Analyse d'un essai multicentrique de phase II évaluant le bénéfice thérapeutique du lenalidomide dans les lymphomes cutanés primitifs B diffus à grandes cellules type-jambe en rechute ou réfractaires à un traitement initial associant Rituximab et polychimiothérapie

Diane Mermin

▶ **To cite this version:**

Diane Mermin. Analyse d'un essai multicentrique de phase II évaluant le bénéfice thérapeutique du lenalidomide dans les lymphomes cutanés primitifs B diffus à grandes cellules type-jambe en rechute ou réfractaires à un traitement initial associant Rituximab et polychimiothérapie . Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01567791

HAL Id: dumas-01567791

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01567791

Submitted on 24 Jul 2017

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.

Université de Bordeaux

U.F.R DES SCIENCES MEDICALES

Année 2017 Thèse n°3048

Thèse pour l'obtention du

DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 31 mai 2017 par

Diane MERMIN

Née le 24 septembre 1989 à Harfleur (76)

Discipline : Dermatologie et Vénéréologie

Analyse d'un essai multicentrique de phase II évaluant le bénéfice thérapeutique du lenalidomide dans les lymphomes cutanés primitifs B diffus à grandes cellules type-jambe en rechute ou réfractaires à un traitement initial associant Rituximab et polychimiothérapie.

Directrice de thèse:

Madame le Professeur Marie BEYLOT-BARRY

Rapporteur externe:

Monsieur le Professeur Florent GRANGE

Membres du jury :

Monsieur le Professeur Jean-Philippe MERLIO	Président
Monsieur le Professeur Noël MILPIED	Membre
Madame le Professeur Marie BEYLOT-BARRY	Membre
Madame le Professeur Béatrice VERGIER	Membre
Madame le Docteur Anne PHAM-LEDARD	Membre
Monsieur le Docteur Eric FRISON	Membre

REMERCIEMENTS

Au président du jury,

Monsieur le Professeur Jean-Philippe Merlio

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Service de Biologie moléculaire

Hôpital Haut-Lévêque, CHU Bordeaux, Pessac

Je suis honorée que vous présidiez ce jury. Merci pour votre aide lors de l'interprétation des MYD88.

Je vous prie d'agréer l'expression de mon profond respect et vous témoigne l'assurance de ma sincère reconnaissance.

A ma directrice de thèse,

Madame le Professeur Marie Beylot-Barry

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Service de Dermatologie

Hôpital Saint-André, Bordeaux

Je vous remercie de m'avoir proposé ce sujet de thèse, de m'avoir accordé votre confiance au cours de sa réalisation, et pour votre disponibilité. C'était un vrai plaisir de réaliser ce travail avec vous.

Votre dévouement à la fois pour les patients, le service et les internes ainsi que l'implication que vous accordez à tous vos projets sont remarquables.

Trouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance et de ma sincère gratitude.

A mes juges,

Madame le Docteur Anne Pham-Ledard

Praticien Hospitalier, Universitaire

Service de Dermatologie

Hôpital Saint-André, CHU Bordeaux, Bordeaux

Chère Liên, par ta rigueur et ton sens clinique, tu m'as beaucoup appris dès le début de l'internat et je te remercie. J'espère que cette thèse sur ton sujet de prédilection te satisfera. Je te souhaite une belle année en Angleterre, et que cette expérience te soit très enrichissante.
Crois en l'expression de mon profond respect.

Madame le Professeur Béatrice Vergier

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Service d'Anatomo-pathologie

Hôpital Haut-Lévêque, CHU Bordeaux, Pessac

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail de thèse.
Je vous remercie pour votre gentillesse et votre pédagogie au cours de mon semestre dans votre service. Veuillez croire en l'expression de ma plus haute considération.

A mes juges,

Monsieur le Professeur Noël Milpied

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Service d'Hématologie

Hôpital Haut-Lévêque, CHU Bordeaux, Pessac

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail de thèse et d'y apporter votre expérience d'hématologue.

Trouvez ici l'assurance de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Monsieur le Docteur Eric Frison

Assistant hospitalier universitaire

Unité de soutien méthodologique à la recherche clinique,

CHU Bordeaux, Bordeaux

Je te remercie pour ta disponibilité et pour m'avoir expliqué les subtilités statistiques de l'étude, avec tant de patience. Merci de ton implication dans cette étude.

Je te remercie d'avoir accepté de juger ce travail de thèse.

A mon rapporteur de thèse,

Monsieur le Professeur François Grange

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Service de Dermatologie

CHU Reims

Je vous remercie d'avoir accepté de relire et de rapporter ce travail de thèse. Je sais que le lymphome B cutané primitif type jambe est un sujet qui vous tient à cœur, et j'ai été très touchée par vos remarques lors du rapport ; je vous en remercie chaleureusement.

Veuillez croire en l'expression de ma plus haute considération.

Sans oublier,

Madame le Professeur Marie-Sylvie Doutre

Je vous remercie pour l'enseignement de notre belle spécialité que vous m'avez apporté depuis mon premier semestre à Haut-Lévêque. Les séances photos les mardis et vendredis matins à Haut-Lévêque y ont grandement participé !
Trouvez ici l'assurance de ma reconnaissance et de mon profond respect

Monsieur le Professeur Alain Taïeb

Vos connaissances en dermatologie sont remarquables. Je vous remercie pour votre enseignement au cours de ces 4 ans d'internat. Je vous témoigne mon profond respect.

Monsieur le Docteur Olivier Cogrel

C'est un plaisir de travailler à tes côtés pendant six mois, en dermatologie chirurgicale, une discipline que tu exerces avec brio. Ce stage est riche d'enseignement et je t'en remercie.

Madame le Docteur Brigitte Milpied

Ton sens clinique et ta perspicacité sont un modèle pour moi. Je te remercie pour ton enseignement, toujours dans la bonne humeur et surtout beaucoup d'humour. C'est très agréable de travailler avec toi. Dans la famille Milpied, j'ai choisi ton mari dans mon jury mais il te représente aussi en quelque sorte ! Trouve ici l'expression de mon sincère respect.

Monsieur le Professeur Julien Seneschal

Julien, c'est vraiment un plaisir de travailler avec toi. Je te remercie pour ta disponibilité, et ton soutien. Par ces mots, trouve le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mon plus profond respect.

A tous, je vous remercie de m'avoir accordé votre confiance et suis reconnaissante que vous m'ayez proposé le poste de chef de clinique à partir de novembre 2017. C'est avec une très grande joie et beaucoup de plaisir que je travaillerai avec vous tous.

Sans oublier,

Madame Christine Alfaro,

Merci beaucoup Christine de m'avoir guidée pour exploiter les données de l'étude, et d'avoir été si disponible pour répondre à mes questions. Tu as été indispensable pour la réalisation de REV-LEG et tu es d'une efficacité redoutable ! C'est vraiment un plaisir de travailler avec toi.

Madame Aline Maillard,

Aline, merci pour ce travail statistique laborieux, qui n'a pas été facilité par le nombre de patients inclus : l'analyse bayésienne a été un casse-tête pour toi et pour nous, mais grâce à ton aide, j'ai (presque) tout compris ! Merci beaucoup pour ton implication dans cette étude.

A ma famille,

A Antoine, pour tout… Merci de me rendre si heureuse et de tout ton amour. J'espère te le rendre aussi bien.

A mes parents, pour m'avoir toujours encouragée au cours de mes études. C'était dur de quitter la Normandie il y a 4 ans mais malgré la distance, vous me comblez par votre amour.

Maman, heureusement que l'on a aussi nos petites papottes au téléphone pour compenser. Merci pour ta générosité en amour, en temps, et tous tes conseils que je m'applique de suivre. Tu es un modèle pour moi.

Papa, c'était hier quand tu me conduisais à gare du Havre le dimanche soir, (et que j'étais tellement triste de retourner au foyer Sainte Marie…!). Tu me disais que les études de médecine passaient vite. En effet, je ne les ai pas vues filer ! Je suis fière de te ressembler autant.

A mon frère, Richard : tu as toujours été là pour me protéger, m'encourager, mais surtout me faire rire. J'ai de la chance de t'avoir ainsi que Juliette évidemment.

A ma sœur, Clara. J'ai toujours mon petit nadi « courage » fait en P1, qui m'a suivi toutes les études et qui trône sur mon bureau : tu n'étais en fait pas loin de moi, même si trop souvent séparées. J'ai aussi beaucoup de chance de t'avoir…

A mes grand-mères, Jenny et mamie Paula, pour votre amour, votre soutien, votre bienveillance. Je vous aime de tout mon cœur et j'aimerais vous voir plus souvent.

Je pense fort à mes grand-pères, Dany et à Papy Serge et leur dédie cette thèse.

A ma belle-famille, Isabelle, François, Nico et Paul. Vous m'avez accueillie depuis 8 ans si chaleureusement dans votre famille… Je suis très heureuse de devenir une future Héron prochainement ;-)

A mes amis de toujours, et pour toujours,

Caro et Marie, représentantes du trio infernal, depuis 16 ans.

Stef, Pauline et Caro, pour votre amitié hors-pair…

La meute Lefèvre (Marion, Cécé, JB et Pierre B), car sans vous l'arrivée à Bordeaux, n'aurait pas eu le même goût. On a de la chance de vous avoir.

Pierre L, Hortense, Sophie, Fred, car Bordeaux avec les copains normands a encore plus de goût !

A tous mes amis havrais (Vic, Myloune, Marin, Pierre, JB, Babou, Chloé, Justine, Aubert, Chacha, Ju, Max, Rapha, Clément) pour votre amitié infaillible malgré la distance. C'était génial de vous retrouver tous ce week-end de mai à Chausey.

A tous mes amis rouennais (Alban, Mag, Margaux, Mathieu, Arnaud, Maguite, James, Elo, Anne-Laure, Adrien, Cécile*)* maintenant éparpillés aux 4 coins de la France mais c'est toujours un plaisir/une grande fête de vous retrouver à Bordeaux, Angers, Rouen, Nantes ou Lyon !

A Loulou, super souvenir de nos sous-colles du mercredi soir avec Antoine, où l'on mangeait autant que l'on travaillait !

A Claire, qui lit ses lames de poumons à Harvard pendant ce temps là !

A mes chers collègues et amis,

A l'équipe de dermatologie adulte:

Ma Gladyyyy : je garderai de supers souvenirs de mon premier semestre avec toi… Miss you !

Vaianu, j'aurais tellement aimé partager un semestre avec toi…

Victoire, je ne peux que t'aimer tellement on se ressemble !

Anne-So Dudu, plus que ma co-interne, ma CCA, tu es devenue une vraie amie. Vivement les apéros vin blanc-huîtres sur le bassin. (Comptez sur nous avec Julien!)

Aurélie, pour notre stage en dermato-pédiatrie, où l'organisation était le mot d'ordre mais dans une super ambiance. J'ai adoré ces 6 mois avec toi !

Nina, tu m'as accueillie comme une maman loup en premier semestre. Merci reine Soko pour tes filons et tes bons conseils!

Alexia, mon acolyte de la consult de HL. C'était un super semestre avec toi.

Laure, pour ta bonne humeur au quotidien, et d'être notre « maman interne », rôle que tu tiens merveilleusement bien !

Merci à toutes mes autres co-internes de dermato **(Anne-Laurie, Anouck, Jenna, Anne, Muriel, Maiana, Océane, Héloïse, Alexandra, Adeline, Marine, Séverine, mais aussi Philippine !)**, avec qui j'ai partagé de très bons moments durant mon internat et ce n'est pas fini.

Anne-So Dada, Emilie, Léa, anciennes co-internes, actuelles chefs, futures co-chefs. Je me réjouis de travailler avec vous !

Antoine F, merci de ta patience et de ta formation lors de mon premier semestre.

Lucile, merci de ta formation à mes débuts et le bon semestre (ou la moitié !) que nous avions passé ensemble.

Caroline D, Sorilla, pour votre partage de l'onco-dermatologie.

Patrick G, Vincent O, Jean-Michel A, Sandra L et Mélanie C, pour votre gentillesse et votre soutien.

A toutes les infirmières, aide-soignantes d'hospitalisation et de consultation, aux ASH, aux secrétaires: merci d'avoir contribué à un environnement de travail favorable durant cet internat. Merci de votre soutien et votre sourire tous les matins. C'était un plaisir de travailler avec vous au cours de ces 4 ans d'internat et je suis contente que cela continue.

A Madame Capella, notre cadre de consultation : par votre gentillesse, votre délicatesse, et votre organisation de maitre, vous contribuez à ce que l'on travaille dans un environnement favorable.

A l'équipe de dermatologie pédiatrique, dans laquelle j'ai eu la chance de passer un semestre : Pr Franck Boralevi, Dr Christine Léauté-Labrèze, ainsi qu'Anne So évidemment.

A l'équipe de médecine interne de Saint-André : j'ai passé 6 mois géniaux dans votre équipe avec mes 3 co-internes Laure, Joëlle et Isabelle. Merci Pierre et Charlie pour ces visites certes pédagogiques, mais surtout très sympathiques.

A l'équipe d'anatomo-pathologie de Haut-Lévêque: Adeline, Elodie, Camille, Clémence, Fanny, Tuka, Baptiste, j'ai adoré l'ambiance dans ce bureau, merci pour ces 6 mois ! Marie-Laure, j'admire ta curiosité, ton dévouement, ta gentillesse, un peu moins le désordre de ton bureau… ! Merci pour ces 6 mois à tes côtés.

A l'équipe de dermatologie de Libourne: Elise, Marie-Laure et Marie. Merci pour ce semestre passé dans une ambiance chaleureuse, sportive (!) et studieuse.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 20

I. LES LYMPHOMES B CUTANES PRIMITIFS 21

A. Généralités 21

B. Classification 21

II. LE LYMPHOME CUTANE PRIMITIF B A GRANDES CELLULES DE TYPE JAMBE 23

A. Généralités 23

B. Clinique 23

C. Histologie 26

D. Traitements actuels 29

E. Pronostic 29

III. LES LYMPHOMES B DIFFUS A GRANDES CELLULES 30

A. Le lymphome B diffus à grandes cellules ganglionnaire 30

1. Plusieurs sous-types 30

2. Phénotype du LBDGC ganglionnaire de type non-GC 31

3. Traitements actuels du LBDGC ganglionnaire 31

B. Caractéristiques moléculaire des LBDGC non-GC 32

1. La voie NF-κB 33

a. Présentation du complexe NF-κB 33

b. Les différentes étapes en amont de la voie NF-κB 33

c. Différentes étapes en aval de la voie NF-κB 34

2. Les autres voies moléculaires dans le LBDGC non-GC 35

C. Les mutations retrouvées dans le LCBDGC-TJ 35

1. Mutations impliquant la voie NF-κB 37

2. Mutations hors voie NF-κB 38

3. Corrélation entre le profil génétique et immunohistochimique 38

IV. LE LENALIDOMIDE 39

A. Indications actuelles 39

B. Mécanismes d'action 39

1. Effet cytotoxique 40

2. Effet immunomodulateur 42

3. Effet anti-angiogénique 42

C. Traitement par lenalidomide du LBDGC ganglionnaire 42

ARTICLE **47**

I. ARTICLE **48**

II. RESULTATS COMPLEMENTAIRES **75**

A. Analyse critique des critères de jugements 75

B. Analyse en sous-groupe des prélèvements sur le plan histologique 76

1. Description de l'analyse complémentaire 76

2. Résultats de la relecture anatomo-pathologique et analyse phénotypique complémentaire 77

3. Interprétation des cas douteux 80

a. Hypothèse physiopathologique 80

b. Conséquences sur les résultats de l'étude REV-LEG 80

C. Mutation MYD88 L265P 81

D. Suivi des patients au décours de l'étude REV-LEG 82

III. LIMITES **83**

A. Faible échantillon et conséquences statistiques 83

1. Nombre de sujets nécessaires (NSN) 83

2. Faible taux d'inclusion 84

3. Analyse bayésienne 84

4. Intervalle de confiance et marges d'erreur 87

B. Evolution de la réponse avec le temps - possibles biais d'inclusion 87

IV. PERSPECTIVES **88**

A. Perspectives thérapeutiques 88

1. Cibler la BTK : l'ibrutinib 89

2. Cibler SYC : le fostamatinib 90

3. Cibler la voie PI3K/AKT/mTOR 90

4. Cibler MALT1 du complexe CBM : les inhibiteurs de MALT1 91

5. Cibler le protéasome: le bortezomib 91

6. Cibler IRAK 4 : les inhibiteurs d'IRAK4 91

7. Cibler MYD88 : les inhibiteurs de MYD88 92

8. Cibler le récepteur TLR : les inhibiteurs du TLR 92

9. Cibler la voie JAK-STAT : le ruxolitinib 93

B. Etude ancillaire 93

CONCLUSION **94**

BIBLIOGRAPHIE **95**

ANNEXES **103**

LISTE DES ABREVIATIONS

ABC Activated B-cell

ARN Acide ribonucléique

BCL-6 B-cell lymphoma 6

BCR B-cell receptor

BLIMP1 B-lymphocyte-induced maturation protein 1

BPAX5 Paired box protein 5

BTK Bruton tyrosine kinase

CARD11 Caspase recruitment domain-containing protein 11

CD Classe de différenciation

CDKN2a Cyclin dependent inhibitor 2a

EORTC European Organisation for Research and Treatment of Cancer

FDA Food and drug administration

FOX Forkhead box

GC Germinal-center

GEP Profil d'expression génique

GFELC Groupe français d'étude des lymphomes cutanés

HES Hematoxyline eosine safran

IFN Interféron

IL Interleukine

IRAK Interleukin-receptor-associated kinase

IRF4 Interferon regulatory factor 4

ITAM Immunoglobulin tyrosine-based activation motif

IPI Index pronostic international

JAK Janus kinase

LBDGC Lymphome B diffus à grandes cellules

LCBDGC-TJ Lymphome cutané B diffus à grandes cellules type-jambe

MUM1 Multiple myeloma oncogene 1

MYD Myeloid differentiation

NF-κB Nuclear factor Kappa B

NGS Next-generation sequencing

NOS Not otherwise specified

OMS Organisation mondiale de la santé (WHO)

PTEN Phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10

STAT Signal transducers and activators of transcription

SYK Spleen tyrosine kinase

TLR Toll like receptor

TNF Tumor necrosis factor

VEGF Vascular endothelial growth factor

FIGURES

Figure 1 : Patients présentant un LCBDGC-TJ en fonction du stade T 25
Figure 2 : Biopsies cutanées (HES et étude immunohistochimique) de LCBDGC-TJ 28
Figure 3 : Algorithme de Hans (Hans et al., 2004) 31
Figure 4 : Les différentes voies cellulaires impliquées dans le LBDGC non-GC (Yang et al., 2012) 32
Figure 5 : Répartition des mutations retrouvées dans le LCBDGC-TJ (Pham-Ledard et al, 2014a) 36
Figure 6 : Mécanismes d'action du lenalidomide (Gribben et al., 2015) 40
Figure 7 : Implication du lenalidomide dans les voies de signalisation cellulaire (Yang et al., 2012) 42
Figure 8 : Résumé schématique de l'étude REV-LEG 45
Figure 9 : Algorithme décisionnel diagnostique devant des lymphoprolifération B à grandes cellules (Laban et al., 2015) 77
Figure 10 : Application de l'algorithme de Hans aux cas "douteux" 79
Figure 11: Diagramme de flux de l'étude REV-LEG 83
Figure 12: Distributions a priori (a) et a posteriori (b) (clinique, non informatif, sceptique et enthousiaste) 86
Figure 13 : Voies cellulaires et cibles thérapeutiques des nouveaux traitements dans les LBGC non-GC 88
Figure 14 : Gènes dont l'expression est inhibée sous l'influence d'inhibiteur d'IRAK4 92

TABLEAUX

Tableau 1 : Lymphomes B cutanés primitifs selon la classification WHO-EORTC de 2005 (Willemze et al., 2005) 21
Tableau 2 : Classification OMS 2016 des hémopathies lymphoïdes B matures (Swerdlow et al., 2016) 22
Tableau 3 : Classification TNM des lymphomes primitifs cutanés hors mycosis fongoïde et syndrome de Sézary (Senff and Willemze, 2007) 24
Tableau 4 : Principales anomalies génétiques associées aux LBDGC non-GC et LCBDGC-TJ (correspondance onco-hématologie, mai 2015, Dr Pham-Ledard) 36
Tableau 5 : Revue des études évaluant le lenalidomide seul dans les lymphomes non-hodgkiniens en rechute ou réfractaires à une R-polychimiothérapie. 43
Tableau 6 : Centres investigateurs actifs dans l'étude REV-LEG 45
Tableau 7 : Phénotype et statut mutationnel des cas « certains » de LCBDGC-TJ, et « douteux » entre un LCBDGC-TJ et un LBCCF, après relecture anatomo-pathologique..... 78
Tableau 8 : Réponses des patients à M6 (a) et sous lenalidomide (b) en fonction du statut histologique et phénotypique certain ou douteux de LCBDGC-TJ 81
Tableau 9: Intervalle de crédibilité (ICr) du taux de réponse globale θ 86

INTRODUCTION

I. LES LYMPHOMES B CUTANES PRIMITIFS

A. Généralités

Les lymphomes cutanés sont des proliférations lymphoïdes clonales malignes primitivement localisées à la peau, de phénotype lymphocytaire T ou B, sans signe d'atteinte extra-cutanée lors du bilan d'extension au diagnostic. Ils se distinguent donc des lymphomes ganglionnaires ou systémiques avec localisations cutanées secondaires.

B. Classification

Dans la classification WHO-EORTC (organisation mondiale de la santé et organisation européenne pour la recherche et le traitement des cancers) de 2005, les lymphomes B cutanés sont identifiés selon leurs caractéristiques anatomo-cliniques et sont classés selon leur profil évolutif « indolent » ou « intermédiaire » (Tableau 1, (Willemze et al., 2005)). Cette classification a été intégrée au sein de la classification des tumeurs du tissu hématopoïétique et lymphoïde WHO 2008 (Swerdlow SH et al., 2008) révisée en 2016. (Swerdlow et al., 2016) (Tableau 2)

Les lymphomes cutanés B indolents sont les plus fréquents et comprennent le lymphome B cutané centro-folliculaire (LBCCF) et le lymphome de la zone marginale. Les formes intermédiaires sont principalement représentées par le lymphome B cutané type jambe (LCBDGC-TJ) appelé aussi « type membre inférieur ». Ces 3 sous-types de lymphomes B cutanés représentent 25% de l'ensemble des lymphomes cutanés.

Les lymphomes cutanés B
De pronostic indolent
Lymphome cutané primitif B de la zone marginale
Lymphome cutané primitif B centro-folliculaire
De pronostic intermédiaire
Lymphome cutané primitif B diffus à grandes cellules, de type-jambe
Lymphome cutané primitif B diffus à grandes cellules, autres
Lymphome cutané primitif B intravasculaire

Tableau 1 : Lymphomes B cutanés primitifs selon la classification WHO-EORTC de 2005 (Willemze et al., 2005)

Hémopathies lymphoïdes à cellules B matures
Leucémie Lymphoïde Chronique / Lymphome lymphocytique
Lymphocytose B monoclonale *
Leucémie prolymphocytaire B
Lymphome de la zone marginale splénique
Leucémie à tricholeucocytes
Leucémie / lymphome splénique B inclassable
Lymphome à petites cellules B diffus de la pulpe rouge splénique
Leucémie à tricholeucocytes variante
Lymphome lymphoplasmocytaire
Macroglobulinémie de Waldenström
Gammapathie Monoclonale de signification indéterminée (MGUS) à IgM *
Maladie des chaînes lourdes Mu
Maladie des chaînes lourdes gamma
Maladie des chaînes lourdes alpha
Gammapathie Monoclonale de signification indéterminée (MGUS) à IgG / A *
Myélome multiple
Plasmocytome solitaire osseux
Plasmocytome extra osseux
Maladies à dépôts de chaine d'Ig monoclonale *
Lymphome de la zone marginale (extra ganglionnaire) du tissu lymphoïde associé aux muqueuses (lymphome MALT)
Lymphome de la zone marginale ganglionnaire
Entité provisoire: lymphome de la zone marginale ganglionnaire pédiatrique
Lymphome folliculaire
Tumeur folliculaire in situ (auparavant : lymphome folliculaire in situ) *
Lymphome folliculaire type duodénal *
Lymphome folliculaire de type pédiatrique
*Lymphome B à grandes cellules avec réarrangement IRF4 *
Lymphome cutané centro-folliculaire primitif
Lymphome à cellules du manteau
Tumeur à cellules du manteau in situ
Lymphome diffus à grandes cellules B (DLBCL)
Sans autre spécificité (NOS)
De type centro germinatif B *
De type B activé *
Lymphome B à grandes cellules riche en cellules T et en histiocytes
Lymphome diffus à grandes cellules B primitif du système nerveux central (DLBCL – CNS)
Lymphome diffus à grandes cellules B primitif, type jambe
Lymphome diffus à grandes cellules B EBV+ NOS *
Entité provisoire : ulcère mucocutané EBV+
Lymphome diffus à grandes cellules B associé à une inflammation chronique
Granulomatose lymphomatoïde
Lymphome à grandes cellules B primitif thymique
Lymphome à grandes cellules B intravasculaire
Lymphome à grandes cellules B ALK +
Lymphome plasmoblastique
Lymphome primitif des séreuses
*Entité provisoire : Lymphome à grandes cellules B HHV8+ NOS *
Lymphome de Burkitt
*Entité provisoire : lymphome Burkitt-like avec anomalie 11q *
Lymphome B de haut grade avec réarrangement MYC, BCL2 et/ou BCL6 *
Lymphome B de haut grade NOS *

Tableau 2 : Classification OMS 2016 des hémopathies lymphoïdes B matures (Swerdlow et al., 2016)

(Une astérisque à la suite de la catégorie signifie qu'elle a été soit modifiée soit ajoutée par rapport à la classification OMS 2008)

II. LE LYMPHOME CUTANE PRIMITIF B A GRANDES CELLULES DE TYPE JAMBE

A. Généralités

Le LCBDGC-TJ a été individualisé pour la première fois par Vermeer en 1996 en tant que lymphome B cutané primitif « des jambes ».(Vermeer et al., 1996a) Il se différentiait des autres lymphomes B cutanés par sa localisation tumorale (jambes/extra-jambes) et son aspect cytologique. Il a ensuite été clairement identifié notamment sur le plan phénotypique, et constitue une véritable entité anatomo-clinique depuis 2008.(Swerdlow SH et al., 2008) Il représente environ 20% des lymphomes cutanés type B et 4% des lymphomes cutanés en général. Il partage des caractéristiques cytologiques, architecturales, phénotypiques et moléculaires avec le lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC) ganglionnaire, de sous-type « activé » dont il constituerait un « équivalent cutané » avec quelques particularités.
L'âge médian des patients atteints de LCBDGC-TJ est de 78 ans contre 53 et 58 ans dans les lymphomes B cutanés primitifs de la zone marginale et centro-folliculaire. L'âge médian des LBDGC ganglionnaires est de 70 ans.

B. Clinique

Les LCBDGC-TJ surviennent chez des patients âgés, avec une prédominance féminine (sex-ratio : 1,6) (Grange et al. 2007; Grange et al. 2014; Willemze et al. 2005). Ils se manifestent typiquement par des tumeurs cutanées de croissance rapide, érythémato-violacées, parfois ulcérées, uniques ou multiples. (Figure 1)

Elles sont le plus souvent localisées aux membres inférieurs, mais il ne s'agit pas d'un critère exclusif car 20 à 30% des LCBDGC-TJ comportent des localisations « extra-jambes », parfois sans atteinte des membres inférieurs associée. La classification TNM adaptée aux lymphomes cutanés (hors mycosis fongoïde et syndrome de Sézary) permet d'évaluer la sévérité clinique. (**Tableau 3**)(Kim et al., 2007; Senff and Willemze, 2007)

Classification	Description
Stade T	
T1	Lésion cutanée solitaire
	T1a : lésion cutanée solitaire ≤5cm de diamètre
	T1b : lésion cutanée solitaire >5cm de diamètre
T2	Atteinte cutanée locorégionale : plusieurs atteintes cutanées limitées à une zone corporelle ou deux zones contiguës :
	T2a : toutes les lésions sont regroupées sur une zone ≤15 cm de diamètre
	T2b : toutes les lésions sont regroupées dans une zone entre 15 et 30 cm
	T2c : toutes les lésions sont regroupées sur une zone >30 cm de diamètre
T3	Atteinte cutanée généralisée
	T3a : multiples lésions situées dans deux régions corporelles non contiguës
	T3b : multiples lésions situées dans ≥3 zones corporelles
Stade N	
N0	Absence d'envahissement ganglionnaire
	1 adénopathie dans l'aire de drainage d'une lésion cutanée actuelle ou ancienne
	≥2 adénopathies de l'aire de drainage ou atteinte d'une aire ganglionnaire à distance de l'air de drainage des lésions cutanées anciennes ou actuelles
	Envahissement ganglionnaire central
M	
M0	Absence de métastase extracutanée extraganglionnaire
M1	Présence de métastase extracutanée extraganglionnaire

Tableau 3 : Classification TNM des lymphomes primitifs cutanés hors mycosis fongoïde et syndrome de Sézary (Senff and Willemze, 2007)

a	b
c	d
e	

Figure 1 : Patients présentant un LCBDGC-TJ en fonction du stade T

a: stade T1a, b : stade T2a, c: stade T2b, d: stade T2c (N1M0), e : stade T2c

Il n'est pas établi pourquoi les localisations tumorales du LCBDGC-TJ intéressent plus les membres inférieurs. Le tégument pourrait constituer un site de privilège immun, au même titre que le système nerveux central ou le testicule, deux localisations de LBDGC extra-nodaux dont le profil moléculaire est proche du LCBDGC-TJ par la présence de la mutation MYD88 L265P (page 81). L'insuffisance veino-lymphatique à l'origine de modifications cutanées, pourrait entrainer un micro-environnement cloisonné favorable au processus lymphomateux. Les lésions tumorales se développeraient à partir de cellules lymphoïdes circulantes du fait d'un adressage particulier et d'un microenvironnement localement favorable en regard des jambes.(Grange and Antonicelli, 2009)

C. Histologie

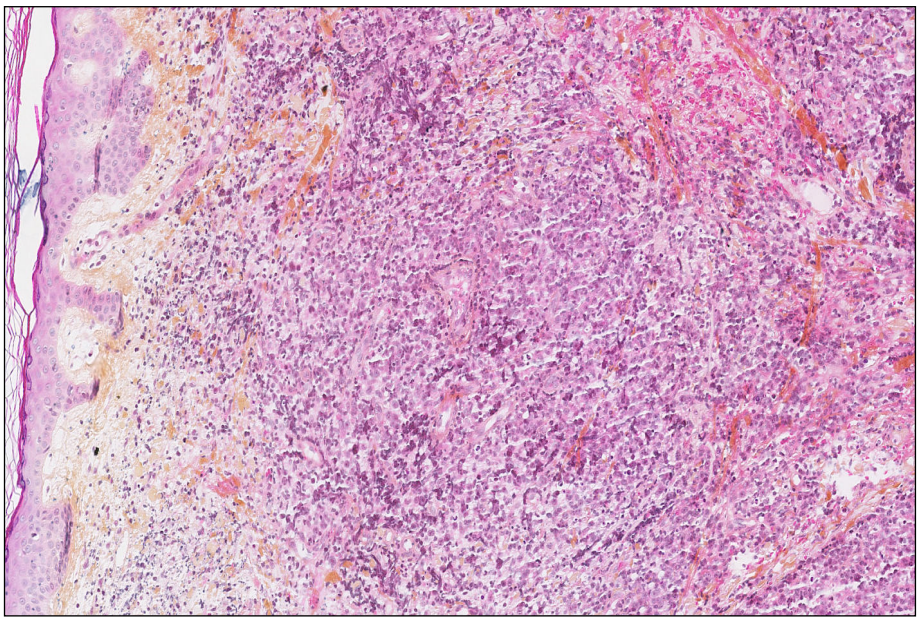
Les LCBDGC-TJ se caractérisent histologiquement par une prolifération dermique (+/- hypodermique) diffuse, non épidermotrope, de nappes de grands lymphocytes B aux noyaux principalement arrondis, à nucléoles centraux (immunoblastes) plus que périphériques (centroblastes). Les cellules tumorales sont considérées comme larges (« grands lymphocytes ») car de l'ordre de grandeur d'un noyau de macrophage, ou du double de la taille d'un lymphocyte normal. Dans le LCBDGC-TJ, les cellules réactionnelles T sont peu nombreuses et souvent confinées en zones péri-vasculaires. (Grange et al., 2001; Willemze et al., 1997)

La distinction avec le LBCCF, est cytologique, par la présence dans ce dernier d'une majorité de cellules clivées à type de grands centroblastes ou de grands centrocytes clivés. Elle est aussi immunohistochimique (profil non-GC du LCBDGC-TJ) comme le suggère l'algorithme validé par le GFELC en 2015 (Laban et al., 2015; Wang et al., 2015) et moléculaire par la spécificité de la mutation MYD88 L265p.(Menguy et al., 2016)

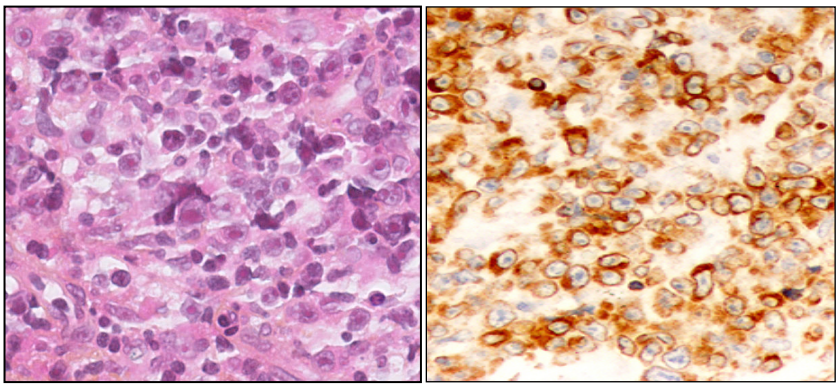
Le LCBDGC-TJ a un profil phénotypique particulier: de type B (CD20+, CD79a+, CD3-, CD5), « activé » similaire à celui des LBDGC ganglionnaires: CD10-, BCL-6+/-, MUM-1+. BCL-6 est exprimé dans 50 à 68% des cas (non discriminant dans le diagnostic différentiel). Il est également BCL-2+, FOXP1+, et présente un taux de prolifération (Ki67) élevé, sans réseau folliculaire (CD21-). (Grange et al., 2004; Sundram et al., 2005; Willemze et al., 2005) (Figure 2).

