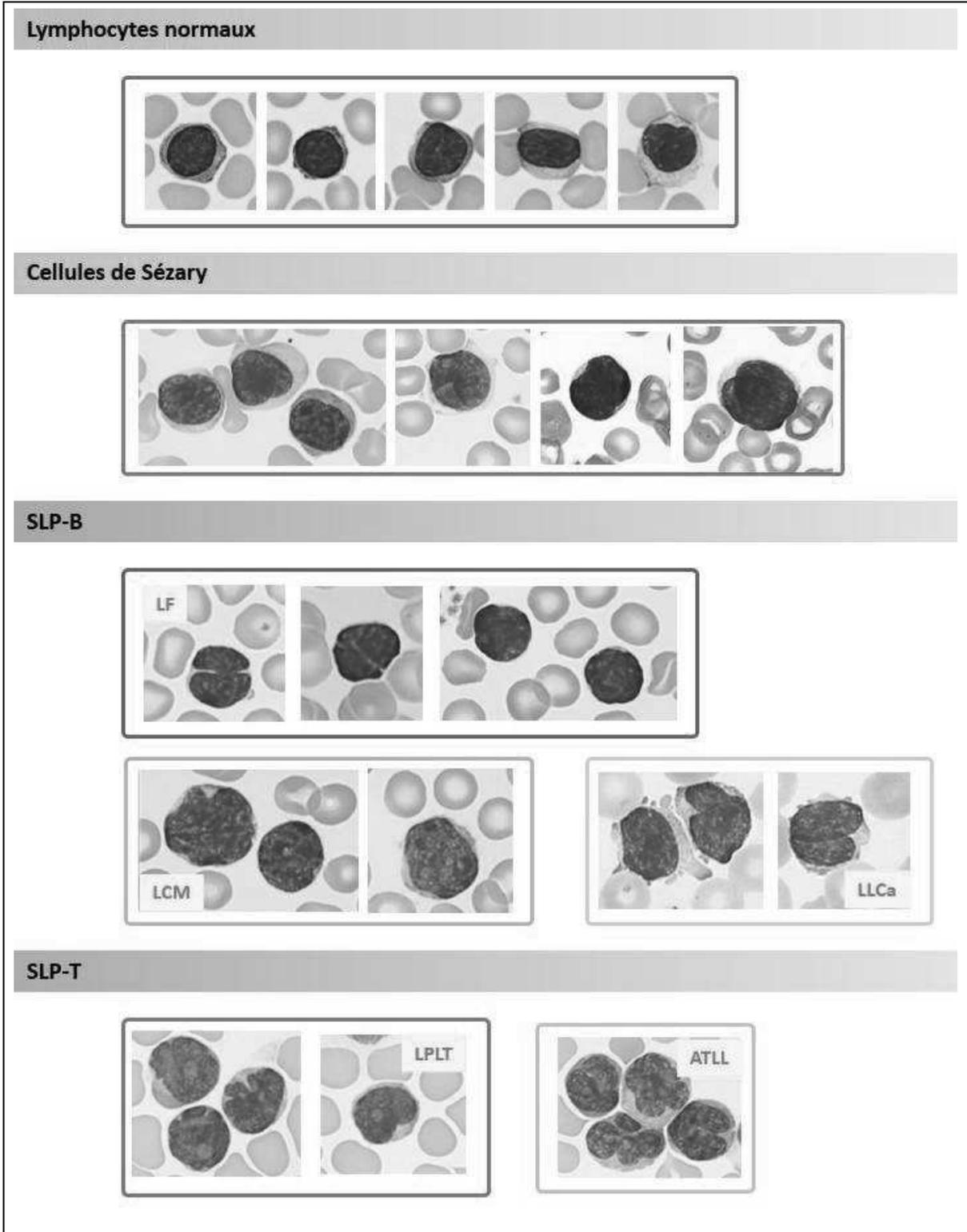
La cellule de Sézary (CS) est caractéristique des lymphomes T cutanés de type MF/SS. Elle correspond à un lymphocyte dont le noyau occupe la majorité de la surface cellulaire (rapport nucléocytoplasmique élevé et cytoplasme peu abondant) et possède une chromatine assez dense, sans nucléole, mais plus claire que celle d'un lymphocyte normal (**Figure 4**). La particularité de la CS est son aspect cérébriforme dû aux replis nucléaires (en « coup d'ongle ») ainsi qu'aux sillons étroits et profonds. Le pourtour nucléaire quant à lui n'apparaît pas particulièrement irrégulier. Le cytoplasme peut être légèrement basophile mais sans granulations. Il existe deux tailles de CS : les petites, les plus fréquemment retrouvées mais les plus difficiles à identifier, font 8 à 10  $\mu\text{m}$  et les grandes (15 à 20  $\mu\text{m}$ ), qui sont souvent associées aux petites, mais plus faciles à détecter car beaucoup plus caractéristiques (« cellules monstrueuses »). La présence de ces cellules de grande taille est inconstante (32 à 67%) mais plus spécifique et associée à un plus mauvais pronostic (12,47,28).

La mise en évidence, de façon formelle, des cellules de Sézary n'est pas toujours facile car des cellules d'aspect comparable peuvent être observées dans le sang au cours de diverses dermatoses bénignes (principalement eczéma, psoriasis, parapsoriasis en plaque), mais aussi lors de réactions médicamenteuses pseudolymphomateuses et même chez des sujets sains. Une stimulation immunitaire T serait à l'origine de ces cellules pseudo Sézary (47).



**Figure 4 : Aspects morphologiques de la cellule de Sézary sur des frottis de sang colorés au MGG. (A)** Aspect typique de la cellule de Sézary caractérisée par un noyau très irrégulier présentant de nombreux replis lui donnant un aspect en « coup d'ongle » ou cérébriforme. **(B)** et **(C)** Cellules de Sézary de petite taille (cellule de Lutzner) ou de grande taille. (Sang grossissement x 50, coloration MGG. Dr Daliphard CHU Reims)

D'autres pathologies lymphoïdes peuvent également se manifester par la présence de cellules atypiques circulantes possédant le même genre de caractéristiques morphologiques, à savoir un noyau plus ou moins encoché, à contours irréguliers ou convoluté lui donnant un aspect folié. Parmi ces syndromes lymphoprolifératifs, on retrouve principalement le lymphome du manteau, le lymphome folliculaire, la leucémie prolymphocytaire T ou encore certaines formes atypiques de leucémie lymphoïde chronique (**figure 5**).



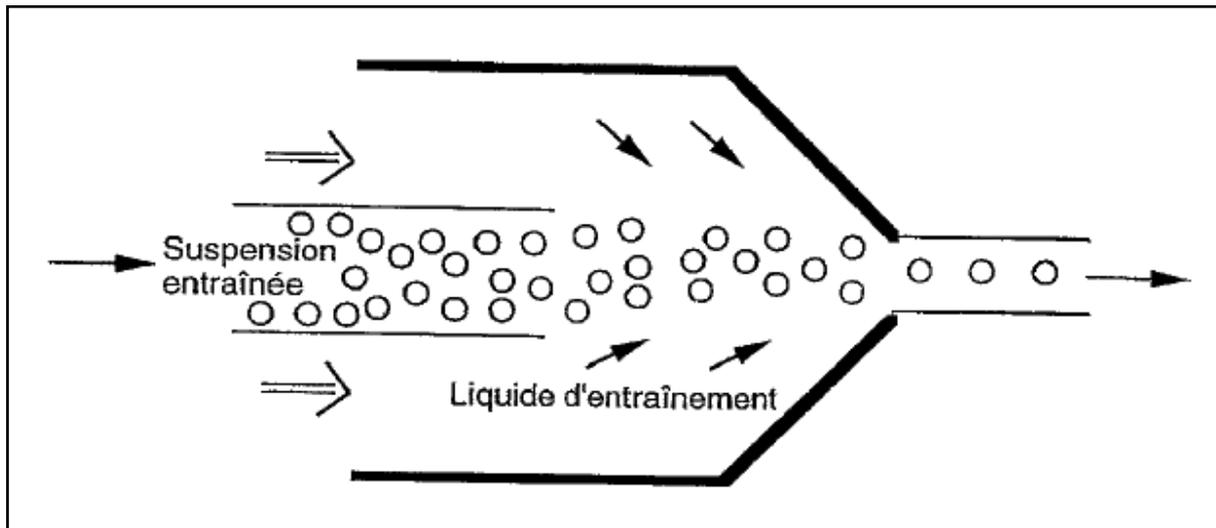
**Figure 5** : Principaux aspects morphologiques des syndromes lymphoprolifératifs présentant des lymphocytes au noyau irrégulier. Photos issues du site Hématocell (hematocell.univ-angers.fr) et prises au CHU de Rouen (sang coloration MGG grossissement x 50)

(**SLP** syndrome lymphoprolifératif ; **LF** lymphome folliculaire ; **LCM** lymphome du manteau ; **LLCa** leucémie lymphoïde chronique atypique ; **LPLT** leucémie prolymphocytaire T ; **ATLL** leucémie-lymphome T de l'adulte)

## Caractéristiques en cytométrie de flux

### **Rappel du principe de cytométrie en flux**

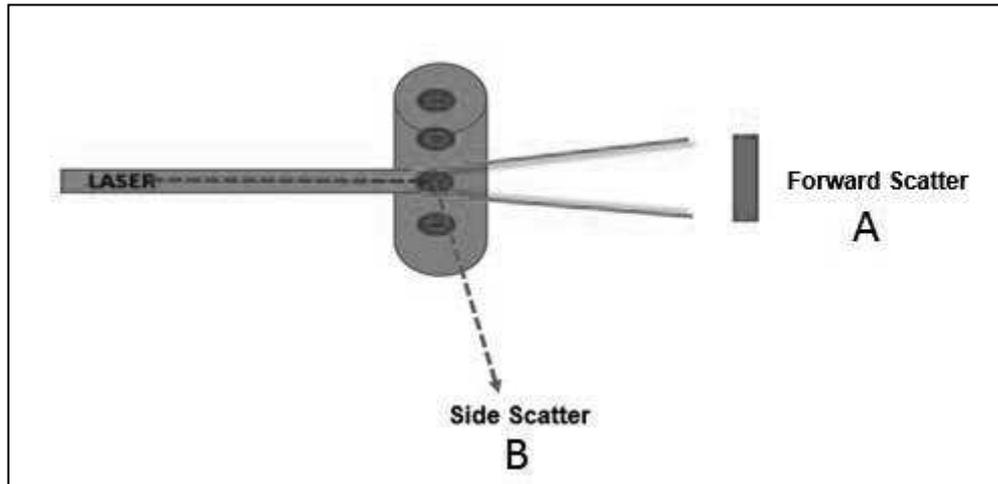
La cytométrie en flux est une méthode d'analyse permettant de mesurer les caractéristiques cellulaires d'un échantillon en se basant sur le principe de la focalisation hydrodynamique des cellules dans un faisceau lumineux exciteur (**Figure 6**).



**Figure 6** : Représentation schématique de la focalisation hydrodynamique, le liquide d'entraînement accélère les cellules et permet leur alignement une à une à la sortie. D'après Jouault H, Imbert M. *La cytométrie en flux: intérêt et applications en hématologie*. Rev Fr Lab. 1995 Apr;1995(275):29–35. (128)

Le flux liquidien est ensuite traversé par un laser (faisceau lumineux d'une grande brillance, monochromatique et de bonne focalisation) ce qui va permettre aux cellules d'émettre un certain nombre de signaux optiques :

- La lumière diffusée dans l'axe du laser (petit angle) va permettre d'identifier la taille des cellules (Forward Scatter **Figure 7A**)
- La lumière diffusée à 90 degrés (grand angle) permet quant à elle de déterminer la structure cellulaire (fonction de la forme, de la structure interne et de la granularité des cellules) (Side Scatter **Figure 7B**)

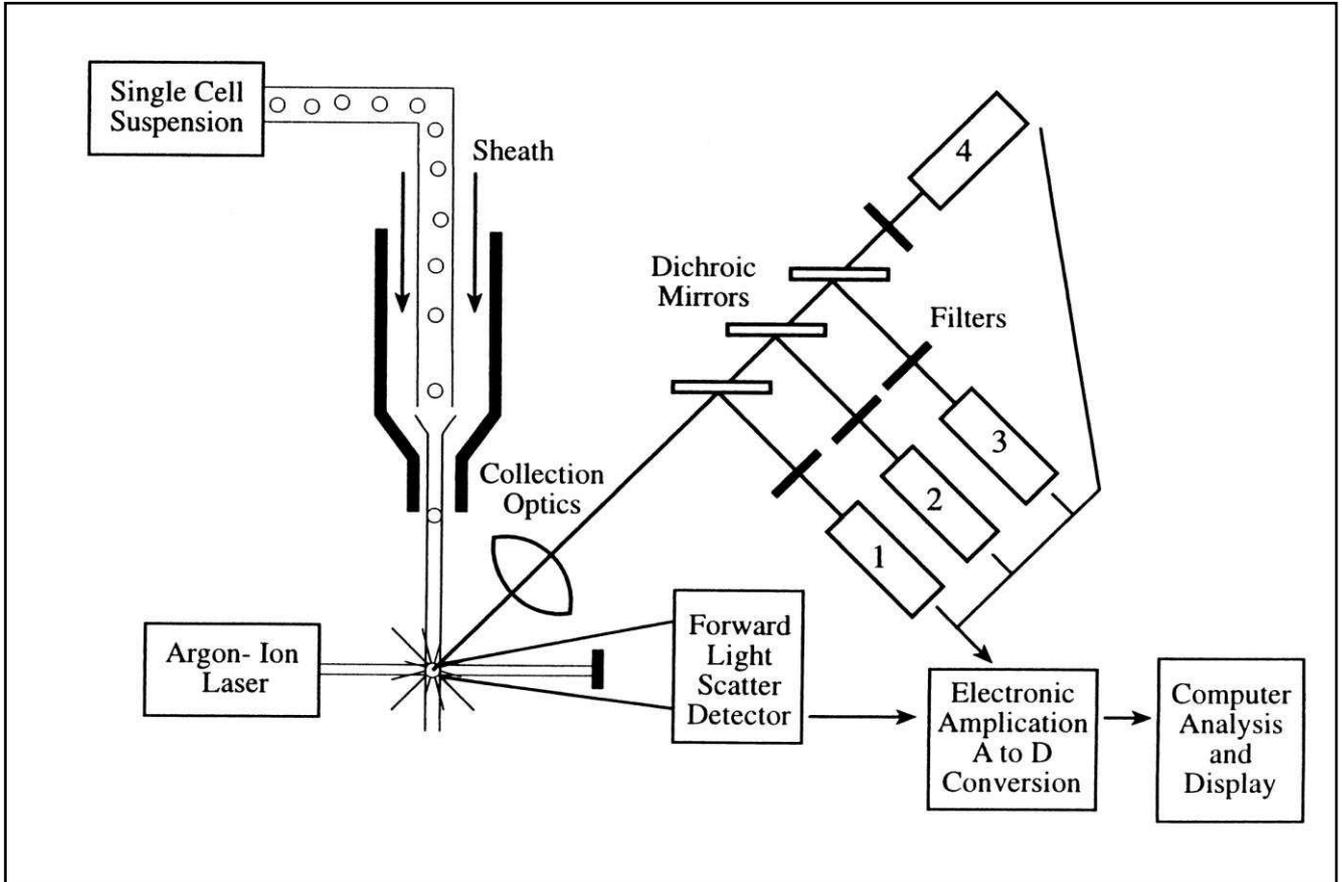


**Figure 7 : (A) Forward Scatter**, la lumière détectée dans l'axe de la lumière incidente (petits angles) est proportionnelle à la taille de la cellule (schéma original)

**(B) Side Scatter**, la lumière détectée à  $90^\circ$  par rapport à l'axe de la lumière incidente (grands angles) est proportionnelle à la granularité de la cellule ou à sa structure extérieure (schéma original)

- Et enfin la fluorescence émise par les cellules préalablement marquées permet de les catégoriser selon les fluorochromes et anticorps monoclonaux choisis. Un système de filtres et de miroirs permet de séparer les signaux lumineux selon leur direction et leur longueur d'onde. Des photomultiplicateurs vont recueillir les signaux optiques émis et les transformer en signaux électriques analogiques en fonction de l'amplitude de chaque signal. Les données reçues sont converties sous forme digitale pour l'exploitation informatique et figurées sous forme d'histogrammes de distribution de fréquence (amplitude du paramètre en abscisse et le nombre de cellules par canal en ordonnée) **(Figure 8)**.

Il est donc possible de cibler les informations au sein d'une population hétérogène en traçant des zones d'intérêt sur un cytogramme taille/structure, par exemple pour l'étude des sous populations lymphocytaires (128).



**Figure 8 : Schéma récapitulatif du fonctionnement d'un cytomètre en flux** d'après « Brown, M., & Wittwer, C. (2000). Flow cytometry: principles and clinical applications in hematology. *Clinical chemistry*, 46(8), 1221-1229». La suspension cellulaire, accélérée grâce au fluide d'entraînement, passe devant un laser afin que la lumière diffusée soit analysée par les différents détecteurs (celui du Forward Scatter et du Side Scatter (1) ainsi que de multiples détecteurs pour l'émission des fluorescences (2 à 4). Ces signaux sont amplifiés électroniquement puis convertis pour l'analyse informatique.

### ***Phénotype de la cellule de Sézary***

La cellule de Sézary est un lymphocyte T mature mémoire, elle exprime donc principalement les antigènes CD2, CD3, CD4, CD5, CD25, CD45RO et TCR $\alpha\beta$  (47,23,129). Plus rarement, les CS peuvent avoir un phénotype CD4-CD8+ ou CD4+CD8+ et/ou présenter une perte d'expression des antigènes CD2, CD3, CD4 ou CD5 (130,72,131). Une perte des marqueurs CD7 et/ou CD26 a également été rapportée (62). Cette diminution d'expression semble plus intéressante quand elle concerne les CD2, CD3 et CD4 car on peut observer, au cours des réactions inflammatoires, une baisse d'intensité concernant les CD5 et CD7 (132,133). La cellule de Sézary exprime également des récepteurs de domiciliation cutanée : CCR4 (à des taux élevés), CCR10, CCR6 et CLA (*Cutaneous Lymphocyte Antigène*). Lorsqu'elles sont isolées dans le sang, elle co-expriment des marqueurs de domiciliation ganglionnaire tels que le CCR7, la L-selectine et le CD27 (marqueur de différenciation cellulaire T centrale mémoire) (45). Plusieurs clones de CS peuvent coexister chez un même patient tout comme on peut retrouver plusieurs oligoclones T chez les personnes âgées hors situation pathologique ; l'interprétation de l'immunophénotypage est donc délicate surtout lorsque le nombre de CS est faible (99).