Le statut BCL-2 dans le LCBDGC-TJ a longtemps fait l'objet d'un débat (Kodama et al., 2005) et un phénotype BCL-2+ était considéré comme de mauvais pronostic sans être

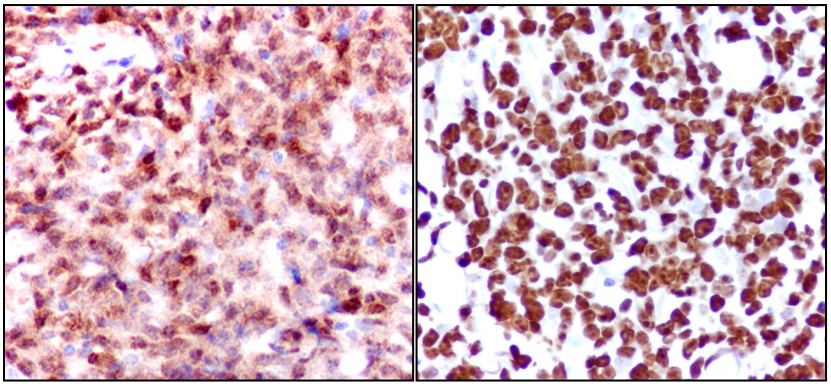
spécifique du LCBDGC-TJ.(Grange et al. 2004; Grange et al. 2007) L'architecture, l'aspect cytologique et la localisation des tumeurs étaient considérés comme les éléments les plus discriminants pour faire le diagnostic. (Senff et al., 2007) A présent, une prolifération lymphomateuse B à grandes cellules BCL-2 négatives n'est habituellement pas classée en LCBDGC-TJ.(Laban et al., 2015) A l'inverse il existe des LBCCF à grandes cellules BCL-2 positifs qui doivent faire rechercher une localisation primitive extra-cutanée.(Pham-Ledard et al., 2015)



HES x100



HESx400 BCL-2x300



MUM-1x300 MIB-1x300

Figure 2 : Biopsies cutanées (HES et étude immunohistochimique) de LCBDGC-TJ

D. Traitements actuels

Par analogie avec les autres lymphomes B cutanés et du fait de leur âge, initialement les patients atteints de LCBDGC-TJ étaient surtout traités par radiothérapie seule. La prise en charge thérapeutique a changé depuis ces dernières années, et correspond à ce qui a été proposé pour les lymphomes ganglionnaires où une amélioration de la survie chez les patients âgés traités par R-PCT vs PCT a été démontrée. (Coiffier, 2007; Coiffier et al., 2002; Feugier et al., 2005; Peyrade et al., 2011). Ainsi, dans le LCBDGC-TJ, en première ligne thérapeutique, est proposée l'association du rituximab, anticorps monoclonal anti-CD20, et d'une polychimiothérapie de type CHOP ou COP. (Grange et al., 2010; Grange et al., 2009; Guyot et al., 2010; Senff et al., 2008)) Les doses d'anthracyclines peuvent être diminuées (R-mini-CHOP) ou supprimées (R-CVP) chez les sujets de plus de 80 ans, fragiles, ou les patients aux fonctions cardiaques altérées, sans qu'il ait été démontré une perte d'efficacité.(Grange et al., 2014b) Un traitement par facteurs de croissance hématopoïétiques est systématiquement administré au cours de ces traitements chez des patients âgés. Ainsi, la radiothérapie ou le rituximab seul ne sont plus considérés comme traitement de première intention mais peuvent être discutés si l'état général du patient ne permet pas un traitement plus agressif, à visée palliative.(Senff et al., 2008)

Le taux de rechute des LCBDGC-TJ après R-PCT est évalué à 52% contre 73% avant l'utilisation de la R-PCT. Pour ces patients en rechute, la réalisation d'une deuxième chimiothérapie est souvent compromise par leur état général altéré.(Zinzani et al. 2006; Grange et al. 2014) Aucune recommandation actuelle n'existe sur leur prise en charge.

E. Pronostic

Les LCBDGC-TJ sont considérés comme de pronostic « intermédiaire » parmi les lymphomes B cutanés. Le taux de survie à 5 ans reste inférieur à celui des autres lymphomes B cutanés, même si en amélioration depuis l'utilisation de la polychimiothérapie associée au rituximab (R-PCT) en première ligne thérapeutique. Il était estimé entre 41% et 63% dans les premières publications avant la généralisation de la R-PCT (Grange et al. 2007; Senff et al. 2008; Willemze et al. 2005; Vermeer et al. 1996; Bessell et al. 2012; Kodama et al. 2005; Hallermann et al. 2011). Une étude rétrospective du GFELC a comparé le pronostic des patients avec un LCBDGC-TJ diagnostiqué sur la période 1988-2003 avec les patients diagnostiqués sur la période 2004-2010. Il a été observé une nette amélioration des taux de survie à 3 et 5 ans entre les 2 périodes : de 55 à 74% puis de 46 à 66% respectivement. Ces résultats étaient associés à une différence significative liée au traitement reçu : 88,5% des

patients de la période 2 avaient été traités par R-PCT contre 16,7% des patients de la période 1 ($p<0,001$). (Grange et al. 2014)

Les facteurs de mauvais pronostic identifiés en analyse multivariée au sein des cohortes de patients atteints de LCBDGC-TJ sont le nombre élevé de lésions, le siège sur les membres inférieurs.(Grange et al. 2001; Grange et al. 2007; Senff et al. 2007; Grange et al. 2014). Les formes à lésions uniques lors du diagnostic et/ou localisées en dehors des membres inférieurs sont de meilleur pronostic.

III. LES LYMPHOMES B DIFFUS A GRANDES CELLULES

A. Le lymphome B diffus à grandes cellules ganglionnaire

1. Plusieurs sous-types

En terme d'incidence, les LBDGC ganglionnaires représentent jusqu'à 30% des lymphomes non hodgkiniens, soit un peu plus de 4 000 nouveaux cas par an en France. Les LBDGC sont des prolifération malignes qui se caractérisent cytologiquement par des cellules tumorales anormalement larges. L'architecture est dite «diffuse» car les lymphocytes malins ne suivent plus une structuration normale en follicules compacts, mais diffusent au sein de la région tumorale du ganglion.

La morphologie des cellules tumorales définit 3 sous-types majoritaires -par ordre de fréquence centroblastiques, immunoblastiques et anaplasiques- progressivement abandonnés au profit des sous-types moléculaires identifiables de manière plus reproductible.

On distingue deux sous-types selon l'expression des gènes par les cellules lymphomateuses (Profil d'Expression Génique, GEP ou transcriptome). Ces deux sous-entités sont probablement le reflet de processus transformants divergents : le sous-type GC (« Germinal Centerlike ») dont le phénotype est proche de celui d'une cellule B du centre germinatif et le sous-type non-GC de phénotype activé (Activated-B Cell, ABC), profil d'expression d'un type cellulaire plus tardif, proche du plasmocyte. (Alizadeh et al., 2000) Ce-dernier sous-type est de plus mauvais pronostic.

2. Phénotype du LBDGC ganglionnaire de type non-GC

Les LBDGC se distinguent par l'expression ou non des marqueurs du centre germinatif (CD10+, BCL-6+/-, MUM-1+) selon l'algorithme de Hans (Figure 3) qui est le plus utilisé et le mieux corrélé à l'analyse d'expression génique, cette-dernière n'étant pas accessible en routine. Cependant, 10 à 15% des LBDGC ganglionnaires restent inclassés avec cette méthode et sont considérés comme des LBDGC NOS (Not Otherwise Specified).

De nouvelles méthodes basées sur la quantification de transcrits d'ARN extraits de prélèvements fixés en paraffine fournissent des résultats concordants avec le GEP classique et permettraient une analyse plus fiable que l'immunohistochimie seule. Ces méthodes ne sont pas accessibles à la plupart des laboratoires mais représenteraient une alternative prometteuse.

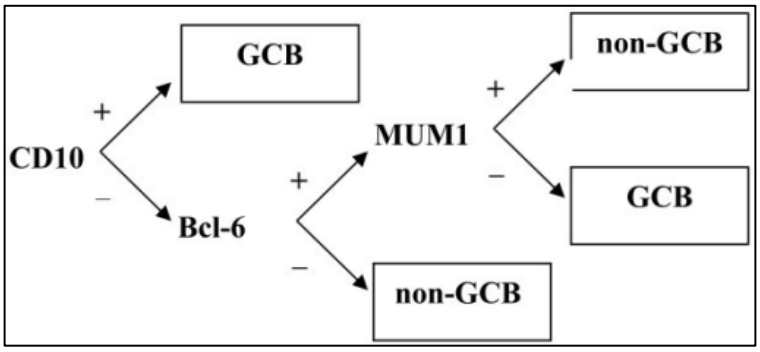


Figure 3 : Algorithme de Hans (Hans et al., 2004)

3. Traitements actuels du LBDGC ganglionnaire

Les traitements de première ligne évoluent grâce à la compréhension de la pathogenèse, avec l'arrivée de nouvelles molécules et l'amélioration des soins de support. Le traitement de première ligne du LBDGC se décide en fonction de l'âge et d'un score pronostique (International Pronostic Index, IPI). L'association rituximab et une polychimiothérapie type CHOP est recommandée. Pour les patients entre 60 et 80 ans, le traitement consiste généralement en 6 à 8 cures de RCHOP21. Après 80 ans, des variantes du R-CHOP21 basées sur un dosage moindre (R-miniCHOP) ou sans anthracyclines (remplacée par de l'etoposide) sont préférées, le traitement à visée curative étant conditionné par une évaluation gériatrique préalable.(Tilly et al., 2015)

En seconde ligne thérapeutique et suivantes, pour les 30% de patients réfractaires ou rechuteurs, différentes combinaisons de chimiothérapies peuvent être utilisées telles que R-DHAP (Dexaméthasone, Aracytine, Cisplatine), R-ICE (Ifosfamide, Carboplatine,

Etoposide), R-GEMOX (Gemcitabine, Oxaliplatine), plus ou moins associées à une autogreffe de cellules souches chez les patients jeunes.

B. Caractéristiques moléculaire des LBDGC non-GC

Les techniques de séquençage massif (Next Generation Sequencing, NGS) ont permis d'identifier des mutations récurrentes, au sein des sous-types non-GC ou GC. (Jardin, 2014; Pasqualucci et al., 2011). La plupart de ces mutations concernent des gènes impliqués dans la fonction biologique du lymphocyte B (différenciation, signalisation du récepteur à l'antigène, voie NF-κB, réponse immunitaire, apoptose et cycle cellulaire, conformation chromatinienne). Le LBDGC non-GC est essentiellement associé à une activation constitutive de la voie NF-κB, en lien étroit avec les voies du BCR et de l'interféron (IFN). (Figure 4) (Bohers et al., 2015; Davis et al., 2010)

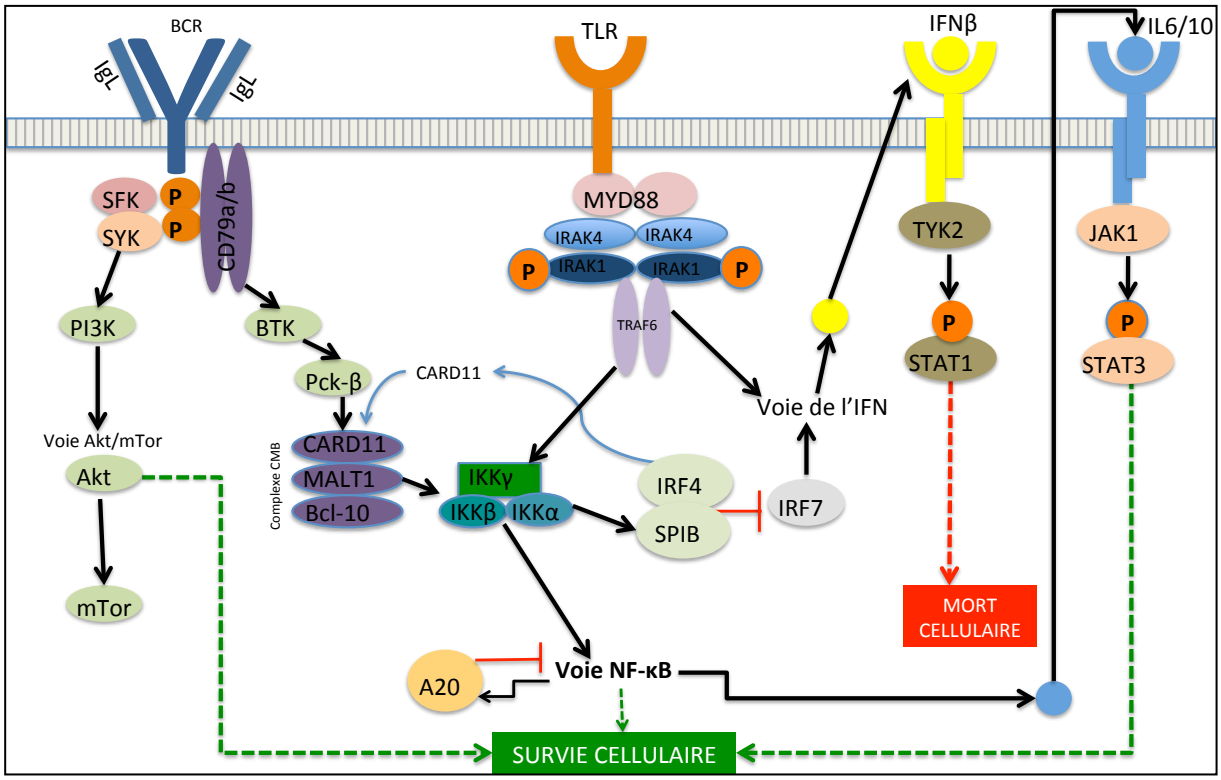


Figure 4 : Les différentes voies cellulaires impliquées dans le LBDGC non-GC (Yang et al., 2012)

1. La voie NF-κB

a. Présentation du complexe NF-κB

La voie de NF-κB est une voie majeure dans l'organisme vivant. Sa délétion chez l'animal est létale. Son activation favorise la survie et la prolifération cellulaire ainsi que l'inhibition de l'apoptose. En conditions physiologiques, cette voie est inhibée. Dans le LBDGC ganglionnaire type non-GC, puis dans un deuxième temps dans le LCBDGC-TJ, il a été démontré que l'activation de cette voie favorisait la lymphomagénèse.

Les complexes NF-κB (dimères formés à partir de 5 protéines) sont exprimés de façon ubiquitaire. En l'absence de signaux extracellulaires spécifiques, ils sont maintenus inactifs dans le cytoplasme par les protéines de la famille des inhibiteurs de NF-κB (IκB ou inhibitors of NF-κB). L'activation de NF-κB est sous le contrôle de IκB kinase (IKK), complexe trimérique composé de deux sous-unités catalytiques (IKKα et IKKβ,) et de la sous-unité régulatrice NEMO (NF-κB essential regulator, connu aussi sous le nom d'IKKγ). En cas d'activation pathologique, le complexe NF-κB est transporté dans le noyau où il se fixe sur les promoteurs de ses gènes cibles et entraine leur transcription.(Compagno et al., 2009; Yang et al., 2012)

En cas de dérégulation à l'un des nombreux points de contrôle en amont ou en aval du complexe NF-κB, la voie NF-κB est stimulée, donc l'apoptose cellulaire inhibée et la différenciation plasmocytaire plus assurée convenablement.

b. Les différentes étapes en amont de la voie NF-κB

- **Le récepteur lymphocytaire B (BCR) :**

Ce complexe est composé de l'immunoglobuline de surface, unique à chaque cellule B, lié de façon non covalente à un hétérodimère invariant (CD79A et B). A la suite de la liaison à l'antigène, les molécules de signalisation CD79A et B s'activent via une phosphorylation des résidus tyrosines des motifs ITAM intracytoplasmiques. Cela conduit à une cascade de signaux intracellulaires impliquant la tyrosine kinase de Bruton (BTK), qui permet l'activation de la protéine kinase Cß (PKC-ß). Celle-ci phosphoryle la molécule adaptatrice CARD11 qui est impliquée dans la transduction du signal. La kinase IκB (IKK), régulateur clef de l'activation de la voie NF-κB est ainsi activée.

La voie du BCR s'active secondairement aux mutations de *CD79A/B* (*CD79B*, principalement, sur les motifs ITAM) et du gène *CARD11* (sur le domaine coiled-coiled), permettant son activation constante, y compris en l'absence de composants essentiels du BCR.

- **Les Toll-like récepteurs (TLR).**

Ils constituent un mécanisme alternatif au BCR, participant à l'immunité innée. Ces récepteurs détectent selon un principe similaire à la présence d'antigènes étrangers dans l'organisme, sans toutefois la diversité caractéristique des immunoglobulines. Une dizaine de récepteurs différents seulement assure la reconnaissance d'un nombre restreint d'antigènes conservés chez les agents infectieux (lipopolysaccharides, flagélines, ARN viraux...).

Leur fixation au complexe NF-κB peut être majorée suite à une modification de la zone de fixation qui les unit. Ce changement intervient au décours de la mutation L265p du gène *MYD88* qui entraine une substitution nucléotidique à l'origine d'un changement d'acide aminé sur la protéine MYD88. Cette mutation impute la liaison du TLR à un complexe de signalisation composé de sous-unités appartenant à la famille de sérine/thréonine kinase IRAK (Interleukin-receptor-associated kinase), IRAK1 et IRAK4.

In fine, le complexe IRF4/SPIB est surexprimé ce qui permet l'expression ou la répression de gènes impliqués dans :

- La stimulation du facteur de transcription NF-κB et la voie NF-κB à proprement dite (survie cellulaire)
- L'inhibition de la voie de l'interféron ß (mort cellulaire)
- La sécrétion d'IL-6/ IL-10 (survie cellulaire)

c. Différentes étapes en aval de la voie NF-κB

Le facteur de transcription NF-κB a plusieurs gènes cibles, qui peuvent aussi faire l'objet de surexpressions pathologiques, entre autres :

- **Gène *TNFAIP3/A20***, qui à l'état physiologique est un régulateur négatif de la voie NF-κB. Son inactivation va entrainer une stimulation de cette voie.
- **Gène *BCL-2***, qui peut à la fois être surexprimé via la voie NF-κB mais peut aussi faire l'objet de mutations activatrices indépendantes. Sa surexpression entraine une inhibition de l'apoptose.

- **Gène *IRF4***, qui entraine de manière physiologique une inhibition de l'expression de *BCL-6* et en conséquence l'encodage de *BLIMP1*, normalement réprimé par BCL-6. *BLIMP1* code pour la protéine PRDM1 permettant la différenciation terminale des cellules en plasmocytes. (Klein et al., 2006). Ce gène *IRF4* est donc important pour plusieurs raisons : il permet la différenciation plasmocytaire et stimule par rétrocontrôle positif le complexe NF-κB, ce qui favorise la survie du lymphome.

2. Les autres voies moléculaires dans le LBDGC non-GC

IRF4 est au carrefour de plusieurs voies moléculaires autres que la voie NF-κB. On compte notamment :

- La voie de l'interféron ß stimulée par IRF7, via la voie des TLR. Sa stimulation provoque la mort cellulaire.
- La voie d'IL-6/ IL-10 qui entraine l'activation de STAT3 par les JAK kinases (survie cellulaire). Les protéines STAT sont transloquées dans le noyau après dimérisation et régulent également la transcription de gènes intervenant dans la différenciation lymphocytaire B. STAT induit aussi la production de protéines qui exercent un rétrocontrôle négatif sur la voie de JAK.

C. Les mutations retrouvées dans le LCBDGC-TJ

La connaissance de la lymphomagénèse des LBDGC ganglionnaires a participé à éclaircir celle des LBDGC cutanés, et en particulier du LCBDGC-TJ. (Hoefnagel et al. 2006) La fréquence de chaque mutation retrouvée au sein de ces lymphomes est représentée par le Tableau 4 (correspondance onco-hématologie, mai 2015, Dr Pham-Ledard), en comparaison aux LBDGC ganglionnaires non-GC. A noter que 96% des cas de LCBDGC-TJ étudiés par Pham-Ledard et al étaient porteurs d'au moins une anomalie mutationnelle, et plus de 50% en présentaient au moins deux. Les 23 patients étudiés ont été testés pour la mutation MYD88, les translocations de BCL-2, BCL-6, MYC, pour la délétion du locus 9p21 (en FISH), et pour le locus 6q21 encodant BLIMP1. (Pham-Ledard et al., 2014) (Figure 5).

Gène impliqué	LBDGC-ABC	LBDGC-TJ	Conséquence	Voie de signalisation impliquée
BCL6 (mutation, translocation)	35%	26%	Surexpression BCL6	Survie, prolifération, différenciation
MYC (translocation)	5-10%	13%	Surexpression MYC	Métabolisme, croissance
PRDM1/BLIMP1 (délétions, mutations)	25%	61% del	Perte expression BLIMP1	Blocage différentiation plasmocytaire
M*YD88* (mutations)	39%	60-70%	Protéine adaptatrice entre TLR et NFκB	Activation de NFκB via TLR
CARD11 (mutations)	10%	10% (1/10)	Couple BCR à NFκB	Activation constitutive de NFκB
CD79B/A (mutations)	21%	20% (2/10)	Composant du BCR	Activation de NFκB par "BCR signalling"
TNFAIP3/A20 (délétion, mutations)	30%	40% del	Inhibe l'activation NFκB	Activation de NFκB par levée de l'inhibition
18q *BCL2* (amplifications)	13%	Gains	Surexpression BCL2 (survie)	Blocage de l'apoptose
Del 6p21 *CDKN2A/2B*	25-30%	70%	Perte expression p16	Cycle cellulaire
Tri 3 *FOXP1*	gains, ampli	Gains 82%	Surexpression FOXP1	Survie
MLL2 (mutations)	20%	?	Histone méthyltransférase	Régulation épigénétique
CREBBP (mutations)	17%	?	Histone acétyltransférase	Régulation épigénétique
FOXO1 (mutations)	<10%	?	Facteur de transcription, suppresseur de tumeur	Echappement immunitaire

Tableau 4 : Principales anomalies génétiques associées aux LBDGC non-GC et LCBDGC-TJ (correspondance onco-hématologie, mai 2015, Dr Pham-Ledard)

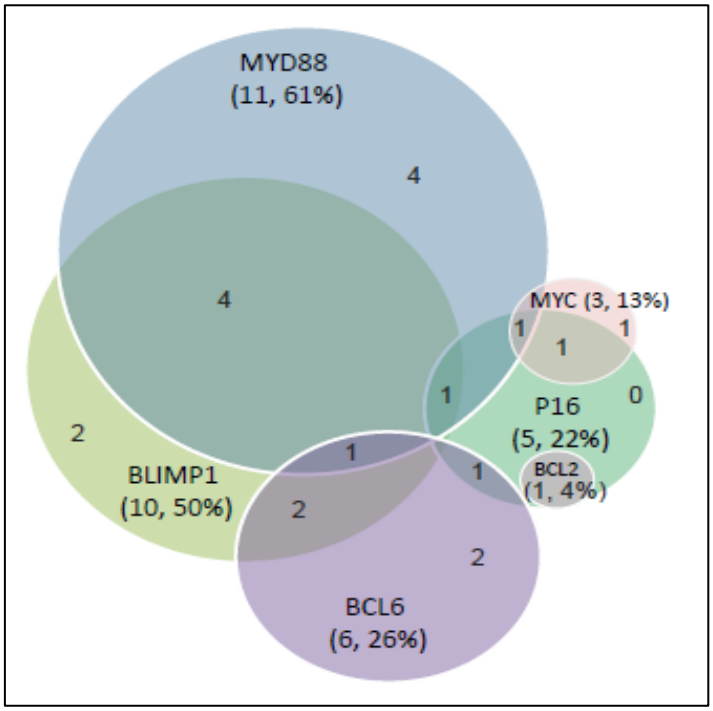


Figure 5 : Répartition des mutations retrouvées dans le LCBDGC-TJ (Pham-Ledard et al, 2014a)

1. Mutations impliquant la voie NF-κB

Les mutations étroitement liées à la voie NF-κB précitées ont toutes été retrouvées dans le LCBDGC-TJ (CARD11, TNFAIP3/A20, CD79A/B, MYD88). Parmi elles, la mutation MYD88 L265P se distingue par sa fréquence au sein des LCBDGC-TJ par rapport à son homologue ganglionnaire.

La mutation MYD88 L265p

La mutation L265P de MYD88 a été mise en évidence dans les LCBDGC-TJ en 2012 (Pham-Ledard et al., 2012) et concerne jusqu'à 76% des cas selon les séries, contre 29% maximum pour le LBDGC non-GC.(Ngo et al., 2011; Rovira et al., 2016) La mutation MYD88 L265P est certes peu fréquente dans le LBDGC ganglionnaire non-GC, mais l'est en revanche beaucoup plus dans certains autres sites extra ganglionnaires de LBDGC : système nerveux central (75%) et testicule (71%). (Kraan et al., 2013)
Cette recherche mutationnelle, est faite à présent dans plusieurs laboratoires, par détection de l'allèle spécifique par sondes type *TaqMan*®.

La recherche de cette mutation a plusieurs intérêts dans le LCBDGC-TJ:

- **Intérêt diagnostique,** pour les cas de lymphoprolifération à grandes cellules B dont le diagnostic différentiel entre le LBCCF à grandes cellules et le LCBDGC-TJ n'est pas évident cytologiquement ou sur le plan phénotypique.
  Dans une cohorte de 46 patients, aucune mutation MYD88 L265p n'a été mise en évidence chez les 21 patients atteints de LBCCF à grandes cellules, mais retrouvée chez 76% des 26 patients présentant un LCBDGC-TJ. Cette étude a permis d'évaluer la spécificité et la valeur prédictive positive de la mutation MYD88L265p dans le LCBDGC-TJ à 100% et une valeur prédictive négative de 78%. (Menguy et al., 2016)

- **Intérêt pronostique :** Il a été démontré sur une cohorte de 58 patients que la mutation MYD88 L265P était associée à un moins bon pronostic, indépendamment du traitement reçu, dans les LCBDGC-TJ (OR, 2.94; 95% CI, 1.18-7.30; P = 0.02). (Pham-Ledard A et al., 2014) La valeur pronostique péjorative de la mutation MYD88 L265p a aussi été mise en évidence dans le LBDGC ganglionnaire (tout type

confondu) par rapport au génotype sauvage ou aux autres mutations MYD88 non L265p (HR=1.786; p=0.023).(Rovira et al., 2016)

- **Intérêt thérapeutique :** L'identification du statut MYD88 ainsi que d'autre mutations présentes dans le LCBDGC-TJ pourrait permettre à terme d'introduire un traitement ciblé en fonction du statut mutationnel (cf. plus loin).

2. Mutations hors voie NF-κB

D'autres mutations n'impliquant pas directement la voie NF-κB ont été mises en évidence dans le LCBDGC-TJ:

- Délétion de la région chromosomique 9p21.3 contenant le gène *CDKN2a* ($p16^{INK4A}$) qui encode les protéines p14ARF et p16, impliquées dans le cycle cellulaire. Cette mutation est retrouvée jusqu'à 70% des LCBDGC-TJ et est associé à un moins bon pronostic. (Senff et al., 2009)
- Réarrangement impliquant le proto-oncogène *c-MYC* dans 13% des LCBDGC-TJ. (Pham-Ledard et al., 2014)
- Réarrangement de *BCL-6* dans 26 % des cas. (Pham-Ledard et al., 2014)
- Inactivation de *BLIMP1* dans 61% des cas. (Pham-Ledard et al., 2014)
- Sureprexression de *BCL-2*, qui entraine un blocage de l'apoptose dans 4% des cas. (Pham-Ledard et al., 2014)

3. Corrélation entre le profil génétique et immunohistochimique

Hormis l'expression de BCL-6 retrouvée en immunohistochimie comme corrélée sur le plan génétique à la mutation gène *BCL-6* dans 79% des cas, les expressions de BCL-2, MYC et IRF4 n'ont pas été retrouvées comme corrélées au statut mutationnel de leur gène respectif étudié en FISH. (Pham-Ledard et al., 2014, 2012, 2010)

IV. LE LENALIDOMIDE

Le lenalidomide (REVLIMID®) est un agent anticancéreux oral, analogue du thalidomide, faisant partie d'une classe de nouveaux produits immunomodulateurs appelés ImiDs®.

A. Indications actuelles

Il est actuellement indiqué en France dans :

- Les myélomes multiples en première ligne seul ou associée à la dexaméthasone en cas de rechute
- Les syndromes myélodysplasiques avec anémie à faible risque ou à risque intermédiaire associés à une anomalie cytogénétique 5q de suppression avec ou sans anomalies cytogénétiques supplémentaires
- Les lymphomes du manteau en rechute ou réfractaire, pour les patients inéligibles à la greffe, uniquement en l'absence d'alternative thérapeutique disponible. (Commission HAS, 8 mars 2017)

B. Mécanismes d'action

Le mode d'action du lenalidomide est polyvalent (Chanan-Khan and Cheson, 2008) et résumé par les Figure 6 et Figure 7. Il a un effet :

- cytotoxique, pro-apoptotique
- immunomodulateur en particulier sur les cellules Natural Killer
- anti-angiogénique.