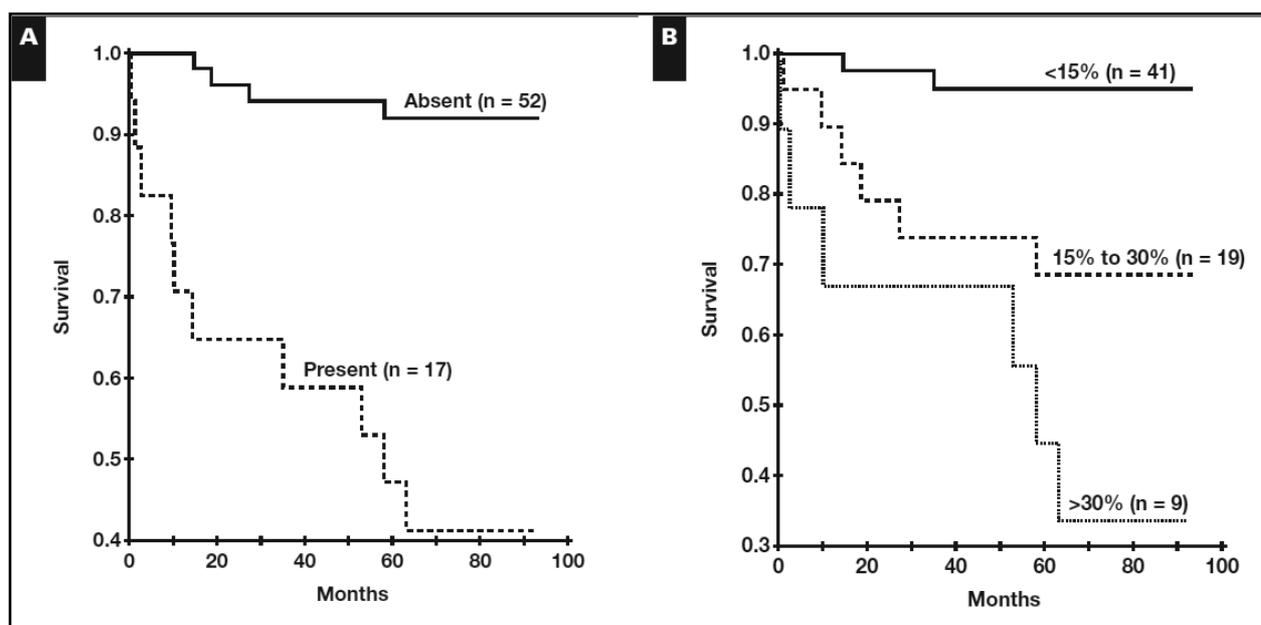
Concernant le CD7, il a été décrit que la taille de la population CD4+CD7- était corrélée avec l'évolution du lymphome cutané (134). Cet antigène est une glycoprotéine membranaire de la famille des immunoglobulines qui est exprimé sur 85 à 90% des cellules T sanguines chez l'adulte sain (les lymphocytes T CD8+ dans leur ensemble et environ 90% des CD4+), sur les thymocytes ainsi que sur la plupart des lymphocytes NK (135). Le CD7 est connu comme agent costimulateur pour les cellules T et comme ligand pour le récepteur pro apoptotique Galectin-1 largement exprimé (136,36). Ainsi, une perte de ce CD7 engendre une résistance à l'apoptose et confère au clone déficitaire un avantage de survie (137). Des cellules circulantes CD7- peuvent être retrouvées chez des individus sains en faible pourcentage tandis que chez les personnes âgées ou dans certaines pathologies sévères (dermatoses inflammatoires ou immunodéficience combinée sévère), le taux de CD7- peut s'avérer élevé (135,138,139,140). Il a été décrit qu'environ 50% des CTCL montraient une

expression variable du CD7 (141,142). La prise en compte de tous ces paramètres rend difficile la distinction entre les cellules normales et les cellules réactives non néoplasiques d'une part et les cellules tumorales d'autre part.

Le CD26 (dipeptidyl peptidase IV) est une protéase membranaire présente sur la plupart des cellules T périphériques ainsi qu'à la surface des cellules endothéliales et épithéliales. Cet antigène régule l'épidermotropisme en clivant et inactivant des cytokines de domiciliation cutanée mais aussi en inhibant leurs récepteurs correspondants (143,144,145,146). Le CD26 intervient également dans l'activation des cellules T et dans l'oncogenèse (147,148). Il est donc exprimé de façon variable par les cellules T CD4+ circulantes ainsi que par les populations T CD8+ et immatures ; par contre l'expression est importante sur les lymphocytes T mémoires effecteurs activés (149). Plusieurs études ont montré que son expression était associée à plusieurs types tumoraux : lymphome anaplasique à grandes cellules, lymphome lymphoblastique T et lymphome hépatosplénique (150). Par contre, l'absence d'expression de CD26 semble hautement caractéristique des cellules tumorales de type MF/SS ; la présence d'une population anormale CD26- est corrélée à l'identification morphologique de cellules tumorales de Sézary dans le sang périphérique (sensibilité de 96% et spécificité de 98%) (151). Les stades avancés de la pathologie MF/SS étant caractérisés par le développement d'un déficit immunitaire dû, entre autre, à une sécrétion accrue de cytokines de type Th2, comme vu précédemment, la perte d'expression du CD26 est donc logique et on pourrait s'attendre à ce qu'elle soit corrélée à l'évolution de la maladie (38). La détermination du pourcentage de cellules CD4+CD26- a d'ailleurs été suggérée comme outils intéressant par certains auteurs afin de surveiller la progression de la maladie et d'évaluer la réponse thérapeutique (132). Un nombre élevé de cellules CD4+CD26- est d'ailleurs associé à une survie moindre (**Figure 9**) (137).

Ainsi les marqueurs CD7 et CD26 ne sont généralement pas considérés comme marqueurs phénotypiques fiables d'une aberration cellulaire T pour les raisons que nous avons vues précédemment. Par contre, l'utilisation de l'aspect quantitatif de la perte de ces marqueurs s'est

révélee intéressante pour le diagnostic, le pronostic et l'évaluation de la réponse thérapeutique. C'est pour cela que l'ISCL et l'EORTC recommandent de les inclure lors de l'immunophénotypage afin de pouvoir utiliser ces marqueurs dans la démarche de stadification (plus de 40% de cellules CD4+CD7- et/ou plus de 30% de cellules CD4+CD26-) (50).



**Figure 9** : Courbe de survie avec et sans anomalie phénotypique (A) et selon le pourcentage de cellules de Sézary CD4+CD26- (B) d'après Hristov AC, Vonderheid EC, Borowitz MJ. Simplified flow cytometric assessment in mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Am J Clin Pathol.* 2011 Dec;136(6):944–53 (137).

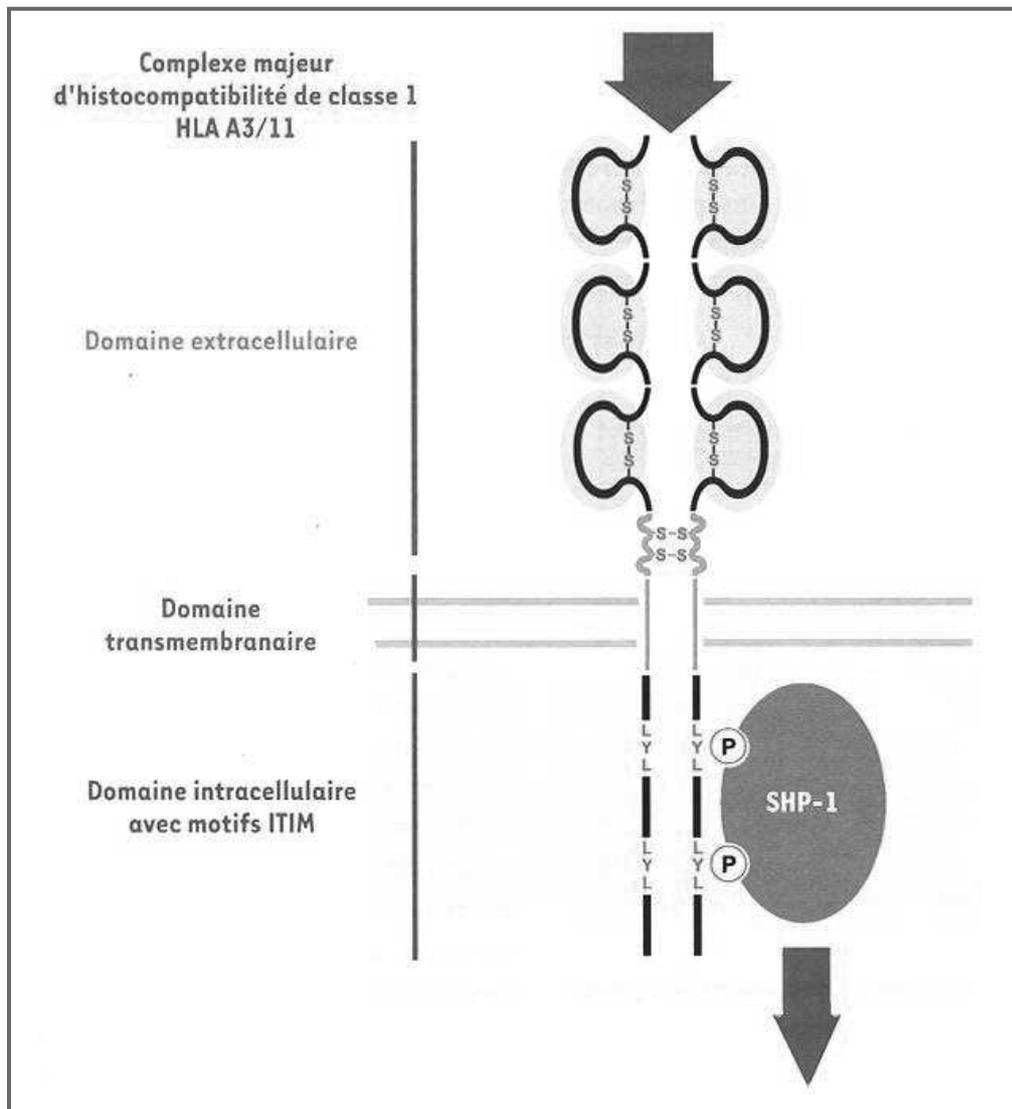
#### Place du KIR3DL2 / CD158k

Le CD158k, encore appelé KIR3DL2, a été identifié pour la première fois en 1996 (152). Il fait partie de la famille des KIRs (*Killer Immunoglobulin-like Receptor*) et a été reconnu comme marqueur spécifique des cellules de Sézary (153). Le KIR3DL2 est le seul KIR à s'exprimer sous forme de dimère et possède les caractéristiques structurales d'un récepteur inhibiteur. Il possède trois domaines extracellulaires ainsi qu'un long domaine cytoplasmique avec deux motifs ITIMs (*Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif*) (154) (**Figure 10**). Neuf allèles du gène KIR3DL2 ont été décrits (155). Chez les individus sains, il peut s'exprimer sur une minorité de lymphocytes NK et sur de rares lymphocytes T CD8+ (154). Ce récepteur transmembranaire possède un

rôle inhibiteur sur la lyse cellulaire médiée par les cellules NK après interaction avec le HLA-A (156). Son rôle dans la pathogenèse du SS n'est pas encore très clair, il semblerait qu'il agisse sur les cellules T en atténuant ou inhibant la signalisation de mort cellulaire médiée par les récepteurs antigéniques souvent impliqués lors d'une stimulation antigénique chronique des cellules T (157,158).

Le CD158k est hautement spécifique du syndrome de Sézary ; en effet, il n'est pas exprimé de façon significative à la surface des cellules CD4+ chez les individus sains, ni chez les patients présentant une érythrodermie bénigne (159). Ce marqueur permet donc de différencier une érythrodermie inflammatoire d'un réel SS. Il permet également de distinguer un MF d'un SS, qui ne sont actuellement plus considérés comme 2 versants d'une seule pathologie (45) . En effet, lors d'immunomarquages sur des lésions cutanées avec l'anticorps KIR3DL1/DL2, Wechsler *et al.* ont pu observer que le marquage des cellules tumorales était positif pour tous les cas de SS mais négatif pour les MF au stade de plaques (160).

De même, l'étude des transcrits CD158k/KIR3DL2 au niveau de biopsies cutanées a révélé qu'ils étaient significativement surexprimés dans les échantillons de patients Sézary comparé à ceux provenant d'érythrodermies inflammatoires bénignes (55). Un autre aspect intéressant de l'utilisation de ce marqueur a été montré par Bouaziz *et al.* car la valeur absolue du nombre de cellules de Sézary CD3+CD158k+ détectée en immunophénotypage s'est révélée plus sensible que la valeur absolue obtenue en cytomorphologie dans l'évaluation de la masse tumorale sanguine (159). Quelques années auparavant déjà, une forte corrélation avait été trouvée entre le pourcentage de lymphocytes circulants CD158k+ et le pourcentage de CS décrit par cytologie. Ces mêmes lymphocytes CD4+CD158k+ correspondaient à la population maligne clonale évaluée grâce à l'immunoscope (amplification par PCR des différentes régions CDR3 ; les produits d'élongations fluorescents obtenus sont ensuite séparés sur gel par migration)(66).



**Figure 10 : Structure de KIR3DL2** d'après « Ortonne, N., Bagot, M., & Bensussan, A. (2006). KIR3DL2: une nouvelle étape dans l'histoire du syndrome de Sézary. *M/S: médecine sciences*, 22(8-9), 691-693. ». Chaque monodimère possède 3 parties principales : une partie extracellulaire (constituée de 3 domaines immunoglobuliniques), une partie transmembranaire et une longue partie intracytoplasmique. Lors du contact avec le ligand du CMH de classe1, les résidus tyrosine des motifs ITIMs du domaine intracellulaire vont être phosphorylés et vont recruter une phosphatase cytosolique (SHP-1). Cette dernière va déphosphoryler certaines tyrosines kinases entrant en jeu dans l'engagement des récepteurs activateurs.

L'antigène CD158k/KIR3DL2 est donc le premier antigène spécifique associé aux cellules de Sézary et donc, le premier marqueur permettant de distinguer un SS d'un MF en plaques ou d'une érythrodermie inflammatoire bénigne. Il existe un parallélisme entre l'évolution clinique et la détection du marqueur (49) ; la disparition des CS dans le sang est corrélée à la disparition des cellules CD4+CD158k+ circulantes en post thérapeutique. Son utilisation en routine paraît donc intéressante afin d'évaluer la masse tumorale sanguine au diagnostic et lors du suivi (66).

### Recherche d'une clonalité

La méthode moléculaire de référence pour le diagnostic de lymphome cutané primitif est la recherche d'une clonalité du récepteur du TCR par PCR-DGGE (*Polymerase Chain Reaction - Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) dans la peau et le sang ; avec une sensibilité de plus de 75% et une spécificité supérieure à 90% (161). En effet, la recherche par PCR d'un clone cellulaire T dominant exprimant un même récepteur T et nettement représenté parmi les autres populations de lymphocytes T paraît indispensable dans la démarche diagnostique d'un CTCL. La spécificité de cet examen est renforcée si un même clone T lymphocytaire est mis en évidence sur différentes biopsies cutanées (163,164). De même, on recherche un clone T dominant sur les lymphocytes circulants pour le comparer à cet éventuel clone cutané. En effet, un clone sanguin isolé, de faible intensité ou différent du clone cutané de référence est sans valeur diagnostique (163)(164) ; on peut tout à fait retrouver un clone cellulaire de faible intensité, donc minoritaire, chez des patients n'ayant pas de lymphome cutané primitif T voire sains (64). Bien qu'il ait été démontré qu'un réarrangement clonal du TCR dans le sang est fréquent aux stades précoces de la maladie MF/SS et cela même sans qu'on retrouve une population significativement anormale en cytologie ou immunophénotypage (64) ; il est possible que le clone ne soit pas détecté ou qu'un profil polyclonal ressorte de l'examen (163). La découverte d'un clone sanguin par PCR-DGGE ne constitue donc pas un critère spécifique en soi mais par contre, en association avec la présence du même clone au niveau cutané, il

s'agit d'un critère pronostique important et ce, indépendamment de l'extension cutanée de la pathologie (50).

D'autres techniques permettent la mise en évidence d'un réarrangement clonal du TCR. Le Southern-Blot est une technique bien validée, utilisée pendant de nombreuses années, pouvant détecter une population clonale dès que celle-ci atteint 5% de la population cellulaire étudiée. Elle reste malgré tout moins sensible que les techniques par PCR (47). Une approche alternative pour la démonstration d'une clonalité T sanguine réside dans la cytométrie en flux et l'utilisation d'un panel d'anticorps spécifiques pour les parties variables de la chaîne beta du TCR (TCR-Vb) (165). Cette technique a prouvé sa sensibilité et sa spécificité dans la détection d'une clonalité cellulaire T ; la sensibilité étant augmentée si l'on fenêtré l'analyse sur une sous population présentant des aberrations phénotypiques (166). Pour finir, une dernière méthode d'analyse récente, GeneScan, combinant PCR avec amorces fluorescentes et électrophorèse capillaire, permet de détecter un clone T sanguin et cutané à partir d'un échantillon sanguin et d'au moins deux biopsies cutanées de deux sites différents. Cette technique permet de différencier une hétérogénéité d'une homogénéité clonale ; cette dernière s'associant à une épidermotropisme, un infiltrat cutané plus dense, un nombre plus élevé de CS circulantes et semble apparaître comme mauvais facteur de pronostic. Une hétérogénéité clonale est retrouvée dans moins de la moitié des cas de MF mais dans 80% des cas de SS. Cette méthode d'analyse permettrait également d'identifier les patients répondeurs au traitement (73).

### Cytogénétique

Il n'existe pas de marqueur cytogénétique caractéristique du syndrome de Sézary même si les anomalies chromosomiques sont fréquentes et ont été identifiées sur de nombreux chromosomes (167). Le chromosome 7 (où est localisé le gène gamma du TCR) semble être celui qui présente le plus souvent des anomalies d'après les études récentes (28). Les gains chromosomiques semblent être plus fréquents dans le SS que les pertes (170,171) mais les anomalies chromosomiques observées son souvent

complexes, numériques et/ou structurales, impliquant divers chromosomes et sans réarrangement spécifique (47).

Des altérations récurrentes sur certains gènes ainsi que des aberrations dans la synthèse d'ARN ont été identifiées dans le SS. Cette instabilité chromosomique peut créer des pertes, sous-expressions de protéines et potentiellement influencer sur les fonctions cellulaires, et en particulier sur l'apoptose (170). Ainsi le chromosome 10 est souvent touché par la perte de séquences d'ADN codant pour le gène Fas (famille du récepteur TNF pouvant médier la mort cellulaire par apoptose) et le chromosome 8 surexprime fréquemment l'oncogène cMYC. La dérégulation de la voie de cMYC est d'ailleurs l'un des éléments clés dans la pathogenèse du SS. La voie de signalisation de l'IL2 est touchée par un gain des gènes STAT3/STAT5 ainsi que du récepteur à l'IL2 (170). L'inhibition pharmacologique de STAT3 a d'ailleurs montré une induction de l'apoptose dans les CTCL (171). Ce facteur de transcription STAT3 régule quelques gènes cibles des CTCL : régulateurs de l'apoptose (ex. Bcl-2), certaines cytokines (ex. IL5, IL13) et des suppresseurs de signaux cytokines (ex. SOCS). STAT3 régule aussi indirectement l'expression génique en induisant l'expression de l'ADN méthyltransférase1 qui contrôle le silence des gènes suppresseurs de tumeurs par mécanismes épigénétiques (172). Egalement due à cette instabilité génétique, l'expression des microARN (miRNA) dans les cellules tumorales est régulée négativement chez les patients Sézary, empêchant ainsi la synthèse de nombreuses protéines (miR-342 principalement) (173).

L'étude cytogénétique conventionnelle montre que la mise en évidence d'un caryotype anormal, tout comme la présence de cellules tumorales circulantes aneuploïdes sont associées à un mauvais pronostic (47,176). La prise en compte d'un caryotype anormal dans le diagnostic de SS fait d'ailleurs partie des recommandations de l'ISCL parmi les critères hématologiques (50).

## Rôle des différentes techniques dans le diagnostic et le suivi

Comme nous l'avons vu précédemment, l'ISCL et l'EORTC ont révisé la classification du MF/SS en 2007. Une définition clinico-biologique plus précise a été intégrée et l'accent a été mis sur l'importance de la quantification de la masse tumorale sanguine aussi bien pour le diagnostic, le pronostic que pour la prise en charge du patient (12). L'évaluation du nombre de cellules de Sézary présentes dans le sang périphérique (reflet de la masse tumorale circulante) a fait l'objet d'assez nombreuses études. L'expression via le nombre de CS par rapport au nombre de lymphocytes n'a pas été retenu comme critère pertinent dans la classification et la prise en charge des patients ; historiquement, les seuils de 5% (en 1978) puis de 20% (en 1988) de lymphocytes « atypiques » pour 100 lymphocytes étaient utilisés (50,75,177). Mais étant donné que l'on peut retrouver un taux supérieur à 20% dans certaines situations (érythrodermies bénignes, réticulose actinique, réaction médicamenteuse pseudo lymphomateuse, etc...), l'expression du nombre de CS en valeur absolue semble plus discriminante et mieux refléter la masse tumorale sanguine. L'ISCL a donc privilégié l'expression en nombre de cellules de Sézary par mm<sup>3</sup> ou en G/L ; un nombre > 1000 CS / mm<sup>3</sup> (ou > 1G/L) constitue un critère diagnostique et un critère pronostique indépendant des atteintes cutanées et ganglionnaires (50). Le nombre absolu de CS est calculé ainsi : [valeur absolue du nombre des globules blancs] x [% de CS pour 100 globules blancs] (159). La quantification précise des cellules T néoplasiques est importante car elle conditionne une classification TNM correcte pour les syndromes de Sézary.