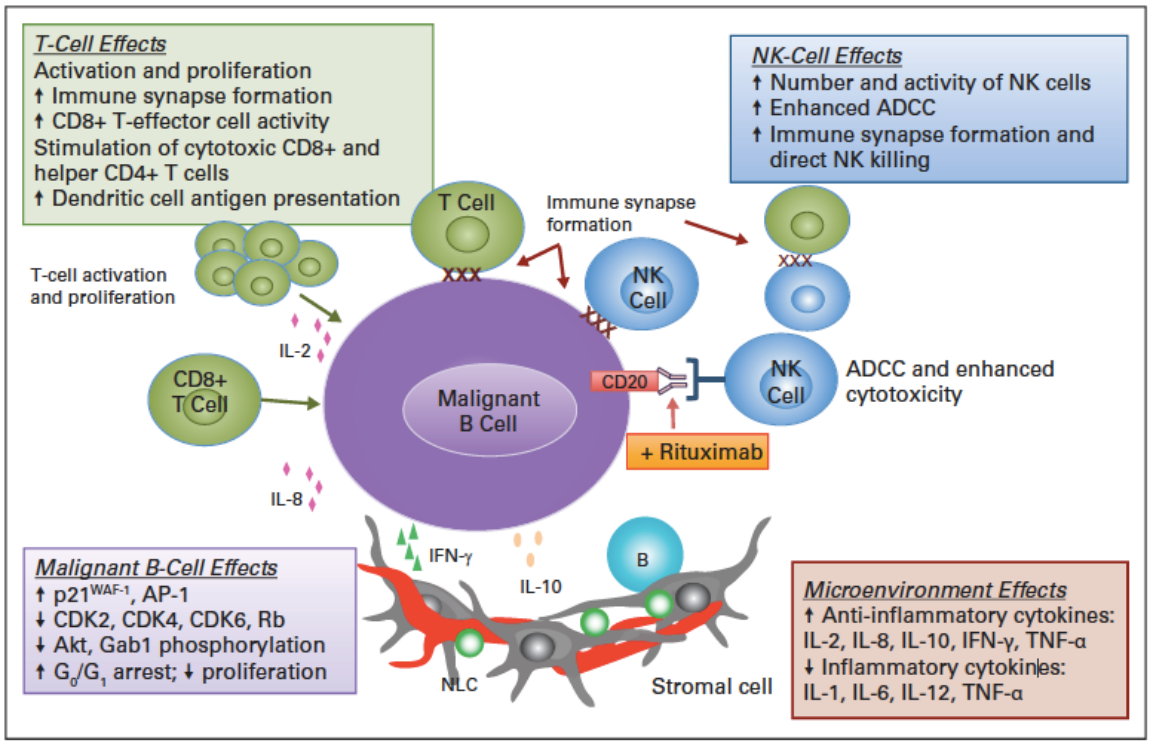


Figure 6 : Mécanismes d'action du lenalidomide (Gribben et al., 2015)

1. Effet cytotoxique

Le lenalidomide entraine un blocage du cycle cellulaire en G0/G1. (Verhelle et al., 2007) Il n'a pas de forte activité anti-tumorale intrinsèque mais une action importante sur l'expression globale des gènes impliqués dans la prolifération cellulaire, essentiellement via l'inhibition d'IRF4.

Inhibition de la voie NF-κB par le complexe IRF4/SPIB

La protéine IRF4 forme le complexe IRF4/SPIB activateur de la voie NF-κB par l'activation de CARD11. La transcription du gène *IRF4* est elle-même activée par la voie NF-κB. Ainsi, IRF4 qui joue le rôle de rétrocontrôle positif de la voie NF-κB est une cible thérapeutique. (Lopez-Girona et al., 2011; Zhang et al., 2013) L'équipe de Yang a montré que le lenalidomide affecte, au moins partiellement, l'expression d'IRF4 et de SPIB.(Yang et al., 2012) A partir de là, la transcription de plusieurs gènes est affectée. Ces gènes sont impliqués dans la réponse immune, la réponse anti-inflammatoire (tels que les gènes de *l'IL-8, de l'IL-12, du TNFa*) mais aussi dans l'angiogenèse (action sur le VEGF).

Le cereblon, une cible plus récente

Plus récemment, a été mise en évidence une protéine en amont du complexe IRF4/SPIB. Elle contrôle les taux d'IRF4 et de SPIB: il s'agit de la protéine cereblon. C'est une sous-unité d'un complexe ligase ubiquitaire E3. Sa capacité d'ubiquitination est modifiée en présence des agents immunomodulateurs. (Yang et al., 2012)

Stimulation de la voie de l'Interféron type 1

En ciblant le complexe IRF4/SPIB, l'expression du gène de l'interferon β (IFNβ) n'est plus réprimée. Cela induit la phosphorylation de TYK 2, une JAK kinase, qui phosphoryle à son tour STAT1 un facteur de transcription. Cette activation de la voie de l'interféron, qui est inhibée au cours de la lymphomagénèse, induit une mort cellulaire

Inhibition de la voie de signalisation de l'IL-6

L'équipe de Yang a également montré que les cytokines IL-6 et IL-10 étaient diminuées sous lenalidomide confirmant l'impact d'IRF4 sur la transcription des acteurs de cette voie de signalisation. Ainsi sous lenalidomide, cette voie de survie cellulaire est inhibée.

Inhibition de l'activité de la protéine IKK

Le lenalidomide est un inhibiteur de l'activité de la protéine IKKγ, une kinase qui inhibe la phosphorylation et la dégradation de IKKß par le système ubiquitine/protéasome, et bloque NF-κB sous forme inactive dans le cytoplasme.

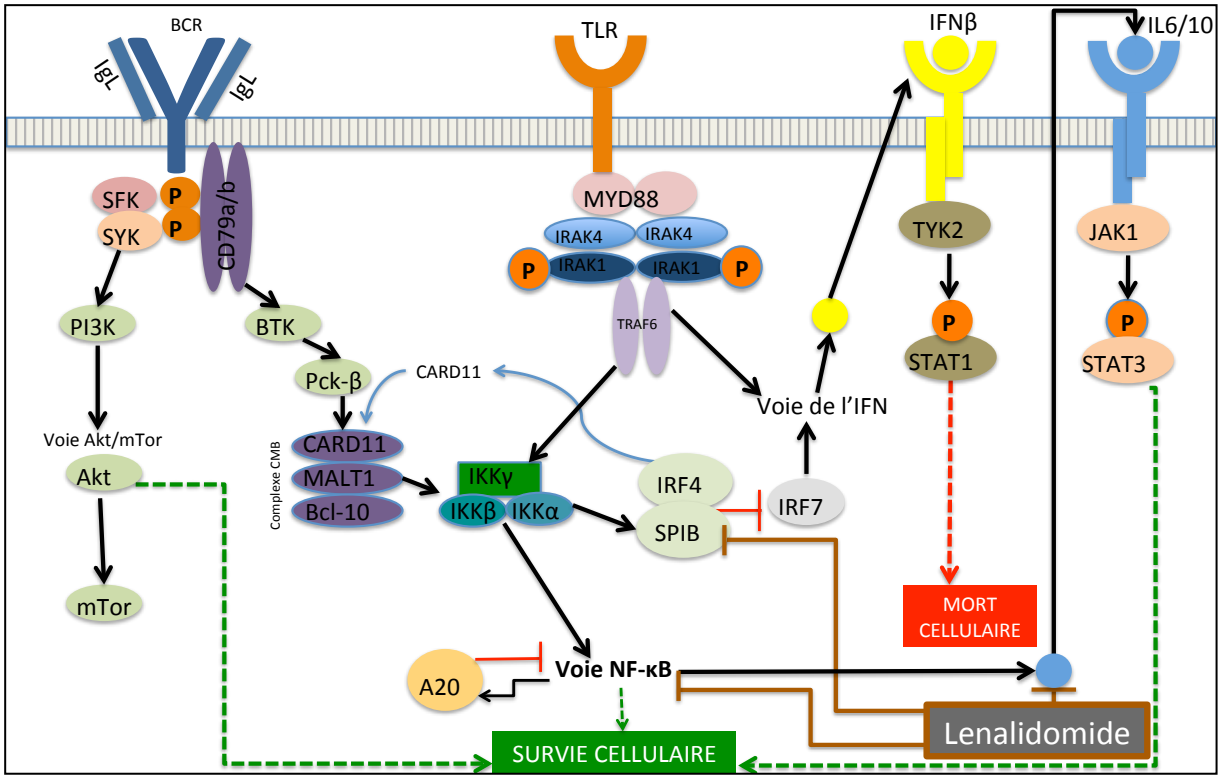


Figure 7 : Implication du lenalidomide dans les voies de signalisation cellulaire (Yang et al., 2012)

2. Effet immunomodulateur

Le lenalidomide augmente le nombre et la fonction des cellules NK impliquées dans la réponse auto-immune innée. Il augmente leur nombre mais surtout leur cytotoxicité. Cet effet sur les cellules NK est indirectement médié par la production d'IL-2 par les lymphocytes T, stimulés par le lenalidomide. (Davies and Baz, 2010; Gribben et al., 2015)

3. Effet anti-angiogénique

Le lenalidomide inhibe la migration des cellules endothéliales et l'angiogenèse en affectant les voies signalétiques initiées par le VEGF, une cytokine pro-angiogénique.

C. Traitement par lenalidomide du LBDGC ganglionnaire

Le lenalidomide ne fait pas partie des recommandations « officielles » pour le traitement du lymphome B diffus à grandes cellules mais a fait l'objet de nombreuses études. Il s'agit d'essais de phase II pour la plupart ou d'études rétrospectives, qui l'évaluent en deuxième

ligne thérapeutique dans les lymphomes réfractaires ou en rechute. Les LBDGC GC et non-GC font l'objet d'analyses en sous-groupe. (Tableau 5)

Auteur/année	ORR	Type d'étude (nombre de sujets)
(Wiernik et al., 2008)	ORR=35% LNH (CJP) ORR= 19% LBDGC (Analyse en sous - groupe)	**Essai de phase II** Lenalidomide 25mg J1-J21 (49 patients)
(Witzig et al., 2011)	ORR=35% LNH (CJP) ORR= 28% LBDGC (Analyse en sous - groupe)	**Essai de phase II** Lenalidomide 25mg J1-J21 (217 patients)
(Hernandez-Ilizaliturri et al., 2011)	ORR= 53% LBDGC non GC ORR= 9% si LBDGC GC	**Etude rétrospective** Lenalidomide 25mg J1-J21 (40 patients)
(Czuczman MS, Davies A, Linton KM et al, n.d.)	Analyse en Immunohistochimie : ORR= 29% LBDGC non GC ORR= 26% si LBDGC GC Analyse du profil d'expression génique : ORR=45% si LBDGC ABC ORR= 21% si LBDGC GC	**Etude phase II/III** Lenalidomide 25mg J1-J21 (102 patients)
(Zinzani et al., 2015)	ORR= 42,2% LNH (CJP) ORR= 42.1% LBDGC (Analyse en sous-groupe)	**Etude rétrospective** Lenalidomide 10, 15 ou 25mg J1-J21 (64 patients)
(Mondello et al., 2016)	ORR= 37% LBDGC (CJP) Analyse en sous-groupe : ORR=65% (LBDGC non GC) ORR=3% (LBDGC GC)	**Etude rétrospective** Lenalidomide 15 ou 25mg J1-J21 (123 patients)
ORR : objective rational rate (taux de réponse) ; CJP : critère de jugement principal		

Tableau 5 : Revue des études évaluant le lenalidomide seul dans les lymphomes non-hodgkiniens en rechute ou réfractaires à une R-polychimiothérapie.

Le lenalidomide a également été associé en deuxième ligne thérapeutique au rituximab (R2) avec des taux assez similaires au lenalidomide seul dans des études de phase II (Wang et al., 2013; Zinzani et al., 2011) ou rétrospectives (Ivanov et al., 2014; Zinzani et al., 2017).

Les essais de phase II étudiant le lenalidomide (15mg J1-J14) en première ligne thérapeutique associé à une chimiothérapie par R-CHOP21 ont montré que l'ajout du lenalidomide était plus favorable aux lymphomes de phénotype « non-GC ». (Nowakowski et al., 2015; Vitolo et al., 2014) Un essai de phase III appliquant ce même protocole thérapeutique en première ligne versus placebo-R-CHOP21 chez des LBDGC non-GC est en cours (nombre de sujets envisagés : 560).(Nowakowski et al., 2016)
Un autre essai de phase III multicentrique, coordonné par une équipe française, réalisant ce schéma thérapeutique à plus faibles posologies (Lenalidomide à 10mg J1-J14), et chez des patients de plus de 80 ans avec un LBDGC ganglionnaire (tous types), est aussi en cours (étude SENIOR, NCT02128061). Les résultats de cette étude, notamment sur le profil de tolérance, seront intéressants en vue de les adapter aux LCBDGC-TJ dont la population est similaire.

Partant du principe que le LCBDGC-TJ et le LBDGC ganglionnaire non-GC comportent des similitudes cytologiques, moléculaires et génétiques, des traitements équivalents peuvent être proposés. La R-PCT a déjà fait les preuves de son efficacité dans le LCBDGC-TJ, mais les patients réfractaires ou en rechute demeurent encore problématiques. Tant dans le LBDGC ganglionnaire que le LCBDGC-TJ, une dérégulation de la voie NF-κB participe à la lymphomagénèse.

L'ensemble de ces données a conduit à proposer la mise en place d'un essai de phase 2 évaluant l'efficacité et la tolérance du lenalidomide dans les LCBDGC-TJ en rechute ou réfractaire à la R-PCT. Cet essai, REV-LEG (ClinicalTrials.gov numéro, NCT01556035), conduit au sein du GFELC a été soutenu par un PHRC national avec un co-financement de Celgene. Il s'agit du 1er essai thérapeutique multicentrique sur ce type de lymphome/
24 centres appartenant au groupe français d'étude des lymphomes cutanés (GFELC) ont participé. Parmi eux, 11 centres ont inclus les 19 patients de l'étude REV-LEG, selon le protocole thérapeutique ci joint. (Figure 8, Tableau 6)

TRAITEMENTS/STRATEGIES /PROCEDURES DE LA RECHERCHE	Lenalidomide 25 mg/ jours 21 jours – Reprise à J28. Traitement poursuivi jusqu'à 12 mois sauf progression.
CRITERES DE JUGEMENT	**Critère de jugement principal** : Taux de réponse globale (réponse complète ou partielle) à 6 mois. La réponse est évaluée sur des critères cliniques et isotopiques. **Critères de jugement secondaires :** Taux de réponse globale à 12 mois, la durée de réponse, la survie sans progression, la survie globale et la survie spécifique ainsi que la tolérance et la qualité de vie sous traitement.

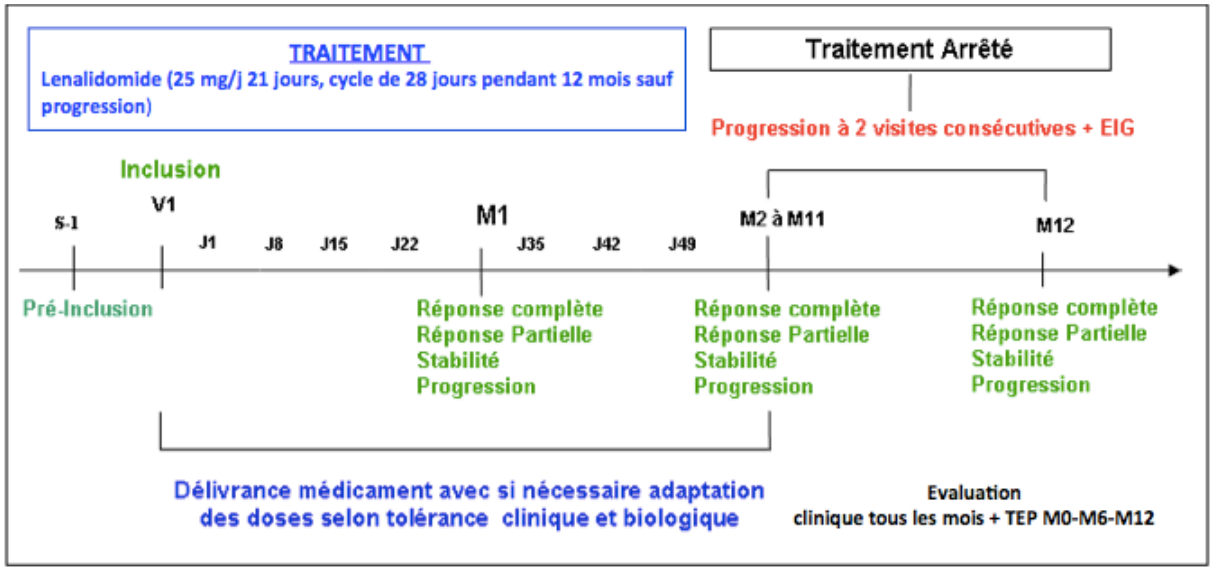


Figure 8 : Résumé schématique de l'étude REV-LEG

Numéro centre	Centre	Investigateur principal	Nombre de patient inclus
1	Bordeaux	Pr BEYLOT-BARRY Marie Coordonnateur	3
2	Aphp St-Louis	Pr BAGOT Martine	2
3	Rouen	Pr JOLY Pascal	2
9	Grenoble	Dr TEMPLIER Isabelle	1
10	Lille	Pr MORTIER Laurent	2
11	Lyon sud	Dr DALLE Stephane	1
15	Nantes	Dr QUEREUX Gaëlle	1
19	Aphp Bichat	Dr MAUBEC Eve	1
21	Aphp Mondor	Dr ORO Saskia	2
22	Aphp Tenon	Dr BARETE Stéphane	1
25	Marseille	Dr BOUABDALLAH Reda (Dr Nathalie BONNET pour le GFELC)	3

Tableau 6 : Centres investigateurs actifs dans l'étude REV-LEG

Nous présentons dans l'article joint à cette thèse les principaux résultats de cette étude.
Des résultats complémentaires, non soumis actuellement pour publication, sont ensuite exposés dans la discussion.

A noter qu'après l'élaboration de l'étude et le début des inclusions, deux cas de LCBDGC-TJ traités avec succès par lenalidomide ont été publiés.

La première patiente a obtenu une réponse partielle dès le premier cycle de traitement (Lenalidomide 25mg/j J1-J21) et s'est stabilisée jusqu'au 5ème cycle, sans que le suivi ultérieur ne soit connu.(Savini et al., 2014) La deuxième patiente obtint une réponse partielle du 2ème au 4ème cycle de traitement (Lenalidomide 20mg/j). La récidive tumorale a été traitée par radiothérapie seule puis par l'association R-lenalidomide avec une excellente réponse (5 cycles jusqu'à la date de publication). (Swaika et al., 2014)

Article

I. ARTICLE

Lenalidomide monotherapy in relapsing or refractory primary-cutaneous large B-cell lymphoma leg-type after first line treatment by chemotherapy plus Rituximab: a single-arm multicenter phase II study from the French Study Group of Cutaneous Lymphoma

Marie Beylot-Barry[1,2*], Diane Mermin[1*], Aline Maillard[3], Reda Bouabdallah[4], Nathalie Bonnet[5], Anne-Bénédicte Duval-Modeste[6], Laurent Mortier[7], Saskia Ingen-Housz-Oro[8], Caroline Ram-Wolff[9], Stéphane Barete[3,10], Stéphane Dalle[11], Eve Maubec[12], Gaelle Quereux[13], Isabelle Templier[14], Martine Bagot[9], Florent Grange[15], Pascal Joly[6], Béatrice Vergier[2,16], Anne Pham-Ledard[1,2], Eric Frison[3], JP. Merlio[2,17]

* contributed equally to the study

Authors Affiliations:

1. Dermatology Department, Hôpital Saint André, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. INSERM U1053, Bordeaux Research in Translational Oncology, Team 3 oncogenesis of cutaneous lymphomas, Univ. Bordeaux, France
3. CHU Bordeaux, Pole de Sante Publique, Unité de Soutien Méthodologique à la Recherche Clinique et Epidémiologique, F-33000, Bordeaux, France
4. Cancer Institute Paoli Calmette, Marseille, France
5. Department of Dermatology, CHU Marseille, Marseille, France
6. Dermatology Department, Rouen University Hospital and INSERM U905, Normandie University, Rouen, France.
7. Dermatology Department, CHU Lille, Lille University, Inserm U1189, Lille, France
8. Dermatology Department, AP-HP, Henri Mondor Hospital, Créteil, France
9. Dermatology Department, Hospital Saint-Louis, Paris 7 University, Paris, France
10. Dermatology Department, University Hospital Tenon, Paris, France
11. Dermatology Department, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Hospices Civils de Lyon, Lyon University, France
12. Dermatology Department, University Hospital Bichat, Paris, France (present address: Avicenne Hospital, Bobigny; University Paris 13)
13. Dermatology Department, CHU Nantes, Nantes, France
14. Dermatology Department, CHU Grenoble, Grenoble, France
15. Dermatology Department, CHU Reims, Reims, France
16. Pathology Department, CHU Bordeaux, Hospital Haut-Lévêque, Pessac, France
17. Tumor Bank and Tumor Biology Laboratory, CHU Bordeaux, France

Corresponding Author:
Marie Beylot-Barry MD, PhD
Department of Dermatology
Hôpital Saint-André, CHU Bordeaux
1 rue Jean Burguet
33075 Bordeaux Cedex, FRANCE
marie.beylot-barry@chu-bordeaux.fr
Tel :335 57 82 25 00
Fax :335 56 79 49 75
Key words: lenalidomide, primary-cutaneous large B-cell lymphoma, leg-type

Conflict of Interest Disclosures: None reported

Acknowledgment for founding and support:
This study was supported by a grant from the French Ministry of Health (PHRC Cancer, 2011, PHRC11-326) and by a research grant of Celgene
Lenalidomide was provided by Celgene, which had no role in the design of the study, data management, analysis and interpretation of the data, preparation of this manuscript. Celgene received the manuscript before submission by information.

Running head: lenalidomide in primary cutaneous large B-cell lymphoma leg-type

Presented in part as oral communication at the third Word Congress on Cutaneous Lymphoma, New-York, October 2016 and in “Journées Dermatologiques de Paris”, December, 2016.

Word count body section : 2999 (2993 without paragraph titles)
Word count abstract: 266

ABSTRACT

Purpose

Combinaison of rituximab and polychemotherapy (R-PCT) has improved the prognosis of primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type (PCDLBCL-LT). However, the advanced age of patients limits therapeutic options in relapsing or refractory cases. Lenalidomide may be there an attractive candidate.

Patients and Methods

A multicenter single arm phase II trial (NCT01556035) was conducted in the French study Group of Cutaneous Lymphoma to assess benefit and safety of lenalidomide in refractory or relapsing PCBCL-LT after R-PCT. Patients received oral lenalidomide 25 mg once daily 21 days of every 28-day cycle, for 12 cycles as tolerated or until disease progression. Primary endpoint was the 6-month overall response rate (ORR). Secondary endpoints were 12-month ORR, overall and disease specific survival, duration of response (DR), progression-free survival (PFS), safety and identification of prognostic factors.

Results

Forty-nine patients (median age 79 years) were included. Median number of lenalidomide cycles was 5. The 6 month ORR was 26.3% (11-47.6%, IC90%) including 4 complete response (CR) and 1 partial response (PR). At 12 months, there were still 2 CR and 1 PR. Median PFS and DR were 5 and 4 months respectively. Median global and specific survivals were 19.4 and 23.8 months respectively. No association was found with the 6-month ORR, but negative *MYD88* status was associated with a better response (OR = 0.12 (95%CI, 0.02-1.00), p=0.05). The most common grade 3 adverse events (AEs) were neutropenia (21.0%) and thrombocytopenia (10.5%). Two grade-5 AEs occurred (sepsis due to agranulocytosis, pulmonary embolism).

Conclusion

Oral lenalidomide monotherapy produces a modest but encouraging response in relapsing or refractory PCDLBCL-LT. Further investigations of lenalidomide, at reduced doses or in combination are warranted.

Introduction

Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg-type (PCDLBCL-LT) has been recognized as a unique entity among primary cutaneous lymphomas (PCL), since the combined classification of World Health Organization and European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC).[1] This original B-cell PCL occurs mainly in elderly patients and has a predilection for lower limbs involvement. Histologically, it is characterized by confluent sheets of large cells (immunoblasts and less or more centroblasts) with round nuclei, a non germinal-center (GC) phenotypic profile (CD10-, BCL-6+, MUM-1+) and BCL-2 expression. Conversely to other B-cell PCL, PCDLBCL-LT has an aggressive behavior, with a high rate of skin recurrences and secondary extra-cutaneous involvement.[2–4] This led to propose as first line therapy and whatever the clinical stage, the association of rituximab (R) and polychemotherapy (PCT) with or without anthracyclin.[5–7] This has to be considered, even in advanced-age patients[6, 8], similarly as reported in systemic diffuse large B-cell lymphomas (DLBCLs). A retrospective analysis conducted by Grange and al in the French study group of cutaneous lymphoma (GFELC) recently showed that R-PCT with or without anthracyclins increased the 5-year survival rate from, between 41% and 63%[4, 5, 9–13]up to 74%.[7] This regimen overcame the deleterious effect of adverse prognostic factors such as the leg location or the extent of skin lesions.[7] However, primary resistance or recurrence after R-PCT still occur in about 52% of patients with PCDLBCL-LT.[7] In such relapsing or refractory patients, no treatment has demonstrated so far a sustained benefit: radiotherapy is considered as a palliative treatment and the use of more aggressive chemotherapies is limited in these elderly patients already treated by R-PCT. There is therefore an unmet need for new alternative therapies, focusing on specific-signaling pathways.

While PCDLBCL-LT exhibits a phenotype profile close to nodal activated B-cell-like (ABC) or non-GC DLBCL,[14] they also share with the latter genetic alterations leading to NF-κB pathway which is a new therapeutic target.[15, 16]

Lenalidomide (Revlimid®; Celgene Corporation), an analog of thalidomide is an orally administered immunomodulatory agent. It modifies the tumor cell microenvironment, enhancing the activity of cytotoxic T and natural killer cells. It exhibits both antiproliferative and antiangiogenic effects through up-regulation of tumor suppressor genes, which induces inhibition of cell signaling engaging NF-κB and IFNβ signaling.[17, 18]

Previous studies have shown the efficacy of lenalidomide in relapsing and refractory DLBCL[19–21] especially in non-GCB phenotype[22–25] with a good tolerance even in the elderly. Thus, lenalidomide appears to be an attractive candidate for PCDLBCL-LT. This led us to design a single-arm multicentre phase II trial, evaluating the efficacy and the safety of oral lenalidomide monotherapy in refractory or relapsed PCDLBCL-LT.

Patients and methods

Inclusion/exclusion criteria

Patients were eligible if they met the following key inclusion criteria: age >18 years, PCDLBCL-LT diagnosis of relapsing or refractory disease after previous R-PCT, clinically measurable skin involvement (T1-T3), skin or nodal (N1-N3) involvement measured by ^{18}F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography (^{18}F-FDG PET/CT), life expectancy greater than 3 months and WHO performance status 0-2.[26]

Exclusion criteria included the following laboratory abnormalities: absolute neutrophils count <1.500 cells/mm3, platelets < 60.000/mm3, serum AST or ATL levels >5x the upper limit of normal, total serum bilirubin >2,0mg/dl, conjugated bilirubin>0,8mg/dl, serum creatinine clearance <50ml/min (Cockroft-Gault). Patients were ineligible to participate if they had experienced a grade ≥ 3 prior hypersensitivity or allergic reaction to thalidomide. Women of childbearing age, pregnant or lactating women, patients with a history of active ongoing infections, previous or concurrent neoplasms, cardiac arrhythmias or recent myocardial infarctions, as well as meningeal or cerebral

lymphomas, were not included.

This study was approved by the local ethics committee (CPP Sud-Ouest et Outre Mer III n°2011/94). All patients provided written informed consent.

A centralized review of skin biopsies at inclusion was performed with complementary immunohistochemistry analysis if needed (data not shown), at least for CD10, BCL-6, MUM-1 and BCL-2. The *MYD88* status was determined using an allele-specific Taqman PCR assay targeting the L265P mutation with DNA extracted from paraffin-embedded material, as previously described.[27]

Study design

The REV-LEG study (ClinicalTrials.gov number, NCT01556035*)* was an open-label, multicentre single-arm, two-stage phase II clinical trial conducted among the GFELC and supported by a grant from the French Ministry of Health and by a research grant of Celgene.

The study was conducted according to a Simon two-stage design to allow early termination of the trial for lack of efficacy.[28] The primary objective was to estimate the 6-month overall response rate (ORR). Secondary objectives were to estimate the 12-month ORR, duration of response, progression-free survival (PFS), overall survival (OS) and disease specific survival, and to assess safety of lenalidomide. All enrolled patients were included in the intent-to-treat analysis.

Enrolled patients received oral lenalidomide 25 mg once daily on days 1 to 21 of every 28-day cycle for 12 cycles as tolerated, or until disease progression (DP). A strict dose-modification schema was implemented as reported by Wiernick.[19] Thromboembolic prophylaxis by acetylsalicylic acid was given to patients with high risk for thromboembolic event. The use of corticosteroids was only permitted to manage adverse events (AEs). The concomitant use of other anticancer therapies was not permitted, and previous anticancer therapies were discontinued for at least 28 days before initiating lenalidomide treatment.

Response and Safety Assessments

Study visits were scheduled every 28 days corresponding to the beginning of each new treatment cycle. The disease status was assessed at each visit by physical examination. ^{18}F-FDG PET/CT evaluation was performed at baseline, at 6 months and 12 months. Response was evaluated according to the revised clinical and isotopical criteria proposed by Cheson.[29] Treatment was maintained for 12 cycles in patients who experienced stable disease (SD), partial response (PR) or complete response (CR) unless evidence of DP. Patients who discontinued lenalidomide for any reason were followed every month during the inclusion study period. Long-term safety monitoring, especially for secondary malignancy was planned every 6 months for 3 years for all patients who have received lenalidomide at least once.

AEs, blood pressure and pulse, hematology and chemistry laboratory evaluations and serum thyroid function tests were included as safety assessments. AEs and their severity were assessed according to the National Cancer Institute Common Terminology Criteria for AEs (NCI CTCAE) version 4.0.

Statistical analysis

The primary endpoint was 6-month ORR, which was defined as the proportion of patients whose response was CR or PR at 6 months. Duration of response (DR) was calculated as the time from first response (PR or CR) to DP or death. PFS was defined as the time from the start of lenalidomide therapy to the first observation of DP or death from any cause. Overall and disease-specific survivals were defined as time from the start of lenalidomide therapy to death due to any cause or to PCDLBCL-LT respectively. PFS and DR were estimated using the non-parametric Kaplan-Meier method. Follow-up was censored for patients still alive and without progression on November 15, 2015. Because of small sample size, study of prognostic factors was based on univariate analysis. Cox regression models were used and assumptions (risk proportionality and linearity of the association for quantitative factors) were systematically checked.

The study was conducted in a Simon two-stage design. Sample size calculation was based on the hypothesis that p0=20% is the minimal response rate (RR) and p1=40% is the expected RR, with power of 90% and a type-I error rate of 10%. Seventeen patients had to be enrolled in the first stage, and the study only continued to 37 patients if at least 4 of these patients showed a clinical response. At the end of the study, if 11 clinical responses or more are noticed, the treatment could be considered as effective. Due to a lower recruitment than expected, the duration of the trial was extended by the Trial Steering Committee until March 2015, without knowledge of the interim analysis results. Then, the Data and Safety Monitoring Board, decided to stop the inclusions after 32 months and the inclusion of 19 participants, according to the results of the interim analysis performed on the first 17 patients.

Data from all patients treated with at least one dose of lenalidomide were included in the safety analysis.

Due to the low rate of inclusion and the expected weak power, we decided to perform a *post-hoc* Bayesian analysis in order to assess the robustness of the results. As there were no published reports of the effect of lenalidomide in patients with PCDLBCL-LT from which we could derive a prior distribution for the Bayesian analysis, we chose to consider different extreme scenarios: clinical, reference, sceptical, enthusiastic.[30] After calculating posterior distributions, we estimated the probabilities of the RR being less than p0=20% (the minimal RR) and its 90% credibility interval (90% ICr) (cf. supplemental material). It has to be noted that a dramatic efficacy of lenalidomide in two single cases of PCDLBCL-LT with a short-term follow-up, has been published after the conception of our study[31, 32].

Results

Patient demographics

From July 2012 to September 2014, 19 patients were enrolled in 11 centers of the GFELC. Baseline characteristics are summarized in Table 1.

Response

The median number of cycles administrated was 5 (range: 1-12 cycles). Five patients discontinued the treatment as a result of AEs, 11 as a result of disease progression, even after a first response to treatment. Three patients completed the full course of study drug therapy. The 6-month ORR was 26.3% (5 of 19; 90%CI, 11.0 to 47.6%), including 4 patients in CR (21%), and 1 in PR (5.3%) (Table 2). Three patients (15.8%) had a stable disease and 7 (36.8%) a progression. Median time to PR or CR in patients with a response at 6 months was 2 months (range: 1-2 months). The estimated median PFS was 4.9 months (Figure 1).

The probabilities of global survival at month 6, 12 and 18 were 89.5% (95%CI; 64.1-97.3%), 68.4% (95%CI; 42.8-84.4%), 36.3% (95%CI; 12.7-60.7%) respectively. Median global and specific survival durations were 19.4 and 23.8 months, respectively.

No significant association was found between the 6 month ORR and any of the parameters listed in Table 1. However, patients with a longer period between the last administration of R-PCT and inclusion in the study had a longer PFS (HR= 0.56; 95%CI, 0.31-1.00) per year, p=0.048). Additionally, the number of lesions was associated with a higher risk of relapse (HR= 1.65 (95%CI; 1.00-2.72), p=0.049).

In an unplanned *ad hoc* analysis of best overall response under treatment, 6 patients had a CR and 5 patients had a PR at any time, corresponding to a best ORR of 57.9%. However, only 3 out of these 11 patients had a sustained response until 12 months (Figure 2). The median DR was 4 months (range: 0-10 months).

Safety

The most common grades 1–2 hematological AEs were neutropenia (10.5%), thrombocytopenia (15.7%), anemia (10.5%). Grade 3 hematological AEs included neutropenia (21.0%), thrombocytopenia (10.5%). The most common non-hematological treatment-related AEs were asthenia (36.8%), diarrhea (21.0%), constipation (15.7%), cramps (15.7%), neuropathy (15.7%), skin rash (15.7%) and atrial fibrillation (3 cases (15.7%) included 2 grades 3). Only one case of acute renal failure (grade 2) occurred. Two grade 5 AEs (death) were observed after the first cycle of lenalidomide: one sepsis as a result of an agranulocytosis with cellulitis, one pulmonary embolism associated to an atrial fibrillation with cardiac failure (Table 3).

The dose of lenalidomide had to be reduced in 9 patients (47.4%) and the treatment was definitely stopped in 5 patients (26.3%) due to AEs (Supplementary data Table 1)

The long-term incidence of second primary malignancies is currently monitored but no malignancy was reported yet (median follow-up: 45months, range: 20-48).

Post-hoc Bayesian analysis

The posterior probability that the treatment is ineffective (i.e the probability that the response rate being lower than 20%) was estimated at 22.4%, 19.6%, 33.0% and 5.7% with clinical, reference, sceptical and enthusiastic prior hypothesizes. There was a 90% chance of the true efficacy being between [13.5%; 43.3%], [14.0%; 45.6%], [12.6%; 36.8%] and [19.6%; 45.9%] respectively (90%ICr).

Discussion

The present study is the first prospective clinical trial in refractory-relapsing PCDLBCL-LT for which there is an unmet need for alternative therapies. Among 19 patients treated with lenalidomide, the 6-month ORR of 26.3% was obtained and the median PFS was 4.86 months. Considering the poor prognosis and the absence of therapeutic guideline in refractory/relapsing PCDLBCL-LT

patients with an advanced-age after R-PCT, such a mild response rate may be considered encouraging. The best ORR under treatment of 57.9% shows that lenalidomide is a potential treatment option, even if the response is often of short duration. This also suggests that lenalidomide could be used as part as combination therapies.

The tolerability profile was quite consistent with that shown in patients with nodal DLBCL treated by lenalidomide. However, we observed a rather high frequency of grade 3 AEs, that was likely favored by the old age and poor general condition of most patients with PCDLBCL-LT. It may be noticed that the two patients with grade 5 AEs were 90 and 79 year-old.

NF-κB pathway is activated through various genetic mutations in nodal ABC DLBCL, as *MYD88* oncogenic mutation or B-cell receptor signaling alterations resulting in transcriptional activation of genes involved in cellular survival mechanisms.[18, 33]MYD88 is an adaptor protein signaling through the Toll-like receptors and IL-1 receptors pathway.[18,36]*MYD88*^{L265P} mutation is a recurrent event in PCDLBCL-LT, which is observed in up to 76% of cases depending of the series.[16, 27, 34–36] Other mutations activating NF-κB pathway have also been reported, as *CD79b* or CARD11.[16, 27, 35, 36] These genetic data represented a scientific rationale to support the use of lenalidomide in PCDLBCL-LT. Lenalidomide antagonizes a central regulatory hub governed by the transcription factors IRF4 and SPIB, which in turn suppress IFNβ while increasing NF-κB production.[19,20,42,43]

Phase II clinical trials[19, 20, 39] and retrospective series[21]showed that patients with relapsed/refractory aggressive DLBCL can respond to lenalinomide, especially those with non-GC DLBCL.[24,25] These results in patients with DLBCL are not directly applicable to those with PCDLBCL-LT, who are, on average, 15 years older, with multiple comorbidities, impaired organ function, altered drug metabolism. Results of our bayesian analysis only suggest a weak efficacy of lenalimide in PCDLBCL-LT, with a response rate lower than 20%, even when considering a statistical enthusiastic distribution. In our study, the recruitment rate was lower than expected probably due to improved

survival and fewer relapses throughout the years with the use of R-PCT regimens as first line therapy in PCDLBCL-LT.[7]

We observed a 57.3% ORR in patients while receiving lenalidomide but with a short duration of response of 4 months. These results, better than the ORR at 6 months, are encouraging but insufficient to propose lenalidomide as a single treatment in relapsed or refractory PCDLBCL-LT. Combination treatment, with lenalidomide-rituximab has been recently evaluated in relapsed/refractory DLBCL, but the response rates were quite similar to single-agent lenalidomide.[40–44] Lenalidomide maintenance (25 mg/day for 21 days) improved PFS for patients with DLBCL after responding to R-CHOP.[45] R2-CHOP (lenalidomide 15 mg daily on days 1–14 combined with R-CHOP21) is currently evaluated as first-line therapy in DLBCL ABC (NCT02285062), as in advanced-age patients with all DLBCL (NCT02128061). Preliminary studies suggested interesting results,[46, 47] the addition of lenalidomide appearing to be of particularly benefit in non-GCB DLBCL.[24, 48]

MYD88^{L265P} mutation was less frequently evidenced in our study than in previous ones (47.3%).[18, 31,40,41] Despite the fact that no association was found between the MYD88 status and the 6-month ORR, a negative *MYD88* status was marginally associated with the best response under treatment (OR= 0.12 (95%CI, 0.02-1.00), p=0.05). Our data were also consistent with those of Pham-Ledard et al, who showed that *MYD88* mutation was associated with a worse prognosis in PCDLBCL-LT.[27]

Interestingly, we observed in an exploratory analysis, both a higher 6-month ORR rate (37.5% versus 18.1%) and a lower death rate (2 patients (25%) versus of 9 patients (81.8%)) among the 8 patients who were included in the second part of the study from September 2013 to September 2014, than in the 11 patients included at the beginning of the study from September 2012 to July 2013. Such differences may result from differences in baseline characteristics of patients resulting from selection biases. Indeed, patients included in the second part of the study were younger and in better overall condition (supplementary data, table 2). Also, lenalinomide doses were reduced in 5 of 8 patients

(62.5%) included during the second part of the study versus. 4 of 11 (36.4%) of those included during the first part. This might suggest that a dose adaptation of lenalidomide does not compromise the response as it allows longer treatment duration and consequently a higher response rate.

Other potential oral drugs for PCDLBCL-LT are Bruton tyrosine kinase inhibitors, especially ibrutinib, targeting NF-κB signaling through B-cell receptor. Its efficacy was highlighted in non-GC DLBCL rather than in GCB DLBCL.[49]A case of previously refractory PCDLBCL-LT, responding to ibrutinib has recently been reported.[50]NF-κB proteasome inhibitor (bortezomib)[51], or MYD88 inhibitors could also represent future therapeutic options.

Our study confirmed that therapy targeting the NF-κB pathway, as lenalidomide has a place in the therapeutic strategy of PCDLBCL-LT. The 6-month results from this phase II study demonstrate a modest activity of oral lenalidomide monotherapy in patients with relapsed or refractory PCDLBCL-LT, but this rate is comparable to those obtained for relapsed DLBCL and the good global response obtained under treatment is encouraging. Further evaluation of lenalidomide efficacy in relapsed or refractory PCDLBCL-LT is warranted with possibly a dose reduction adapted to the poor general condition of the patients, and a maintenance treatment by lenalidomide for responders.

Furthermore, massive parallel sequencing of PCDLBCL-LT has recently uncovered the high mutational rate of genes such as *MYD88, PIM1* and *CD79B* leading to the activation of several signaling pathways such as the B-cell receptor, Toll like receptor or NF-κB pathways.[52] Response to lenalidomide alone or in combination with other inhibitors such as ibrutinib may therefore depend on the mutational pattern of each patient's tumor.[53] Together with our data on lenalidomide efficacy and toxicity; this will permit to set up new personalized treatment options in patients with refractory or relapsed PCLBCL-LT.

Acknowledgments for their contribution in the REV-LEG study:

Dr Adelaide Dousseau and Anne-Sophie Grandoulier for study design and initial follow-up, Dr Laura Richert, Louise Baschet and Jérôme Galet for study follow-up (CHU Bordeaux, Pôle de Santé publique, Unité de Soutien Méthodologique à la Recherche Clinique et Epidémiologique, Bordeaux, France).

Christine Alfaro (Department of Dermatology, University Hospital of Bordeaux, France) as study research associate

Sylvie Blazejewski - Sébastien Marchi-Fréderic Perry (Clinical and Innovation research department, University Hospital of Bordeaux) Anne Gimbert (Department of Pharmacology – Security and vigilance unit University Hospital of Bordeaux) Stéphanie Tamisier (Department of Pharmacology for clinical trial, University Hospital of Bordeaux)

Data and Safety Monitoring Committee: Nadège Cordel (Department of Dermatology, University Hospital of Pointe à Pitre) ; Raphaël Porcher (Méthodologiste-APHP Hôpital Saint-Louis) ; Marie-Blanche Valnet-Rabier (Department of Pharmacology, University Hospital of Besançon) ; Thierry Lamy De La Chapelle (Department of Hematology, University Hospital of Rennes) ; Laurence Verneuil (Department of Dermatology, University Hospital of Caen) ;

Table 1: Patient Demographics and baseline disease characteristics (n=19)

Characteristics	All Patients (n=19) (No/%)
Age (years)	
Median	79
Range	69-92
Female gender	16 (84.2)
Time from initial diagnosis to inclusion (years)	
Median	3
Range	1-18
Time from last therapy to inclusion (years)	
Median	1
Range	0-5
Type of prior treatment regimens	
R-PCT with anthracyclins	12 (63 .2)
R-PCT without anthracyclins	7 (36.8)
Median number of cures	6
Range	1-13
Status after R-PCT	
PR	3 (15.8)
Relapse after CR	16 (84.2)
WHO performance status	
0	12 (63.2)
1	5 (26.3)
2	2 (10.5)
Characteristics of skin lesions :	
-Localization :	
Exclusive leg-localization	15 (78.9)
Leg and extra-leg localization	3 (15.8)
Exclusive extra-leg localization	1 (5.3)
-Size of skin lesions(mm)	
Median	35
Ranges	18-330
-Median number	3
-Ulceration	
No	58 (93.5)
Yes	4 (6.5)
TNM	
T1N0M0	2 (10.5)
T2N0M0	10 (52.6)
T2N1M0	2 (10.5)
T2N2M0	1 (5.3)
T3N0M0	2 (10.5)
T3N1M0	1 (5.3)
T3N2M0	1 (5.3)
Presence of MYD88 L265P mutation	9 (47.4)

Table 2 :Response of patients treated with lenalidomide

Response criteria	Number of patients	%
6-month response		
Global response (ORR)	**5**	**26. 3 (11.0-47.6 ; IC90%)**
CR	4	21.1
PR	1	5.3
SD	3	15.8
DP	7	36.8
12-month response		
Global response (ORR)	3	15.8
CR	2	10.5
PR	1	5.3
SD	0	0.0
DP	4	21.1
Best overall response (post-hoc analysis)		
CR	6	31.5
PR	5	26.3
No response	8	42.1
Median progression-free survival (months)	4.9	
Median duration of response (months)	4.1	
Median specific survival (months)	23.8	
Median overall survival (months)	19.4	
CR: Complete Response; PR: Partial Response; SD: Stable Disease; ORR: Objective Response Rate; DP: disease progression		

Table 3 : Adverse events reported in at least 10% of patients (n=19)

Adverse event	Number of patients	%	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4	Grade 5 (death)
Fatigue	7	36.8	4	3			
Neutropenia	7	36.8	2		4		1*
Thrombopenia	5	26.3	3		2		
Diarrhea	4	21	2	2			
Constipation	3	15.7	3				
Atrial Fibrillation	3	15.7		1	2		
Neuropathic pain	3	15.7		3			
Cramps	3	15.7	1	2			
Skin rash	3	15.7		2	1		
Sepsis	3	15.7		1	1		1*
Blurred vision	2	10.5	2				
Thromboembolic disease	2	10.5		1			1
Anemia	2	10.5	1	1			
Lymphopenia	2	10.5		1	1		
Cholestase	2	10.5		2			
Dizziness	2	10.5	1	1			
Anorexia	2	10.5	2				
Œdema	2	10.5	1	1			
Dysgueusia	2	10.5	2				
*= *same patient with sepsis and neutropenia*							

Figure 1 : Kaplan–Meier estimate of progression-free survival (PFS) for all 19 patients

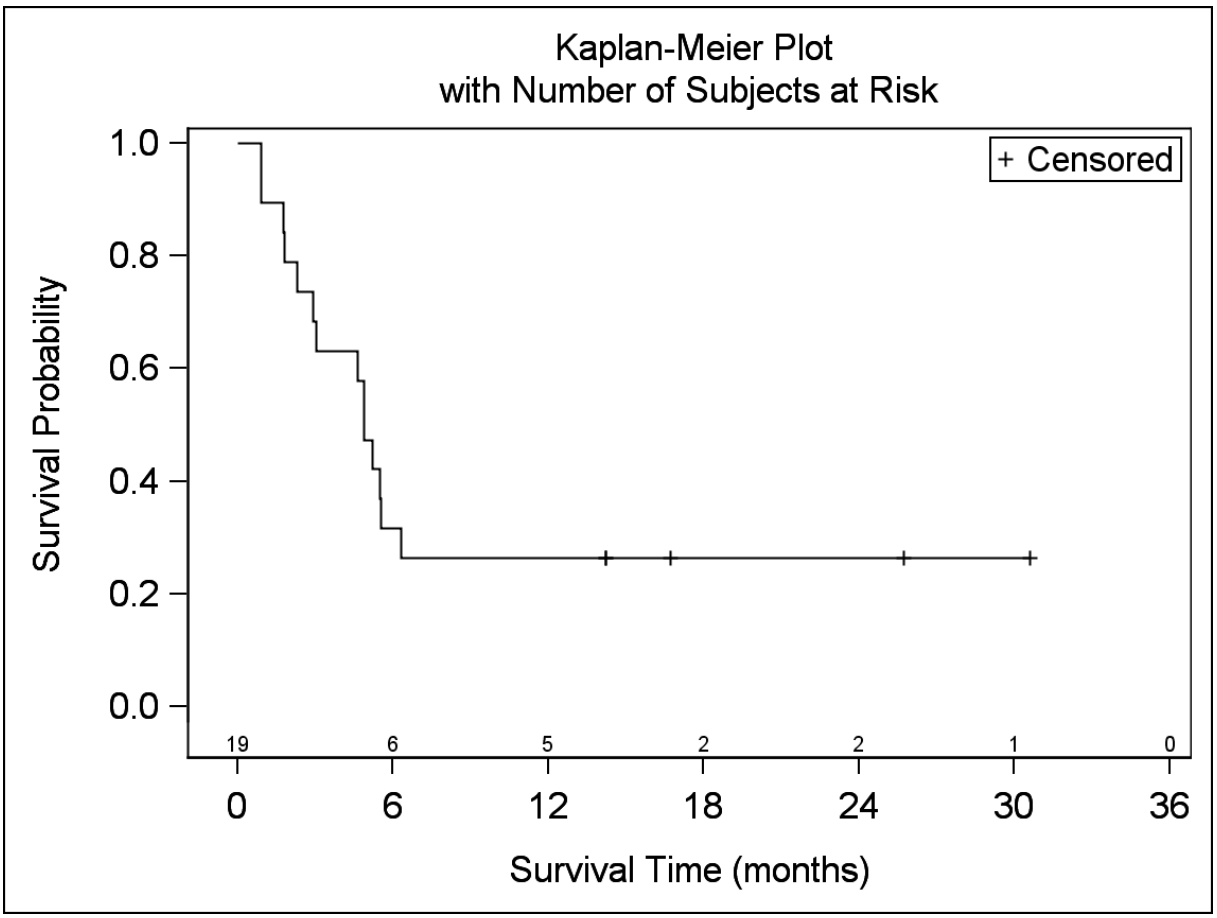
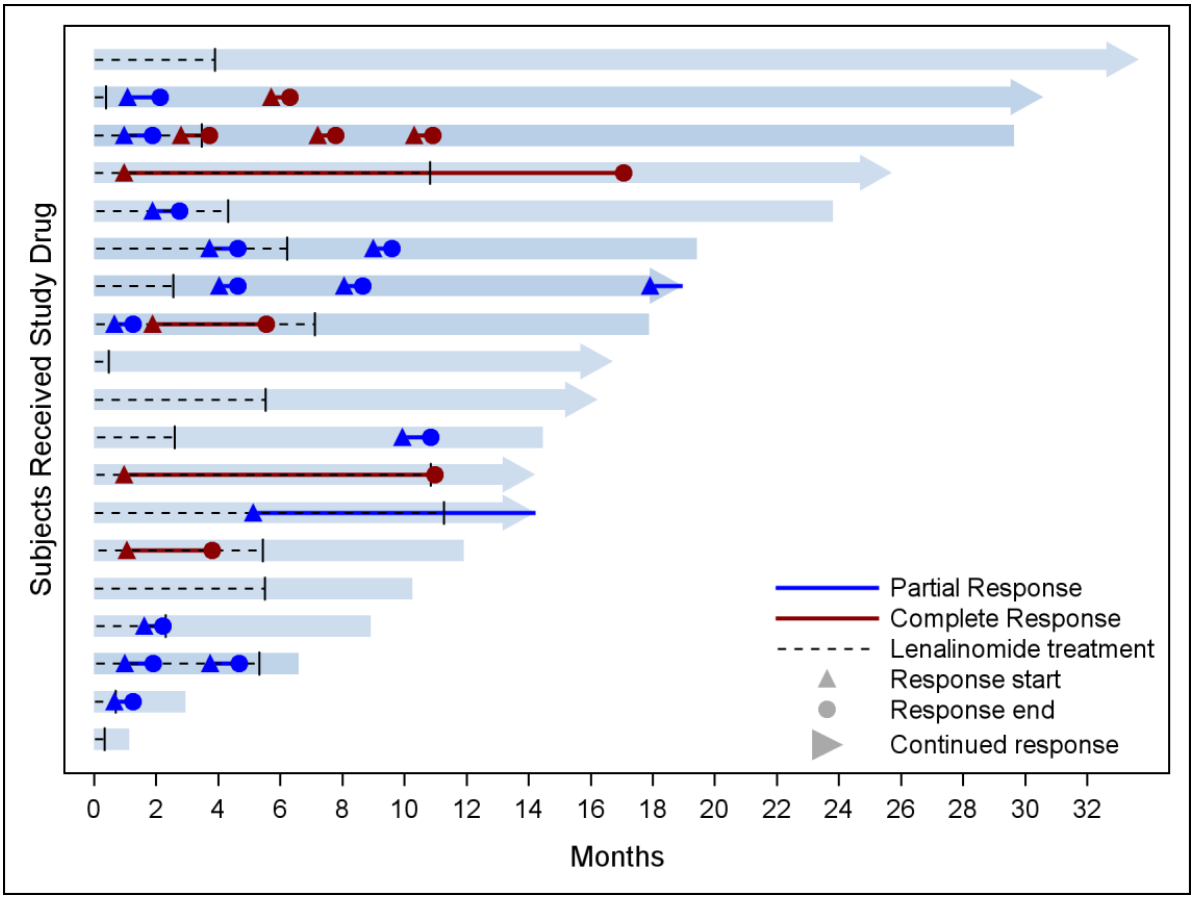


Figure 2 : Responses of each patient during study.



References:

1. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al: WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. Blood 105:3768–3785, 2005

2. Senff NJ, Hoefnagel JJ, Jansen PM, et al: Reclassification of 300 Primary Cutaneous B-Cell Lymphomas According to the New WHO–EORTC Classification for Cutaneous Lymphomas: Comparison With Previous Classifications and Identification of Prognostic Markers. J Clin Oncol 25:1581–1587, 2007

3. Grange F, Petrella T, Beylot-Barry M, et al: Bcl-2 protein expression is the strongest independent prognostic factor of survival in primary cutaneous large B-cell lymphomas. Blood 103:3662–3668, 2004

4. Grange F, Beylot-Barry M, Courville P, et al: Primary cutaneous diffuse large b-cell lymphoma, leg type: Clinicopathologic features and prognostic analysis in 60 cases. Arch Dermatol 143:1144–1150, 2007

5. Senff NJ, Noordijk EM, Kim YH, et al: European Organization for Research and Treatment of Cancer and International Society for Cutaneous Lymphoma consensus recommendations for the management of cutaneous B-cell lymphomas. Blood 112:1600–1609, 2008

6. Grange F, Maubec E, Bagot M, et al: Treatment of cutaneous b-cell lymphoma, leg type, with age-adapted combinations of chemotherapies and rituximab. Arch Dermatol 145:329–330, 2009

7. Grange F, Joly P, Barbe C, et al: Improvement of survival in patients with primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type, in France. JAMA Dermatol 150:535–541, 2014

8. Guyot A, Ortonne N, Valeyrie-Allanore L, et al: Combined treatment with rituximab and anthracycline-containing chemotherapy for primary cutaneous large B-cell lymphomas, leg type, in elderly patients. Arch Dermatol 146:89–91, 2010

9. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al: WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. Blood 105:3768–3785, 2005

10. Vermeer MH, Geelen FA, van Haselen CW, et al: Primary cutaneous large B-cell lymphomas of the legs. A distinct type of cutaneous B-cell lymphoma with an intermediate prognosis. Dutch Cutaneous Lymphoma Working Group. Arch Dermatol 132:1304–1308, 1996

11. Bessell E., Humber C., O'Connor S, et al: Primary cutaneous B-cell lymphoma in Nottinghamshire U.K.: prognosis of subtypes defined in the WHO-EORTC classification. Br J Dermatol 167:1118–1123, 2012

12. Kodama K, Massone C, Chott A, et al: Primary cutaneous large B-cell lymphomas: clinicopathologic features, classification, and prognostic factors in a large series of patients. Blood 106:2491–2497, 2005

13. Hallermann C, Niermann C, Fischer R-J, et al: Survival data for 299 patients with primary cutaneous lymphomas: a monocentre study. Acta Derm Venereol 91:521–525, 2011

14. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al: Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. Blood 103:275–282, 2004

15. Hoefnagel JJ, Mulder MMS, Dreef E, et al: Expression of B-cell transcription factors in primary cutaneous B-cell lymphoma. Mod Pathol 19:1270–1276, 2006

16. Pham-Ledard A, Prochazkova-Carlotti M, Andrique L, et al: Multiple genetic alterations in primary cutaneous large B-cell lymphoma, leg type support a common lymphomagenesis with activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma. Mod Pathol:402–411, 2014

17. Chanan-Khan AA, Cheson BD: Lenalidomide for the Treatment of B-Cell Malignancies. J Clin Oncol 26:1544–1552, 2008

18. Yang Y, Shaffer AL, Emre NCT, et al: Exploiting Synthetic Lethality for the Therapy of ABC Diffuse Large B Cell Lymphoma. Cancer Cell 21:723–737, 2012

19. Wiernik PH, Lossos IS, Tuscano JM, et al: Lenalidomide monotherapy in relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. J Clin Oncol:26:4952–4957, 2008

20. Witzig TE, Vose JM, Zinzani PL, et al: An international phase II trial of single-agent lenalidomide for relapsed or refractory aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphoma. Ann Oncol 22:1622–1627, 2011

21. Zinzani PL, Rigacci L, Cox MC, et al: Lenalidomide monotherapy in heavily pretreated patients with non-Hodgkin lymphoma: an Italian observational multicenter retrospective study in daily clinical practice. Leuk Lymphoma 56:1671–1676, 2015

22. Hernandez-Ilizaliturri FJ, Deeb G, Zinzani PL, et al: Higher response to lenalidomide in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma in nongerminal center B-cell–like than in germinal center B-cell–like phenotype. Cancer 117:5058–5066, 2011

23. Mondello P, Steiner N, Willenbacher W, et al: Lenalidomide in Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Is It a Valid Treatment Option? The Oncologist 21:1107–1112, 2016

24. Fang C, Zhu D, Dong H, et al: Lenalidomide alone or in combination with chemotherapy treatment for subtypes of diffuse large B cell lymphoma: a systematic review and meta-analysis. Int J Clin Exp Med 8:10705–10713, 2015

25. Czuczman MS, Trněný M, Davies A et al: A Phase 2/3 multicenter, randomized study comparing the efficacy and safety of lenalidomide versus investigator's choice in relapsed/refractory DLBCL. Clin Cancer Res. Apr 5. 2017 [Epub ahead of print]

26. Kim YH, Willemze R, Pimpinelli N, et al: TNM classification system for primary cutaneous lymphomas other than mycosis fungoides and Sézary 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 110:479–484, 2007

27. Pham-Ledard A, Beylot-Barry M, Barbe C, et al: HIgh frequency and clinical prognostic value of myd88 l265p mutation in primary cutaneous diffuse large b-cell lymphoma, leg-type. JAMA Dermatol 150:1173–1179, 2014

28. Simon R: Optimal two-stage designs for phase II clinical trials. Control Clin Trials 10:1–10, 1989

29. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, et al: Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. J Clin Oncol 25:579–586, 2007

30. Tan S-B, Machin D, Tai B-C, et al: A Bayesian re-assessment of two Phase II trials of gemcitabine in metastatic nasopharyngeal cancer. Br J Cancer 86:843–850, 2002

31. Savini P, Lanzi A, Foschi FG, et al: Lenalidomide monotherapy in relapsed primary cutaneous diffuse large B cell lymphoma-leg type. Ann Hematol 93:333–334, 2014

32. Swaika A, Menke DM, Jain MK, et al: Remission induction with lenalidomide in a patient with relapsed diffuse large B cell lymphoma of the leg type. Ann Hematol 94:895–896, 2014

33. Compagno M, Lim WK, Grunn A, et al: Mutations of multiple genes cause deregulation of NF-kB in diffuse large B-cell lymphoma. Nature 459:717–721, 2009

34. Koens L, Zoutman WH, Ngarmlertsirichai P, et al: Nuclear Factor-κB Pathway–Activating Gene Aberrancies in Primary Cutaneous Large B-Cell Lymphoma, Leg Type. J Invest Dermatol 134:290–292, 2014

35. Menguy S, Gros A, Pham-Ledard A, et al: MYD88 Somatic Mutation Is a Diagnostic Criterion in Primary Cutaneous Large B-Cell Lymphoma. J Invest Dermatol 136:1741–1744, 2016

36. Pham-Ledard A, Cappellen D, Martinez F, et al: MYD88 Somatic Mutation Is a Genetic Feature of Primary Cutaneous Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Leg Type. J Invest Dermatol 132:2118–2120, 2012

37. Lopez-Girona A, Heintel D, Zhang L-H, et al: Lenalidomide downregulates the cell survival factor, interferon regulatory factor-4, providing a potential mechanistic link for predicting response. Br J Haematol 154:325–336, 2011

38. Zhang L-H, Kosek J, Wang M, et al: Lenalidomide efficacy in activated B-cell-like subtype diffuse large B-cell lymphoma is dependent upon IRF4 and cereblon expression. Br J Haematol 160:487–502, 2013

39. Witzig TE, Nowakowski GS, Habermann TM, et al: A comprehensive review of lenalidomide therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma. Ann Oncol 26:1667–1677, 2015

40. Zhang L-H, Kosek J, Wang M, et al: Lenalidomide efficacy in activated B-cell-like subtype diffuse large B-cell lymphoma is dependent upon IRF4 and cereblon expression. Br J Haematol 160:487–502, 2013

41. Zinzani PL, Pellegrini C, Gandolfi L, et al: Combination of Lenalidomide and Rituximab in Elderly Patients With Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Phase 2 Trial. Clin Lymphoma Myeloma Leuk 11:462–466, 2011

42. Zinzani PL, Pellegrini C, Derenzini E, et al: Long-term efficacy of the combination of lenalidomide and rituximab in elderly relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma patients: Lenalidomide and rituximab in elderly DLBCL patients. Hematol Oncol 31:223–224, 2013

43. Zinzani PL, Rigacci L, Cox MC, et al: The efficacy of lenalidomide combination therapy in heavily pretreated non-Hodgkin lymphoma patients: an Italian observational, multicenter, retrospective study. Leuk Lymphoma 58:226–229, 2017

44. Ivanov V, Coso D, Chetaille B, et al: Efficacy and safety of lenalinomide combined with rituximab in patients with relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. Leuk Lymphoma 55:2508–2513, 2014

45. Thieblemont C, Tilly H, Gomes da Silva M, et al: Lenalidomide Maintenance Compared With Placebo in Responding Elderly Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With First-Line Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone. J Clin Oncol JCO.2017.72.698, 2017

46. Vitolo U, Chiappella A, Franceschetti S, et al: Lenalidomide plus R-CHOP21 in elderly patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: results of the REAL07 open-label, multicentre, phase 2 trial. Lancet Oncol 15:730–737, 2014

47. Arora M, Gowda S, Tuscano J: A comprehensive review of lenalidomide in B-cell non-Hodgkin lymphoma. Ther Adv Hematol 7:209–221, 2016

48. Nowakowski GS, LaPlant B, Macon WR, et al: Lenalidomide Combined With R-CHOP Overcomes Negative Prognostic Impact of Non–Germinal Center B-Cell Phenotype in Newly Diagnosed Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Phase II Study. J Clin Oncol 33:251–257, 2015

49. Wilson WH, Young RM, Schmitz R, et al: Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. Nat Med 21:922–926, 2015

50. Gupta E, Accurso J, Sluzevich J, et al: Excellent Outcome of Immunomodulation or Bruton's Tyrosine Kinase Inhibition in Highly Refractory Primary Cutaneous Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Leg Type. Rare Tumors,29;7(4):6067 2015

51. Leonard JP, Furman RR, Coleman M: Proteasome inhibition with bortezomib: A new therapeutic strategy for non-Hodgkin's lymphoma. Int J Cancer 119:971–979, 2006

52. Dubois S, Jardin F: The role of next-generation sequencing in understanding the genomic basis of diffuse large B cell lymphoma and advancing targeted therapies. Expert Rev Hematol 9:255–269, 2016

53. Mareschal S, Pham-Ledard A, Viailly PJ, et al : The landscape of somatic mutations of primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg-type. J Invest Dermatol, 2017, in press

Supplementary material

Methods

Bayesian analysis:

The prior distribution was assumed to be a Beta distribution with parameters α and β. Such a distribution corresponds to having observed α success and β failures out of (α+β) patients. Indeed the primary endpoint of the trial is a binary variable (success or failure) and the number of response under treatment is modeled by the binomial distribution with k as the number of responses and n being the number of patients. With a Beta prior distribution and the data collected from the trial, the posterior distribution has the same type of distribution and is a distribution Beta(α+k,β+n-k).