La recherche de cellules de Sézary est effectuée lorsque le diagnostic de SS est suspecté, et plus généralement quand une érythrodermie n'est pas étiquetée facilement (seulement 5% de ces érythrodermies correspondront à un MF/SS) (161). De plus, l'identification et la quantification des CS sur frottis sanguin nécessitent des cytologistes entraînés. Le compte obtenu reste dépendant de la qualité de l'observateur et de sa capacité à différencier des aspects morphologiques proches, surtout lorsque le nombre de cellules est faible, qu'il s'agit d'un variant à

petites cellules ou de pseudo cellules de Sézary. Le résultat doit donc être interprété avec prudence et d'autres critères doivent être associés à l'étude cytologique, sauf si les CS sont très caractéristiques et que le contexte clinicohistologique est très évocateur (12,178,54). Cette méthode de quantification des cellules malignes circulantes étant très chronophage et souffrant d'une variabilité inter observateurs significative, de nouvelles techniques plus sensibles et plus spécifiques se sont imposées d'elles-mêmes (cytométrie en flux et techniques moléculaires) (47). De plus, il a été démontré que la cytologie sous évaluait la masse tumorale circulante en comparaison à la cytométrie en flux (179,141). Ainsi, le pourcentage des cellules lymphocytaires CD3+CD158k+ semble particulièrement sensible dans la détection des cellules tumorales circulantes, montrant une bonne corrélation avec l'évaluation morphologique (159).

Bien que la recherche de cellules de Sézary puisse être effectuée par immunophénotypage et/ou analyse moléculaire dans la plupart des laboratoires d'hématologie cellulaire, l'analyse cytologique des frottis sanguins reste la principale méthode pour le rendu de cette quantification. La cytologie des CS est, comme nous l'avons déjà évoqué, peu sensible, chronophage et requiert du personnel compétent et entraîné dans ce domaine (résultats cytologiste-dépendants). Afin de rendre les résultats les plus justes possibles, l'utilisation d'algorithmes utilisant les performances des automates d'hématologie cellulaire (178) et l'ajout de nouveaux marqueurs phénotypiques ou moléculaires dans le bilan effectué en laboratoire pourraient être d'une aide précieuse au cytologiste dans le but d'augmenter sensibilité et spécificité dans le rendu de résultat concernant la recherche de cellules de Sézary dans le sang périphérique.

## **Partie 2 : Evaluation de l'apport de la cytométrie en flux dans la recherche de cellules de Sézary par une comparaison avec la cytologie.**

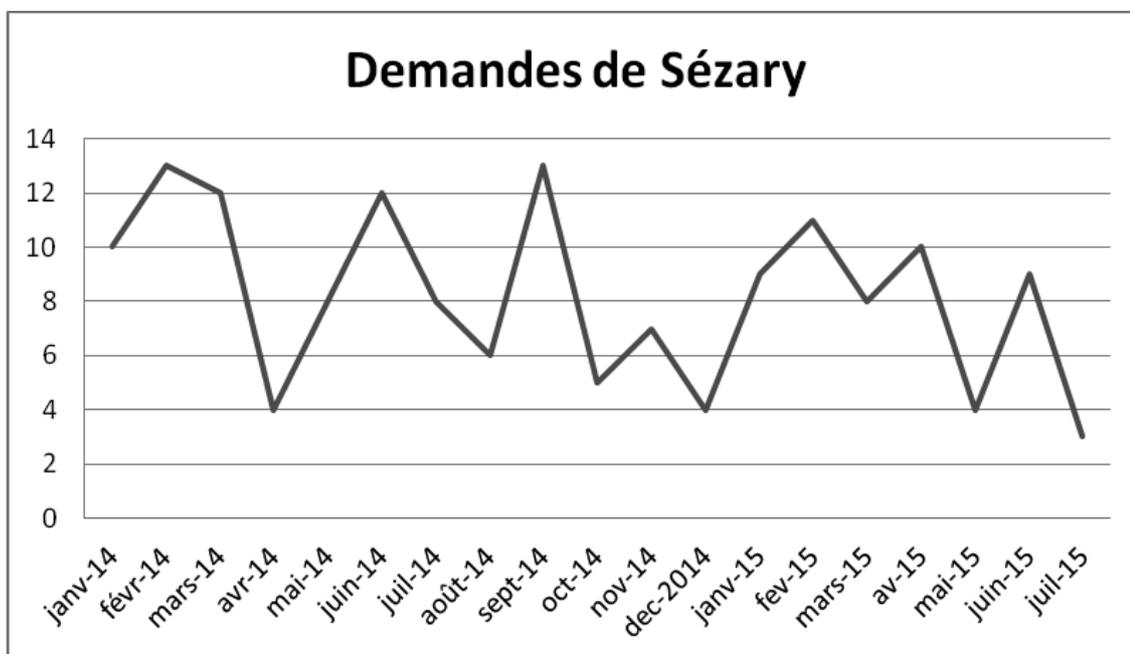
### **1) Rationnel et objectif**

Au sein du CHU de Rouen, la recherche de cellules de Sézary est un examen prescrit en moyenne 8.2 fois par mois (**Figure 11**) et en grande partie par le service de dermatologie. Elle est en général accompagnée d'une demande d'immunophénotypage lymphocytaire sanguin avec recherche d'un réarrangement clonal du TCR et parfois d'une biopsie cutanée pour la recherche de ce même réarrangement. L'examen cytomorphologique du frottis sanguin est réalisé par l'un des deux cytologistes du laboratoire d'hématologie et le résultat est exprimé en pourcentage de cellules de Sézary pour cent lymphocytes examinés. Le panel actuel d'anticorps monoclonaux pour l'analyse en cytométrie en flux comporte les marqueurs suivants : CD45, CD3, CD4, CD5, CD8, CD19, CD20 ainsi que les chaînes légères kappa et lambda ; l'élément clé du résultat étant la valeur du rapport CD4/CD8.

Au vu des données de la littérature concernant la quantification des cellules de Sézary circulantes (en nombre de CS / mm<sup>3</sup>) et de l'existence de marqueurs phénotypiques discriminants en cytométrie en flux, il nous est apparu nécessaire de réévaluer nos pratiques au sein du laboratoire afin d'optimiser le rendu de résultat pour qu'il soit le plus fiable possible.

L'objectif principal de cette première partie est donc d'évaluer les résultats de cytomorphologie et ceux d'immunophénotypage en comparant le nombre absolu de cellules de Sézary et celui des lymphocytes CD3+CD4+CD158k+. L'objectif secondaire est de juger de la performance des marqueurs CD7 et CD26 afin de d'évaluer leur pertinence et donc leur

place dans un futur panel d'immunophénotypage dédié au syndrome de Sézary.



**Figure 11** : Evolution des prescriptions de « recherche de cellules de Sézary » entre janvier 2014 et juillet 2015 au CHU de Rouen

## 2) Matériel et méthode

### Patients

Durant le suivi prospectif entre mars 2015 et juillet 2015, 32 demandes de « recherche de cellules de Sézary » ont été enregistrées au laboratoire d'hématologie du CHU de Rouen. 11 de ces échantillons n'ont pas pu être analysés dans le cadre du protocole mis en place pour l'étude pour des raisons logistiques. 20 patients ont donc finalement été inclus dans ce suivi prospectif. Deux patients parmi les 20 avaient eu auparavant un prélèvement analysé en phase d'essai (l'un en décembre 2014 et l'autre en février 2015) ; les résultats ayant été obtenus dans les mêmes conditions analytiques, ils ont été inclus afin d'augmenter l'effectif (n=23 échantillons, pour 20 patients ; patient 1= 2 échantillons traités ; patient 2= 3 échantillons

traités). Le critère d'inclusion dans l'étude était la demande d'une recherche de cellules de Sézary. Aucun critère d'exclusion n'a été retenu.

### Cytomorphologie

Les frottis sanguins ont été examinés par les deux cytologistes référents du laboratoire, en aveugle. L'expression habituelle du résultat en nombre de cellules de Sézary pour 100 lymphocytes a été conservée ; la moyenne des deux lectures étant retenue. La masse tumorale circulante exprimée en nombre de cellules de Sézary par mm<sup>3</sup> a été calculée comme ceci : [% de CS pour 100 lymphocytes] x [nombre absolu des lymphocytes].

### Cytométrie en flux

Parallèlement, le même prélèvement sanguin était analysé à J0 ou J1 en cytométrie en flux. Un marquage 9 couleurs a été effectué sur chaque échantillon ; les fluorochromes suivants ont été utilisés : CD45 Krome Orange (Beckman Coulter), CD3 APC Alexa Fluor 750 (Beckman Coulter), CD4 PB (Beckman Coulter), CD5 PE-Cy5.5 (Beckman Coulter), CD7 FITC (Beckman Coulter), CD8 APC Alexa Fluor 700 (Beckman Coulter), CD56 PE-Cy7 (Beckman Coulter), CD26 APC (Miltenyi Biotec) et CD158e/k PE (Miltenyi Biotec).

L'analyse des populations lymphocytaires a été effectuée après réalisation des étapes décrites sur la **figure 12**. Un minimum de 15000 évènements leucocytaires a été recueilli sur chaque échantillon ; le fenêtrage étant effectué sur la taille des éléments (*forward light scatter*) et le CD45. L'analyse des données était effectuée grâce au logiciel Kaluza.

Le nombre absolu de cellules de Sézary était obtenu ainsi : [nombre absolu des lymphocytes] x [pourcentage de lymphocytes CD3+CD4+CD158k+]. Les pourcentages de cellules lymphocytaires CD3+CD4+CD7- et CD3+CD4+CD26- ont également été mesurés.

Mise en contact du mélange d'anticorps pré cités avec 50 $\mu$ L de sang total (conservé à température ambiante sur tube EDTA) puis incubation 15 min à température ambiante à l'abri de la lumière



Ajout de la solution de lyse (9.5 $\mu$ L d'Iotest3 et 740 $\mu$ L de Versalyse, Beckman Coulter) et incubation 15 min à 25°C



Lavage au PBS-BSA, élimination du surnageant par centrifugation puis retournement.



Remise en suspension des leucocytes dans 1 mL de PBS-BSA et lecture sur le cytomètre Navios (Beckman Coulter)

**Figure 12** : Protocole d'analyse des échantillons sanguins en cytométrie en flux

### Statistiques

Des tests non paramétriques ont été utilisés (effectif réduit). La comparaison entre les populations Sézary et non Sézary a été réalisée grâce au test de Wilcoxon-Mann Whitney. La corrélation entre les pourcentages de cellules CD3+CD4+CD158k+ et les pourcentages de

cellules de Sézary en cytomorphologie (d'après la moyenne des 2 lecteurs) a été calculée par le test de corrélation de Spearman. Le test des rangs signés de Wilcoxon pour échantillons appariés a été utilisé pour étudier la différence entre les pourcentages de CS rendus en cytomorphologie et par immunophénotypage. Une valeur de  $p < 0.05$  a été considérée comme statistiquement significative.

### 3) Résultats

20 patients ont été inclus dans cette étude et 23 échantillons ont été analysés (2 pendant les essais du réactif et 21 pendant le suivi prospectif). Comme précisé dans le **tableau 7**, un patient a eu 2 échantillons analysés (1 et 1bis) et un autre patient en a eu 3 (2, 2bis et 2ter).

#### Caractéristiques de la population étudiée

Le sex ratio homme/femme était de 9:1 et la moyenne d'âge de 62.6 ans [de 36 à 89 ans ; médiane à 65 ans]. 5 patients étaient connus pour un syndrome de Sézary ; le diagnostic fut posé à Rouen (pour 4 des patients) sur l'association de critères cliniques, anatomopathologiques et de mise en évidence d'une clonalité ; le cinquième patient ayant été diagnostiqué sur Caen. Parmi les patients non Sézary, quatorze présentaient les diagnostics suivants: toxidermie eczématiforme, mycosis fongoïde (n=4), lymphome T CD30+ (n=2), prurit chronique, érythrodermie carencielle (PP et Zinc), éruption eczématiforme paranéoplasique, prurit diffus (secondaire à un syndrome lymphoprolifératif B), dermatite atopique sévère, parapsoriasis, érythrodermie paranéoplasique. Un des patients non Sézary n'avait pas de diagnostic posé au moment du recueil des données.

#### Caractéristiques lymphocytaires

Les principales caractéristiques des populations lymphocytaires ont été résumées dans le **tableau 8** ; les lignes grises mettant en évidence les patients avec un diagnostic de syndrome de Sézary. Les seuils de positivité

des marqueurs sont établis, par convention, à 30% de la population lymphoïde d'intérêt.

Patient	rapport CD4/CD8	CD3+CD4+CD158k+ % *	CD3+CD4+CD26- % *	CD3+CD4+CD7- % *
<b>1</b>	<b>44,1</b>	<b>60,1</b>	<b>nr **</b>	<b>41,7</b>
<b>1bis</b>	<b>80,2</b>	<b>68,2</b>	<b>76,2</b>	<b>37,1</b>
<b>2</b>	<b>7,8</b>	<b>43,8</b>	<b>nr **</b>	<b>53,4</b>
<b>2bis</b>	<b>5,9</b>	<b>35,2</b>	<b>31,8</b>	<b>48,3</b>
<b>2ter</b>	<b>15,0</b>	<b>53,2</b>	<b>39,6</b>	<b>64,1</b>
3	9,2	0,6	4,6	7,3
4	2,6	0,1	4,7	4,1
5	2,7	1,5	3,2	1,9
6	3,2	3,4	6,6	4,3
7	5,9	0,2	4,0	2,4
<b>8</b>	<b>79,2</b>	<b>76,8</b>	<b>62,9</b>	<b>0,4</b>
9	1,7	6,5	18,4	12,3
10	4,2	2,2	6,9	4,6
11	7,4	2,5	12,6	6,4
12	1,0	5,2	30,8	27,8
13	2,2	12,0	9,3	4,8
<b>14</b>	<b>16,8</b>	<b>59,7</b>	<b>53,9</b>	<b>48,1</b>
15	8,0	2,3	23,2	7,7
<b>16</b>	<b>12,3</b>	<b>79,8</b>	<b>83,4</b>	<b>67,3</b>
17	2,3	5,4	11,4	6,6
18	1,6	3,3	14,3	3,7
19	0,8	2,1	14,9	7,8
20	3,6	4,3	25,0	8,5

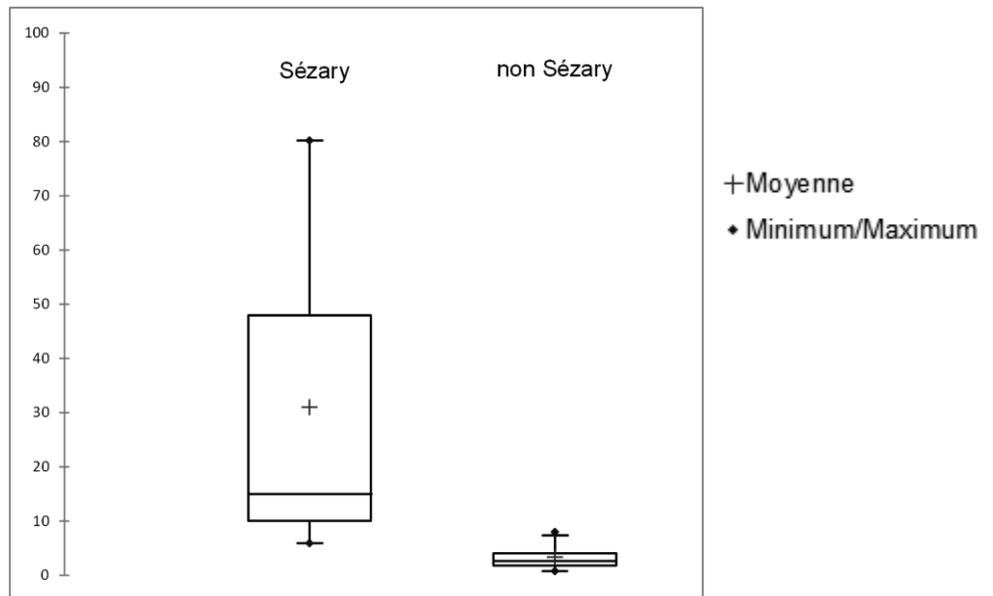
\*pourcentage parmi cellules lymphocytaires analysées

\*\*nr : non renseigné

**Tableau 8** : Résultats concernant les principales caractéristiques phénotypiques des cellules étudiées.

#### Analyse des rapports CD4/CD8

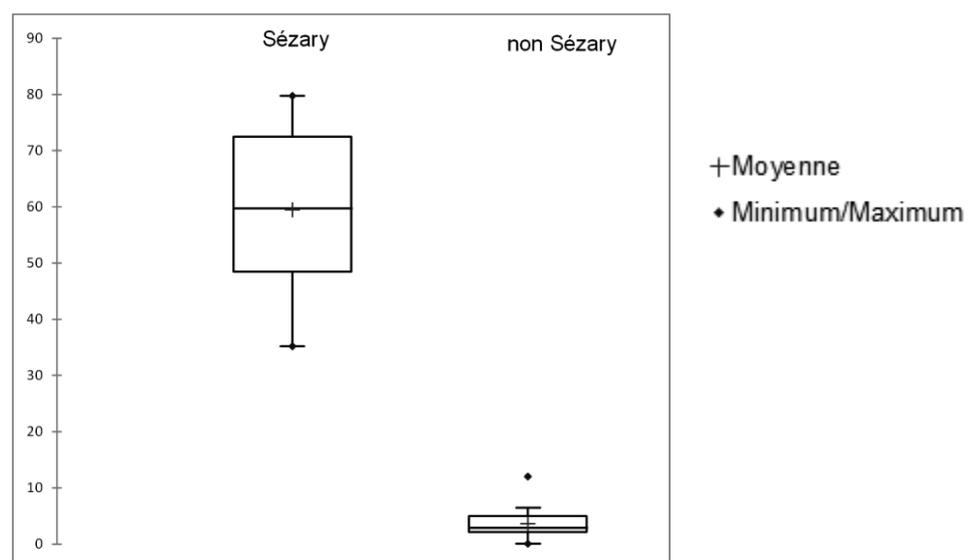
6 échantillons sanguins montraient un rapport CD4/CD8  $\geq 10$  : 0/15 parmi les patients non Sézary (0%) et 6/8 parmi les patients Sézary (75%). Une différence significative ( $p < 0.0001$ ) est retrouvée entre ces 2 groupes (Sézary et non Sézary) (**Figure 13**)



**Figure 13** : diagrammes en boîte illustrant la comparaison des patients Sézary et non Sézary sur le paramètre « rapport CD4/CD8 »

#### Analyse de la population CD3+CD4+CD158k+

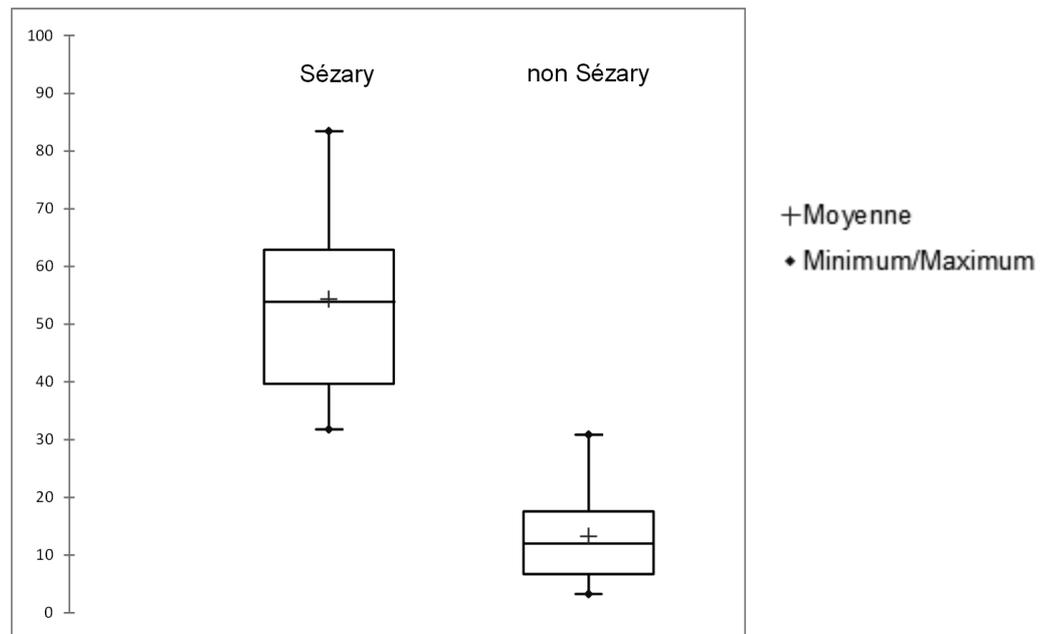
On retrouve une différence statistiquement significative entre Sézary et non Sézary ( $p < 0.0001$ ) (**Figure 14**) concernant le pourcentage de cellules lymphocytaires CD3+CD4+CD158k+ mesuré par immunophénotypage ; 0/15 échantillons retrouvés positifs chez les non Sézary (0%) et 8/8 échantillons positifs pour les patients Sézary (100%).



**Figure 14** : diagrammes en boîte illustrant la comparaison des patients Sézary et non Sézary sur le paramètre « pourcentage de cellules lymphocytaires CD3+CD4+CD158k+ »

### Analyse de la population CD3+CD4+CD26-

7 échantillons ont montré un taux supérieur à 30% de cellules CD3+CD4+CD26- : 1/15 chez les patients non Sézary (6,7%) et 6/6 parmi les Sézary (100%). Une différence significative est constatée entre les 2 groupes  $p < 0.0001$  (**Figure 15**)

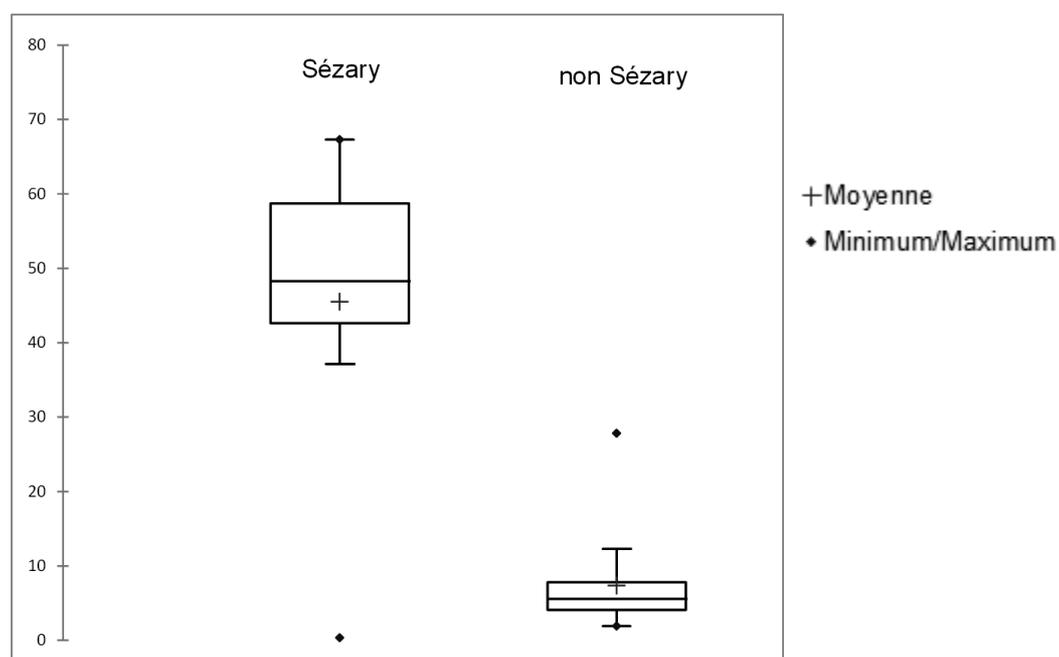


**Figure 15** : diagrammes en boîte illustrant la comparaison des patients Sézary et non Sézary sur le paramètre « pourcentage de cellules lymphocytaires CD3+CD4+CD26- »

### Analyse de la population CD3+CD4+CD7-

6 patients avaient un taux de CD3+CD4+CD7- supérieur à 40% : 0/15 parmi les non Sézary (0% dont un à la limite de la positivité) et 6/8 parmi les patients Sézary (75%) ; différence également significative entre Sézary et non Sézary ( $p = 0.004$ ) (**Figure 16**).

Au total, il apparaît assez clairement que l'utilisation des anticorps CD158k, CD26 et CD7 permet une bonne identification des populations de cellules de Sézary.



**Figure 16** : diagrammes en boîte illustrant la comparaison des patients Sézary et non Sézary sur le paramètre « pourcentage de cellules lymphocytaires CD3+CD4+CD7- »

#### Comparaison des résultats de cytologie et de cytométrie en flux

Concernant l'évaluation du nombre de cellules de Sézary (**tableau 9**), on observe une différence statistiquement significative entre les pourcentages rendus en cytomorphologie (moyenne des 2 cytologistes) et ceux retrouvés en immunophénotypage avec un  $p=0.001$  (**Figure 17**). Lorsque l'on isole les patients Sézary, cette différence significative est également retrouvée ( $p=0.02$ ).

Lors de l'expression des résultats en valeur absolue (nombre de CS/mm<sup>3</sup>), on constate également une différence statistiquement significative ( $p=0.001$ ) entre les valeurs absolues obtenues par cytomorphologie et immunophénotypage pour l'ensemble des échantillons. Cette différence devient non significative ( $p=0.18$ ) quand on isole les résultats des patients Sézary.

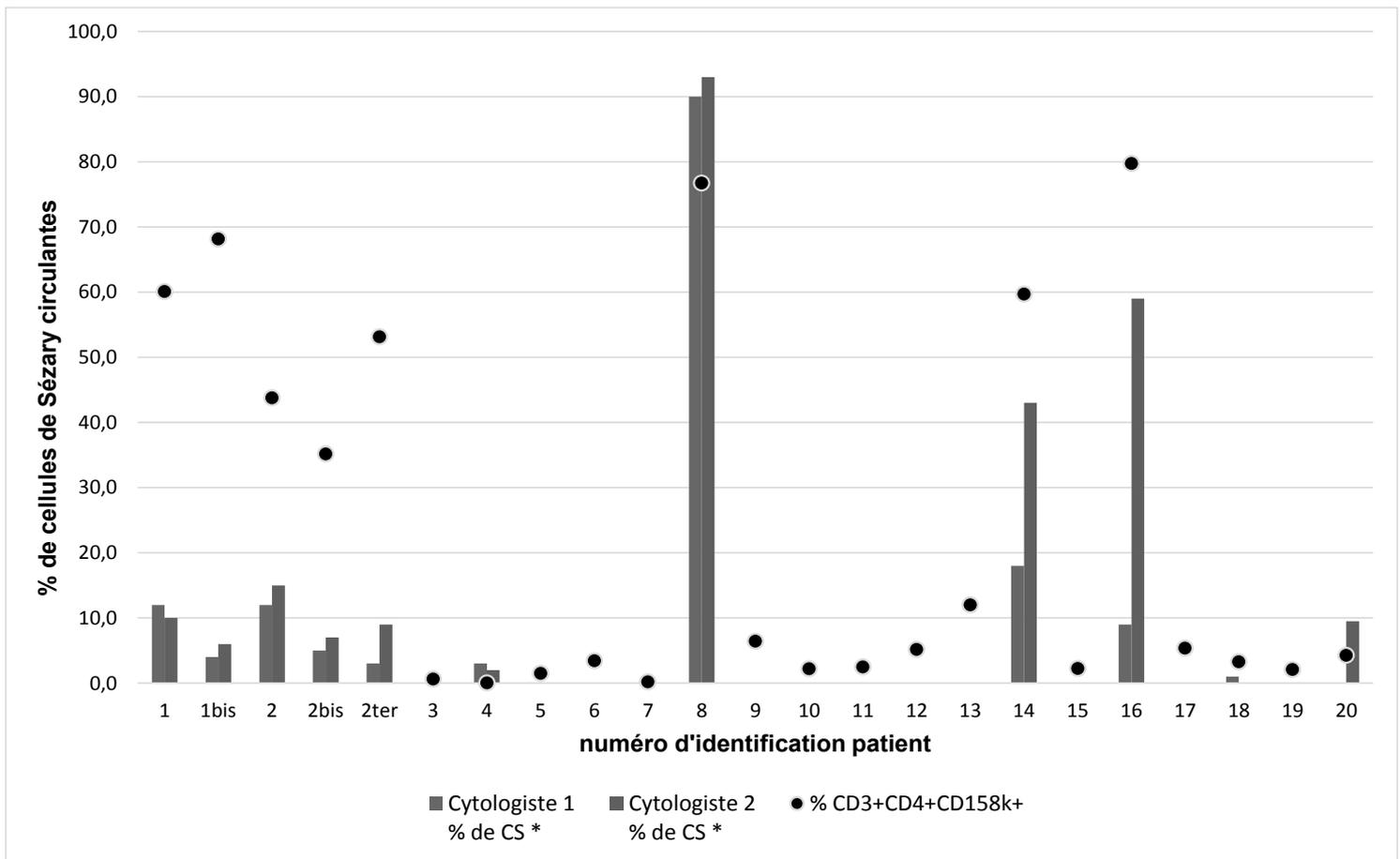
Selon les critères TNM applicables, 6/8 patients Sézary (75%) auraient été classés en stade B1 par l'analyse cytologique et 2/8 en stade B2 (25%) tandis qu'avec la cytométrie en flux, 5/8 patients Sézary (62,5%) auraient été classés en stade B2 et donc 3/8 en stade B1 (37,5).

Une différence significative (p=0.02) peut également être mise en évidence entre les cytologistes sur les pourcentages de cellules de Sézary rendus ; principalement pour les patients 14,16 et 20.

Patient	Cytologiste 1 % de CS *	Cytologiste 2 % de CS *	% CD3+CD4+CD158k+ **	chiffre absolu de CS	chiffre absolu de CD3+CD4+CD158k+
1	12,0	10,0	60,1	235,8	1179,9
1bis	4	6	68,2	380,2	1919,7
2	12	15	43,8	47,4	519,0
2bis	5	7	35,2	93,5	548,2
2ter	3	9	53,2	120,0	1063,9
3	0	0	0,6	0,0	1,2
4	3	2	0,1	29,6	0,8
5	0	0	1,5	0,0	15,0
6	0	0	3,4	0,0	66,2
7	0	0	0,2	0,0	1,4
8	90	93	76,8	24949,3	20930,1
9	0	0	6,5	0	40,5
10	0	0	2,2	0	11,0
11	0	0	2,5	0	19,3
12	0	0	5,2	0	122,2
13	0	0	12,0	0	29,1
14	18	43	59,7	281,8	551,8
15	0	0	2,3	0	43,0
16	9	59	79,8	1254,6	2942,9
17	0	0	5,4	0	42,7
18	1	0	3,3	9,8	64,3
19	0	0	2,1	0	54,3
20	0	9,5	4,3	39,2	35,3

\*pour 100 lymphocytes examinés au microscope / \*\*parmi la population lymphocytaire analysée

**Tableau 9** : Résultats concernant l'évaluation du nombre de cellules de Sézary (en pourcentage et en valeur absolue) au microscope versus par cytométrie en flux.

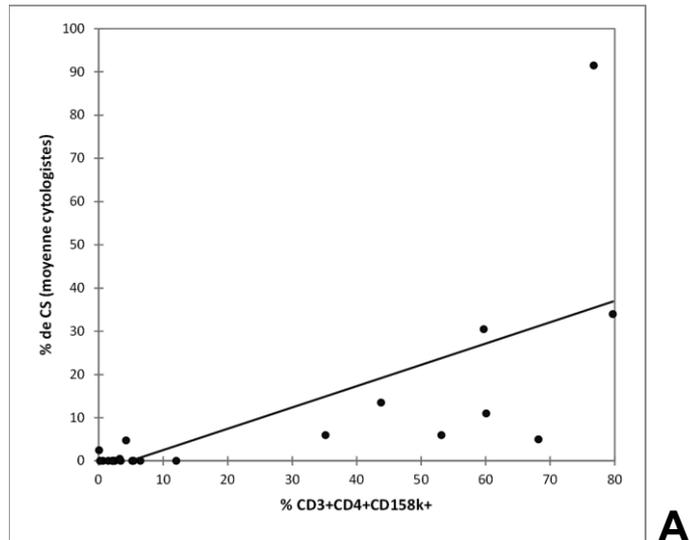


**Figure 17** : Graphique combiné illustrant en parallèle les pourcentages de CS retrouvés par les 2 cytologistes du CHU et les pourcentages retrouvés en cytométrie en flux.

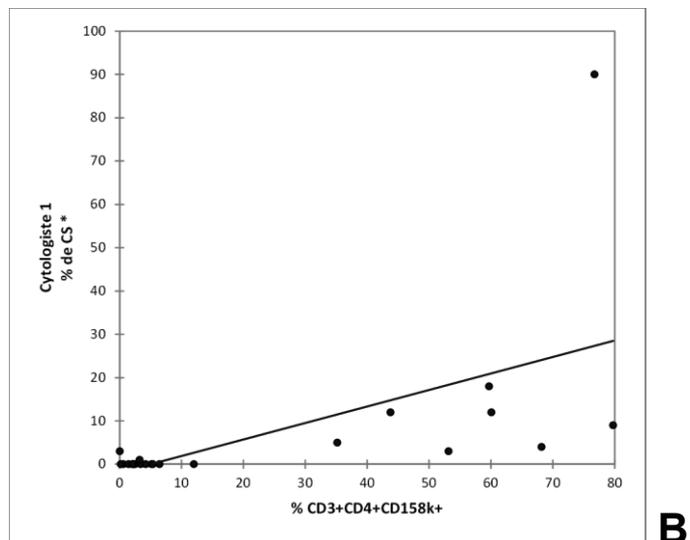
### Etude de la corrélation entre cytologie et immunophénotypage

Pour l'évaluation du nombre de cellules de Sézary, on observe une corrélation positive mais modérée entre les pourcentages rendus en cytomorphologie et en immunophénotypage :  $r_s=0.74$  avec  $p<0.0001$  (**Figure 18A**). Lorsque le résultat est exprimé en nombre absolu de CS, le même coefficient de corrélation est retrouvé:  $r_s =0.76$  avec  $p<0.0001$ .

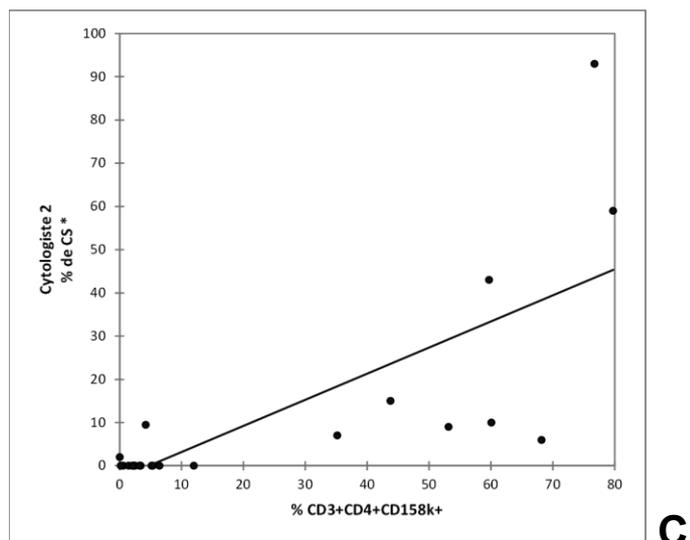
Si l'on étudie la corrélation pour chaque cytologiste, on retrouve des coefficients de corrélation plutôt similaires entre les 2 observateurs :  $r_s=0.70$  pour le cytologiste 1 et  $r_s=0.73$  pour le cytologiste 2 (**Figure 18B et 18C**).



**A**



**B**



**C**

**Figure 18** : Droites de corrélation entre le pourcentage de cellules CD3+CD4+CD158k+ et (A) la moyenne des cytologistes, (B) le cytologiste 1 et (C) le cytologiste 2.

Au total, la cytométrie en flux semble supérieure à la cytomorphologie et plus discriminante quant à l'évaluation des cellules de Sézary aussi bien en pourcentage qu'en valeur absolue. La discordance observée entre les deux cytologistes du CHU confirme la difficulté de l'analyse morphologique dans la détection des CS et ce, même pour des valeurs importantes (> 20%). La nécessité d'utiliser une technique objective et fiable telle que la cytométrie en flux apparaît donc comme essentielle pour le rendu des résultats.

### **Partie 3 : Evaluation de l'efficacité de la photochimiothérapie extracorporelle par le suivi du marqueur CD158k au cours du temps.**

#### 1) Rationnel et objectif

La photochimiothérapie extracorporelle (PCE) est un des traitements principaux du syndrome de Sézary. Ce traitement est, en pratique, réalisé en deux phases :

- séparation des leucocytes circulants par cytaphérèse puis exposition des cellules ainsi isolées aux UVA en présence d'un photosensibilisant (illumination), le 8-méthoxypsoralène (8-MOP). Cette étape est réalisée sur une matinée sur le site de l'EFS à Bois-Guillaume.
- réinjection au patient des cellules traitées, après adjonction de sérum physiologique, dans le service de dermatologie du CHU de Rouen, dans l'après-midi suivant la cytaphérèse.

Le mécanisme d'action exact de ce traitement reste cependant encore inconnu. Lors de ce procédé, environ 5 à 10% du pool lymphocytaire T est

traité ce qui laisse présager que le mécanisme d'action n'est pas direct. Lors de l'exposition aux UVA, le 8-MOP forme des liaisons covalentes avec les bases pyrimidines des acides nucléiques des cellules traitées, ce qui conduit à des cassures de l'ADN, à l'arrêt du cycle cellulaire et donc l'apoptose des lymphocytes T irradiés sous 72h ainsi qu'à l'activation des cellules présentatrices d'antigènes. Il s'ensuit une réponse lymphocytaire antitumorale spécifique secondaire à la présentation des antigènes tumoraux par les cellules dendritiques (179). Il a été montré que même après élimination des cellules traitées dans le sang, la quantité de cellules T malignes non traitées (sanguine, cutanée et ganglionnaire) diminuait considérablement et indiquait donc une action systémique anti tumorale (180).

Les principales recommandations concernant l'utilisation de la PCE dans le syndrome de Sézary sont les suivantes (181):

- prise en charge initiale suivant un rythme d'un cycle (2 jours consécutifs) toutes les 2 semaines pendant 3 mois, puis une fois par mois.
- traitement effectué pendant une période minimale de 6 mois.
- lorsqu'une réponse est obtenue ou la maladie stabilisée, et que le patient bénéficie d'une bonne qualité de vie, le traitement par PCE ne doit pas être arrêté et doit même être prolongé pendant plus de 2 ans si nécessaire ; l'intervalle entre chaque séance est progressivement espacé (jusqu'à 8 semaines).
- l'évaluation thérapeutique doit être réalisée tous les 3 mois mais il est recommandé d'attendre 6 mois effectifs de traitement avant de conclure à une non-efficacité de la PCE.
- en cas de rémission complète, le traitement par PCE ne doit pas être interrompu mais prolongé sur une longue période avec une extension progressive des intervalles inter PCE.

- en cas de rémission partielle ou de maladie stable, il est suggéré d'envisager une combinaison de traitements ou d'augmenter la fréquence des séances.
- en cas de progression de la maladie, il est suggéré de recourir à une combinaison de traitements, d'augmenter la fréquence des PCE ou bien d'arrêter les séances de PCE en faveur de thérapies antitumorales alternatives.