Specification of the parameters in the prior probability model Beta(α,β) is required and we chose 4 priors distribution as follow, building on p0 and p1 defined for sample size calculation of the study :

- Clinical prior: Without results from previous published studies with the same treatment and the same population, we used the values of p0 and p1 of the sample size calculation, reflecting the opinion of the trial investigator. We assume that there was equal probability for the response rate for being less than p0, between p0 and p1 and greater than p1. Such hypothesis corresponds to a prior Beta(1.3,2.8)
- Reference prior: Such a prior distribution is not informative and uniform. It corresponds to a prior Beta (1,1)
- Sceptical prior: This prior represents the belief of an individual who, before the start of the trial, feels that there is only 5% chance of the response rate of being greater than p1. With a mean fixed to p0, it corresponds to a prior Beta(2.6,10.4)

- Enthusiastic prior: It corresponds to the belief of an individual who, before the start of the trial, feels that there is only 5% chance of the response rate of being lower than p0. With a mean fixed to p1, it corresponds to a prior Beta(5.6,8.4).

The sceptical and enthusiastic priors represent two opposite scenarios reflecting the uncertainty about the true probability of response. This allowed us to perform a sensitivity analysis aiming to look at the influence of the different prior choice on the conclusion at the end of the trial. With the interpretation of $(\alpha+\beta)$ being the total number of subjects from a previous study, we were careful to choose priors not too strong compared to the recruited sample size.

From the posterior distributions, we estimated the probabilities of the true response rate being less than p0=20% (defined as the minimal RR) and its 90% credibility interval (90% ICr). The 90% ICr represent the range of values in which the true response rate has a 90% chance of being found.

<u>Table 1, supplementary table:</u> AEs leading to dose reduction or to stop the treatment (n=19)

Adverse event	No. of leading to a dose reduction (9 patients*)	No. of AEs leading to a definitive stop of treatment (5 patients*)	No. of AEs leading to a transitorily stop of treatment (2 patients*)
Abnormal liver function tests			1
Acute renal insufficiency		1	
Atrial Fibrillation	2	1	
Blurred vision		1 (uveitis)	
Cardiac failure		1	
Gastroesophageal reflux	1		
Hypereosinophilia	1		
Ischemic stroke	1		
Neuropatic pain	2	1	
Neutropenia	1	1	
Sepsis		1 (sespis shock)	1 (pneumonia)
Skin rash		2	
Thromboembolic disease		1 (pulmonary embolism)	1 (venous thrombosis)
Thrombopenia	1	1	
Urinary incontinence	1		
**In most cases, patients had several Aes*			

Table 2, supplementary table: Characteristics of period-1 and period-2 patients

	Period-1 patients (n=11)	Period-2 patients (n=8)
Duration of follow-up (months) Median Range	 14 1-34	 16 10-26
Age (y)	81.6	77.3
Weight (kg)	72.6	62.8
Overall condition WHO 0 WHO 1 WHO 2	 54.5 27.2 18.1	 87 .5 12.5 0
Initial number of cutaneous lesions (Median)	4	2
Number of cycles of treatment Median Range	 4 1-5	 7 5-12
Definitive discontinuation of treatment due to AEs (%)	4 (36%)	1 (13%)
Death at the end point	9 (81.8%)	2 (25%)
Period-1 : from September 2012 to July 2013 (11 months) Period-2 : from September 2013 to September 2014 (13 months)		

II. RESULTATS COMPLEMENTAIRES

A. Analyse critique des critères de jugements

Le critère de jugement principal choisi dans l'étude REV-LEG était le taux de réponse (réponse complète (RC) ou partielle (RP)) à 6 mois (overall response rate = ORR). Ce critère strict n'est pas corrélé à la prise ou non du traitement dans une analyse en intention de traiter, comme c'est le cas de l'étude REV-LEG, contrairement à une analyse per-protocole.
En effet, parmi les 5 patients répondeurs à 6 mois (ORR=26,3%), 3 ont poursuivi le traitement jusqu'à la fin de l'essai (M12), un a arrêté au bout de 8 cycles mais un patient n'a eu qu'un seul cycle de traitement. Après l'arrêt du traitement, il a été traité par radiothérapie ayant permis une rémission complète, puis a de nouveau progressé. Il a alors été traité par Doxorubicine liposomale pégylée (Caelyx®) pendant 11 mois et une réponse complète a été obtenue de nouveau.
Nous avons choisi d'utiliser comme critère de jugement secondaire, dans le cadre d'une analyse *post-hoc*, la meilleure réponse sous traitement, moins discriminante, et plus représentative de l'effet du traitement à court terme. Le taux de réponse sous traitement s'élève à 57,9% (11 patients/19, 6 RC, 5 RP). La durée médiane de réponse était de 4 mois (min-max : 1-10 mois).

Les essais thérapeutiques ne définissent pas forcément un taux de réponse à une date donnée, particulièrement les articles qui étaient disponibles lors de l'élaboration de l'étude REV-LEG, évaluant le lenalidomide en monothérapie dans le LBDGC ganglionnaire réfractaire ou en rechute. Les ORR y sont estimés à 35% tous lymphomes confondus et varient de 19% à 28% pour les analyses en sous-groupe sur le LBDGC. (Wiernik et al., 2008; Witzig et al., 2011) Dans un essai de phase II évaluant le lenalidomide dans le LBDGC, l'ORR dans le groupe non-GC était estimé à 29%.(Czuczman MS, Davies A, Linton KM et al, n.d.)
Au vu de ces études, même si les réponses au lenalidomide en monothérapie dans le LCBDGC-TJ restent modestes et n'ont pas atteint les objectifs escomptés « a priori », et qu'ils sont de courte durée pour la plupart, ils sont encourageants et ouvrent des perspectives thérapeutiques futures notamment des combinaisons de traitements.

B. Analyse en sous-groupe des prélèvements sur le plan histologique

1. Description de l'analyse complémentaire

Conformément au protocole, les biopsies cutanées correspondant au diagnostic de rechute, avant l'inclusion, étaient adressées dans le service d'anatomo-pathologie du CHU de Bordeaux pour relecture centralisée (Pr B. Vergier et D. Mermin). Les biopsies correspondant au diagnostic initial étaient également demandées.

Cette relecture avait pour but final d'identifier les facteurs pronostiques histologiques de réponse.

Elle nous a aussi permis de confirmer rétrospectivement le diagnostic de LCBDGC-TJ selon les critères diagnostiques actuellement utilisés, afin de mettre éventuellement en évidence les diagnostics « douteux » évoquant plutôt un LBCCF à grandes cellules, principal diagnostic différentiel, essentiellement dans les formes « extra-jambes ».

Dans un premier temps, une étude morphologique confirmant l'architecture diffuse, la présence d'immunoblastes et/ou centroblastes a été réalisée. Un complément d'analyse par immunohistochimie a été faite, s'appuyant sur l'algorithme décisionnel construit à partir d'une étude rétrospective de cas inclus dans les réseaux de relecture LYMPHOPATH (réseau de relecture anatomopathologique) et du GFELC (réseau de relecture anatomo-clinique) sur une période de 2 ans (2010 et 2011). (Laban et al., 2015) (Figure 9)

Les marqueurs T (CD3) et B (CD20) puis les marqueurs CD10, BCL-6, Mum-1 puis BCL-2, et Mib-1 étaient analysés. Selon le profil phénotypique obtenu, en cas de doute persistant, le marqueur CD21 était étudié à la recherche d'un réseau folliculaire dendritique, normalement absent dans les LCBDGC-TJ.

Ces résultats étaient corrélés au statut MYD88 L265P fait parallèlement en biologie moléculaire.

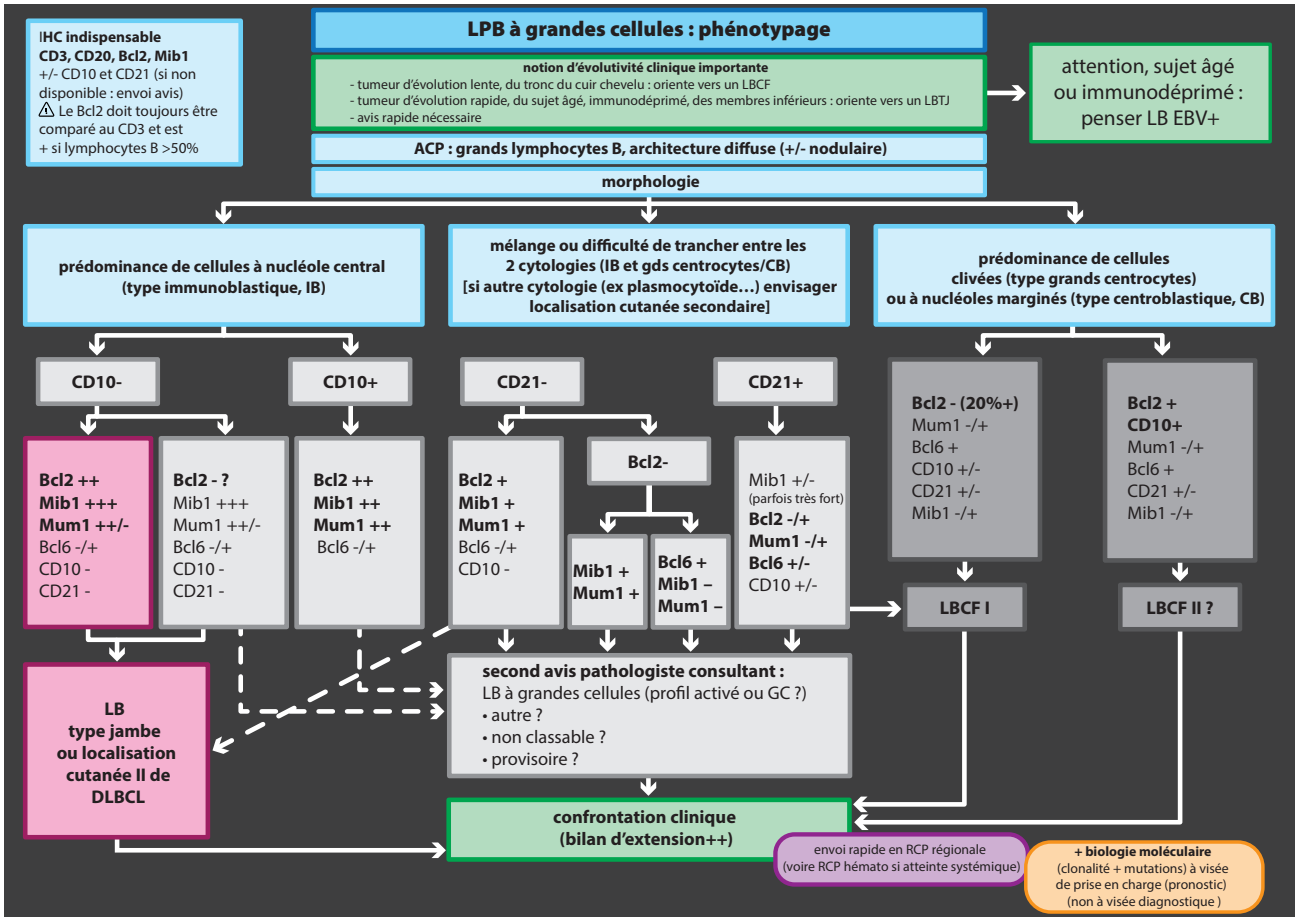


Figure 9 : Algorithme décisionnel diagnostique devant des lymphoprolifération B à grandes cellules (Laban et al., 2015)

2. Résultats de la relecture anatomo-pathologique et analyse phénotypique complémentaire

L'ensemble des prélèvements biopsiques avaient été lus lors du diagnostic initial au moins une fois par un anatomo-pathologiste référent du GFELC et le diagnostic validé.

Nous avons cependant observé *a posteriori* 6 cas dont le diagnostic de LCBDGC-TJ était douteux/incertain lors de la relecture fin 2016 sur des critères à la fois morphologiques et/ou immunophénotypiques.

A noter que tous les patients considérés comme « douteux » présentaient des lésions tumorales au membre inférieur. Un patient avait aussi une localisation « extra-jambe ».

Tous les cas « certains » avaient un profil phénotypique correspondant à l'algorithme de Hans, utilisé pour différencier au plan immunohistochimique les LBDGC ganglionnaires GC et non-GC. (Hans et al., 2004)

Les résultats de l'analyse immunohistochimique et moléculaire (MYD88) sont présentés dans le Tableau 7.

Cas	Architecture	Cytologie	BCL-2	CD10	BCL-6	MUM-1	CD21	Mib (Ki67)	MYD88 muté
CAS « CERTAINS »									
1	Diffuse	IB	1 100%	0	1	1 80%		90%	0
2	Plages et travées	IB	1 100%	0	1	1 80%	0	80%	1
3	Diffuse	IB	1 70%	0	0	1 70%	0		0
4	Diffuse	IB sur I, douteux sur R	1 100%	0	0	1 100%	0	100%	0
5	Diffuse	IB	1 100%	0	0	1 100%		100%	0
6	Diffuse	IB	1 100%	0	1	1 100%			1
7	Diffuse	IB	1 90%	0	0	1 90%		90%	0
8	Diffuse	IB	1 100%	0	0	1 100%	0		1
9	Diffuse	IB	1 100%	0	1	1 100%		80%	1
10	Diffuse	IB	1 100%	0	1	1 100%		90%	1
11	Diffuse	IB	1 100%	0	0	1 100%	0		0
12	Diffuse	IB	1 100%	0	1	1 80%		90%	1
13	Diffuse	IB voire douteux	1 100%	0	0	1 70%		90%	1
CAS « DOUTEUX »									
14	Diffuse	IB (90%), CB 2(10%)	1 80%	0	1	**0 5-10%**	0	80%	non
15	**Nodulaire**	**Grands CC**	1 100%	0	0	**0 40%**	0	30%	oui
16	Douteux	Douteux	**1 30%**	0	0	**0 15%**	0	//	non
17	Douteux	Douteux	1 70%	0	1	1 50%	0	//	non
18	**Nodulaire**	Douteux	1 70%	0	1	1 70%	0	//	oui
19	Douteux	Grands CC	1 70%	0	1	**0 10%**	**1**	30%	non

CC : centrocytes clivés, IB : immunoblastes, CB : centroblastes
I : prélèvement initial au diagnostic, R : prélèvement lors de la rechute avant l'inclusion
En gras : critère classant le lymphome B diffus à grandes cellules comme « douteux »

Tableau 7 : Phénotype et statut mutationnel des cas « certains » de LCBDGC-TJ, et « douteux » entre un LCBDGC-TJ et un LBCCF, après relecture anatomo-pathologique.

- Deux cas étaient uniquement « douteux » aux plans cytologique et architectural (17 et 18) mais avaient un phénotype non-GC selon l'algorithme de Hans (Figure 3) (Mum-1 étant considéré comme positif si >50%). Le patient non muté MYD88 a répondu sous traitement tandis que le patient muté MYD88 n'a pas répondu au lenalidomide.

- Les 4 autres cas « douteux » (14, 15, 16, 19) avaient un phétotype GC :
  - aucun n'était CD10+
  - 2/4 étaient certes bcl-6 négatifs
  - **mais** tous avaient un marquage MUM-1 inférieur à 50% (5-40%), critère phénotypique majeur dans le diagnostic de LCBDGC-TJ. (Figure 10)

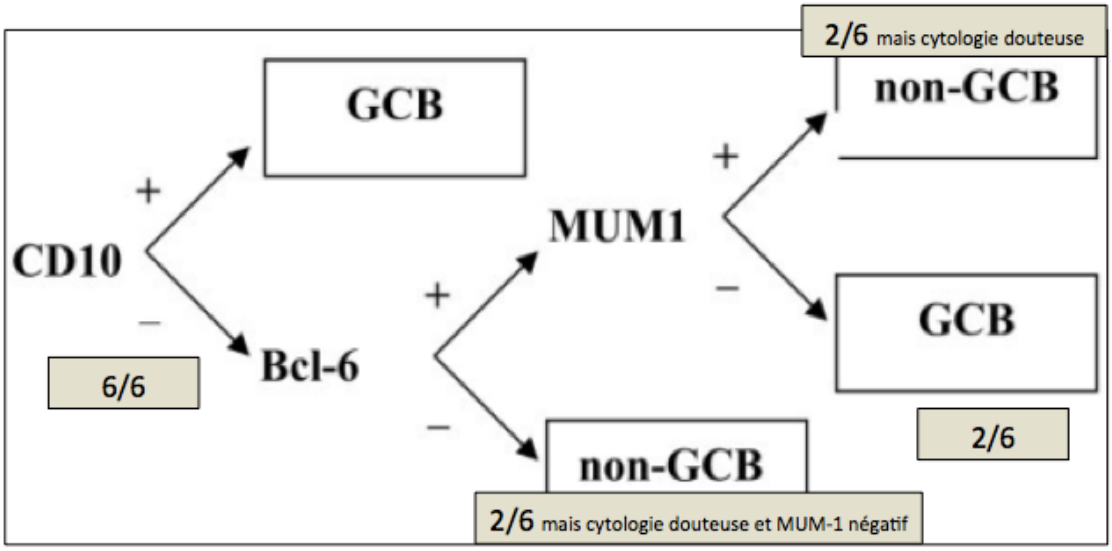


Figure 10 : Application de l'algorithme de Hans aux cas "douteux"

- A noter par ailleurs la présence d'un réseau folliculaire dendritique CD21+ pour un cas (19) dont le phénotype était CD10-, BCL6+, MUM1- (10%) et BCL2+.

  Parmi ces 4 patients, tous ont eu une réponse au cours du traitement par lenalidomide. Un (cas 15 à grands centrocytes clivés) était muté MYD88.

- Parmi les deux patients au profil histologique « douteux » mais MYD88 mutés (15, 18), nous n'avons pas pu obtenir auprès du centre d'inclusion les prélèvements du diagnostic initial de LCBDGC-TJ qui auraient pu nous conforter dans le diagnostic de LCBDGC-TJ. Ces deux patients ont été uniquement étudiés sur le prélèvement fait lors de la récidive, juste avant l'inclusion dans le protocole REV-LEG.

- Pour les 4 autres patients douteux la confrontation entre le primitif et la récidive ne montrait pas de différence morphologique et/ou phénotypique probante.

3. Interprétation des cas douteux

a. Hypothèse physiopathologique

Pour les patients « douteux », l'hypothèse de modifications architecturales et cytologiques au décours des traitements cytotoxiques (R-PCT) a été soulevée, probablement majorées par le caractère biopsique (artéfacts d'écrasement possibles) des prélèvements. Ceci aurait pu expliquer la présence de grands centrocytes clivés plutôt que de centroblastes/immunoblastes sur les prélèvements biopsiques issus de la récidive du lymphome. Cette hypothèse n'a pas été validée par l'analyse en parallèle du prélèvement initial et de la récidive de 11 des 17 cas analysés sur les deux prélèvements, dont 4 douteux : il n'y avait pas de différence architecturale et cytologique probante entre les prélévements. Comme noté précédemment, nous ne pouvons conclure pour les deux patients « douteux » MYD88 mutés pour lesquels nous n'avions que la récidive.

Les inclusions dans le protocole REV-LEG ont débuté en 2012 et le diagnostic de LCBDGC-TJ a été posé au plus tôt en 2006. La qualité de la fixation et les critères diagnostiques se sont améliorés depuis 10 ans, avec notamment une meilleure connaissance de la classification phénotypique des lymphoprolifération B à grandes cellules primitivement cutanées. (Laban et al., 2015) Depuis, la mutation L265P de MYD88 a été mise en évidence comme spécifique des LCBDGC-TJ parmi les lymphomes cutanés B primitifs à grandes cellules.(Menguy et al., 2016) Elle est désormais accessible dans plusieurs laboratoires.

b. Conséquences sur les résultats de l'étude REV-LEG

Malgré ces 6 cas « douteux », une analyse en sous-groupe n'a pas mis en évidence de différence de réponse au traitement entre les patients au diagnostic « certain » par rapport aux patients au diagnostic « douteux ». (Tableau 8)

(a)	RC ou RP **à M6** (5/19)	Non répondeur (14/19)
Lymphome TJ au diagnostic certain (13/19)	4 (80%)	9 (64,3%)
Lymphome à grandes cellules douteux (6/19)	1 (20%)	5 (35,7%)
(OR= 2,22, (0,19-25,72, IC 95%), p=0,5228)		

(b)	RC ou RP **sous traitement** (11/19)	Non répondeur (8/19)
Lymphome TJ au diagnostic certain (13/19)	6 (55,5%)	7 (87,5%)
Lymphome à grandes cellules douteux (6/19)	5 (45,5%)	1 (12,5%)
(OR= 0,17, (0,02-1,91, IC 95%), p=0,1512)		

Tableau 8 : Réponses des patients à M6 (a) et sous lenalidomide (b) en fonction du statut histologique et phénotypique certain ou douteux de LCBDGC-TJ

C. Mutation MYD88 L265P

Nous avons observé un taux mutation MYD88 muté (47%) plus bas que celui habituellement rapporté (Pham-Ledard et al. 2012: 11/16 = 69%,(Pham-Ledard A et al., 2014): 34/58 patients : 59%, (Pham-Ledard A et al., 2014): 11/18 patients : 61%, (Menguy et al., 2016) : 19/25 patients =76%, (Koens et al., 2014): 4/10 patients= 40%). Cette différence de pourcentages s'explique probablement par une plus grande hétérogénéité de fixation du fait de l'ancienneté de certains prélèvements.

Pour les patients dont le diagnostic de LCBDGC-TJ était certain après relecture, mais dont le statut MYD88 était sauvage, une nouvelle recherche de la mutation de MYD88 L265P a été faite sur un autre prélèvement sans modification des résultats.

Il a été montré dans le cadre d'une analyse *post-hoc*, que les patients sans mutation de MYD88 L265P avaient une meilleure réponse au lenalidomide sous traitement par rapport aux patients porteurs de la mutation (OR=0,13 (0,02-1 IC95%), p=0,05). Cette association, à la limite de la significativité, confirme les résultats de Pham-Ledard et al : les patients porteurs de la mutation MYD88 L265P ont un moins bon pronostic.(Pham-Ledard A et al.,

2014) Nos résultats sont cependant à interpréter avec prudence car concernent un faible effectif de patients issus eux mêmes d'une petite cohorte.

D. Suivi des patients au décours de l'étude REV-LEG

Le traitement a été arrêté à cause d'effets secondaires pour 5 patients, devant l'échec du traitement pour 11 patients. (Figure 11)
3 patients ont poursuivi le traitement pour une durée de 12 cycles au total.

Parmi ces 3 patients, deux avaient une réponse complète et un une réponse partielle à M12 :

- Deux d'entre eux ont arrêté le traitement définitivement.
- Une patiente a eu une récidive tumorale sur la jambe 15 jours après l'arrêt du protocole donc a de nouveau été traitée pour 3 cycles supplémentaires mais a progressé en développant des localisations cérébrales conduisant au décès.

A la date de point du 15 novembre 2015, 8 patients (47%) étaient en vie, dont 4 en rémission du lymphome (26,3%). 11 patients étaient décédés, 9 (47,4%) à cause du lymphome, 2 à cause d'effets secondaires du lenalidomide (un sepsis lié à une agranulocytose, un cas d'embolie pulmonaire).

Les traitements qui ont été proposés aux patients en échec du lenalidomide étaient : l'etoposide (5 cas), la radiothérapie (6 cas), le rituximab associé à une chimiothérapie (Gemcitabine-Oxaliplatine (GE-MOX) dans 2 cas, nouveau CHOP dans un cas, everolimus dans un cas).
Après de multiples récidives malgré les polychimiothérapies administrées, une patiente dont la réponse était stable sous REV-LEG, a été traitée par rituximab (4 injections hebdomadaires suivies d'un traitement d'entretien par des injections tous les deux mois) associé au lenamidomide (10mg/j) avec une efficacité objective, avant de récidiver fin 2016.

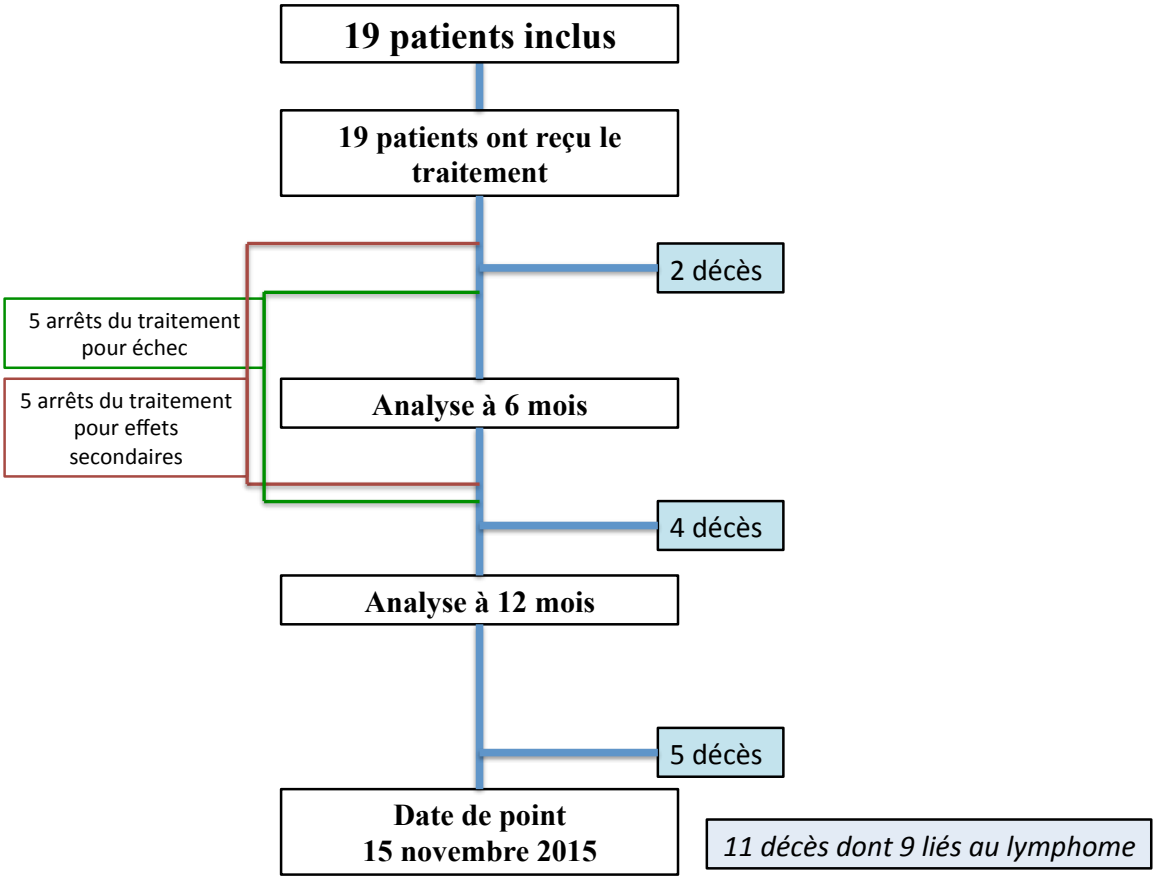


Figure 11: Diagramme de flux de l'étude REV-LEG

III. LIMITES

A. Faible échantillon et conséquences statistiques

1. Nombre de sujets nécessaires (NSN)

Les LCBDGC-TJ et les lymphomes non hodgkiniens ayant un taux de non-réponse ou de rechute similaire après un traitement de première ligne, le taux de réponse attendu a été fixé à 40 % (p1) lors de la constitution de l'étude. Le taux de réponse minimal justifiant le développement du traitement était fixé à 20 % (p0). En dessous de cette valeur, le traitement est considéré comme inefficace. Le calcul de la taille d'étude a été fondé sur le modèle optimal avec un risque α de 10 % (probabilité de conclure que le médicament est

suffisamment prometteur si le taux de réponse réel est inférieur à p0) et un risque β de 10% (probabilité de rejeter le traitement alors que le taux de réponse réel est supérieur à p1). Dans cette situation, il fallait inclure au moins 37 patients au total.
L'étude a été réalisée en 2 étapes afin de permettre son arrêt en cas d'efficacité insuffisante. À la fin de la première étape, si trois réponses ou moins étaient observées, le traitement était considéré comme inefficace et l'étude devait être interrompue. Si plus de 4 réponses étaient observées après la première étape, l'étude se poursuivait jusqu'au recrutement de 37 patients.

2. Faible taux d'inclusion

Le NSN a été revu à la baisse devant un taux d'inclusion insuffisant. Initialement diminué à 22 patients, le recrutement s'est finalement interrompu prématurément au bout de 19 patients devant un taux de recrutement trop faible. Lorsque la décision d'arrêt du recrutement a été prise, les résultats de l'analyse intermédiaire n'étaient pas connus.

Le recrutement insuffisant de REV-LEG peut être expliqué par l'amélioration significative du pronostic des patients atteints de LCBDGC-TJ depuis la généralisation du traitement de première ligne par R-PCT. (52% de rechute versus 73% entre les périodes 2004-2010 versus 1988-2003, p=0,04) (Grange et al., 2014)

3. Analyse bayésienne

En plus d'être faite de manière conventionnelle comme prévue initialement, une analyse statistique selon une méthode bayésienne a été réalisée devant le faible nombre de patients inclus. Celle-ci consiste à choisir une hypothèse sur la distribution a priori P(θ) des valeurs plausibles du taux de réponse global à 6 mois à partir de données issues d'articles publiés et selon l'avis des cliniciens. Nous nous sommes appuyés sur les articles traitant du lenalidomide dans le LBDGC tous types confondus mais aussi plus spécifiquement axés sur le profil non-GC.(Czuczman MS, Davies A, Linton KM et al, n.d.; Fang et al., 2015; Hernandez-Ilizaliturri et al., 2011; Mondello et al., 2016; Wiernik et al., 2008; Witzig et al., 2011; Zinzani et al., 2015) Les données de ces articles sur les lymphomes B ganglionnaires ne sont cependant pas complètement applicables aux LCBDGC-TJ car il s'agit de pathologies

certes qui se ressemblent sur certains points mais sont distinctes, avec des populations différentes.

L'analyse bayésienne s'appuie sur les données suivantes: (Tan et al., 2002)

θ suit une loi binomiale que l'on approche par une loi beta (a,b) dont la distribution s'écrit :

$$\mathbf{P(\theta) \propto \theta^{a-1}(1-\theta)^{b-1}}$$

Ensuite, l'information issue de l'essai REV-LEG est utilisée pour définir la vraisemblance qui s'écrit :

$$\mathbf{P(y|\,\theta) \propto \theta^{k}(1-\theta)^{n-k}}$$

En combinant la distribution a priori (1) et la vraisemblance (2), on obtient la distribution a posteriori du taux de réponse global à 6 mois en utilisant le théorème de Bayes :

$$\mathbf{P(\theta|y) \propto P(y|\,\theta) \times P(\theta)} \leftrightarrow \mathbf{\text{A Posteriori} \propto \text{Vraisemblance} \times \text{A priori}}$$

Si l'*a priori* d'une proportion θ suit une loi beta (a,b) et qu'on observe k évènements sur n individus, alors la distribution *a posteriori* de θ est identifiable et suit une loi beta (a+k, b+n-k) qui s'écrit : $\mathbf{\text{A posteriori } P(\theta|y) \propto \theta^{a+k-1}(1-\theta)^{b+n-k-1}}$.

On peut utiliser la distribution de probabilité a posteriori P(θ|y) pour fournir un intervalle de crédibilité tel que θ soit dans [a ;b] avec une probabilité de (1-α)%.

L'intervalle de crédibilité à 95% s'interprète de la façon suivante: étant donné les observations, nous avons 95% de chance que la proportion vraie θ soit comprise entre les bornes de l'intervalle. A partir de là, 4 distributions a priori sont proposées en modulant les paramètres a et b de la loi bêta : a priori clinique, non informatif, sceptique et enthousiaste.

Dans l'étude REV-LEG, les intervalles de crédibilité avec les 3 premiers types de prior (sauf enthousiate) sont similaires. Les probabilités que le taux de réponse globale θ à 6 mois soit inférieur ou égale à 20% sont proches. Avec le prior enthousiaste, la probabilité que θ soit inférieur ou égale à 20% est très faible (probabilité de 5.7%). Cependant, aucun des intervalles de crédibilité n'est statistiquement supérieur à 20%. Même dans le cas enthousiaste, on ne peut pas conclure que le traitement est suffisamment efficace pour justifier de continuer son développement en phase III. (Tableau 9, Figure 12)

Type de prior	ICr 90%	Probabilité(θ ≤ 20%)
Clinical	[13.5% ; 43.3%]	0.224
Reference	[14% ; 45.6%]	0.196
Sceptical	[12.6% ; 36.8%]	0.33
Enthusiastic	[19.6% ; 45.9%]	0.057

Tableau 9: Intervalle de crédibilité (ICr) du taux de réponse globale θ

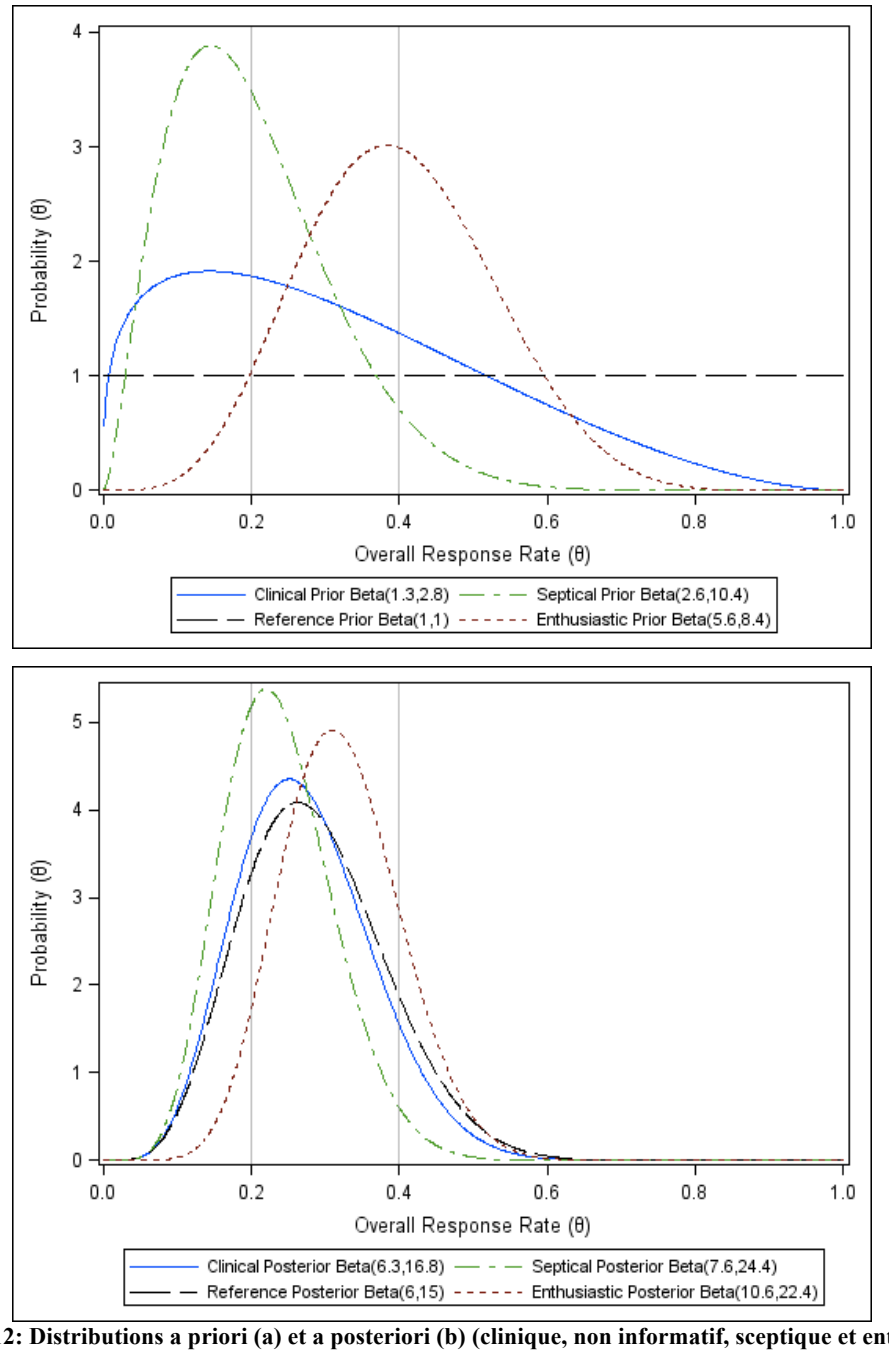


Figure 12: Distributions a priori (a) et a posteriori (b) (clinique, non informatif, sceptique et enthousiaste)

Ces résultats certes encourageants, sont inférieurs aux taux de réponse attendu de 40%. Cette estimation, faite lors de la rédaction du protocole d'étude en 2011 était probablement trop optimiste, avec des répercussions sur le calcul de taille de l'étude. Cela met en exergue toute la difficulté de la mise en place d'un essai thérapeutique dans une pathologie peu fréquente et dont les essais sont jusque là inexistants.

4. Intervalle de confiance et marges d'erreur

Les résultats statistiques du critère de jugement principal sont présentés sous forme d'un intervalle de confiance de 90%. Cela signifie que la marge d'erreur de se tromper est de 10%. Un intervalle de confiance de 95% est plus souvent utilisé dans les essais thérapeutiques de phase III. Il est justifié ici de prendre un risque de 1ère espèce bilatéral alpha à 10% car il s'agit d'un essai de phase II qui est plus précoce (recherche d'une efficacité minimum). L'analyse a été faite en accord avec les hypothèses du calcul du NSN.

La méthodologie de cette étude a été présentée lors d'une conférence d'épidémiologie clinique et aux journées des statisticiens des centres de lutte contre le cancer (conférence EPICLIN), par Aline Maillard, biostatisticienne. (Annexe 8)

B. Evolution de la réponse avec le temps - possibles biais d'inclusion

Nous avons observé que les derniers patients inclus dans l'étude REV-LEG avaient une meilleure réponse au traitement à 6 mois : parmi les 8 patients inclus entre septembre 2013 et septembre 2014 (période 2 = groupe 2), 2 CR et 1 RP (37.5%) ont été obtenues contre 2 CR (18.1%) dans le groupe de la période 1, de septembre 2012 à juillet 2013 (groupe 1). 2/8 patients (25%) du groupe 2 étaient décédés à la fin du protocole contre 9/11 (81,8%) des patients du groupe 1. Les caractéristiques des patients sont résumées dans les résultats complémentaires de l'article. (Table 2, analyse complémentaire de l'article)
Des biais de sélection pourraient expliquer de telles différences de réponse. Les patients ont probablement été mieux sélectionnés en fin de protocole, les praticiens plus attentifs aux comorbidités associées, au vu du profil de tolérance des patients du premier groupe (un cas d'embolie pulmonaire et de sepsis mortels). (Table 1, analyse complémentaire de l'article)

IV. PERSPECTIVES

A. Perspectives thérapeutiques

La meilleure compréhension de la lymphomagénèse des LBDGC ganglionnaires non-GC et TJ permet d'envisager des traitements adaptés à d'autres cibles thérapeutiques. Des molécules ciblant les récepteurs, protéines kinases et protéines adaptatrices sont en développement, et il existe quasiment une molécule ciblant chaque protéine impliquée dans toutes les voies moléculaires citées aux paragraphes précédents. (Jardin, 2014) (Figure 13)
Comme pour le lenalidomide, les essais thérapeutiques ont surtout été réalisés sur les lymphomes ganglionnaires mais pourraient s'étendre aux LCBDGC-TJ. (Roschewski et al., 2013) Certains sont prometteurs, d'autres n'ont pas fait preuve de leur efficacité.

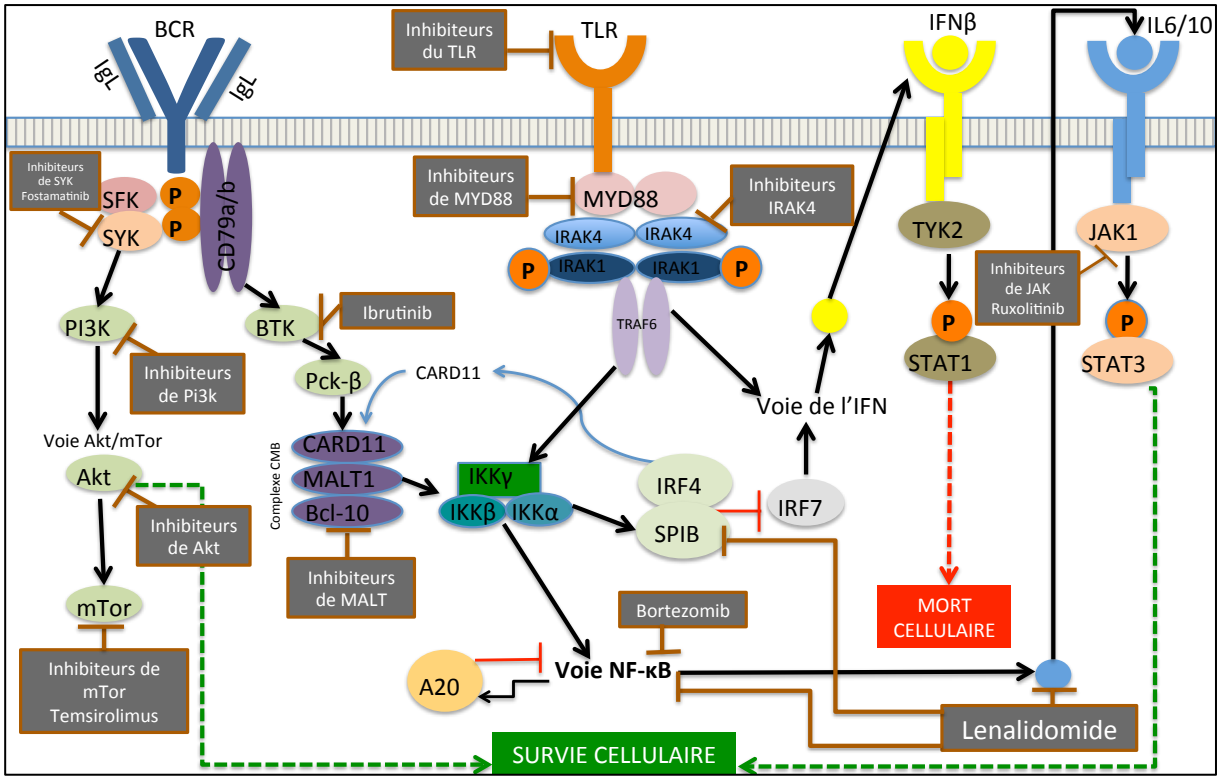


Figure 13 : Voies cellulaires et cibles thérapeutiques des nouveaux traitements dans les LBGC non-GC

1. Cibler la BTK : l'ibrutinib

En aval du BCR, la BTK (Bruton's Tyrosine Kinase) et plusieurs autres molécules sont phosphorylées jusqu'à l'activation de la protéine kinase Cβ (PKCβ), qui déclenche en aval l'activation de la voie RAS et de voie NF-κB par le complexe CBM (CARD11-BCL-10-MALT1). (Davis et al., 2010) L'ibrutinib est le traitement le plus avancé contre la voie du BCR. Il a l'autorisation d'utilisation pour le lymphome du manteau en rechute ou réfractaire et la leucémie lymphoïde chronique en rechute ou en première ligne en cas de délétion 17p ou de mutation TP53 chez les patients pour lesquels une immunochimiothérapie est inadaptée.

Une étude de phase 1/2 a étudié l'ibrutinib en monothérapie chez 80 patients avec un LBDGC en rechute ou réfractaire. Les résultats montrent une activité préférentielle pour les types non-GC (37% de réponse contre 5% dans le groupe GC), quelque soit le statut de CD79b mais variable (55,5% pour les mutés versus 31% pour les sauvages). (Wilson et al., 2015) En revanche, les patients porteurs de la mutation MYD88L265P n'étaient répondeurs qu'en cas d'association à la mutation de CD79b (taux de réponse de 80% en cas d'association). Les patients porteurs d'une mutation de CARD11 n'étaient pas répondeurs de même que 4 patients porteurs uniquement de la mutation MYD88L265P. Le taux de réponse important de 31% pour les patients BCR-non mutés a montré que l'activation oncogénique de la voie du BCR n'était pas forcément en lien avec une mutation du récepteur BCR et que le traitement par ibrutinib pouvait avoir son utilité qu'importe le statut mutationnel CD79 du patient.
L'ibrutinib est aussi en cours d'évaluation en association à un traitement standard par R-CHOP, mais les résultats ne sont pas encore connus (NCT01855750).

Afin d'associer une inhibition concomitante du signal BCR et de la voie MYD88, l'ibrutinib et le lenalidomide ont déjà été associés *in vitro* et sur des modèles murins par l'équipe de Yang. Les deux molécules agissent conjointement pour inhiber la voie NF-κB (via l'action sur IRF4 qui devient indétectable en présence des deux traitements) et induire aussi une action plus prononcée sur la voie de l'interféron.(Yang et al., 2012)

Concernant LCBDGC-TJ, l'ibrutinib en relais d'un traitement par lenalidomide a fait preuve de son efficacité dans un cas rapporté et semble être une molécule aussi prometteuse dans cette pathologie. (Gupta et al., 2015)

2. Cibler SYC : le fostamatinib

La protéine SYC initie et amplifie le signal du BCR. Les résultats d'une étude de phase II évaluant le fostamatinib dans le LBDGC réfractaire, a montré des résultats médiocres (ORR=13%), dont aucune réponse parmi les patients de phénotype non-GC qui représentait 30% des patients inclus.(Flinn et al., 2016)

3. Cibler la voie PI3K/AKT/mTOR

Le temsirolimus est un analogue hydrosoluble de la rapamycine, un inhibiteur de mTor. Il s'agit d'une prodrogue s'hydrolisant en quelques minutes et se transformant en sirolimus. Le temsirolimus a déjà été évalué dans une étude thérapeutique de phase II étudiant le temsirolimus dans les lymphomes non hodgkiniens hors lymphomes du manteau dans lequel il est déjà utilisé. L'ORR dans le sous-groupe LBDGC était de 28,5%.(Smith et al., 2010) Une étude de phase I/II évaluant le temsirolimus en association à une R-PCT (R-DHAC) dans le LBDGC est en cours. (NCT01653067)

Un inhibiteur à la fois de PI3Kα et δ a montré des résultats *in vivo*, supérieurs à l'inhibition sélective de ces deux molécules, chez les patients avec un LBDGC non-GC MYD88 L265P muté. L'association à l'ibrutinib chez ces patients également mutés CD79B a montré une réponse durable.(Paul et al., 2017)

La perifosine est un phospholipide alkylant ayant pour cible AKT. Les tests ont seulement été réalisés *in vitro* dans la maladie de Waldenström mais cette molécule pourrait être intéressante dans les LBDGC.(Ghobrial et al., 2010) Un autre inhibiteur de Akt (AZD5363) testé in vitro dans des LBDGC (comportant une perte de fonction de PTEN), semble aussi efficace *in vitro* dans les deux sous-types de lymphome (GC et non-GC), en inhibant la transcription du gène *MYC*.(Erdmann et al., 2017)

4. Cibler MALT1 du complexe CBM : les inhibiteurs de MALT1

MALT1 fait partie du complexe CBM essentiel à l'activation de NF-κB suite à l'activation du BCR par un antigène. Son activité protéolytique est essentielle à la survie des lignées de LBDGC non-GC, et représente ainsi une potentielle cible thérapeutique. Des inhibiteurs spécifiques de MALT1 ont montré une activité sur MALT1 *in vitro* et *in vivo*. (Fontan et al., 2012)

5. Cibler le protéasome: le bortezomib

Le bortezomib (Velcade®) est un inhibiteur du proteasome qui inhibe le complexe NF-κB en bloquant la dégradation de IκB par le protéasome.(Leonard et al., 2006) Un essai de phase I/II a montré l'efficacité du bortezomib associé à une polychimiothérapie dans le sous-type non-GC, mais aucune réponse du traitement seul. (Dunleavy et al., 2009) Des inhibiteurs du protéasome de seconde génération sont en développement comme le carfilzomib, plus sélectif (Roschewski et al. 2014). Ce traitement a montré des résultats modestes associé au vorinostat (inhibiteur des histones désacétylases) dans les LBDGC réfractaires, dans un essai de phase 1. (Holkova et al., 2016)

6. Cibler IRAK 4 : les inhibiteurs d'IRAK4

Un inhibiteur sélectif de la kinase IRAK-4 (ND-2158) a été étudié par une équipe américaine sur des modèles murins. L'impact des inhibiteurs d'IRAK-4 sur les différentes voies cellulaires impliquées dans la lymphomagénèse du LBDGC non-GC a été évalué, en analysant l'expression des gènes impliqués dans chaque voie. (Kelly et al., 2015) Sur les 4 LBDGC non-GC MYD88 L265 muté, 366 gènes dépendants des voies de l'IFN, de l'IL6/10 et NF-κB semblaient moins exprimés après 4 jours de traitement, avec une prédominance de gènes issus de la voie NF-κB. (Figure 14)

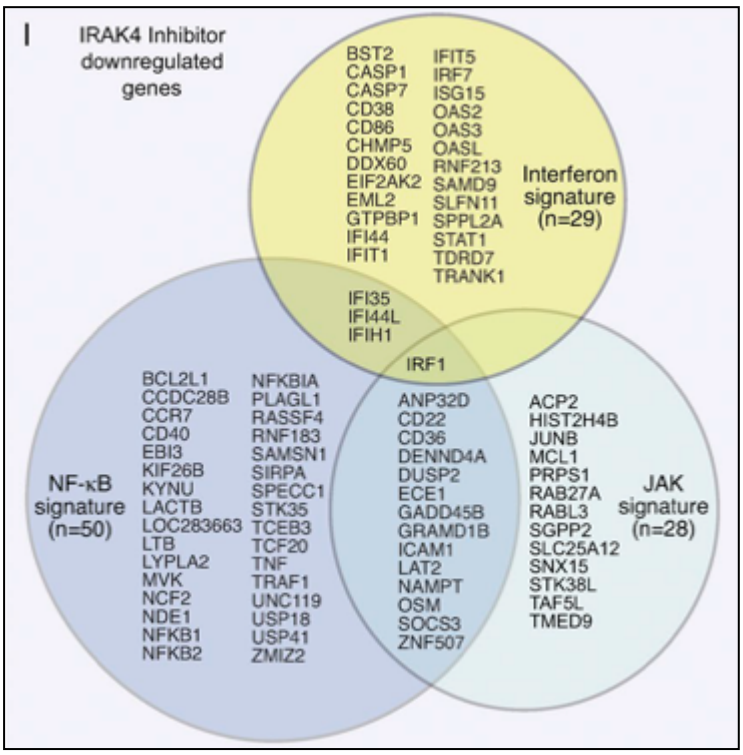


Figure 14 : Gènes dont l'expression est inhibée sous l'influence d'inhibiteur d'IRAK4

7. Cibler MYD88 : les inhibiteurs de MYD88

Des inhibiteurs de MYD88 ciblant son homodimérisation ont été conçus. Ces molécules ont pour but d'inhiber les prolifération tumorales liées à l'activation aberrante du récepteur TLR, par la mutation MYD88.(Loiarro et al., 2013) Aucune étude n'a été réalisée *in vivo* ou *in vitro* sur les lymphomes B diffus à grandes cellules non GC muté MYD88 L265P. Une étude *in vitro* a montré l'inhibition de l'immunomarquage p65 (composant du complexe NF-κB), après culture en présence d'inhibiteur de MYD88 homodimérisés, sur des cellules issues d'une macroglobulinémie de Waldenström.(Treon et al., 2012)

8. Cibler le récepteur TLR : les inhibiteurs du TLR

Les lymphocytes B mutés pour MYD88 L265P restent dépendants de la signalisation via les TLR et sensibles à l'inhibition des TLR9.(Wang et al., 2014) Les molécules ciblant les TLR (TLR 7 à 9, IMO-8400) ont montré leur potentiel thérapeutique anti-tumoral *in vivo* et *in vitro*

sur des modèles murins xénogreffés porteur d'un LBDGC non-GC MYD88 L265P mutés. Un protocole de phase I/II évaluant l'IMO-8400 dans le LBDGC muté MYD88 L265P a été soumis à la FDA mais n'est pas débuté.(Brenner et al., 2014)

9. Cibler la voie JAK-STAT : le ruxolitinib

La voie JAK-STAT peut être activée par MYD88 L265P via une boucle autocrine impliquant IL-6, IL-10 et l'interféron β. L'inhibition de STAT3 sur des modèles de souris porteuses de LBDGC non-GC, en stoppant la croissance tumorale, a permis de valider STAT3 comme une cible thérapeutique. STAT3 n'ayant pas d'activité enzymatique intrinsèque, son inhibition est indirecte en utilisant des molécules inhibant JAK. Le ruxolitinib, inhibiteur sélectif de JAK-1 et JAK-2, est actuellement évalué en phase 2 dans le LBDGC médiastinal (NCT01965119, Kim et al. 2014) après avoir démontré son efficacité *in vitro* et *in vivo.* (Hao et al., 2014)

B. Etude ancillaire

La compréhension des mécanismes biologiques et génétiques des LCBDGC-TJ pourrait donc permettre de classifier, dès le diagnostic plusieurs sous-types différents en fonction du statut mutationnel. La ou les anomalie(s) identifiée(s) pourraient alors faire l'objet d'un traitement ciblé personnalisé, mais serviraient aussi de biomarqueurs prédictifs de réponse au traitement.
Pour déterminer ces facteurs pronostiques dans le LCBDGC-TJ, une étude sera menée au cours de l'année 2017/2018 (INSERM unité 1053) à partir de 40 prélèvements de LCBDGC-TJ issus du service de dermatologie du CHU de Bordeaux (centre membre du GFELC labellisé par l'INCA) traités par R-CHOP et des prélèvements des 19 patients traités par lenalidomide dans le cadre de l'étude REV-LEG.
L'objectif principal sera de comparer les profils moléculaires et protéomiques des patients inclus en fonction de leur réponse au R-CHOP et/ou au traitement par lenalidomide. Le but sera d'identifier les anomalies moléculaires ou voies biologiques prédictives de la réponse à ces deux traitements Une analyse de l'hétérogénéité tumorale entre tumeur primitive et après traitement sera évaluée.

CONCLUSION

L'étude REV-LEG constitue le premier essai thérapeutique dans le LCBDGC-TJ, dont le pronostic est bien inférieur aux autres lymphomes B cutanés.

Par leurs similitudes cytologiques, moléculaires et génétiques, le LCBDGC-TJ est considéré comme l'analogue cutané du LBDGC non-GC et le traitement de première ligne par R-PCT est identique. Cependant, en cas de rechute ou d'échec, les schémas thérapeutiques de deuxième ligne dans le LBDGC, proposant de nouvelles polychimiothérapies, ne peuvent être constamment appliqués dans le LCBDGC-TJ, dont la population est plus âgée, fragile et présentant de nombreuses comorbidités. Le lenalidomide, un immunomodulateur ciblant la voie NF-κB, principale voie de dysfonctionnement dans le LCBDGC-TJ, représente un candidat thérapeutique potentiel. Il n'est pour l'instant pas indiqué dans les LBDGC en rechute mais les résultats des essais thérapeutiques, en monothérapie et notamment en association, sont concluants, surtout parmi le groupe ABC/non GC.

Dans l'étude REV-LEG, le lenalidomide administré en monothérapie dans les LCBDGC-TJ en rechute ou réfractaires après R-PCT, apporte une réponse à 6 mois qui reste modeste, ne justifiant pas son utilisation seul en 2ème ligne, d'autant que des effets secondaires parfois sévères ont été observés. Certains patients ont néanmoins tiré un bénéfice du traitement avec une RC prolongée. Une analyse *post hoc* évaluant les réponses sous traitement, quelle que soit leur durée, montre également des résultats meilleurs et encourageants.

Ainsi, le lenalidomide pourrait trouver sa place à des posologies moindre et/ou en association avec d'autres traitements en première (R2-PCT) ou deuxième ligne thérapeutique (R2) comme il est étudié dans le lymphome ganglionnaire. Le lenalidomide constitue une thérapie ciblée dont les cibles sont de mieux en mieux comprises (IRF4, MYD88, etc). Le but de futures études est d'obtenir une vue aussi large que possible sur le génotype des LCBDGC-TJ et d'identifier des marqueurs pronostics, et de réponse au traitement dans ce lymphome, afin de sélectionner à terme les patients candidats au lenalidomide mais aussi à d'autres thérapies ciblées dans cette pathologie par analogie avec le LBDGC ganglionnaire non-GC.

BIBLIOGRAPHIE

Alizadeh, A.A., Eisen, M.B., Davis, R.E., Ma, C., Lossos, I.S., Rosenwald, A., Boldrick, J.C., Sabet, H., Tran, T., Yu, X., Powell, J.I., Yang, L., Marti, G.E., Moore, T., Hudson, J., Lu, L., Lewis, D.B., Tibshirani, R., Sherlock, G., Chan, W.C., Greiner, T.C., Weisenburger, D.D., Armitage, J.O., Warnke, R., Levy, R., Wilson, W., Grever, M.R., Byrd, J.C., Botstein, D., Brown, P.O., Staudt, L.M., 2000. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature 403, 503–511.

Bessell, E., Humber, C., O'Connor, S., English, J., Perkins, W., Dickinson, P., Patel, A., 2012. Primary cutaneous B-cell lymphoma in Nottinghamshire U.K.: prognosis of subtypes defined in the WHO-EORTC classification. Br. J. Dermatol. 167, 1118–1123.

Bohers, E., Mareschal, S., Bertrand, P., Viailly, P.J., Dubois, S., Maingonnat, C., Ruminy, P., Tilly, H., Jardin, F., 2015. Activating somatic mutations in diffuse large B-cell lymphomas: lessons from next generation sequencing and key elements in the precision medicine era. Leuk. Lymphoma 56, 1213–1222.

Brenner, L., Arbeit, R.D., Sullivan, T., 2014. IMO-8400, an Antagonist of Toll-like Receptors 7, 8, and 9, in Development for Genetically Defined B-Cell Lymphomas: Safety and Activity in Phase 1 and Phase 2 Clinical Trials. Blood 124, 3101.

Chanan-Khan, A.A., Cheson, B.D., 2008. Lenalidomide for the Treatment of B-Cell Malignancies. J. Clin. Oncol. 26, 1544–1552.

Coiffier, B., 2007. Rituximab therapy in malignant lymphoma. Oncogene 26, 3603–3613.

Coiffier, B., Lepage, E., Briere, J., Herbrecht, R., Tilly, H., Bouabdallah, R., Morel, P., Van Den Neste, E., Salles, G., Gaulard, P., Reyes, F., Lederlin, P., Gisselbrecht, C., 2002. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. N. Engl. J. Med. 346, 235–242.

Compagno, M., Lim, W.K., Grunn, A., Nandula, S.V., Brahmachary, M., Shen, Q., Bertoni, F., Ponzoni, M., Scandurra, M., Califano, A., Bhagat, G., Chadburn, A., Dalla-Favera, R., Pasqualucci, L., 2009. Mutations of multiple genes cause deregulation of NF-kB in diffuse large B-cell lymphoma. Nature 459, 717–721.

Czuczman MS, Trněný M, Davies A et al: A Phase 2/3 multicenter, randomized study comparing the efficacy and safety of lenalidomide versus investigator's choice in relapsed/refractory DLBCL. Clin Cancer Res. Apr 5. 2017 [Epub ahead of print]

Davies, F., Baz, R., 2010. Lenalidomide mode of action: linking bench and clinical findings. Blood Rev., Long-term disease control in multiple myeloma: the impact of the dual mechanism of action of lenalidomide 24, Supplement 1, S13–S19.

Davis, R.E., Ngo, V.N., Lenz, G., Tolar, P., Young, R., Romesser, P.B., Kohlhammer, H., Lamy, L., Zhao, H., Yang, Y., Xu, W., Shaffer, A.L., Wright, G., Xiao, W., Powell, J., Jiang, J., Thomas, C.J., Rosenwald, A., Ott, G., Muller-Hermelink, H.K., Gascoyne, R.D., Connors, J.M., Rimsza, L.M., Campo, E., Jaffe, E.S., Delabie, J., Smeland, E.B., Fisher, R.I., Braziel, R.M., Tubbs, R.R., Cook, J.R., Weisenburger, D.D., Chan, W.C., Pierce, S.K., Staudt, L.M., 2010. Chronic Active B Cell Receptor Signaling in Diffuse Large B Cell Lymphoma. Nature 463, 88–92.

Dunleavy, K., Pittaluga, S., Czuczman, M.S., Dave, S.S., Wright, G., Grant, N., Shovlin, M., Jaffe, E.S., Janik, J.E., Staudt, L.M., Wilson, W.H., 2009. Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. Blood 113, 6069–6076.

Erdmann, T., Klener, P., Lynch, J.T., Grau, M., Vočková, P., Molinsky, J., Tuskova, D.,

Hudson, K., Polanska, U.M., Grondine, M., Mayo, M., Dai, B., Pfeifer, M., Erdmann, K., Schwammbach, D., Zapukhlyak, M., Staiger, A.M., Ott, G., Berdel, W.E., Davies, B.R., Cruzalegui, F., Trneny, M., Lenz, P., Barry, S.T., Lenz, G., 2017. Sensitivity to PI3K and AKT inhibitors is mediated by divergent molecular mechanisms in subtypes of DLBCL. Blood blood–2016–12–758599.