L'évaluation de l'efficacité de la photochimiothérapie extracorporelle par un marqueur objectif et reproductible est un point important dans l'appréciation de la réponse au traitement. Les critères de l'évaluation de la réponse sont détaillés dans le **tableau 10**. La réponse globale est divisée en 5 catégories (181) :

1- réponse complète RC = disparition complète de toutes les manifestations cliniques de la maladie

2- réponse partielle RP = régression quantifiable de la maladie : soit RC cutanée + RP ou MS dans les autres catégories ; soit RP cutanée + au moins une RC ou RP dans les autres catégories

3- maladie stable MS = échec dans l'obtention d'une RC ou d'une RP mais pas de progression de la maladie

4- maladie en progression MP= progression dans au moins dans une atteinte clinique

5- rechute = rechute dans au moins une des atteintes cliniques

	Réponse complète RC	Réponse partielle RP	Maladie stable MS	Maladie en progression MP	Rechute
<b>Peau</b>	disparition de 100% des lésions	régression de 50 à 99% des lésions sans nouvelle tumeur	majoration des lésions < 25% et régression < 50% sans nouvelle tumeur	majoration des lésions ≥ 25% ou nouvelles lésions ou perte de la réponse	réapparition de la maladie après RC
<b>Viscères</b>	absence d'organomégalie absence d'anomalie à l'imagerie tout nodule suspect doit faire la preuve d'une biopsie négative	régression > 50% des nodules présents et absence de nouvelle organomégalie	hors critères RC, RP, MP	majoration > 50% de la taille de l'organe atteint ou nouvel organe atteint ou perte de la réponse	atteinte d'un nouvel organe après RC
<b>Sang</b>	stade B0	régression > 50% de la masse tumorale sanguine B2	hors critères RC, RP, MP	évolution de B0 à B2 ou majoration > 50% de la masse tumorale (avec 5000 CS/mm <sup>3</sup> min) ou perte de la réponse	majoration de la masse tumorale > B1 après RC

**Tableau 10 : Principaux critères pour l'évaluation de la réponse au traitement par photochimiothérapie extracorporelle** d'après « Knobler, R. et al (2014). Guidelines on the use of extracorporeal photopheresis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 28(s1), 1-37. »

L'objectif principal de cette troisième partie était d'évaluer l'efficacité de la photochimiothérapie extracorporelle en suivant des patients Sézary CD158k+ durant plusieurs séances afin d'estimer la réponse au traitement. L'objectif secondaire était d'observer le comportement du marquage CD3+CD4+CD158k+ avant et après les séances de PCE en l'absence d'études actuellement publiées sur le sujet.

## 2) Matériel et méthode

### Patients et échantillons

3 patients ont été inclus pour ce suivi réalisé entre début février 2015 et mi-juillet 2015; les critères d'inclusion étaient : patient diagnostiqué syndrome de Sézary antérieurement (clinique, réarrangement TCR et anatomopathologie) et marqueur CD158k positif lors des immunophénotypages d'essai (réalisés sur 6 patients, 3 patients avaient un phénotype CD158k- CD7-).

Lors des séances de PCE, 2 échantillons étaient envoyés au laboratoire pour chaque patient. Le premier correspondait au produit de cytophérèse non traité (habituellement envoyé au laboratoire de cytologie pour vérification sur frottis de la qualité de la cytophérèse) et le second était un prélèvement du produit final (après traitement UV et réinjection de sérum physiologique).

### Cytométrie en flux

Les échantillons ont été analysés en cytométrie en flux après 24h de conservation à +4°C. Les prélèvements avant et après illumination par UV étaient techniqués en parallèle. Chaque échantillon a été passé sur l'automate d'hématologie cellulaire XT-4000 (Sysmex) pour avoir une quantification précise du taux de leucocytes. Le prélèvement de

cytaphérèse (avant illumination) était dilué afin d'obtenir un taux de leucocytes inférieur à 30 G/L (recommandations techniques).

Un marquage 8 couleurs a été réalisé, comprenant les anticorps monoclonaux suivants : CD45 Krome Orange (Beckman Coulter), CD3 APC Alexa Fluor 750 (Beckman Coulter), CD4 PB (Beckman Coulter), CD5 PE-Cy5.5 (Beckman Coulter), CD7 FITC (Beckman Coulter), CD8 APC Alexa Fluor 700 (Beckman Coulter), CD56 PE-Cy7 (Beckman Coulter) et CD158e/k PE (Miltenyi Biotec). L'analyse des populations leucocytaires présentes dans l'échantillon s'est faite en suivant les mêmes étapes que dans la partie précédente. Un minimum de 15 000 évènements fut recueilli sur le cytomètre 10 couleurs Navios (Beckman Coulter); le fenêtrage sur la sous population lymphocytaire ayant été fait grâce au CD45 et à la taille des éléments.

Les données recueillies lors des immunophénotypages avant et après PCE étaient:

- le pourcentage de lymphocytes présents dans l'échantillon
- le taux de cellules CD3+CD4+
- le taux de cellules CD3+CD4+CD158k+ (cellules de Sézary)
- la moyenne d'intensité de marquage (= MFI Mean Fluorescence Intensity) pour les CS ainsi que pour les lymphocytes CD3+CD4+
- le taux de cellules CD3+CD4+CD7-.

Afin de tenter de matérialiser l'effet de la PCE, le Rapport des Intensités de Fluorescence (RFI : intensité de marquage des cellules de Sézary du prélèvement rapportée à l'intensité de marquage des cellules non marquées par l'antigène monoclonal (182)) a été déterminé pour chaque échantillon avant et après traitement par PCE. L'intensité de marquage étant proportionnelle à la taille de la cellule et surtout à la densité antigénique (en surface ou nucléaire). Grâce à la

mesure du taux de lymphocytes dans les échantillons avant et après illumination, le nombre absolu de cellules de Sézary a pu être calculé. De même, la numération formule sanguine du jour, demandée par la dermatologie, a permis d'estimer la masse tumorale circulante par proportionnalité (validité du calcul vérifiée grâce à quelques échantillons avec mesure concomitante du nombre absolu de CS dans le sang et dans le produit de cytophérèse).

### Statistiques

Le test des rangs signés de Wilcoxon a été utilisé afin de comparer les ratios de MFI avant et après illumination.

### 3) Résultats

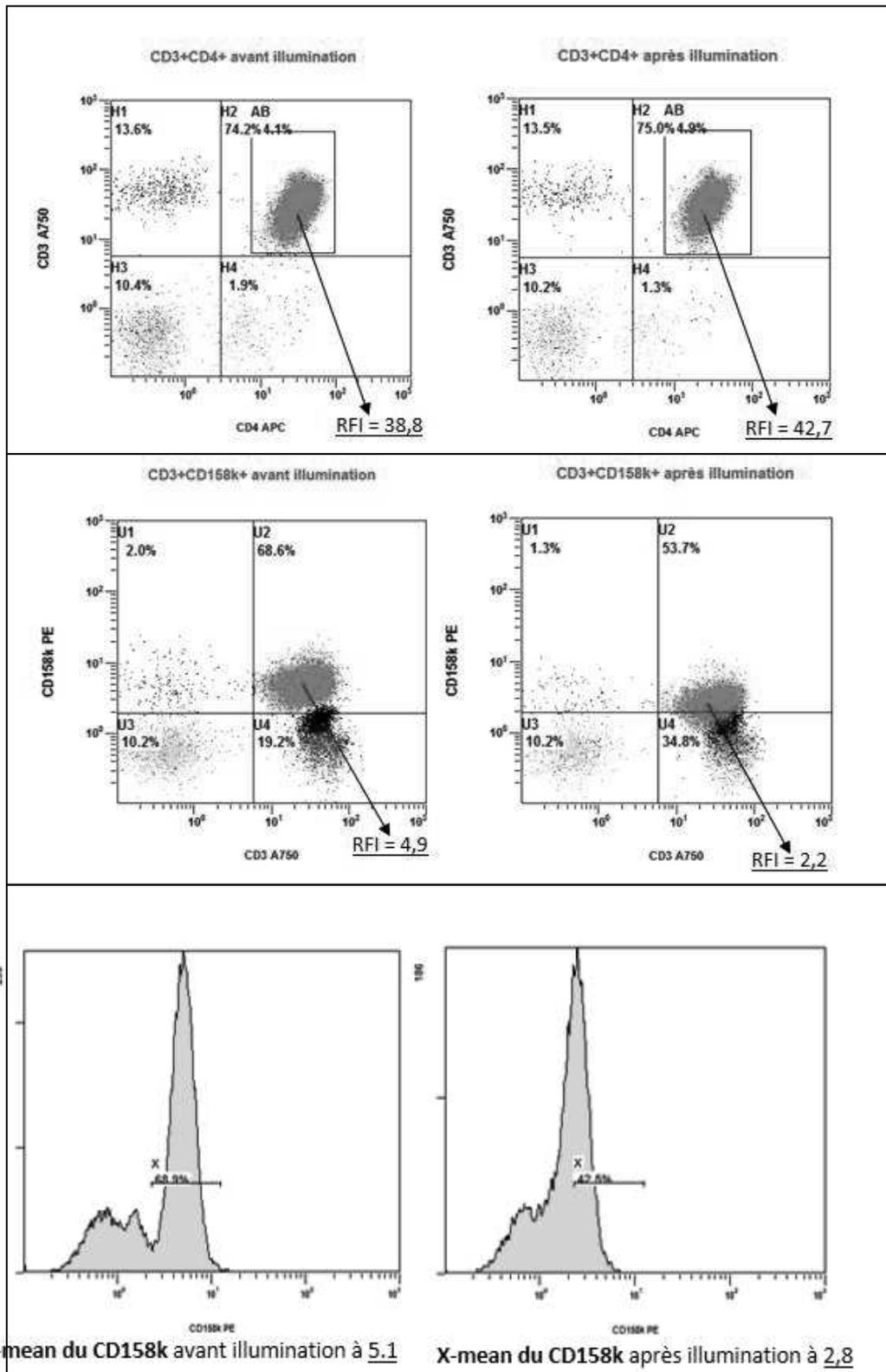
42 échantillons ont été analysés (21 cytophérése, avant et après illumination) sur 3 patients (1 femme et 2 hommes). Le suivi des séances avant et après PCE s'est effectué sur 137 jours en moyenne [127;154] avec un nombre de séances moyen de 7 [4;10].

### Analyse des cellules CD3+CD4+CD158k+ (cellules de Sézary) avant et après PCE

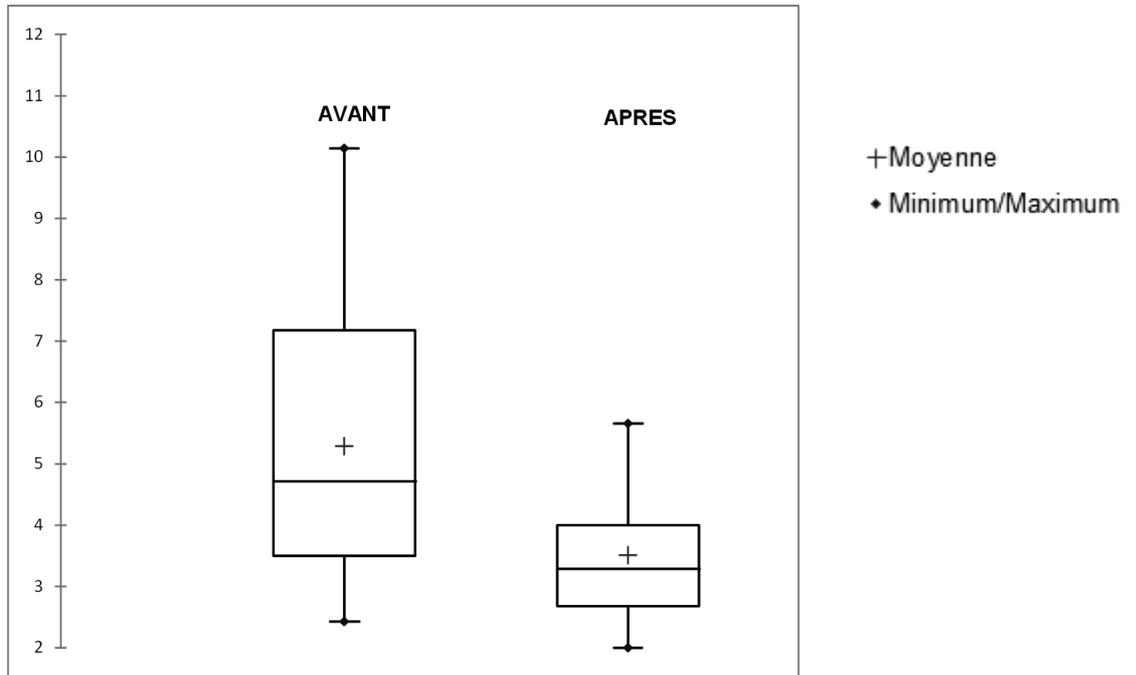
Les échantillons de cytophérèse contenaient, à intensité de marquage égale, 56,6% de lymphocytes CD3+CD4+CD158k+ en moyenne avant traitement par PCE et 38,6% après (**Tableau 11**). En effet, même si on observe le même pourcentage de lymphocytes CD3+CD4+ positifs pour le marqueur CD158k avant et après la PCE, la différence réside dans l'intensité de marquage de ces populations (**Figure 18**). Le RFI était en moyenne de 5.4 avant illumination et de 3.5 après. Une différence statistiquement significative est observée ( $p < 0.0001$ ) entre les RFI avant et après illumination concernant les cellules CD3+CD4+CD158k+ (**Figure 19**). Par contre, concernant les cellules CD3+CD4+ il n'existe pas de différence significative entre RFI avant et après illumination ( $p = 0.42$ ) (**Figure 20**).

			à intensité de marquage égale		% CD3+CD4+CD158k+ avec perte d'intensité de marquage	RFI CD3+CD4+CD158k+	RFI CD3+CD4+CD158k+	RFI CD4	RFI CD4
	% lymphocytes	% lymphocytes	% CD3+CD4+CD158k+	% CD3+CD4+CD158k+					
	AVANT	APRES	AVANT	APRES					
<b>Patient 1</b>									
échantillon 1 / PCE n°52	85,2	82,9	62,6	41,3	21,3	7,6	4,1	40,9	39,0
échantillon 2 / PCE n°53	82,1	80,6	65,6	43,4	22,2	7,3	3,7	41,6	43,8
échantillon 3 / PCE n°54	84,3	82,7	69,6	62,2	7,4	4,7	3,3	46,9	49,8
échantillon 4 / PCE n°55	78,8	68,9	66,8	2,3	64,5	5,3	2,4	40,4	55,3
échantillon 5 / PCE n°56	82,3	80,8	73,3	21,7	51,6	7,3	3,0	55,3	54,0
échantillon 6 / PCE n°58	80,0	80,4	71,8	28,0	43,8	7,0	3,3	49,8	49,4
échantillon 7 / PCE n°61	85,0	83,0	72,9	72,8	0,2	6,0	5,4	47,9	47,8
<b>Patient 2</b>									
échantillon 1 / PCE n°4	66,1	64,3	46,0	27,4	18,6	3,9	2,7	36,3	33,3
échantillon 2 / PCE n°5	61,5	57,0	42,0	30,7	11,2	3,3	2,4	26,6	29,1
échantillon 3 / PCE n°6	52,2	57,3	43,0	36,4	6,6	3,1	2,6	29,1	29,5
échantillon 4 / PCE n°8	61,6	58,0	44,1	39,5	4,6	3,3	2,7	37,0	39,1
échantillon 5 / PCE n°9	62,9	65,5	39,1	41,1	-2,0	2,4	2,3	39,3	38,5
échantillon 6 / PCE n°10	68,1	69,0	37,5	28,1	9,4	3,6	2,7	37,9	39,9
échantillon 7 / PCE n°11	71,2	65,5	44,6	46,8	-2,1	3,6	3,9	32,8	34,0
échantillon 8 / PCE n°12	78,0	70,8	46,7	23,4	23,2	2,7	2,0	26,0	24,6
échantillon 9 / PCE n°14	60,7	59,3	46,6	32,6	14,0	4,4	3,4	26,3	19,1
échantillon 10 / PCE n°15	78,8	76,7	50,9	35,3	15,5	4,7	3,6	30,8	23,9
<b>Patient 3</b>									
échantillon 1 / PCE n°57	68,2	65,7	70,7	58,5	12,2	7,1	5,3	33,9	39,5
échantillon 2 / PCE n°58	65,8	58,3	71,2	65,5	5,7	8,3	5,4	39,3	37,3
échantillon 3 / PCE n°59	64,0	65,7	65,6	48,5	17,1	7,6	4,4	38,6	42,8
échantillon 4 / PCE n°63	48,1	47,7	58,9	24,9	33,9	10,1	5,7	36,6	39,3

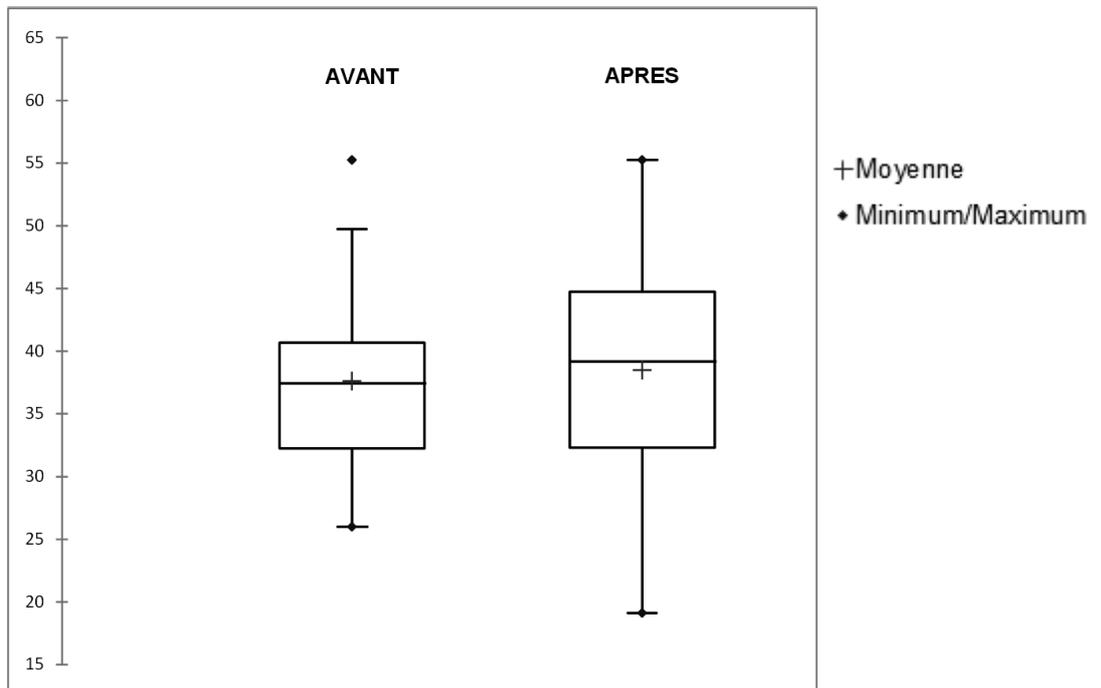
**Tableau 11** : Principaux résultats de l'étude des échantillons de cytophèrese avant et après illumination



**Figure 18** : Cytogrammes d'un échantillon en illustration de l'intensité de marquage avant et après illumination. **(A)** cytogrammes bi paramétriques : les cellules CD3+CD4+ gardent clairement la même intensité de marquage avant et après la séance de PCE (RFI à 38.8 puis 42.7) alors que les CD3+CD4+CD158k+ chutent clairement sur l'axe des ordonnées (RFI de 4.9 avant contre 2.2 après PCE) **(B)** cytogrammes mono paramétriques : seul le CD158k est représenté sur l'axe des abscisses pour une mise en évidence encore plus nette de la diminution de l'intensité de marquage après traitement



**Figure 19** : diagrammes en boite illustrant la comparaison des RFI des cellules CD3+CD4+CD158k+ avant et après illumination



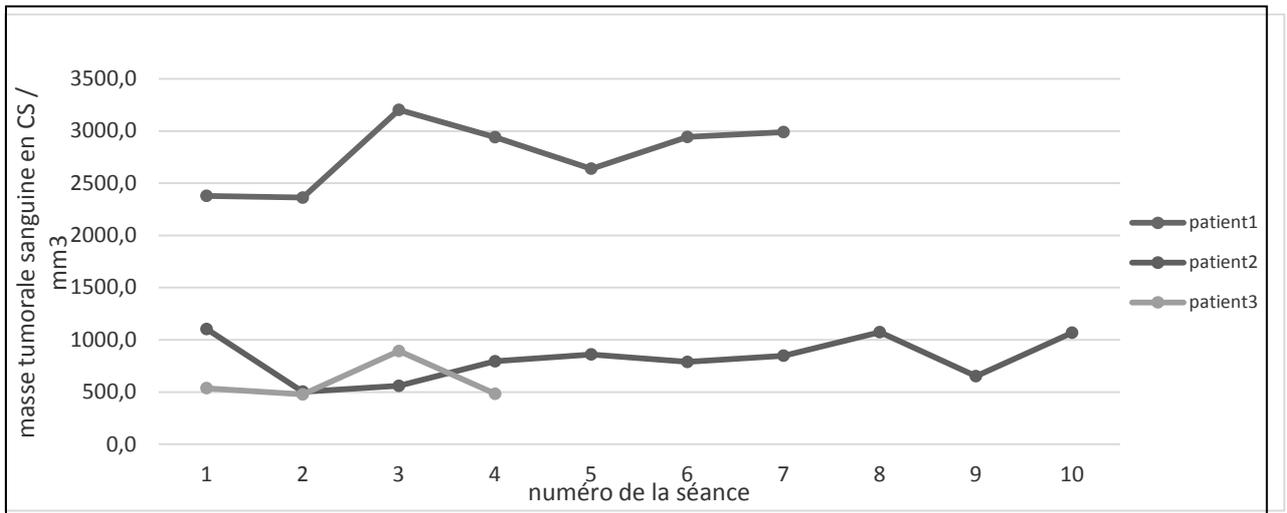
**Figure 20** : diagrammes en boite illustrant la comparaison des RFI des cellules CD3+CD4+ avant et après illumination

## Analyse de la masse tumorale circulante au fil des séances de PCE

Concernant le nombre absolu de cellules de Sézary, les 3 patients étudiés ont montré une maladie stable (MS) durant les mois de suivi des échantillons si l'on se réfère aux critères de réponse (**Tableau 10**). Ainsi, chez le patient 1 une augmentation de 25,7% de la masse tumorale sanguine a été constatée (augmentation inférieure à 50%); les patients 2 et 3 ont respectivement perdu 3,2 et 10,1% de leur masse tumorale du départ de l'étude (**Tableau 12** et **Figure 21**).

	lymphocytes en G/L sang	lymphocytes en G/L AVANT	CD3+CD4+ CD158k+ /mm3 AVANT	Estimation CS/mm3 sang AVANT
<b>Patient 1</b>				
échantillon 1 / PCE n°52	3,8	102,4	64110,3	2378,9
échantillon 2 / PCE n°53	3,6	94,7	62101,1	2361,7
échantillon 3 / PCE n°54	4,6	120,0	83568,1	3202,3
échantillon 4 / PCE n°55	4,4	148,8	99439,3	2940,9
échantillon 5 / PCE n°56	3,6	103,6	75962,3	2639,2
échantillon 6 / PCE n°58	4,1	98,6	70740,4	2942,7
échantillon 7 / PCE n°61	4,1	81,9	59691,0	2989,8
<b>Patient 2</b>				
échantillon 1 / PCE n°4	2,4	66,0	30320,2	1103,1
échantillon 2 / PCE n°5	1,2	46,3	19430,4	503,5
échantillon 3 / PCE n°6	1,3	56,5	24278,9	558,8
échantillon 4 / PCE n°8	1,8	24,2	10679,5	794,1
échantillon 5 / PCE n°9	2,2	60,3	23554,7	860,0
échantillon 6 / PCE n°10	2,1	65,3	24505,1	788,0
échantillon 7 / PCE n°11	1,9	80,5	35903,5	847,9
échantillon 8 / PCE n°12	2,3	72,0	33597,3	1073,3
échantillon 9 / PCE n°14	1,4	44,6	20745,4	651,9
échantillon 10 / PCE n°15	2,1	66,2	33666,4	1068,1
<b>Patient 3</b>				
échantillon 1 / PCE n°57	0,8	35,4	25012,8	537,1
échantillon 2 / PCE n°58	0,7	33,2	23654,7	477,0
échantillon 3 / PCE n°59	1,4	76,5	50175,1	892,2
échantillon 4 / PCE n°63	0,8	42,6	25085,7	482,7

**Tableau 12** : Estimation du nombre absolu de CS circulantes au début de chaque séance de PCE



**Figure 21** : Evolution de la masse tumorale sanguine au fil des séances de PCE

Au total, pour les 3 patients étudiés, la PCE semble stabiliser la maladie sans faire décroître de façon visible la masse tumorale sanguine circulante. Lors des séances de PCE, on peut observer une diminution de l'intensité de marquage ciblée sur le CD158k après illumination mais cet effet ne perdure pas dans le temps car des RFI équivalents (pour un même patient) sont observés sur les CS au début de chaque séance (**Tableau 11**).

## Discussion et conclusion

Le syndrome de Sézary est une pathologie rare avec un mauvais pronostic dû à l'absence de thérapeutique efficace encore aujourd'hui. Comme nous l'avons vu précédemment, son diagnostic n'est évident ni pour les cliniciens, ni pour les biologistes ; il est pourtant nécessaire et se doit d'être précis pour une prise en charge adaptée. L'arrivée de nouveaux outils biologiques devrait permettre d'accroître sensibilité et spécificité dans le rendu de résultat à la fois pour le diagnostic et pour la quantification de la masse tumorale ; cette dernière faisant partie des critères diagnostiques actuels de la pathologie ainsi que de la classification TNM correspondante.

Dans ce travail nous avons pu mettre en évidence une différence statistiquement significative entre les pourcentages de cellules de Sézary rendus en cytomorphologie (servant actuellement de résultat) et ceux constatés par l'analyse en cytométrie en flux. D'après les recommandations actuelles, l'expression du résultat lors d'une recherche de cellules de Sézary doit se faire en nombre absolu de CS par mm<sup>3</sup>. Une modification du rendu de résultats au sein du laboratoire d'hématologie (CHU de Rouen) pourrait ainsi être envisagée en accord avec les cliniciens afin de leur fournir un outils plus adapté et plus discriminant pour le diagnostic et/ou le suivi. Le calcul de la valeur absolue de CS/mm<sup>3</sup> à partir de la cytomorphologie ou de la cytométrie en flux n'a pas permis de mettre en évidence de différence statistiquement significative chez les patients Sézary ce qui est possiblement dû au faible effectif et/ou à une valeur extrême parmi les résultats (patient 8, **Tableau 9**).

Parallèlement, une corrélation positive, mais modérée, a pu être observée entre les résultats de cytologie et de cytométrie en flux avec un coefficient de 0,75. Devant le nombre réduit d'échantillons analysés et la faible proportion de patients Sézary, les résultats restent à confirmer sur une série plus importante. D'autres auteurs ayant étudié le CD158k dans le syndrome de Sézary tels que Bouaziz et al. et Poszepczynska et al. (159,66) retrouvaient également une corrélation positive entre le pourcentage de l'évaluation cytologique et celui de cytométrie en flux avec des coefficients de corrélation respectivement à 0,49 et 0,56. Ils concluaient également dans leurs séries (plus importantes en terme d'effectif) que le compte absolu de

cellules CD3+CD158k+ semblait avoir une meilleure sensibilité quant à l'évaluation de la masse tumorale circulante.

De plus, la mise en évidence d'une différence significative entre les résultats des 2 cytologistes du laboratoire confirme la difficulté réelle de la lecture des lames à la recherche de CS. Une importante discordance est même observée pour 2 patients (14 et 16) avec un écart de plus de 20% dans l'évaluation du pourcentage de CS parmi les lymphocytes.

L'intérêt de l'utilisation des anticorps monoclonaux CD158k, CD26 et CD7 dans un panel dédié au syndrome de Sézary a pu être démontré dans ce travail. En effet, la spécificité de chacun de ces marqueurs dans le syndrome de Sézary semble confirmée sur les patients que nous avons étudiés : le CD158k ne s'est révélé positif que chez les patients Sézary, la perte du CD26 (seuil >30% des cellules lymphocytaires) a été retrouvée chez 100% des patients Sézary et celle du CD7 (seuil >40%) était présente chez 75% des malades. Ceci correspond aux données publiées. En effet, Jones et al. ont montré que l'absence du CD26 était hautement caractéristique des MF/SS et qu'une forte corrélation était observée avec la présence de cellules morphologiquement identifiables dans la circulation sanguine (Se 96% et Sp 98%)(151). Dans le même sens, l'équipe de Bernengo et al. suggérait que la perte du CD26 était plus sensible pour la détection des cellules de Sézary que la perte du CD7 ou que l'augmentation du ratio CD4/CD8 (63). La mise en place en routine de ce panel Sézary aurait donc une double utilité : orienter le diagnostic initial en ajoutant des arguments immunophénotypiques complémentaires à un examen cytologique difficile et observateur dépendant mais aussi permettre une quantification plus précise de la masse tumorale via le nombre absolu de CS par mm<sup>3</sup>.

Ajouté au faible nombre d'échantillons analysés, un second biais est à envisager pour cette comparaison malades / non malades entre morphologie et cytométrie en flux. En effet, il n'est pas impossible que le pourcentage de cellules de Sézary rendu par le laboratoire ait été utilisé dans le diagnostic de syndrome de Sézary ; même si, a priori, lors des réunions de concertation pluridisciplinaires, les 3 principales caractéristiques mentionnées pour le diagnostic étaient la clinique, l'aspect anatomopathologique et la présence d'un réarrangement du TCR dans la peau et le sang.

De nouvelles utilisations des automates d'hématologie cellulaire (AHC) vont pouvoir permettre une orientation dès l'analyse de l'échantillon sanguin pour la détermination de la numération formule sanguine. L'équipe de Brisou et al. (178) a en effet étudié les alarmes des AHC de la marque Sysmex (ceux utilisés au laboratoire d'hématologie au CHU de Rouen) pour tenter de définir un algorithme permettant de détecter les cellules de Sézary. Il en est ressorti que la présence de l'alarme « Blast/Abn Lympho »  $\geq 100$  (générée sur des paramètres quantitatifs et qualitatifs définis par le fournisseur), qui permet d'alerter sur la présence éventuelle de cellules lymphoïdes anormales, combinée à des seuils de paramètres structurels (Ly-X  $\geq 85$  ; concernant la structure nucléaire et la chromatine et Ly  $\geq 67$  ; concernant la taille des cellules) permet de détecter avec une bonne sensibilité et une bonne spécificité la présence de cellules de Sézary circulantes. Un deuxième automate, le *CellaVision DM8/96* du laboratoire Roche (également utilisé au CHU de Rouen), pourrait également être sollicité dans l'avenir pour fournir une aide supplémentaire dans l'identification des CS. Ce microscope motorisé a la capacité de photographier 200 éléments en 2 minutes et 30 secondes puis de les classer en sous catégories. Le regroupement d'une grande quantité de lymphocytes sur l'écran pourrait ainsi faciliter la mise en évidence d'anomalies morphologiques récurrentes par le biologiste (183).

Enfin, le suivi sur plusieurs mois des patients sélectionnés (CD158k+) n'a pas montré d'effet majeur de la photochimiothérapie extracorporelle, en particulier sur le patient 2 dont le traitement par PCE ne faisait que débuter. En effet, sur une période de 154 jours (soit plus de 5 mois) en début de traitement, on aurait pu s'attendre à une décroissance notable de la masse tumorale chez ce patient. Une maladie stable est cependant observée chez les 3 patients ce qui, d'après les recommandations de l'Académie Européenne de Dermatologie de 2014 (181), est un critère suffisant pour continuer les séances de PCE. Cependant, il est à noter, toujours d'après ces mêmes recommandations, qu'un cycle (répété tous les 15 jours au départ puis espacé) est constitué de 2 séances sur 2 jours consécutifs. En pratique, ce protocole semble difficile à mettre en place mais est peut être gage d'une meilleure efficacité. Au fil de ces séances, nous n'avons pas observé de diminution de l'intensité de marquage du CD158k (avec un pourcentage de

lymphocytes stable); cette intensité de marquage étant liée au nombre d'antigènes présents à la surface des cellules, le traitement par PCE ne semble pas avoir affecté directement ou indirectement (mécanisme d'immunomodulation) les CS chez ces 3 patients. Une variante de la PCE, appelée transimmunisation, a été développée dans certains centres et s'est montrée efficace chez des patients CTCL résistants à la PCE (184). Une étape d'incubation est ajoutée au protocole de PCE standard : le prélèvement de cytophère est mis en culture à 37°C, après l'étape d'illumination, jusqu'au lendemain afin de permettre un contact prolongé entre les cellules T tumorales apoptotiques et les cellules présentatrices d'antigène immatures.

Le CD158k est donc un marqueur d'intérêt majeur aussi bien pour l'évaluation de la masse tumorale au diagnostic de syndrome de Sézary que pour le suivi de la pathologie (efficacité thérapeutique). Par ailleurs, un nouvel anticorps monoclonal anti KIR3DL2 (l'IPH4102) est actuellement en cours de développement et montre des résultats encourageants (études pré cliniques)(185,186). D'autres thérapeutiques ciblées sont également en cours de phase d'essai, principalement des molécules anti CD52 et anti CCR4. Une étude de la maladie résiduelle serait donc envisageable grâce à la cytométrie en flux ou encore grâce à l'étude des microRNA (cités également en potentielles cibles thérapeutiques (187)).

En conclusion, la place de l'analyse des cellules de Sézary en cytométrie en flux apparaît comme prépondérante aussi bien au diagnostic que pour le suivi. Elle est supérieure aux analyses morphologiques et doit faire appel à un panel spécifique comprenant le CD158k ainsi que le CD7 et le CD26 afin de fournir un outil supplémentaire dans la prise en charge diagnostique et thérapeutique du patient.

1. Sézary A, Bouvrain J. Erythrodermie avec presence de cellules monstrueuses dans le derme et le sang circulant. Bulletin de la Société Francaise de Dermatologie et de Syphiligraphie. 45th ed. 1938;245–60.
2. Taswell HF, Winkelmann RK. Sezary syndrome--a malignant reticulemic erythroderma. JAMA. 1961 Aug 19;177:465–72.
3. Lutzner MA, Jordan HW. The Ultrastructure of an Abnormal Cell in Sézary's Syndrome. Blood. 1968 Jun 1;31(6):719–26.
4. Main RA, Goodall HB, Swanson WC. Sézary's Syndrome. Br J Dermatol. 1959 Oct 1;71(10):335–43.
5. Lutzner MA, Emerit I, Durepaire R, Flandrin G, Grupper C, Prunieras M. Cytogenetic, Cytophotometric, and Ultrastructural Study of Large Cerebriform Cells of the Sézary Syndrome and Description of a Small-Cell Variant. J Natl Cancer Inst. 1973 May 1;50(5):1145–62.
6. Brouet JC, Flandrin G, Seligmann M. Indications of the thymus-derived nature of the proliferating cells in six patients with Sézary's syndrome. N Engl J Med. 1973 Aug 16;289(7):341–4.
7. LUTZNER M, EDELSON R, SCHEIN P, GREEN I, KIRKPATRICK C, AHMED A. Cutaneous T-Cell Lymphomas: The Sézary Syndrome, Mycosis Fungoides, and Related Disorders. Ann Intern Med. 1975 Oct 1;83(4):534–52.
8. Lamberg SI, Bunn PA, Jr. Cutaneous t-cell lymphomas: Summary of the mycosis fungoides cooperative group-national cancer institute workshop. Arch Dermatol. 1979 Sep 1;115(9):1103–5.
9. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E, Swerdlow SH, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. Blood. 2005 May 15;105(10):3768–85.
10. Criscione VD, Weinstock MA. Incidence of cutaneous T-cell lymphoma in the United States, 1973-2002. Arch Dermatol. 2007 Jul;143(7):854–9.
11. Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphomas: implications for clinical practice and translational research. ASH Educ Program Book. 2009 Jan 1;2009(1):523–31.
12. Tessier-Marteau A, Le Corre Y, Gérard J, Avenel-Audran M, Geneviève F, Verret JL, et al. [Peripheral blood Sézary cells and the diagnosis of Sézary syndrome]. Ann Biol Clin (Paris). 2008 Aug;66(4):447–53.
13. Morales Suárez-Varela MM, Llopis González A, Marquina Vila A, Bell J. Mycosis fungoides: review of epidemiological observations. Dermatol Basel Switz. 2000;201(1):21–8.
14. Wong HK. Novel biomarkers, dysregulated epigenetics, and therapy in cutaneous T-cell lymphoma. Discov Med. 2013 Sep;16(87):71–8.
15. Edelson RL. Cutaneous T cell lymphoma: the helping hand of dendritic cells. Ann N Y Acad Sci. 2001 Sep;941:1–11.

16. Berger CL, Hanlon D, Kanada D, Dhodapkar M, Lombillo V, Wang N, et al. The growth of cutaneous T-cell lymphoma is stimulated by immature dendritic cells. *Blood*. 2002 Apr 15;99(8):2929–39.
17. Tothova SM, Bonin S, Trevisan G, Stanta G. Mycosis fungoides: is it a *Borrelia burgdorferi*-associated disease? *Br J Cancer*. 2006 Feb 21;94(6):879–83.
18. Abrams JT, Balin BJ, Vonderheid EC. Association between Sézary T Cell-activating Factor, *Chlamydia pneumoniae*, and Cutaneous T Cell Lymphoma. *Ann N Y Acad Sci*. 2001 Sep 1;941(1):69–85.
19. Abrams JT, Vonderheid EC, Kolbe S, Appelt DM, Arking EJ, Balin BJ. Sézary T-Cell Activating Factor Is a *Chlamydia pneumoniae*-Associated Protein. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1999 Nov 1;6(6):895–905.
20. Jackow CM, Cather JC, Hearne V, Asano AT, Musser JM, Duvic M. Association of Erythrodermic Cutaneous T-Cell Lymphoma, Superantigen-Positive *Staphylococcus aureus*, and Oligoclonal T-Cell Receptor V $\beta$  Gene Expansion. *Blood*. 1997 Jan 1;89(1):32–40.
21. Ballanger F, Bressollette C, Volteau C, Planche L, Dreno B. Cytomegalovirus: its potential role in the development of cutaneous T-cell lymphoma. *Exp Dermatol*. 2009 Jun 1;18(6):574–6.
22. Sivori S, Falco M, Carlomagno S, Romeo E, Soldani C, Bensussan A, et al. A novel KIR-associated function: evidence that CpG DNA uptake and shuttling to early endosomes is mediated by KIR3DL2. *Blood*. 2010 Sep 9;116(10):1637–47.
23. Bagot M, Bensussan A. Les lymphomes T épidermotropes comme modèles de progression tumorale. *médecine/sciences*. 2006 Feb;22(2):192–6.
24. Mao X, Orchard G, Lillington D m., Child F j., Vonderheid E c., Nowell P c., et al. BCL2 and JUNB abnormalities in primary cutaneous lymphomas. *Br J Dermatol*. 2004 Sep 1;151(3):546–56.
25. Su M, Dorocicz I, Dragowska WH, Ho V, Li G, Voss N, et al. Aberrant expression of T-plastin in Sezary cells. *Cancer Res*. 2003 Nov 1;63(21):7122–7.
26. Tracey L. Mycosis fungoides shows concurrent deregulation of multiple genes involved in the TNF signaling pathway: an expression profile study. *Blood*. 2003 Apr 3;102(3):1042–50.
27. Bagot M, Boumsell L, Bensussan A. Immunopathogenesis of cutaneous T-cell lymphomas. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2003 Dec;17(6):1313–7, vii.
28. Bagot M, Imbert M. Syndrome de sézary. *Rev Fr Lab*. 2004 Feb;2004(360):51–6.
29. Lee B-N, Duvic M, Tang C-K, Bueso-Ramos C, Estrov Z, Reuben JM. Dysregulated Synthesis of Intracellular Type 1 and Type 2 Cytokines by T Cells of Patients with Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1999 Jan 1;6(1):79–84.