Fang, C., Zhu, D., Dong, H., Ji, M., Wu, J., Xu, X., Cheng, G., Wu, C., Jiang, J., 2015. Lenalidomide alone or in combination with chemotherapy treatment for subtypes of diffuse large B cell lymphoma: a systematic review and meta-analysis. Int. J. Clin. Exp. Med. 8, 10705–10713.

Feugier, P., Van Hoof, A., Sebban, C., Solal-Celigny, P., Bouabdallah, R., Fermé, C., Christian, B., Lepage, E., Tilly, H., Morschhauser, F., Gaulard, P., Salles, G., Bosly, A., Gisselbrecht, C., Reyes, F., Coiffier, B., 2005. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. 23, 4117–4126.

Flinn, I.W., Bartlett, N.L., Blum, K.A., Ardeshna, K.M., LaCasce, A.S., Flowers, C.R., Shustov, A.R., Thress, K.S., Mitchell, P., Zheng, F., Skolnik, J.M., Friedberg, J.W., 2016. A phase II trial to evaluate the efficacy of fostamatinib in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). Eur. J. Cancer 54, 11–17.

Fontan, L., Yang, C., Kabaleeswaran, V., Volpon, L., Osborne, M.J., Beltran, E., Garcia, M., Cerchietti, L., Shaknovich, R., Yang, S.N., Fang, F., Gascoyne, R.D., Martinez-Climent, J.A., Glickman, J.F., Borden, K., Wu, H., Melnick, A., 2012. MALT1 Small Molecule Inhibitors Specifically Suppress ABC-DLBCL In Vitro and In Vivo. Cancer Cell 22, 812–824.

Ghobrial, I.M., Roccaro, A., Hong, F., Weller, E., Rubin, N., Leduc, R., Rourke, M., Chuma, S., Sacco, A., Jia, X., Azab, F., Azab, A.K., Rodig, S., Warren, D., Harris, B., Varticovski, L., Sportelli, P., Leleu, X., Anderson, K.C., Richardson, P.G., 2010. Clinical and Translational Studies of a Phase II Trial of the Novel Oral Akt Inhibitor Perifosine in Relapsed or Relapsed/Refractory Waldenstrom's Macroglobulinemia. Clin. Cancer Res. 16, 1033–1041.

Grange F, Maubec E, Bagot M, et al, 2009. TReatment of cutaneous b-cell lymphoma, leg type, with age-adapted combinations of chemotherapies and rituximab. Arch. Dermatol. 145, 329–330.

Grange, F., Antonicelli, F., 2009. Cutaneous Lymphomas: What Can We Learn From Location? Arch. Dermatol. 145.

Grange, F., Bekkenk, M.W., Wechsler, J., Meijer, C.J., Cerroni, L., Bernengo, M., Bosq, J., Hedelin, G., Fink Puches, R., van Vloten, W.A., Joly, P., Bagot, M., Willemze, R., 2001. Prognostic factors in primary cutaneous large B-cell lymphomas: a European multicenter study. J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. 19, 3602–3610.

Grange, F., Beylot-Barry, M., Courville, P., Maubec, E., Bagot, M., Vergier, B., Souteyrand, P., Machet, L., Dalac, S., Esteve, E., Templier, I., Delaporte, E., Avril, M.-F., Robert, C., Dalle, S., Laroche, L., Delaunay, M., Joly, P., Wechsler, J., Petrella, T., 2007. Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type: clinicopathologic features and prognostic analysis in 60 cases. Arch. Dermatol. 143, 1144–1150.

Grange, F., D'Incan, M., Ortonne, N., Dalac, S., Laroche, L., Beylot-Barry, M., Delfau-Larue, M.-H., Vergier, B., Bagot, M., 2010. Prise en charge des lymphomes B cutanés : recommandations du Groupe français d'étude des lymphomes cutanés. Ann. Dermatol. Vénéréologie 137, 523–531.

Grange, F., Joly, P., Barbe, C., Bagot, M., Dalle, S., Ingen-Housz-Oro, S., Maubec, E., D'Incan, M., Ram-Wolff, C., Dalac, S., Templier, I., Esteve, E., Quereux, G., Machet,

L., Leduc, M., Dereure, O., Laroche, L., Saiag, P., Vergier, B., Beylot-Barry, M., 2014a. Improvement of survival in patients with primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type, in France. JAMA Dermatol. 150, 535–541.

Grange, F., Joly, P., Barbe, C., Bagot, M., Dalle, S., Ingen-Housz-Oro, S., Maubec, E., D'Incan, M., Ram-Wolff, C., Dalac, S., Templier, I., Esteve, E., Quereux, G., Machet, L., Leduc, M., Dereure, O., Laroche, L., Saiag, P., Vergier, B., Beylot-Barry, M., 2014b. Improvement of survival in patients with primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type, in France. JAMA Dermatol. 150, 535–541.

Grange, F., Petrella, T., Beylot-Barry, M., Joly, P., D'Incan, M., Delaunay, M., Machet, L., Avril, M.-F., Dalac, S., Bernard, P., Carlotti, A., Esteve, E., Vergier, B., Dechelotte, P., Cassagnau, E., Courville, P., Saiag, P., Laroche, L., Bagot, M., Wechsler, J., 2004. Bcl-2 protein expression is the strongest independent prognostic factor of survival in primary cutaneous large B-cell lymphomas. Blood 103, 3662–3668.

Gribben, J.G., Fowler, N., Morschhauser, F., 2015. Mechanisms of Action of Lenalidomide in B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. J. Clin. Oncol. 33, 2803–2811.

Gupta, E., Accurso, J., Sluzevich, J., Menke, D.M., Tun, H.W., 2015. Excellent Outcome of Immunomodulation or Bruton's Tyrosine Kinase Inhibition in Highly Refractory Primary Cutaneous Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Leg Type. Rare Tumors,29;7(4):6067 2015

Guyot, A., Ortonne, N., Valeyrie-Allanore, L., Bagot, M., 2010. Combined treatment with rituximab and anthracycline-containing chemotherapy for primary cutaneous large B-cell lymphomas, leg type, in elderly patients. Arch. Dermatol. 146, 89–91.

Hallermann, C., Niermann, C., Fischer, R.-J., Schulze, H.-J., 2011. Survival data for 299 patients with primary cutaneous lymphomas: a monocentre study. Acta Derm. Venereol. 91, 521–525.

Hans, C.P., Weisenburger, D.D., Greiner, T.C., Gascoyne, R.D., Delabie, J., Ott, G., Müller-Hermelink, H.K., Campo, E., Braziel, R.M., Jaffe, E.S., Pan, Z., Farinha, P., Smith, L.M., Falini, B., Banham, A.H., Rosenwald, A., Staudt, L.M., Connors, J.M., Armitage, J.O., Chan, W.C., 2004. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. Blood 103, 275–282.

Hao, Y., Chapuy, B., Monti, S., Sun, H.H., Rodig, S.J., Shipp, M.A., 2014. Selective JAK2 Inhibition Specifically Decreases Hodgkin Lymphoma and Mediastinal Large B-cell Lymphoma Growth In Vitro and In Vivo. Clin. Cancer Res. 20, 2674–2683.

Hernandez-Ilizaliturri, F.J., Deeb, G., Zinzani, P.L., Pileri, S.A., Malik, F., Macon, W.R., Goy, A., Witzig, T.E., Czuczman, M.S., 2011. Higher response to lenalidomide in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma in nongerminal center B-cell–like than in germinal center B-cell–like phenotype. Cancer 117, 5058–5066.

Hoefnagel, J.J., Mulder, M.M.S., Dreef, E., Jansen, P.M., Pals, S.T., Meijer, C.J.L.M., Willemze, R., Vermeer, M.H., 2006. Expression of B-cell transcription factors in primary cutaneous B-cell lymphoma. Mod. Pathol. 19, 1270–1276.

Holkova, B., Kmieciak, M., Bose, P., Yazbeck, V.Y., Barr, P.M., Tombes, M.B., Shrader, E., Weir-Wiggins, C., Rollins, A.D., Cebula, E.M., Pierce, E., Herr, M., Sankala, H., Hogan, K.T., Wan, W., Feng, C., Peterson, D.R., Fisher, R.I., Grant, S., Friedberg, J.W., 2016. Phase 1 trial of carfilzomib (PR-171) in combination with vorinostat (SAHA) in patients with relapsed or refractory B-cell lymphomas. Leuk. Lymphoma 57, 635–643.

Ivanov, V., Coso, D., Chetaille, B., Esterni, B., Olive, D., Aurran-Schleinitz, T., Schiano, J.M., Stoppa, A.-M., Broussais-Guillaumot, F., Blaise, D., Bouabdallah, R., 2014. Efficacy and safety of lenalinomide combined with rituximab in patients with

relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. Leuk. Lymphoma 55, 2508–2513.
Jardin, F., 2014. Next generation sequencing and the management of diffuse large B-cell lymphoma: from whole exome analysis to targeted therapy. Discov. Med. 18, 51–65.
Kelly, P.N., Romero, D.L., Yang, Y., Shaffer, A.L., Chaudhary, D., Robinson, S., Miao, W., Rui, L., Westlin, W.F., Kapeller, R., Staudt, L.M., 2015. Selective interleukin-1 receptor–associated kinase 4 inhibitors for the treatment of autoimmune disorders and lymphoid malignancy. J. Exp. Med. 212, 2189–2201.
Kim, S.J., Kang, H.J., Shin, D.-Y., Yoon, D.H., Sakamoto, K., Kong, J.H., Ko, Y.H., Takeuchi, K., Suh, C., Kim, W.S., 2014. Pilot Study of Ruxolitinib in Relapsed or Refractory Hodgkin Lymphoma and Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma. Blood 124, 4443.
Kim, Y.H., Willemze, R., Pimpinelli, N., Whittaker, S., Olsen, E.A., Ranki, A., Dummer, R., Hoppe, R.T., 2007. TNM classification system for primary cutaneous lymphomas other than mycosis fungoides and Sézary 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 110, 479–484.
Klein, U., Casola, S., Cattoretti, G., Shen, Q., Lia, M., Mo, T., Ludwig, T., Rajewsky, K., Dalla-Favera, R., 2006. Transcription factor IRF4 controls plasma cell differentiation and class-switch recombination. Nat. Immunol. 7, 773–782.
Kodama, K., Massone, C., Chott, A., Metze, D., Kerl, H., Cerroni, L., 2005. Primary cutaneous large B-cell lymphomas: clinicopathologic features, classification, and prognostic factors in a large series of patients. Blood 106, 2491–2497.
Koens, L., Zoutman, W.H., Ngarmlertsirichai, P., Przybylski, G.K., Grabarczyk, P., Vermeer, M.H., Willemze, R., Jansen, P.M., Schmidt, C.A., Tensen, C.P., 2014. Nuclear Factor-κB Pathway–Activating Gene Aberrancies in Primary Cutaneous Large B-Cell Lymphoma, Leg Type. J. Invest. Dermatol. 134, 290–292.
Kraan, W., Horlings, H.M., van Keimpema, M., Schilder-Tol, E.J.M., Oud, M.E.C.M., Scheepstra, C., Kluin, P.M., Kersten, M.J., Spaargaren, M., Pals, S.T., 2013. High prevalence of oncogenic MYD88 and CD79B mutations in diffuse large B-cell lymphomas presenting at immune-privileged sites. Blood Cancer J. 3, e139.
Laban, É., Beylot-Barry, M., Ortonne, N., Battistella, M., Carlotti, A., de Muret, A., Wechsler, J., Balme, B., Petrella, T., Lamant, L., Frouin, É., Merlio, J.-P., Vergier, B., 2015. [Cutaneous lymphoproliferations: proposal for the use of diagnostic algorithms based on 2760 cases of cutaneous lymphoproliferations taken from the INCa networks (LYMPHOPATH and GFELC) over a two-year period]. Ann. Pathol. 35, 131–147.
Leonard, J.P., Furman, R.R., Coleman, M., 2006. Proteasome inhibition with bortezomib: A new therapeutic strategy for non-Hodgkin's lymphoma. Int. J. Cancer 119, 971–979.
Loiarro, M., Ruggiero, V., Sette, C., 2013. Targeting the Toll-like Receptor/Interleukin 1 Receptor Pathway in Human Diseases: Rational Design of MyD88 Inhibitors. Clin. Lymphoma Myeloma Leuk. 13, 222–226.
Lopez-Girona, A., Heintel, D., Zhang, L.-H., Mendy, D., Gaidarova, S., Brady, H., Bartlett, J.B., Schafer, P.H., Schreder, M., Bolomsky, A., Hilgarth, B., Zojer, N., Gisslinger, H., Ludwig, H., Daniel, T., Jäger, U., Chopra, R., 2011. Lenalidomide downregulates the cell survival factor, interferon regulatory factor-4, providing a potential mechanistic link for predicting response. Br. J. Haematol. 154, 325–336.
Menguy, S., Gros, A., Pham-Ledard, A., Battistella, M., Ortonne, N., Comoz, F., Balme, B., Szablewski, V., Lamant, L., Carlotti, A., Lorton, M.-H., de Muret, A., Le Gall, F., Franck, F., Croue, A., Cappellen, D., Beylot-Barry, M., Merlio, J.-P., Vergier, B., 2016. MYD88 Somatic Mutation Is a Diagnostic Criterion in Primary Cutaneous

Large B-Cell Lymphoma. J. Invest. Dermatol. 136, 1741–1744.
Mondello, P., Steiner, N., Willenbacher, W., Ferrero, S., Ghione, P., Marabese, A., Pitini, V., Cuzzocrea, S., Mian, M., 2016. Lenalidomide in Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Is It a Valid Treatment Option? The Oncologist 21, 1107–1112.
Ngo, V.N., Young, R.M., Schmitz, R., Jhavar, S., Xiao, W., Lim, K.-H., Kohlhammer, H., Xu, W., Yang, Y., Zhao, H., Shaffer, A.L., Romesser, P., Wright, G., Powell, J., Rosenwald, A., Muller-Hermelink, H.K., Ott, G., Gascoyne, R.D., Connors, J.M., Rimsza, L.M., Campo, E., Jaffe, E.S., Delabie, J., Smeland, E.B., Fisher, R.I., Braziel, R.M., Tubbs, R.R., Cook, J.R., Weisenburger, D.D., Chan, W.C., Staudt, L.M., 2011. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. Nature 470, 115–119.
Nowakowski, G.S., Chiappella, A., Witzig, T.E., Spina, M., Gascoyne, R.D., Zhang, L., Flament, J., Repici, J., Vitolo, U., 2016. ROBUST: Lenalidomide-R-CHOP versus placebo-R-CHOP in previously untreated ABC-type diffuse large B-cell lymphoma. Future Oncol. 12, 1553–1563.
Nowakowski, G.S., LaPlant, B., Macon, W.R., Reeder, C.B., Foran, J.M., Nelson, G.D., Thompson, C.A., Rivera, C.E., Inwards, D.J., Micallef, I.N., Johnston, P.B., Porrata, L.F., Ansell, S.M., Gascoyne, R.D., Habermann, T.M., Witzig, T.E., 2015. Lenalidomide Combined With R-CHOP Overcomes Negative Prognostic Impact of Non–Germinal Center B-Cell Phenotype in Newly Diagnosed Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Phase II Study. J. Clin. Oncol. 33, 251–257.
Pasqualucci, L., Trifonov, V., Fabbri, G., Ma, J., Rossi, D., Chiarenza, A., Wells, V.A., Grunn, A., Messina, M., Elliot, O., Chan, J., Bhagat, G., Chadburn, A., Gaidano, G., Mullighan, C.G., Rabadan, R., Dalla-Favera, R., 2011. Analysis of the Coding Genome of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Nat. Genet. 43, 830–837.
Paul, J., Soujon, M., Wengner, A.M., Zitzmann-Kolbe, S., Sturz, A., Haike, K., Keng Magdalene, K.H., Tan, S.H., Lange, M., Tan, S.Y., Mumberg, D., Lim, S.T., Ziegelbauer, K., Liu, N., 2017. Simultaneous Inhibition of PI3Kδ and PI3Kα Induces ABC-DLBCL Regression by Blocking BCR-Dependent and -Independent Activation of NF-κB and AKT. Cancer Cell 31, 64–78.
Peyrade, F., Jardin, F., Thieblemont, C., Thyss, A., Emile, J.-F., Castaigne, S., Coiffier, B., Haioun, C., Bologna, S., Fitoussi, O., Lepeu, G., Fruchart, C., Bordessoule, D., Blanc, M., Delarue, R., Janvier, M., Salles, B., André, M., Fournier, M., Gaulard, P., Tilly, H., Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA) investigators, 2011. Attenuated immunochemotherapy regimen (R-miniCHOP) in elderly patients older than 80 years with diffuse large B-cell lymphoma: a multicentre, single-arm, phase 2 trial. Lancet Oncol. 12, 460–468.
Pham-Ledard A, Beylot-Barry M, Barbe C, et al, 2014. HIgh frequency and clinical prognostic value of myd88 l265p mutation in primary cutaneous diffuse large b-cell lymphoma, leg-type. JAMA Dermatol. 150, 1173–1179.
Pham-Ledard, A., Cappellen, D., Martinez, F., Vergier, B., Beylot-Barry, M., Merlio, J.-P., 2012. MYD88 Somatic Mutation Is a Genetic Feature of Primary Cutaneous Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Leg Type. J. Invest. Dermatol. 132, 2118–2120.
Pham-Ledard, A., Cowppli-Bony, A., Doussau, A., Prochazkova-Carlotti, M., Laharanne, E., Jouary, T., Belaud-Rotureau, M.-A., Vergier, B., Merlio, J.-P., Beylot-Barry, M., 2015. Diagnostic and Prognostic Value of BCL2 Rearrangement in 53 Patients With Follicular Lymphoma Presenting as Primary Skin Lesions. Am. J. Clin. Pathol. 143, 362–373.
Pham-Ledard, A., Prochazkova-Carlotti, M., Andrique, L., Cappellen, D., Vergier, B., Martinez, F., Grange, F., Petrella, T., Beylot-Barry, M., Merlio, J.-P., 2014. Multiple genetic alterations in primary cutaneous large B-cell lymphoma, leg type support a

common lymphomagenesis with activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma. Mod. Pathol, 402–411.

Pham-Ledard, A., Prochazkova-Carlotti, M., Vergier, B., Petrella, T., Grange, F., Beylot-Barry, M., Merlio, J.-P., 2010. IRF4 expression without IRF4 rearrangement is a general feature of primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type. J. Invest. Dermatol. 130, 1470–1472.

Roschewski, M., Staudt, L.M., Wilson, W.H., 2013. Diffuse large B-cell lymphoma—treatment approaches in the molecular era. Nat. Rev. Clin. Oncol. 11, 12–23.

Rovira, J., Karube, K., Valera, A., Colomer, D., Enjuanes, A., Colomo, L., Martínez-Trillos, A., Giné, E., Dlouhy, I., Magnano, L., Delgado, J., Martínez, A., Villamor, N., Campo, E., López-Guillermo, A., 2016. MYD88 L265P Mutations, But No Other Variants, Identify a Subpopulation of DLBCL Patients of Activated B-cell Origin, Extranodal Involvement, and Poor Outcome. Am. Assoc. Cancer Res. 22, 2755–2764.

Savini, P., Lanzi, A., Foschi, F.G., Marano, G., Stefanini, G.F., 2014. Lenalidomide monotherapy in relapsed primary cutaneous diffuse large B cell lymphoma-leg type. Ann. Hematol. 93, 333–334.

Senff, N.J., Hoefnagel, J.J., Jansen, P.M., Vermeer, M.H., Baarlen, J. van, Blokx, W.A., Dijk, M.R.C., Geerts, M.-L., Hebeda, K.M., Kluin, P.M., Lam, K.H., Meijer, C.J.L.M., Willemze, R., 2007. Reclassification of 300 Primary Cutaneous B-Cell Lymphomas According to the New WHO–EORTC Classification for Cutaneous Lymphomas: Comparison With Previous Classifications and Identification of Prognostic Markers. J. Clin. Oncol. 25, 1581–1587.

Senff, N.J., Noordijk, E.M., Kim, Y.H., Bagot, M., Berti, E., Cerroni, L., Dummer, R., Duvic, M., Hoppe, R.T., Pimpinelli, N., Rosen, S.T., Vermeer, M.H., Whittaker, S., Willemze, R., 2008. European Organization for Research and Treatment of Cancer and International Society for Cutaneous Lymphoma consensus recommendations for the management of cutaneous B-cell lymphomas. Blood 112, 1600–1609.

Senff, N.J., Willemze, R., 2007. The applicability and prognostic value of the new TNM classification system for primary cutaneous lymphomas other than mycosis fungoides and Sézary syndrome: results on a large cohort of primary cutaneous B-cell lymphomas and comparison with the system used by the Dutch Cutaneous Lymphoma Group. Br. J. Dermatol. 157, 1205–1211.

Senff, N.J., Zoutman, W.H., Vermeer, M.H., Assaf, C., Berti, E., Cerroni, L., Espinet, B., de Misa Cabrera, R.F., Geerts, M.-L., Kempf, W., Mitchell, T.J., Paulli, M., Petrella, T., Pimpinelli, N., Santucci, M., Whittaker, S.J., Willemze, R., Tensen, C.P., 2009. Fine-mapping chromosomal loss at 9p21: correlation with prognosis in primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type. J. Invest. Dermatol. 129, 1149–1155.

Smith, S.M., van Besien, K., Karrison, T., Dancey, J., McLaughlin, P., Younes, A., Smith, S., Stiff, P., Lester, E., Modi, S., Doyle, L.A., Vokes, E.E., Pro, B., 2010. Temsirolimus Has Activity in Non–Mantle Cell Non-Hodgkin's Lymphoma Subtypes: The University of Chicago Phase II Consortium. J. Clin. Oncol. 28, 4740–4746.

Sundram, U., Kim, Y., Mraz-Gernhard, S., Hoppe, R., Natkunam, Y., Kohler, S., 2005. Expression of the bcl-6 and MUM1/IRF4 proteins correlate with overall and disease-specific survival in patients with primary cutaneous large B-cell lymphoma: a tissue microarray study. J. Cutan. Pathol. 32, 227–234.

Swaika, A., Menke, D.M., Jain, M.K., Sher, T., 2014. Remission induction with lenalidomide in a patient with relapsed diffuse large B cell lymphoma of the leg type. Ann. Hematol. 94, 895–896.

Swerdlow, S.H., Campo, E., Pileri, S.A., Harris, N.L., Stein, H., Siebert, R., Advani, R., Ghielmini, M., Salles, G.A., Zelenetz, A.D., Jaffe, E.S., 2016. The 2016 revision of

the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. Blood 127, 2375–2390.
Swerdlow SH, Campo E, Lee Harris N, 2008. WHO classification of tumours of haematopoietic and ymphoid tissues.
Tan, S.-B., Machin, D., Tai, B.-C., Foo, K.-F., Tan, E.-H., 2002. A Bayesian re-assessment of two Phase II trials of gemcitabine in metastatic nasopharyngeal cancer. Br. J. Cancer 86, 843–850.
Tilly, H., Gomes da Silva, M., Vitolo, U., Jack, A., Meignan, M., Lopez-Guillermo, A., Walewski, J., André, M., Johnson, P.W., Pfreundschuh, M., Ladetto, M., 2015. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann. Oncol. 26, v116–v125.
Treon, S.P., Xu, L., Yang, G., Zhou, Y., Liu, X., Cao, Y., Sheehy, P., Manning, R.J., Patterson, C.J., Tripsas, C., Arcaini, L., Pinkus, G.S., Rodig, S.J., Sohani, A.R., Harris, N.L., Laramie, J.M., Skifter, D.A., Lincoln, S.E., Hunter, Z.R., 2012. MYD88 L265P Somatic Mutation in Waldenström's Macroglobulinemia. N. Engl. J. Med. 367, 826–833.
Verhelle, D., Corral, L.G., Wong, K., Mueller, J.H., Parseval, L.M., Jensen-Pergakes, K., Schafer, P.H., Chen, R., Glezer, E., Ferguson, G.D., Lopez-Girona, A., Muller, G.W., Brady, H.A., Chan, K.W.H., 2007. Lenalidomide and CC-4047 Inhibit the Proliferation of Malignant B Cells while Expanding Normal CD34+ Progenitor Cells. Cancer Res. 67, 746–755.
Vermeer, M.H., Geelen, F.A., van Haselen, C.W., van Voorst Vader, P.C., Geerts, M.L., van Vloten, W.A., Willemze, R., 1996a. Primary cutaneous large B-cell lymphomas of the legs. A distinct type of cutaneous B-cell lymphoma with an intermediate prognosis. Dutch Cutaneous Lymphoma Working Group. Arch. Dermatol. 132, 1304–1308.
Vitolo, U., Chiappella, A., Franceschetti, S., Carella, A.M., Baldi, I., Inghirami, G., Spina, M., Pavone, V., Ladetto, M., Liberati, A.M., Molinari, A.L., Zinzani, P., Salvi, F., Fattori, P.P., Zaccaria, A., Dreyling, M., Botto, B., Castellino, A., Congiu, A., Gaudiano, M., Zanni, M., Ciccone, G., Gaidano, G., Rossi, G., 2014. Lenalidomide plus R-CHOP21 in elderly patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: results of the REAL07 open-label, multicentre, phase 2 trial. Lancet Oncol. 15, 730–737.
Wang, J.Q., Jeelall, Y.S., Beutler, B., Horikawa, K., Goodnow, C.C., 2014. Consequences of the recurrent MYD88 L265P somatic mutation for B cell tolerance. J. Exp. Med. 211, 413–426.
Wang, M., Fowler, N., Wagner-Bartak, N., Feng, L., Romaguera, J., Neelapu, S.S., Hagemeister, F., Fanale, M., Oki, Y., Pro, B., Shah, J., Thomas, S., Younes, A., Hosing, C., Zhang, L., Newberry, K.J., Desai, M., Cheng, N., Badillo, M., Bejarano, M., Chen, Y., Young, K.H., Champlin, R., Kwak, L., Fayad, L., 2013. Oral lenalidomide with rituximab in relapsed or refractory diffuse large cell, follicular and transformed lymphoma: a phase II clinical trial. Leukemia 27, 1902–1909.
Wang, T., Jia, L., Liao, W., Chen, L., Chen, X., Xiong, Y., Hao, F., Zhu, X., Yang, X., Wang, L., 2015. [Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type: a study of clinicopathology, immunophenotype and gene rearrangement]. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi 44, 100–105.
Wiernik, P.H., Lossos, I.S., Tuscano, J.M., Justice, G., Vose, J.M., Cole, C.E., Lam, W., McBride, K., Wride, K., Pietronigro, D., Takeshita, K., Ervin-Haynes, A., Zeldis, J.B., Habermann, T.M., 2008. Lenalidomide monotherapy in relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. 26, 4952–4957.

Willemze, R., Jaffe, E.S., Burg, G., Cerroni, L., Berti, E., Swerdlow, S.H., Ralfkiaer, E., Chimenti, S., Diaz-Perez, J.L., Duncan, L.M., Grange, F., Harris, N.L., Kempf, W., Kerl, H., Kurrer, M., Knobler, R., Pimpinelli, N., Sander, C., Santucci, M., Sterry, W., Vermeer, M.H., Wechsler, J., Whittaker, S., Meijer, C.J.L.M., 2005. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. Blood 105, 3768–3785.

Willemze, R., Kerl, H., Sterry, W., Berti, E., Cerroni, L., Chimenti, S., Diaz-Peréz, J.L., Geerts, M.L., Goos, M., Knobler, R., Ralfkiaer, E., Santucci, M., Smith, N., Wechsler, J., van Vloten, W.A., Meijer, C.J., 1997. 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 90, 354–371.

Wilson, W.H., Young, R.M., Schmitz, R., Yang, Y., Pittaluga, S., Wright, G., Lih, C.-J., Williams, P.M., Shaffer, A.L., Gerecitano, J., de Vos, S., Goy, A., Kenkre, V.P., Barr, P.M., Blum, K.A., Shustov, A., Advani, R., Fowler, N.H., Vose, J.M., Elstrom, R.L., Habermann, T.M., Barrientos, J.C., McGreivy, J., Fardis, M., Chang, B.Y., Clow, F., Munneke, B., Moussa, D., Beaupre, D.M., Staudt, L.M., 2015. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. Nat. Med. 21, 922–926.

Witzig, T.E., Vose, J.M., Zinzani, P.L., Reeder, C.B., Buckstein, R., Polikoff, J.A., Bouabdallah, R., Haioun, C., Tilly, H., Guo, P., Pietronigro, D., Ervin-Haynes, A.L., Czuczman, M.S., 2011. An international phase II trial of single-agent lenalidomide for relapsed or refractory aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphoma. Ann. Oncol. 22, 1622–1627.

Yang, Y., Shaffer, A.L., Emre, N.C.T., Ceribelli, M., Zhang, M., Wright, G., Xiao, W., Powell, J., Platig, J., Kohlhammer, H., Young, R.M., Zhao, H., Yang, Y., Xu, W., Buggy, J.J., Balasubramanian, S., Mathews, L.A., Shinn, P., Guha, R., Ferrer, M., Thomas, C., Waldmann, T.A., Staudt, L.M., 2012. Exploiting Synthetic Lethality for the Therapy of ABC Diffuse Large B Cell Lymphoma. Cancer Cell 21, 723–737.

Zhang, L.-H., Kosek, J., Wang, M., Heise, C., Schafer, P.H., Chopra, R., 2013. Lenalidomide efficacy in activated B-cell-like subtype diffuse large B-cell lymphoma is dependent upon IRF4 and cereblon expression. Br. J. Haematol. 160, 487–502.

Zinzani, P.L., Pellegrini, C., Gandolfi, L., Stefoni, V., Quirini, F., Derenzini, E., Broccoli, A., Argnani, L., Pileri, S., Baccarani, M., 2011. Combination of Lenalidomide and Rituximab in Elderly Patients With Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Phase 2 Trial. Clin. Lymphoma Myeloma Leuk. 11, 462–466.

Zinzani, P.L., Quaglino, P., Pimpinelli, N., Berti, E., Baliva, G., Rupoli, S., Martelli, M., Alaibac, M., Borroni, G., Chimenti, S., Alterini, R., Alinari, L., Fierro, M.T., Cappello, N., Pileri, A., Soligo, D., Paulli, M., Pileri, S., Santucci, M., Bernengo, M.G., 2006. Prognostic Factors in Primary Cutaneous B-Cell Lymphoma: The Italian Study Group for Cutaneous Lymphomas. J. Clin. Oncol. 24, 1376–1382.

Zinzani, P.L., Rigacci, L., Cox, M.C., Devizzi, L., Fabbri, A., Zaccaria, A., Zaja, F., Di Rocco, A., Rossi, G., Storti, S., Fattori, P.P., Argnani, L., Tura, S., Vitolo, U., 2015. Lenalidomide monotherapy in heavily pretreated patients with non-Hodgkin lymphoma: an Italian observational multicenter retrospective study in daily clinical practice. Leuk. Lymphoma 56, 1671–1676.

Zinzani, P.L., Rigacci, L., Cox, M.C., Devizzi, L., Fabbri, A., Zaja, F., Di Rocco, A., Rossi, G., Storti, S., Fattori, P.P., Argnani, L., Vitolo, U., 2017. The efficacy of lenalidomide combination therapy in heavily pretreated non-Hodgkin lymphoma patients: an Italian observational, multicenter, retrospective study. Leuk. Lymphoma 58, 226–229.