30. Wysocka M, Zaki MH, French LE, Chehimi J, Shapiro M, Everetts SE, et al. Sézary syndrome patients demonstrate a defect in dendritic cell populations: effects of CD40 ligand and treatment with GM-CSF on dendritic cell numbers and the production of cytokines. *Blood*. 2002 Nov 1;100(9):3287–94.
31. Bouaziz J-D, Ortonne N, Giustiniani J, Schiavon V, Huet D, Bagot M, et al. Circulating Natural Killer Lymphocytes Are Potential Cytotoxic Effectors Against Autologous Malignant Cells in Sezary Syndrome Patients. *J Invest Dermatol*. 2005 Nov 15;125(6):1273–8.
32. Echchakir H, Bagot M, Dorothée G, Martinvalet D, Le Gouvello S, Boumsell L, et al. Cutaneous T Cell Lymphoma Reactive CD4+ Cytotoxic T Lymphocyte Clones Display a Th1 Cytokine Profile and Use a Fas-Independent Pathway for Specific Tumor Cell Lysis. *J Invest Dermatol*. 2000 Jul;115(1):74–80.
33. Posner LE, Fossieck BE, Eddy JL, Bunn PA. Septicemic complications of the cutaneous T-cell lymphomas. *Am J Med*. 1981 Aug 1;71(2):210–6.
34. Axelrod PI, Lorber B, Vonderheid EC. Infections complicating mycosis fungoides and sézary syndrome. *JAMA*. 1992 Mar 11;267(10):1354–8.
35. Neel J-C, Humbert L, Lebrun JJ. Rôle du TGF $\beta$  dans le cancer chez l'humain: de la suppression tumorale vers le développement des métastases. *Med Sci Ameriques*. 2012;1–18.
36. Rappi G, Abken H, Muche JM, Sterry W, Tilgen W, André S, et al. CD4+CD7-leukemic T cells from patients with Sézary syndrome are protected from galectin-1-triggered T cell death. *Leukemia*. 2002 May;16(5):840–5.
37. Diamandidou E, Cohen PR, Kurzrock R. Mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Blood*. 1996 Oct 1;88(7):2385–409.
38. Vowels BR, Cassin M, Vonderheid EC, Rook AH. Aberrant Cytokine Production By Sezary Syndrome Patients: Cytokine Secretion Pattern Resembles Murine Th2 Cells. *J Invest Dermatol*. 1992 Jul;99(1):90–4.
39. Chong BF, Wilson AJ, Gibson HM, Hafner MS, Luo Y, Hedgcock CJ, et al. Immune Function Abnormalities in Peripheral Blood Mononuclear Cell Cytokine Expression Differentiates Stages of Cutaneous T-Cell Lymphoma/Mycosis Fungoides. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2008 Feb 1;14(3):646–53.
40. Kim EJ, Hess S, Richardson SK, Newton S, Showe LC, Benoit BM, et al. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma. *J Clin Invest*. 2005 Apr 1;115(4):798–812.
41. Bagot M, Charue D, Boulland M I., Gaulard P, Revuz J, Schmitt C, et al. Interleukin-7 receptor expression in cutaneous T-cell lymphomas. *Br J Dermatol*. 1996 Oct 1;135(4):572–5.
42. Dalloul A, Laroche L, Bagot M, Mossalayi MD, Fourcade C, Thacker DJ, et al. Interleukin-7 is a growth factor for Sézary lymphoma cells. *J Clin Invest*. 1992 Sep;90(3):1054–60.

43. Poszepczynska E, Bagot M, Echchakir H, Martinvalet D, Ramez M, Charue D, et al. Functional characterization of an IL-7–dependent CD4+CD8αα+ Th3-type malignant cell line derived from a patient with a cutaneous T-cell lymphoma. *Blood*. 2000 Aug 1;96(3):1056–63.
44. Bégué E, Jean-Louis F, Ram-Wolff C, Jauliac S, Bagot M, Bensussan A, et al. Expression et rôles de la T-plastine dans les lymphomes T cutanés. *Ann Dermatol Vénéréologie*. 2012 Dec;139(12):B72–3.
45. Campbell JJ, Clark RA, Watanabe R, Kupper TS. Sezary syndrome and mycosis fungoides arise from distinct T-cell subsets: a biologic rationale for their distinct clinical behaviors. *Blood*. 2010 Aug 5;116(5):767–71.
46. van Doorn R, van Kester MS, Dijkman R, Vermeer MH, Mulder AA, Szuhai K, et al. Oncogenomic analysis of mycosis fungoides reveals major differences with Sezary syndrome. *Blood*. 2009 Jan 1;113(1):127–36.
47. Vonderheid EC, Bernengo MG, Burg G, Duvic M, Heald P, Laroche L, et al. Update on erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma: report of the International Society for Cutaneous Lymphomas. *J Am Acad Dermatol*. 2002 Jan;46(1):95–106.
48. Wieselthier JS, Koh HK. Sézary syndrome: diagnosis, prognosis, and critical review of treatment options. *J Am Acad Dermatol*. 1990 Mar;22(3):381–401.
49. Caudron A, Marie-Cardine A, Bensussan A, Bagot M. Actualités sur le syndrome de Sézary. In: *Annales de dermatologie et de vénéréologie* [Internet]. Elsevier; 2012 [cited 2014 Aug 17]. p. 31–40.
50. 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 Sep 15;110(6):1713–22.
51. Hoppe RT, Wood GS, Abel EA. Mycosis fungoides and the Sézary syndrome: Pathology, staging, and treatment. *Curr Probl Cancer*. 1990 Nov 1;14(6):297–361.
52. Herrmann JJ, Roenigk HH, Hurria A, Kuzel TM, Samuelson E, Rademaker AW, et al. Treatment of mycosis fungoides with photochemotherapy (PUVA): Long-term follow-up. *J Am Acad Dermatol*. 1995 Aug 1;33(2):234–42.
53. Chu AC, Robinson D, Hawk JLM, Meacham R, Spittle MF, Smith NP. Immunologic Differentiation of the Sézary Syndrome Due to Cutaneous T-Cell Lymphoma and Chronic Actinic Dermatitis. *J Invest Dermatol*. 1986 Feb;86(2):134–7.
54. D’Incan M, Souteyrand P, Bignon YJ, Fonck Y, Roger H. HYdantoin-induced cutaneous pseudolymphoma with clinical, pathologic, and immunologic aspects of sézary syndrome. *Arch Dermatol*. 1992 Oct 1;128(10):1371–4.

55. Ortonne N, Le Gouvello S, Mansour H, Poillet C, Martin N, Delfau-Larue M-H, et al. CD158K/KIR3DL2 transcript detection in lesional skin of patients with erythroderma is a tool for the diagnosis of Sézary syndrome. *J Invest Dermatol*. 2008 Feb;128(2):465–72.
56. Scheffer E, Meijer CJLM, Van Vloten WA, Willemze R. A histologic study of lymph nodes from patients with the sézary syndrome. *Cancer*. 1986 Jun 15;57(12):2375–80.
57. Winkelmann RK, Linman JW. Erythroderma with atypical lymphocytes (Sézary syndrome). *Am J Med*. 1973 Aug;55(2):192–8.
58. Winkelmann RK. Clinical studies of T-cell erythroderma in the Sezary syndrome. *Mayo Clin Proc*. 1974 Aug;49(8):519–25.
59. Winkelmann RK, Peters M. ABsolute number of circulating sézary cells. *Arch Dermatol*. 1981 Jul 1;117(7):382–382.
60. Schechter GP, Sausville EA, Fischmann AB, Soehnlen F, Eddy J, Matthews M, et al. Evaluation of circulating malignant cells provides prognostic information in cutaneous T cell lymphoma. *Blood*. 1987 Mar 1;69(3):841–9.
61. Willemze R, van Vloten WA, Hermans J, Damsteeg MJM, Meijer CJLM. Diagnostic Criteria in Sézary's Syndrome: A Multiparameter Study of Peripheral Blood Lymphocytes in 32 Patients with Erythroderma. *J Invest Dermatol*. 1983 Nov;81(5):392–7.
62. Willemze R, Kerl H, Sterry W, Berti E, Cerroni L, Chimenti S, et al. EORTC Classification for Primary Cutaneous Lymphomas: A Proposal From the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. *Blood*. 1997 Jul 1;90(1):354–71.
63. Bernengo MG, Novelli M, Quaglino P, Lisa F, De Matteis A, Savoia P, et al. The relevance of the CD4+ CD26- subset in the identification of circulating Sézary cells. *Br J Dermatol*. 2001 Jan;144(1):125–35.
64. Muche JM, Lukowsky A, Asadullah K, Gellrich S, Sterry W. Demonstration of Frequent Occurrence of Clonal T Cells in the Peripheral Blood of Patients With Primary Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Blood*. 1997 Aug 15;90(4):1636–42.
65. Beylot-Barry M, Dereure O, Vergier B, Barete S, Laroche L, Machet L, et al. Prise en charge des lymphomes T cutanés : recommandations du Groupe français d'étude des lymphomes cutanés. *Ann Dermatol Vénéréologie*. 2010 Oct;137(10):611–21.
66. Poszepczynska-Guigné E, Schiavon V, D'Incan M, Echchakir H, Musette P, Ortonne N, et al. CD158k/KIR3DL2 is a new phenotypic marker of Sezary cells: relevance for the diagnosis and follow-up of Sezary syndrome. *J Invest Dermatol*. 2004 Mar;122(3):820–3.
67. Vidulich KA, Talpur R, Bassett RL, Duvic M. Overall survival in erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma: an analysis of prognostic factors in a cohort of

- patients with erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma. *Int J Dermatol*. 2009 Mar;48(3):243–52.
68. Scarisbrick JJ, Whittaker S, Evans AV, Fraser-Andrews EA, Child FJ, Dean A, et al. Prognostic significance of tumor burden in the blood of patients with erythrodermic primary cutaneous T-cell lymphoma. *Blood*. 2001 Feb 1;97(3):624–30.
  69. Agar NS, Wedgeworth E, Crichton S, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S, et al. Survival outcomes and prognostic factors in mycosis fungoides/Sézary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organisation for Research and Treatment of Cancer staging proposal. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010 Nov 1;28(31):4730–9.
  70. Kim YH, Bishop K, Varghese A, Hoppe RT. Prognostic factors in erythrodermic mycosis fungoides and the sézary syndrome. *Arch Dermatol*. 1995 Sep 1;131(9):1003–8.
  71. Tancrède-Bohin E, Ionescu M, de La Salmonière P, et al. Prognostic value of blood eosinophilia in primary cutaneous t-cell lymphomas. *Arch Dermatol*. 2004 Sep 1;140(9):1057–61.
  72. Bernengo MG, Quaglino P, Novelli M, Cappello N, Doveil GC, Lisa F, et al. Prognostic factors in Sézary syndrome: a multivariate analysis of clinical, haematological and immunological features. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO*. 1998 Aug;9(8):857–63.
  73. Fierro MT, Ponti R, Titli S, Bonello L, Comessatti A, Novelli M, et al. TCRgamma-chain gene rearrangement by GeneScan: incidence and significance of clonal heterogeneity in Sézary syndrome. *J Invest Dermatol*. 2010 Sep;130(9):2312–9.
  74. MYcosis fungoides cooperative study. *Arch Dermatol*. 1975 Apr 1;111(4):457–9.
  75. Jr BP, Si L. Report of the Committee on Staging and Classification of Cutaneous T-Cell Lymphomas. *Cancer Treat Rep*. 1979 Apr;63(4):725–8.
  76. Jr KL, Jr DR, Gi L, Ma R. Erythroderma: review of 82 cases. *South Med J*. 1986 Oct;79(10):1210–5.
  77. DeSpain J, Clark DP. Subacute cutaneous lupus erythematosus presenting as erythroderma. *J Am Acad Dermatol*. 1988 Aug 1;19(2):388–92.
  78. Duncan SC, Winkelmann RK. Circulating Sézary cells in hospitalized dermatology patients. *Br J Dermatol*. 1978 Aug 1;99(2):171–8.
  79. O'Briain DS, Lawlor E, Sarsfield P, Cooney C, Blaney CH, Sullivan FJ. Circulating cerebriform lymphoid cells (sezary-type cells) in a b-cell malignant lymphoma. *Cancer*. 1988 Apr 15;61(8):1587–93.
  80. Toonstra J, Henquet CJM, van Weelden H, van der Putte SCJ, van Vloten WA. Actinic reticuloid. *J Am Acad Dermatol*. 1989 Aug 1;21(2):205–14.

81. Toonstra J, Wildschut A, Boer J, Smeenk G, Willemze R, van der Putte SC, et al. Jessner's lymphocytic infiltration of the skin. A clinical study of 100 patients. *Arch Dermatol*. 1989 Nov;125(11):1525–30.
82. Bignon YJ, Souteyrand P. Genotyping of Cutaneous T-Cell Lymphomas and Pseudolymphomas. In: van Vloten WA, Willemze R, Lange Vejlsgaard G, Thomas K, editors. *Current Problems in Dermatology* [Internet]. S. Karger AG; 1989 [cited 2015 Jul 15]. p. 114–23.
83. Rijlaarsdam U, Willemze R. Cutaneous pseudo-T-cell lymphomas. *Semin Diagn Pathol*. 1991 May;8(2):102–8.
84. Rijlaarsdam JU, Scheffer E, Meijer CJLM, Willemze R. Cutaneous pseudo-T-cell lymphomas. A clinicopathologic study of 20 patients. *Cancer*. 1992 Feb 1;69(3):717–24.
85. Lambert WC, Everett MA. The nosology of parapsoriasis. *J Am Acad Dermatol*. 1981 Oct;5(4):373–95.
86. Lindae ML, Abel EA, Hoppe RT, Wood GS. Poikilodermatous mycosis fungoides and atrophic large-plaque parapsoriasis exhibit similar abnormalities of T-cell antigen expression. *Arch Dermatol*. 1988 Mar;124(3):366–72.
87. Macaulay WL. Lymphomatoid papulosis. A continuing self-healing eruption, clinically benign--histologically malignant. *Arch Dermatol*. 1968 Jan;97(1):23–30.
88. Willemze R, Meyer CJ, Van Vloten WA, Scheffer E. The clinical and histological spectrum of lymphomatoid papulosis. *Br J Dermatol*. 1982 Aug;107(2):131–44.
89. Cabanillas F, Armitage J, Pugh WC, Weisenburger D, Duvic M. Lymphomatoid papulosis: a T-cell dyscrasia with a propensity to transform into malignant lymphoma. *Ann Intern Med*. 1995 Feb 1;122(3):210–7.
90. Pinkus H. Alopecia mucinosa; inflammatory plaques with alopecia characterized by root-sheath mucinosis. *AMA Arch Dermatol*. 1957 Oct;76(4):419–24; discussion 424–6.
91. Plotnick H, Abbrecht M. Alopecia mucinosa and lymphoma. Report of two cases and review of literature. *Arch Dermatol*. 1965 Aug;92(2):137–41.
92. Binnick AN, Wax FD, Clendenning WE. Alopecia mucinosa of the face associated with mycosis fungoides. *Arch Dermatol*. 1978 May;114(5):791–2.
93. Wood WS, Killby VA, Stewart WD. Pagetoid reticulosis (Woringer-Kolopp disease). *J Cutan Pathol*. 1979 Apr;6(2):113–23.
94. Lacour JP, Juhlin L, Baze P el, Baretty M, Ortonne JP. Disseminated pagetoid reticulosis associated with mycosis fungoides: immunomorphologic study. *J Am Acad Dermatol*. 1986 May;14(5 Pt 2):898–901.
95. Mielke V, Wolff HH, Winzer M, Sterry W. Localized and disseminated pagetoid reticulosis. Diagnostic immunophenotypical findings. *Arch Dermatol*. 1989 Mar;125(3):402–6.

96. LeBoit PE, Beckstead JH, Bond B, Epstein WL, Frieden IJ, Parslow TG. Granulomatous slack skin: clonal rearrangement of the T-cell receptor beta gene is evidence for the lymphoproliferative nature of a cutaneous elastolytic disorder. *J Invest Dermatol.* 1987 Aug;89(2):183–6.
97. Beljaards RC, Kaudewitz P, Berti E, Gianotti R, Neumann C, Rosso R, et al. Primary cutaneous CD30-positive large cell lymphoma: Definition of a new type of cutaneous lymphoma with a favorable prognosis. A European multicenter study of 47 patients. *Cancer.* 1993 Mar 15;71(6):2097–104.
98. Uchiyama T, Yodoi J, Sagawa K, Takatsuki K, Uchino H. Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood.* 1977 Sep;50(3):481–92.
99. 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 Apr 1;6(4):436–42.
100. Dugas-Breit S, Schulze H-J, Hallermann C. New and established treatment options for mycosis fungoides and Sézary syndrome - an update. *J Dtsch Dermatol Ges J Ger Soc Dermatol JDDG.* 2014 Jul;12(7):561–9.
101. Pitzalis C, Pipitone N, Perretti M. Regulation of Leukocyte-Endothelial Interactions by Glucocorticoids. *Ann N Y Acad Sci.* 2002 Jun 1;966(1):108–18.
102. Barnes PJ, Karin M. Nuclear Factor- $\kappa$ B — A Pivotal Transcription Factor in Chronic Inflammatory Diseases. *N Engl J Med.* 1997 Apr 10;336(15):1066–71.
103. Lindahl L m., Fenger-Grøn M, Iversen L. Secondary cancers, comorbidities and mortality associated with nitrogen mustard therapy in patients with mycosis fungoides: a 30-year population-based cohort study. *Br J Dermatol.* 2014 Mar 1;170(3):699–704.
104. Kim YH, Martinez G, Varghese A, Hoppe RT. Topical nitrogen mustard in the management of mycosis fungoides: Update of the stanford experience. *Arch Dermatol.* 2003 Feb 1;139(2):165–73.
105. Abbott R a., Whittaker S j., Morris S l., Russell-Jones R, Hung T, Bashir S j., et al. Bexarotene therapy for mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Br J Dermatol.* 2009 Jun 1;160(6):1299–307.
106. Budgin JB, Richardson SK, Newton SB, et al. Biological effects of bexarotene in cutaneous t-cell lymphoma. *Arch Dermatol.* 2005 Mar 1;141(3):315–20.
107. Richardson SK, Newton SB, Bach TL, Budgin JB, Benoit BM, Lin JH, et al. Bexarotene blunts malignant T-cell chemotaxis in Sezary syndrome: Reduction of chemokine receptor 4-positive lymphocytes and decreased chemotaxis to thymus and activation-regulated chemokine. *Am J Hematol.* 2007 Sep 1;82(9):792–7.
108. Farkas A, Kemeny L, French LE, Dummer R. New and Experimental Skin-Directed Therapies for Cutaneous Lymphomas. *Skin Pharmacol Physiol.* 2009;22(6):322–34.

109. Zackheim HS. Topical carmustine (BCNU) in the treatment of mycosis fungoides. *Dermatol Ther*. 2003 Dec 1;16(4):299–302.
110. Pressanti C, Cadiergues M-C. Mécanismes d'action de l'imiquimod et implication dans le traitement des affections cutanées virales humaines et animales. *Prat Médicale Chir Anim Cie*. 2013 Oct;48(4):105–12.
111. Hurwitz DJ, Pincus L, Kupper TS. Imiquimod: A topically applied link between innate and acquired immunity. *Arch Dermatol*. 2003 Oct 1;139(10):1347–50.
112. Arulogun S, Prince HM, Gambell P, Lade S, Ryan G, Eaton E, et al. Extracorporeal photopheresis for the treatment of Sézary syndrome using a novel treatment protocol. *J Am Acad Dermatol*. 2008 Oct;59(4):589–95.
113. Camphausen K, Tofilon PJ. Inhibition of Histone Deacetylation: A Strategy for Tumor Radiosensitization. *J Clin Oncol*. 2007 Sep 10;25(26):4051–6.
114. Parida DK, Verma KK, Chander S, Joshi RC, Rath GK. Total skin electron irradiation therapy in mycosis fungoides using high-dose rate mode: A preliminary experience. *Int J Dermatol*. 2005 Oct 1;44(10):828–30.
115. Jones GW, Kacinski BM, Wilson LD, Willemze R, Spittle M, Hohenberg G, et al. Total skin electron radiation in the management of mycosis fungoides: Consensus of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Cutaneous Lymphoma Project Group. *J Am Acad Dermatol*. 2002 Sep;47(3):364–70.
116. Ea O, Pa B. Interferon in the treatment of cutaneous T-cell lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1995 Oct;9(5):1089–107.
117. Querfeld C, Mehta N, Rosen ST, Guitart J, Rademaker A, Gerami P, et al. Alemtuzumab for relapsed and refractory erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma: a single institution experience from the Robert H. Lurie Comprehensive Cancer Center. *Leuk Lymphoma*. 2009 Oct 8;50(12):1969–76.
118. Kim YH, Duvic M, Obitz E, Gniadecki R, Iversen L, Österborg A, et al. Clinical efficacy of zanolimumab (HuMax-CD4): two phase 2 studies in refractory cutaneous T-cell lymphoma. *Blood*. 2007 Jun 1;109(11):4655–62.
119. Ogura M, Ishida T, Hatake K, Taniwaki M, Ando K, Tobinai K, et al. Multicenter Phase II Study of Mogamulizumab (KW-0761), a Defucosylated Anti-CC Chemokine Receptor 4 Antibody, in Patients With Relapsed Peripheral T-Cell Lymphoma and Cutaneous T-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2014 Apr 10;32(11):1157–63.
120. Olsen EA, Kim YH, Kuzel TM, Pacheco TR, Foss FM, Parker S, et al. Phase IIB Multicenter Trial of Vorinostat in Patients With Persistent, Progressive, or Treatment Refractory Cutaneous T-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2007 Jul 20;25(21):3109–15.
121. M L, A Y. Histone deacetylase inhibitors in the treatment of lymphoma. *Discov Med*. 2010 Nov;10(54):462–70.

122. Zackheim HS, Kashani-Sabet M, McMillan A. Low-dose methotrexate to treat mycosis fungoides: a retrospective study in 69 patients. *J Am Acad Dermatol*. 2003 Nov;49(5):873–8.
123. Hui YF, Reitz J. Gemcitabine: a cytidine analogue active against solid tumors. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm*. 1997 Jan 15;54(2):162–70; quiz 197–8.
124. Jidar K, Ingen-Housz-Oro S, Beylot-Barry M, Paul C, Chaoui D, Sigal-Grinberg M, et al. Gemcitabine treatment in cutaneous T-cell lymphoma: a multicentre study of 23 cases. *Br J Dermatol*. 2009 Sep 1;161(3):660–3.
125. Assaf C, Becker JC, Beyer M, Cozzio A, Dippel E, Klemke C-D, et al. Treatment of advanced cutaneous T-cell lymphomas with non-pegylated liposomal doxorubicin—consensus of the lymphoma group of the Working Group Dermatologic Oncology. *J Dtsch Dermatol Ges J Ger Soc Dermatol JDDG*. 2013 Apr;11(4):338–47.
126. Kahata K, Hashino S, Takahata M, Fujisawa F, Kondo T, Kobayashi S, et al. Durable Remission of Sézary Syndrome after Unrelated Bone Marrow Transplantation by Reduced-Intensity Conditioning. *Acta Haematol*. 2008;120(1):14–8.
127. Duarte RF, Canals C, Onida F, Gabriel IH, Arranz R, Arcese W, et al. Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Patients With Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome: A Retrospective Analysis of the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol*. 2010 Oct 10;28(29):4492–9.
128. Jouault H, Imbert M. La cytométrie en flux: intérêt et applications en hématologie. *Rev Fr Lab*. 1995 Apr;1995(275):29–35.
129. Bagot M, Civatte J, Binet IJ-L, Tubiana M, Bouvrain Y. Le lymphome cutané de type Sézary et Bouvrain. Progrès physiopathologiques et perspectives thérapeutiques. Discussion. *Bull Académie Natl Médecine*. 1998;182(5):927–38.
130. Boumsell L, Bernard A, Reinherz EL, Nadler LM, Ritz J, Coppin H, et al. Surface antigens on malignant Sezary and T-CLL cells correspond to those of mature T cells. *Blood*. 1981 Mar 1;57(3):526–30.
131. Harmon CB, Witzig TE, Katzmann JA, Pittelkow MR. Detection of circulating T cells with CD4+CD7– immunophenotype in patients with benign and malignant lymphoproliferative dermatoses. *J Am Acad Dermatol*. 1996 Sep 1;35(3):404–10.
132. Gorczyca W. Differential diagnosis of T-cell lymphoproliferative disorders by flow cytometry multicolor immunophenotyping. Correlation with morphology. *Methods Cell Biol*. 2004;75:595–621.
133. Ginaldi L, Farahat N, Matutes E, Martinis MD, Morilla R, Catovsky D. Differential expression of T cell antigens in normal peripheral blood lymphocytes: a quantitative analysis by flow cytometry. *J Clin Pathol*. 1996 Jul 1;49(7):539–44.

134. Laetsch B, Häffner AC, Döbbeling U, Seifert B, Ludwig E, Burg G, et al. CD4+/CD7- T Cell Frequency and Polymerase Chain Reaction-Based Clonality Assay Correlate with Stage in Cutaneous T Cell Lymphomas. *J Invest Dermatol*. 2000 Jan;114(1):107–11.
135. Reinhold U, Abken H, Kukel S, Moll M, Müller R, Oltermann I, et al. CD7- T cells represent a subset of normal human blood lymphocytes. *J Immunol*. 1993 Mar 1;150(5):2081–9.
136. Stillwell R, Bierer BE. T cell signal transduction and the role of CD7 in costimulation. *Immunol Res*. 2001 Aug;24(1):31–52.
137. Hristov AC, Vonderheid EC, Borowitz MJ. Simplified flow cytometric assessment in mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Am J Clin Pathol*. 2011 Dec;136(6):944–53.
138. Kukel S, Reinhold U, Oltermann I, Kreysel H-W. Progressive increase of CD7- T cells in human blood lymphocytes with ageing. *Clin Exp Immunol*. 1994 Oct 1;98(1):163–8.
139. Moll M, Reinhold U, Kukel S, Abken H, Müller R, Oltermann I, et al. CD7-Negative Helper T Cells Accumulate in Inflammatory Skin Lesions. *J Invest Dermatol*. 1994 Mar;102(3):328–32.
140. Jung LK, Fu SM, Hara T, Kapoor N, Good RA. Defective expression of T cell-associated glycoprotein in severe combined immunodeficiency. *J Clin Invest*. 1986 Mar;77(3):940–6.
141. Sa B, D P, M C, M M, H K, F F, et al. Immunophenotypic identification of Sezary cells in peripheral blood. *Am J Clin Pathol*. 1996 Dec;106(6):739–48.
142. Schiavon V, Roth P, Bolton WE, Farcet JP, Bensussan A, Bousmell L. Lymphocytes subsets in normal individuals: analysis by four color immunofluorescence and flow cytometry on whole blood. *Tissue Antigens*. 1996 Oct 1;48(4):312–8.
143. Narducci MG, Scala E, Bresin A, Caprini E, Picchio MC, Remotti D, et al. Skin homing of Sézary cells involves SDF-1-CXCR4 signaling and down-regulation of CD26/dipeptidylpeptidase IV. *Blood*. 2006 Feb 1;107(3):1108–15.
144. Mattern T, Scholz W, Feller AC, Flad H-D, Ulmer AJ. Expression of CD26 (Dipeptidyl Peptidase IV) on Resting and Activated Human T-Lymphocytes. *Scand J Immunol*. 1991 Jun 1;33(6):737–48.
145. Girardi M, Heald PW, Wilson LD. The Pathogenesis of Mycosis Fungoides. *N Engl J Med*. 2004 May 6;350(19):1978–88.
146. Lambeir A-M, Proost P, Durinx C, Bal G, Senten K, Augustyns K, et al. Kinetic Investigation of Chemokine Truncation by CD26/Dipeptidyl Peptidase IV Reveals a Striking Selectivity within the Chemokine Family. *J Biol Chem*. 2001 Aug 10;276(32):29839–45.

147. Ohnuma K, Takahashi N, Yamochi T, Hosono O, Dang NH, Morimoto C. Role of CD26/dipeptidyl peptidase IV in human T cell activation and function. *Front Biosci J Virtual Libr.* 2008;13:2299–310.
148. Havre PA, Abe M, Urasaki Y, Ohnuma K, Morimoto C, Dang NH. The role of CD26/dipeptidyl peptidase IV in cancer. *Front Biosci J Virtual Libr.* 2008;13:1634–45.
149. Dang NH, Torimoto Y, Shimamura K, Tanaka T, Daley JF, Schlossman SF, et al. 1F7 (CD26): a marker of thymic maturation involved in the differential regulation of the CD3 and CD2 pathways of human thymocyte activation. *J Immunol.* 1991 Nov 1;147(9):2825–32.
150. Carbone A, Cozzi M, Gloghini A, Pinto A. CD26/dipeptidyl peptidase IV expression in human lymphomas is restricted to CD30-positive anaplastic large cell and a subset of T-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Hum Pathol.* 1994 Dec;25(12):1360–5.
151. Jones D, Dang NH, Duvic M, Washington LT, Huh YO. Absence of CD26 expression is a useful marker for diagnosis of T-cell lymphoma in peripheral blood. *Am J Clin Pathol.* 2001 Jun;115(6):885–92.
152. Pende D, Biassoni R, Cantoni C, Verdiani S, Falco M, di Donato C, et al. The natural killer cell receptor specific for HLA-A allotypes: a novel member of the p58/p70 family of inhibitory receptors that is characterized by three immunoglobulin-like domains and is expressed as a 140-kD disulphide-linked dimer. *J Exp Med.* 1996 Aug 1;184(2):505–18.
153. Ortonne N, Huet D, Gaudez C, Marie-Cardine A, Schiavon V, Bagot M, et al. Significance of circulating T-cell clones in Sézary syndrome. *Blood.* 2006 May 15;107(10):4030–8.
154. Moretta A, Biassoni R, Bottino C, Pende D, Vitale M, Poggi A, et al. Major histocompatibility complex class I-specific receptors on human natural killer and T lymphocytes. *Immunol Rev.* 1997 Feb 1;155(1):105–17.
155. Gardiner CM, Guethlein LA, Shilling HG, Pando M, Carr WH, Rajalingam R, et al. Different NK Cell Surface Phenotypes Defined by the DX9 Antibody Are Due to KIR3DL1 Gene Polymorphism. *J Immunol.* 2001 Mar 1;166(5):2992–3001.
156. Mingari MC, Moretta A, Moretta L. Regulation of KIR expression in human T cells: a safety mechanism that may impair protective T-cell responses. *Immunol Today.* 1998 Apr 1;19(4):153–7.
157. Vivier E, Anfosso N. Inhibitory NK-cell receptors on T cells: witness of the past, actors of the future. *Nat Rev Immunol.* 2004 Mar;4(3):190–8.
158. Bahler DW, Hartung L, Hill S, Bowen GM, Vonderheid EC. CD158k/KIR3DL2 is a useful marker for identifying neoplastic T-cells in Sézary syndrome by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom.* 2008 May;74(3):156–62.
159. Bouaziz J-D, Remtoula N, Bensussan A, Marie-Cardine A, Bagot M. Absolute CD3+ CD158k+ lymphocyte count is reliable and more sensitive than

- cytomorphology to evaluate blood tumour burden in Sézary syndrome. *Br J Dermatol*. 2010 Jan;162(1):123–8.
160. Wechsler J, Bagot M, Nikolova M, Parolini S, Martin-Garcia N, Boumsell L, et al. Killer cell immunoglobulin-like receptor expression delineates in situ Sézary syndrome lymphocytes. *J Pathol*. 2003 Jan;199(1):77–83.
  161. Vonderheid EC. On the diagnosis of erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma. *J Cutan Pathol*. 2006 Feb;33 Suppl 1:27–42.
  162. Delfau-Larue M-H, Dalac S, Lepage E, Petrella T, Wechsler J, Farcet J-P, et al. Prognostic Significance of a Polymerase Chain Reaction–Detectable Dominant T-Lymphocyte Clone in Cutaneous Lesions of Patients With Mycosis Fungoides. *Blood*. 1998 Nov 1;92(9):3376–80.
  163. Delfau-Larue M-H, Laroche L, Wechsler J, Lepage E, Lahet C, Asso-Bonnet M, et al. Diagnostic value of dominant T-cell clones in peripheral blood in 363 patients presenting consecutively with a clinical suspicion of cutaneous lymphoma. *Blood*. 2000 Nov 1;96(9):2987–92.
  164. Beylot-Barry M, Sibaud V, Thiebaut R, Vergier B, Beylot C, Delaunay M, et al. Evidence that an Identical T Cell Clone in Skin and Peripheral Blood Lymphocytes is an Independent Prognostic Factor in Primary Cutaneous T Cell Lymphomas. *J Invest Dermatol*. 2001 Oct;117(4):920–6.
  165. Klemke C-D, Brade J, Weckesser S, Sachse MM, Booken N, Neumaier M, et al. The diagnosis of Sézary syndrome on peripheral blood by flow cytometry requires the use of multiple markers. *Br J Dermatol*. 2008 Sep;159(4):871–80.
  166. Feng B, Jorgensen JL, Jones D, Chen SS, Hu Y, Medeiros LJ, et al. Flow cytometric detection of peripheral blood involvement by mycosis fungoides and Sézary syndrome using T-cell receptor Vbeta chain antibodies and its application in blood staging. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. 2010 Feb;23(2):284–95.
  167. Thangavelu M, Finn WG, Yelavarthi KK, Roenigk HH, Samuelson E, Peterson L, et al. Recurring structural chromosome abnormalities in peripheral blood lymphocytes of patients with mycosis fungoides/Sézary syndrome. *Blood*. 1997 May 1;89(9):3371–7.
  168. Burg G, Kempf W, Cozzio A, Feit J, Willemze R, S. Jaffe E, et al. WHO/EORTC classification of cutaneous lymphomas 2005: histological and molecular aspects. *J Cutan Pathol*. 2005 Nov 1;32(10):647–74.
  169. Mao X, Lillington DM, Czepulkowski B, Russell-Jones R, Young BD, Whittaker S. Molecular cytogenetic characterization of Sézary syndrome. *Genes Chromosomes Cancer*. 2003 Mar 1;36(3):250–60.
  170. Vermeer MH, van Doorn R, Dijkman R, Mao X, Whittaker S, van Voorst Vader PC, et al. Novel and highly recurrent chromosomal alterations in Sézary syndrome. *Cancer Res*. 2008 Apr 15;68(8):2689–98.

171. Nielsen M, Kaestel CG, Eriksen KW, Woetmann A, Stokkedal T, Kaltoft K, et al. Inhibition of constitutively activated Stat3 correlates with altered Bcl-2/Bax expression and induction of apoptosis in mycosis fungoides tumor cells. *Leukemia*. 1999 May;13(5):735–8.
172. Zhang Q. STAT3 induces transcription of the DNA methyltransferase 1 gene (DNMT1) in malignant T lymphocytes. *Blood*. 2006 Aug 1;108(3):1058–64.
173. Ballabio E, Mitchell T, van Kester MS, Taylor S, Dunlop HM, Chi J, et al. MicroRNA expression in Sezary syndrome: identification, function, and diagnostic potential. *Blood*. 2010 Aug 19;116(7):1105–13.
174. Querfeld C, Rosen ST, Guitart J, Kuzel TM. The spectrum of cutaneous T-cell lymphomas: new insights into biology and therapy. *Curr Opin Hematol*. 2005 Jul;12(4):273–8.
175. Sausville EA, Eddy JL, Makuch RW, Fischmann AB, Schechter GP, Matthews M, et al. Histopathologic Staging at Initial Diagnosis of Mycosis Fungoides and the Sézary Syndrome: Definition of Three Distinctive Prognostic Groups. *Ann Intern Med*. 1988 Sep 1;109(5):372–82.
176. van der Loo EM, Crossen J, Meijer CJ. Morphological aspects of T cell subpopulations in human blood: characterization of the cerebriform mononuclear cells in healthy individuals. *Clin Exp Immunol*. 1981 Mar;43(3):506–16.
177. Morice WG, Katzmann JA, Pittelkow MR, el-Azhary RA, Gibson LE, Hanson CA. A comparison of morphologic features, flow cytometry, TCR-Vbeta analysis, and TCR-PCR in qualitative and quantitative assessment of peripheral blood involvement by Sézary syndrome. *Am J Clin Pathol*. 2006 Mar;125(3):364–74.
178. Brisou G, Manzoni D, Dalle S, Felman P, Morel D, Boubaya M, et al. Alarms and Parameters Generated by Hematology Analyzer: New Tools to Predict and Quantify Circulating Sezary Cells. *J Clin Lab Anal*. 2014 Mar 20;
179. Heshmati F. Mechanisms of action of extracorporeal photochemotherapy. *Transfus Apher Sci*. 2003 Aug;29(1):61–70.
180. Edelson R, Berger C, Gasparro F, Jegasothy B, Heald P, Wintroub B, et al. Treatment of Cutaneous T-Cell Lymphoma by Extracorporeal Photochemotherapy. *N Engl J Med*. 1987 Feb 5;316(6):297–303.
181. Knobler R, Berlin G, Calzavara-Pinton P, Greinix H, Jaksch P, Laroche L, et al. Guidelines on the use of extracorporeal photopheresis. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2014 Jan;28 Suppl 1:1–37.
182. Ronot X, Grunwald D. *La cytométrie en flux: ostface de Gérard Martet,...* Editions Tec & Doc; 2006.
183. Surcouf C, Delaune D, Samson T, Foissaud V. Analyse d'image en cytologie hématologique: automate CellaVision DM96 TM. In: *Annales de Biologie Clinique [Internet]*. 2009 [cited 2015 Sep 27]. p. 419–24.

184. Girardi M, Schechner J, Glusac E, Berger C, Edelson R. Transimmunization and the evolution of extracorporeal photochemotherapy. *Transfus Apher Sci.* 2002 Jun;26(3):181–90.
185. Marie-Cardine A, Viaud N, Thonnart N, Joly R, Chanteux S, Gauthier L, et al. IPH4102, a Humanized KIR3DL2 Antibody with Potent Activity against Cutaneous T-cell Lymphoma. *Cancer Res.* 2014;74(21):6060–70.
186. Sicard H, Bonnafous C, Morel A, Bagot M, Bensussan A, Marie-Cardine A. A novel targeted immunotherapy for CTCL is on its way: Anti-KIR3DL2 mAb IPH4102 is potent and safe in non-clinical studies. *Oncolmmunology.* 2015 Jun 1;0(0):e1022306.
187. van der Fits L, van Kester MS, Qin Y, Out-Luiting JJ, Smit F, Zoutman WH, et al. MicroRNA-21 Expression in CD4+ T Cells Is Regulated by STAT3 and Is Pathologically Involved in Sézary Syndrome. *J Invest Dermatol.* 2011 Mar;131(3):762–8.

## RESUME

**Introduction et objectif** : Le syndrome de Sézary est un lymphome cutané primitif d'origine lymphoïde T, historiquement défini par la triade érythrodermie, polyadénopathies généralisées et présence de cellules T néoplasiques (cellules de Sézary) circulantes. Un nombre absolu d'au moins 1000 cellules de Sézary par millimètre cube de sang périphérique est reconnu comme critère biologique diagnostique majeur. Or, l'évaluation actuellement rendue aux cliniciens au CHU de Rouen est faite en pourcentage de CS pour 100 lymphocytes examinés (microscopie optique). Devant l'existence de marqueurs spécifiques des cellules de Sézary (positivité du CD158k et perte des CD7 et CD26), il nous est apparu important d'évaluer d'une part, nos pratiques au sein du laboratoire, et d'autre part, de confirmer le potentiel de la cytométrie en flux à l'aide des marqueurs CD7, CD26 et CD158k.

**Matériel et méthode** : 23 échantillons faisant l'objet d'une recherche de cellules de Sézary ont été analysés en prospectif à la fois en cytomorphologie et en cytométrie en flux. Parallèlement, 3 patients ayant un syndrome de Sézary diagnostiqué ont été suivis lors de leurs séances de photochimiothérapie extracorporelle (traitement de référence).

**Résultats** : Seulement 37.5% (3/8) des patients Sézary ont été identifiés par cytologie alors qu'avec la combinaison d'anticorps monoclonaux CD7, CD26 et CD158k en cytométrie en flux 100% des patients Sézary (8/8) ont pu être identifiés selon les seuils diagnostiques actuels. Aucun patient non Sézary (0/15) n'a été diagnostiqué à tort. Une différence significative a été retrouvée entre les groupes Sézary et non Sézary pour chaque paramètre étudié : ratio CD4/CD8 ( $p < 0.0001$ ), cellules CD3+CD4+CD158k+ ( $p < 0.0001$ ), cellules CD3+CD4+CD26- ( $p < 0.0001$ ) et cellules CD3+CD4+CD7- ( $p = 0.004$ ). Une corrélation de 0.7 a pu être déterminée entre ces deux méthodes pour la recherche de cellules de Sézary. Le suivi des 3 patients au fil des séances de photochimiothérapie extracorporelle n'a pas mis en évidence d'effet notable sur la maladie résiduelle; en effet la réponse thérapeutique observée après 137 jours de suivi moyen se situait en « maladie stable » pour les 3 patients Sézary.

**Conclusion** : Au total, l'analyse des cellules de Sézary en cytométrie en flux apparaît clairement supérieure à la microscopie optique. L'utilisation en routine d'un panel d'immunophénotypage combinant CD7, CD26 et CD158k semble nécessaire pour une meilleure fiabilité du rendu de résultats et donc une meilleure prise en charge diagnostique et thérapeutique des patients.

**Mots-clés** : cellules de Sézary, cytologie, cytométrie de flux, CD158k, CD7, CD26, photochimiothérapie extracorporelle.