ANNEXES

Annexe 1 : Protocole de l'étude REV-LEG : résumé de la recherche

1. RESUME DE LA RECHERCHE

PROMOTEUR	CHU de Bordeaux 12 rue Dubernat 33 400 Talence
INVESTIGATEUR COORDONNATEUR/ PRINCIPAL	Pr Marie BEYLOT-BARRY
TITRE	REV-LEG Essai multicentrique de phase II évaluant le bénéfice thérapeutique du lénalidomide (Revlimid®) dans les lymphomes cutanés primitifs B diffus à grandes cellules "type-jambe" en rechute ou réfractaires à un traitement initial associant Rituximab et polychimiothérapie Pour le Groupe Français d'Etude des Lymphomes Cutanés (GFELC)
JUSTIFICATION / CONTEXTE	Les lymphomes cutanés B diffus à grandes cellules type-jambe (LCBDGC-LT) sont individualisés dans la classification WH0 2008. Ils représentent 5% des lymphomes cutanés primitifs et se distinguent des autres lymphomes cutanés B par leur pronostic défavorable (survie à 3 ans 50%). Ils surviennent généralement chez des sujets âgés (moyenne d'âge 70 ans) et se caractérisent par une ou plusieurs tumeurs atteignant préférentiellement les membres inférieurs. Ils correspondent à un infiltrat massif de grandes cellules rondes B, exprimant intensément le BCL2, IRF4/Mum1 ou FoxP1 sans réarrangement sous-jacent. L'inactivation du gène p16INK4a/CDKN2A est fréquente et associée à une réduction de la survie. Il n'existe pas d'étude randomisée comparant les résultats de la chimiothérapie seule et ceux de l'association chimiothérapie-Rituximab (R). Cependant, la combinaison R-chimiothérapie (CHOP/COP) permet dans les séries rétrospectives d'obtenir une rémission complète chez 80% des patients et est le choix de première ligne de ces lymphomes. Cependant, malgré ce taux élevé de réponse, des récidives cutanées mais aussi extra-cutanées surviennent dans les 2 ans chez 50% des patients. Il n'existe alors aucun consensus pour la prise en charge: l'âge des patients limite le recours à des chimiothérapies plus agressives et la radiothérapie n'a qu'un effet transitoire palliatif, de nouvelles récidives pouvant survenir dans les aires irradiées. En cas de rechute après R-chimiothérapie, de nouvelles options thérapeutiques adaptées à l'histoire évolutive de ces lymphomes et à l'âge des patients, sont donc souhaitables. Le lénalidomide est un analogue du thalidomide, utilisé dans le myélome et en développement dans les lymphomes. Il constitue un candidat potentiel par sa toxicité acceptable y compris chez des sujets âgés et surtout par les données récentes dans des lymphomes systémiques B diffus à grandes cellules réfractaires ou récidivants, en particulier ceux de type ABC (activated B-cell phenotype) non-GC (non germinal center). L'action du lénalidomide s'explique par ses effets antitumoraux pro-apoptotiques, mais aussi par son action antiangiogénique et immunomodulatrice, notamment sur les populations natural-Killer.
OBJECTIFS	Evaluer l'efficacité et la tolérance du lénalidomide dans les LCBDGC-LT récidivants ou réfractaires après R-chimiothérapie. L'objectif principal est d'évaluer l'efficacité à 6 mois; les objectifs secondaires sont d'évaluer l'efficacité, la tolérance la qualité de vie jusqu'à 1 an et de décrire les facteurs pronostiques cliniques et biologiques.
SCHEMA DE LA RECHERCHE	Essai multicentrique (GFELC) de phase 2 en un groupe, en deux étapes.

CRITERES D'INCLUSION	• Lymphome cutané primitif B diffus à grandes cellules « type-jambe » • Atteinte cutanée (T1-T3) cliniquement mesurable ou cutanéo-ganglionnaire (N1-N3) mesurable par TEP-scan correspondant à -une rechute après réponse complète initiale après R-polychimiothérapie Ou -Réponse partielle ou stabilité après R-polychimiothérapie • Age > 18 ans • OMS = 0-2 • Espérance de vie > 3 mois • Biopsie cutanée réalisée à l'inclusion (fixation formol et matériel congelé) sur une tumeur cutanée signant la rechute ou une lésion réfractaire au traitement antérieur • Signature consentement éclairé pour l'étude clinique et les analyses biologiques • Femme ménopausée (absence de règle depuis plus de 24 mois) ou hystérectomie ou ovariectomie • Fiche d'information sur lénalidomide destinée au patient (annexe 6) devra être donnée au patient qui doit lire ce document avant de débuter le traitement à l'étude lénalidomide et à chaque fois qu'il reçoit un renouvellement de traitement à l'étude lénalidomide. • Le document « Lenalidomide Education and Counseling Guidance Document » (annexe 5) doit être complété et signé par le médecin investigateur participant à l'essai Clinique avant chaque dispensation du traitement à l'étude lenalidomide. Une copie doit être conservée dans le dossier du patient. • Affiliation à un régime de Sécurité Sociale
CRITERES DE NON INCLUSION	• Atteinte neuroméningée ou cérébrale lymphomateuse (un scanner cérébral fait partie des examens réalisées lors de la visite de pré-inclusion) • Une ou plusieurs des anomalies biologiques suivantes : o Polynucléaires neutrophiles < 1500/mm3 o Plaquettes < 60 000/mm3 o Transaminases > 5 x/ normale o Bilirubine totale sérique > 2.0mg/dL (34 μmol/L) / bilirubine conjuguée > 0.8 mg/dL, sauf en cas d'anémie hémolytique o Clairance de la créatinine selon la formule de Cockroft-Gault < 50 ml/mm • Femmes enceintes ou allaitantes et femmes en état de procréer • Patient ne doivent pas recevoir de corticoïdes en continu à l'exception de la prednisone (ou équivalent) pour le traitement de la poussée tumorale. • Patients refusant de suivre un traitement prophylactique thombo-embolique. • Autre cancer dans les cinq années précédentes (à l'exception d'un carcinome cervical in situ du col ou du sein et de carcinomes cutanés basocellulaires ou spinocellulaires traités chirurgicalement). • Incapacité à signer un consentement éclairé • Infection par les virus de l'hépatite B, de l'hépatite C et du virus de l'immunodéficience humaine. • Maladies thromboembolique ou infectieuse non contrôlées • Pathologie non contrôlée telle qu'une infection active nécessitant une antibiothérapie générale, un diabète non contrôlé, une insuffisance cardiaque de classe III ou IV (New York Heart Association Classification for Heart Disease) • Arythmie cardiaque symptomatique ou nécessitant un traitement, ou tachycardie ventriculaire permanente. • Angor instable, angioplastie, stent, infarctus du myocarde dans les 6 mois précédant la visite de pré-inclusion • Antécédent de réaction cutanée allergique au Thalidomide ≥Grade 3. • Traitement anticancéreux ou radiothérapie dans les 3 semaines précédant le début du traitement par lénalidomide. • Participation à un autre essai clinique.

TRAITEMENTS/STRATEGIES /PROCEDURES DE LA RECHERCHE	Lénalidomide 25 mg/ jours 21 jours – Reprise à J28. Traitement poursuivi jusqu'à 12 mois sauf progression.
CRITERES DE JUGEMENT	**Critère de jugement principal** : Taux de réponse globale (réponse complète ou partielle) à 6 mois. La réponse est évaluée sur des critères cliniques et isotopiques. **Critères de jugement secondaires :** Taux de réponse globale à 12 mois, la durée de réponse, la survie sans progression, la survie globale et la survie spécifique ainsi que la tolérance et la qualité de vie sous traitement.
TAILLE D'ETUDE	37 patients au total (17 patients à la première étape)
NOMBRE PREVU DE CENTRES	24 services de Dermatologie dont le ou les cliniciens dermatologues font partie du GFELC (Groupe Français d'Etude des Lymphomes Cutanés) Collaboration locale avec les services d'Hématologie selon les centres.
DUREE DE LA RECHERCHE	**Durée des inclusions** : 2 ans **Suivi :** 1 an après la dernière inclusion **Suivi après traitement** : pour les patients ayant achevé leur traitement, un suivi « allégé » sera réalisé tous les 6 mois et ce jusqu'à la dernière visite du dernier patient (soit 1 an maximum après la fin de la période de recrutement). L'évolution post traitement (patient vivant en RC-RP ou en progression, patient décédé, patient perdu de vue) et l'évaluation de la tolérance clinique seront alors déterminées. **Durée totale de l'étude et durée maximale de suivi :** 3 ans **Surveillance additionnelle** : sur la base des recommandations de l'Afsspas pour une autre recherche biomédicale impliquant le lénalidomide, un recueil des événements de seconds cancers éventuels sera réalisé par contact téléphonique auprès des centres investigateurs tous les 6 mois pendant 3 ans après la dernière prise de lénalidomide pour chaque patient.
ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES	La taille de l'étude est de 37 patients. Elle est calculée d'après l'hypothèse selon laquelle un taux de réponse minimal de 20% justifierait le développement du traitement et le taux de réponse attendu est de 40%. L'étude est réalisée en 2 étapes afin de permettre son arrêt en cas d'efficacité insuffisante. 17 patients seront inclus dans une première étape et l'essai ne sera poursuivi que si au moins 4 réponses sont obtenues. Si à la fin de l'étude (nombre final de patients inclus = 37) une réponse est obtenue chez plus de 11 patients, le traitement sera considéré comme efficace. Une étude descriptive (taux de réponse, délai de progression) et une analyse multivariée de facteurs pronostiques cliniques et biologiques sera réalisée.
RETOMBEES ATTENDUES	Si cette étude confirme l'efficacité du lénalidomide dans les LCBDGC-LT en rechute, cela plaidera pour l'évaluer en traitement d'entretien après R-chimiothérapie afin d'éviter les récidives par une étude randomisée à plus grande échelle.
ETUDE ANCILLAIRE	Une collection biologique (tumeurs cutanées et sang) sera constituée. Outre l'analyse phénotypique, une identification des déséquilibres génétiques dans les LCBDGC-LT en rechute sera effectuée afin de déterminer si des anomalies génétiques sont associées à la réponse ou à la non-réponse au lénalidomide. La découverte de l'inactivation ou de la délétion de *BLIMP1* en 6q21 dans les lymphomes systémiques B diffus à grandes cellules de phénotype ABC souligne la nécessité d'une analyse génétique globale par CGH-array et d'analyses spécifiques de gènes comme CDKN2A, BCL2, BCL6 et BLIMP1, notamment par FISH. Une modélisation par xénogreffe des formes résistantes à la thérapeutique permettra des études génétiques et fonctionnelles sur des lignées dérivées de ces modèles expérimentaux. Le lénalinomide stimule l'immunité natural killer (NK) et augmente les réponses anti-tumorales. Le lénalinomide semble également modifier le phénotype des cellules NK en diminuant l'expression des Killer cell Immunoglobulin-like Receptors (KIRs) et de NKp46. L'effet immunodulateur du traitement sera

	également étudié en particulier par l'analyse de l'expression des récepteurs NK sur les cellules sanguines. Afin de rechercher des modifications phénotypiques et fonctionnelles induites par le traitement et d'éventuelles corrélations entre les modifications phénotypiques et fonctionnelles et la réponse clinique.

Annexe 3: Performance status de l'O.M.S.

0	personne normale – activité physique intacte – efforts possibles sans limitation
1	réduction des efforts – autonomie complète
2	personne encore autonome – se fatigue facilement – nécessité de se reposer plus de 6 heures / jour
3	personne dépendante – levé possible – ne fait pas sa toilette seul
4	dépendance totale – état quasi grabataire
5	Décès

Annexe 4: Evaluation de la réponse

Le critère de jugement principal est la réponse à 6 mois. Celle-ci est évaluée selon les critères suivants, adaptés d'après Cheson 2007, et essai EORTC 21081

- **Réponse complète (RC) :**

Disparition clinique complète de toutes les lésions lymphomateuses présentes initialement, absence de nouvelle lésion de lymphome, absence d'adénopathie suspecte, absence de signe ou symptôme clinique évoquant une extension extracutanée du lymphome. Absence de fixation au TEP. La présence de lésions cutanées résiduelles de diamètre < 5 mm, cliniquement de nature incertaine, et histologiquement non spécifiques est compatible avec la RC. En cas de lésion cutanée nouvelle de nature incertaine, une biopsie cutanée négative sera requise pour affirmer la RC.

- **Réponse partielle (RP) :**

Diminution de plus de 50% de la somme des plus grands diamètres des lésions cibles cliniquement mesurées et des lésions cibles restant positives au TEP. Absence de nouvelle lésion.

- **Stabilité (S) :**

Diminution de moins de 50% et augmentation de moins de 25% de la somme des plus grands diamètres des lésions cibles mesurées cliniquement. Persistance d'une positivité du TEP aux sites initialement atteints sans nouvelle lésion.

- **Progression (P) :**

Augmentation de plus de 25% de la somme des plus grands diamètres des lésions cibles et/ou apparition de nouvelle lésion clinique ou au TEP.

EVALUATION GENERALE (CLINIQUE + ISOTOPIQUE) DE LA REPONSE :

Réponse générale	Réponse clinique	Réponse isotopique
Réponse complète	Réponse clinique complète	Réponse complète
Réponse partielle	Réponse clinique complète	Réponse partielle ou stable
	Réponse clinique partielle	Absence de progression (RC, RP, S)
Stabilité	Stabilité	Absence de progression (RC, RP, S)
Progression	Progression	RC, RP, S, P
	RC, RP, S, P	Progression

Annexe 5: Lenalidomide pregnancy prevention risk management plan

Document destiné aux investigateurs seulement.

Lenalidomide Pregnancy Prevention Risk Management Plan

This appendix applies to all patients receiving lenalidomide therapy. The following Pregnancy Risk Minimisation Plan documents are:

1) Lenalidomide Risks of Fetal Exposure, Pregnancy Testing Guidelines and Acceptable Birth Control Methods (Section xx in the protocol);
2) Lenalidomide Education and Counseling Guidance Document (Section xx in the protocol);
3) Lenalidomide Information Sheet (Section xx in the protocol).

1. The Lenalidomide Risks of Fetal Exposure, Pregnancy Testing Guidelines and Acceptable Birth Control Methods document provides the following information:
   - Potential risks to the fetus associated with lenalidomide exposure
   - Definition of Female of Childbearing Potential
   - Pregnancy testing requirements for patients receiving Lenalidomide who are females of childbearing potential
   - Acceptable birth control methods for both female of childbearing potential and male patients receiving Lenalidomide in the study
   - Requirements for counseling of all study patients receiving Lenalidomide about pregnancy precautions and the potential risks of fetal exposure to lenalidomide

2. The Lenalidomide Education and Counseling Guidance Document must be completed and signed by either a trained counselor or the Investigator at the participating clinical center prior to each dispensing of lénalidomide study treatment. A copy of this document must be maintained in the patient records.

3. The Lenalidomide Information Sheet will be given to each patient receiving lenalidomide study therapy. The patient must read this document prior to starting lenalidomide study treatment and each time they receive a new supply of study drug.

Lenalidomide Risks of Fetal Exposure, Pregnancy Testing Guidelines and Acceptable Birth Control Methods

Risks Associated with Pregnancy

Lénalidomide is structurally related to thalidomide. Thalidomide is a known human teratogenic active substance that causes severe life-threatening birth defects. An embryofetal development study in animals indicates that lénalidomide produced malformations in the offspring of female monkeys who received the drug during pregnancy. The teratogenic effect of lénalidomide in humans cannot be ruled out. Therefore, a risk minimization plan to prevent pregnancy must be observed.

Females of childbearing potential (FCBP) are excluded for this protocol.

Traces of lenalidomide have been found in semen. Male patients taking lenalidomide must meet the following conditions (i.e., all males must be counseled concerning the following risks and requirements prior to the start of lenalidomide study therapy):

- Understand the potential teratogenic risk if engaged in sexual activity with a pregnant female or a female of childbearing potential
- Understand the need for the use of a condom even if he has had a vasectomy, if engaged in sexual activity with a pregnant female or a female of childbearing potential.

Contraception

Females of childbearing potential (FCBP) are excluded for this protocol

Because of the increased risk of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma taking lenalidomide and dexamethasone, combined oral contraceptive pills are not recommended. If a patient is currently using combined oral contraception the patient should switch to one of the effective method listed above. The risk of venous thromboembolism continues for 4 to 6 weeks after discontinuing combined oral contraception. The efficacy of contraceptive steroids may be reduced during co-treatment with dexamethasone.[high lighted text applicable for protocols with dexamethasone-containing lenalidomide regimens]

Implants and levonorgestrel-releasing intrauterine systems are associated with an increased risk of infection at the time of insertion and irregular vaginal bleeding. Prophylactic antibiotics should be considered particularly in patients with neutropenia.

Pregnancy testing

Females of childbearing potential (FCBP) are excluded for this protocol

Male Patients:

Must practice complete abstinence or agree to use a condom during sexual contact with a pregnant female or a female of childbearing potential while participating in the study, during dose interruptions and for at least 28 days following study drug discontinuation, even if he has undergone a successful vasectomy.

During study participation and for 28 days following study drug discontinuation

- If pregnancy or a positive pregnancy test does occur in the partner of a male study patient during study participation, the investigator must be notified immediately.

Additional precautions

- Patients should be instructed never to give this medicinal product to another person and to return any unused capsules to the study doctor at the end of treatment.
- Female patients should not donate blood during therapy and for at least 28 days following discontinuation of study drug.
- Male patients should not donate blood, semen or sperm during therapy or for at least 28 days following discontinuation of study drug.
- Only enough study drug for one cycle of therapy may be dispensed with each cycle of therapy.

Annexe 5: Lenalidomide education and counseling guidance document

Document destiné aux investigateurs seulement.

Lenalidomide Education and Counseling Guidance Document

To be completed prior to each dispensing of study drug.

Protocol Number: _____

Patient Name (Print): _____ DOB: _____/_____/_____ (mm/dd/yyyy)

(Check the appropriate box to indicate risk category)

Female: □

If female, check one:

□ NOT FCBP : 1) hysterectomy (the surgical removal of the uterus) or bilateral oophorectomy (the surgical removal of both ovaries) or 2) naturally postmenopausal for at least 24 consecutive months

Male: □

Do Not Dispense study drug if:

- **The patient is pregnant, or is potentially childbearing**

FEMALE NOT OF CHILDBEARING POTENTIAL (NATURAL MENOPAUSE FOR AT LEAST 24 CONSECUTIVE MONTHS, A HYSTERECTOMY, OR BILATERAL OOPHORECTOMY):

1. I counseled the female NOT of child bearing potential regarding the following:
   - Potential risks of fetal exposure to lenalidomide (Refer to item #2 in FCBP)
   - NEVER share study drug with anyone else.
   - Do not donate blood while taking study drug and for 28 days after stopping study drug.
   - Do not break, chew, or open study drug capsules
   - Return unused study drug capsules to the study doctor.
2. Provide Lenalidomide Information Sheet to the patient.

MALE:

1. I counseled the Male patient regarding the following:
   - Potential risks of fetal exposure to lenalidomide (Refer to item #2 in FCBP).
   - To engage in complete abstinence or use a condom when engaging in sexual contact (including those who have had a vasectomy) with a pregnant female or a female of childbearing potential, while taking study drug, during dose interruptions and for 28 days after stopping study drug.

- Males should notify their study doctor when their female partner becomes pregnant and female partners of males taking study drug should be advised to call their healthcare provider immediately if they get pregnant.
- NEVER share study drug with anyone else.
- Do not donate blood, semen or sperm while taking study drug and for 28 days after stopping study drug.
- Do not break, chew, or open study drug capsules.
- Return unused study drug capsules to the study doctor.

2. Provide Lenalidomide Information Sheet to the patient.

Investigator/Counselor Name (Print): _____

(circle applicable)

Investigator/Counselor Signature: _____ Date: _____/_____/_____

(circle applicable)

Maintain a copy of the Education and Counseling Guidance Document in the patient records.

Annexe 6: Fiche d'information sur le lenalidomide

FICHE D'INFORMATION SUR LE LENALIDOMIDE

POUR LES PATIENTS INCLUS DANS DES ETUDES DE RECHERCHE CLINIQUE

Veuillez lire cette fiche d'information sur le lenalidomide avant de commencer à prendre le médicament de l'étude et chaque fois que l'on vous délivre ce médicament.Cette fiche d'information sur le lenalidomide ne se substitue pas à un consentement éclairé pour participer à une recherche clinique ou à une discussion avec le médecin de l'étude ou un professionnel de santé sur votre maladie ou votre traitement.

Quelles sont les informations les plus importantes à connaître sur le lenalidomide ?

1. **Le lenalidomide peut provoquer des anomalies congénitales (bébés avec des malformations) ou le décès d'un enfant à naître.**Lelénalidomide a une structure proche du médicament thalidomide. Il est connu que le thalidomide peut provoquer des anomalies congénitales potentiellement mortelles chez l'enfant à naitre après exposition pendant la grossesse.Le lenalidomide n'a pas été testé chez la femme enceinte, mais peut également provoquer des anomalies congénitales.Les résultats d'une étude chez le singe indiquent que le lenalidomide a provoqué des anomalies congénitales chez la progéniture de singes femelles ayant reçu le médicament pendant la gestation.

   Si vous êtes une femme non susceptible de procréer :

   Pour s'assurer de l'absence d'exposition au lenalidomide d'un enfant à naître, le médecin de l'étude confirmera que vous n'êtes pas en mesure de devenir enceinte.

   Si vous êtes un homme :

   Le lenalidomide est détecté en quantités infimes dans le sperme humain. A ce jour, le risque pour le fœtus chez les femmes susceptibles de procréer dont le partenaire masculin reçoit du lenalidomide est inconnu.

   - Les patients masculins (y compris ceux ayant subi une vasectomie) doivent pratiquer l'abstinence totale ou utiliser un préservatif pendant les rapports sexuels avec une femme enceinte ou une femme susceptible de devenir enceinte :
     - Pendant que vous prenez le médicament de l'étude
     - Pendant les interruptions de dose du médicament de l'étude
     - Pendant 28 jours après l'arrêt du médicament de l'étude
   - **Les patients masculins ne doivent pas faire de don de sperme** pendant qu'ils prennent le médicament de l'étude et pendant 28 jours après avoir cessé de prendre le médicament de l'étude.
   - **Si vous suspectez une grossesse chez votre partenaire à tout moment de l'étude, vous devez immédiatement en informer le médecin de l'étude.Le médecin de l'étude signalera tous les cas de grossesse à Celgene Corporation. Votre partenaire doit immédiatement contacter son médecin en cas de grossesse.**

2. **Restrictions en ce qui concerne le partage du médicament de l'étude et le don de sang :**

- **Ne partagez pas le médicament de l'étude avec d'autres personnes. Il doit être tenu hors de portée des enfants et ne doit jamais être donné à une autre personne.**
- **Ne faites pas de don de sang** pendant que vous prenez le médicament de l'étude et pendant 28 jours après avoir cessé de prendre le médicament de l'étude.
- **Ne cassez, ne croquez ou n'ouvrez pas les gélules de médicament de l'étude.**
- On ne vous délivrera pas plus d'un cycle à la fois de médicament de l'étude.
- Restituez les gélules non utilisées de médicament au médecin de l'étude.

Le formulaire de consentement éclairé contient des informations supplémentaires et vous pouvez vous adresser au médecin de l'étude pour plus d'informations.

NOM du médecin de l'étude

Signature

Date

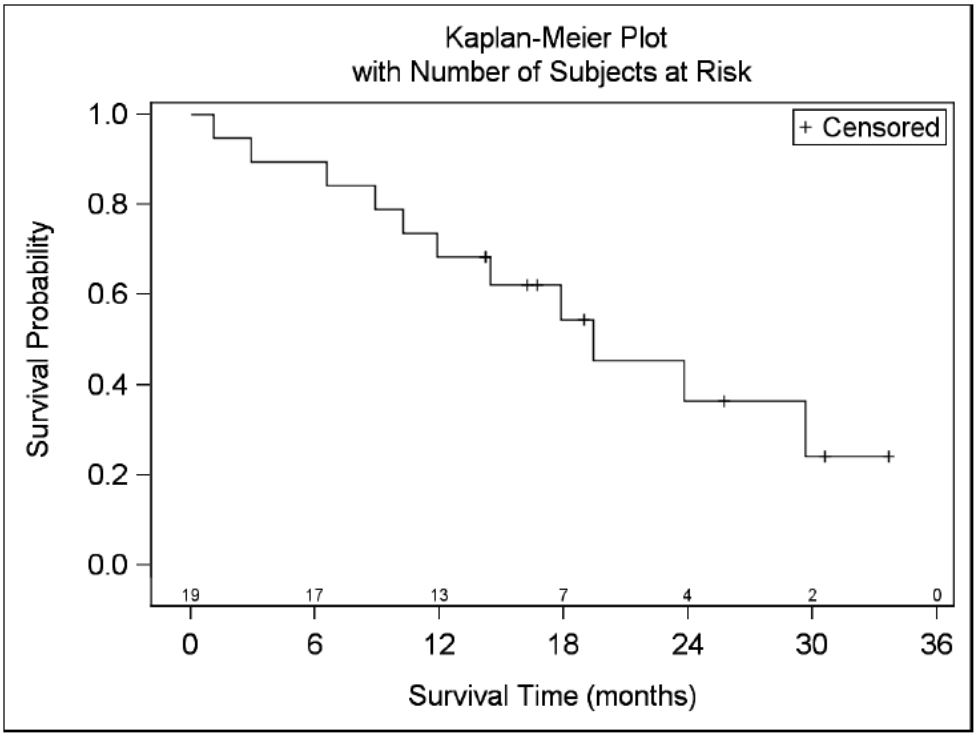
NOM du patient

Signature

Date

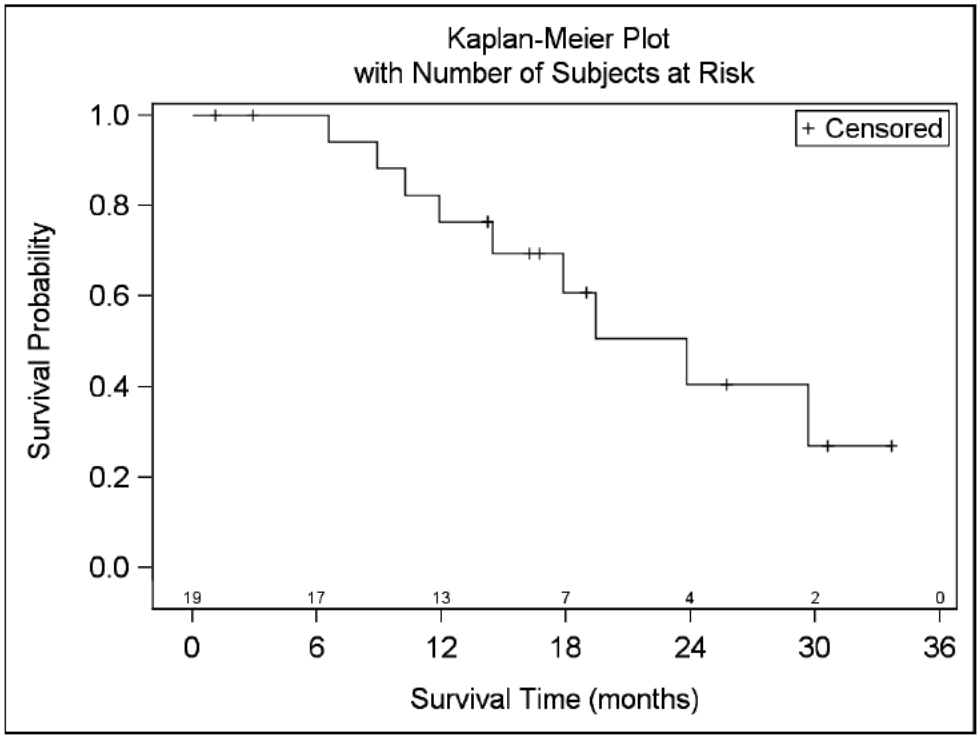
Annexe 7: Estimation par la méthode de Kaplan-Meier des survies globale (a), spécifique (b) et des réponses au traitement (c)

(a) Survie globale



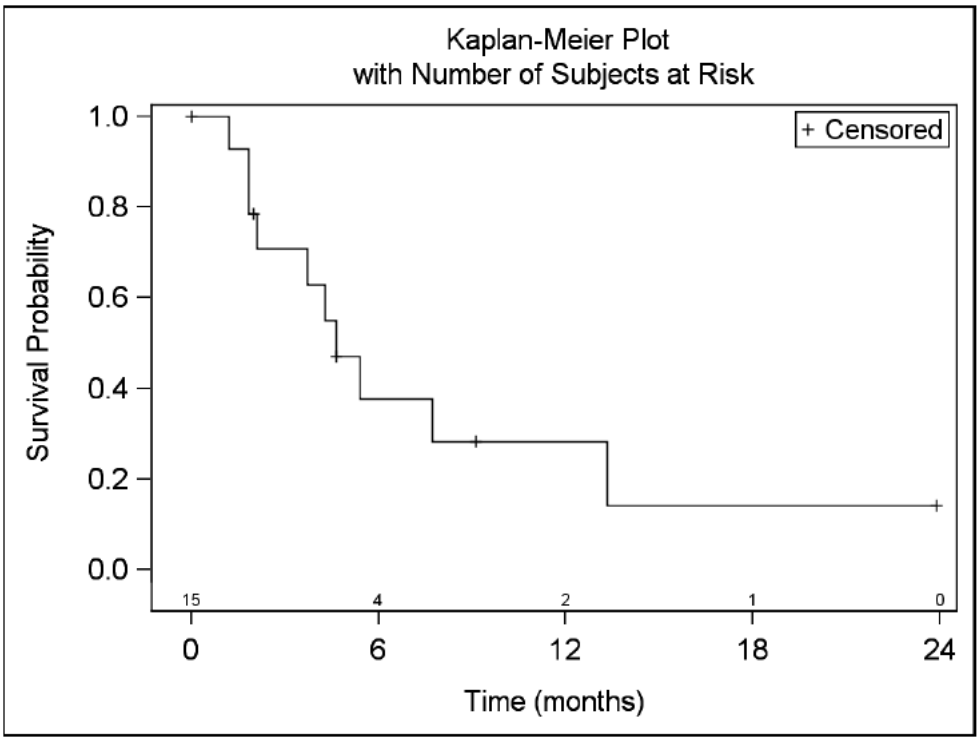
Décès toutes causes	n	19	
	Patient vivant à la date de point	8	42.1%
	Patient décédé	11	57.9%

(b) Survie spécifique



Décès dus au lymphome	n	19	
	Non	10	52.6%
	Oui	9	47.4%

(c) Réponse au traitement



Annexe 8: Poster présenté au congrès EPICLIN

Approche bayésienne pour l'analyse d'un essai mono-bras de phase II
Etude REV-LEG

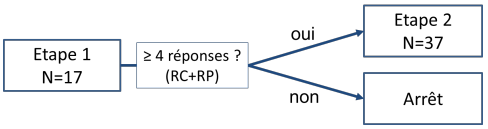
Maillard Aline[1,*], Diane Mermin[2], Marie Beylot-Barry[2,3,4], Éric Frison[1]

[1] *CHU de Bordeaux, Pôle de Santé Publique, Unité de Soutien Méthodologique à la Recherche clinique et Epidémiologique,*
[2] *Service de Dermatologie, CHU Bordeaux,*
[3] *Inserm U1053, Bordeaux Research in Translational Oncology, équipe 3 : Oncogénèse des lymphomes cutanés*
[4] *Groupe Français d'étude des lymphomes cutanés*

** Auteur correspondant : Aline.Maillard@u-bordeaux.fr*

Introduction

- Etude REV-LEG (PHRC-K 2011) avec pour objectif principal : **évaluer l'efficacité du Lenalidomide à 6 mois** (θ = taux de réponse complète (RC) et partielle (RP)).
- Population: lymphome cutané B diffus à grandes cellules type-jambe récidivant ou en échec d'une première ligne de traitement par Rituximab-polychimiothérapie (R-PCT)
- Essai de phase II mono-bras multicentrique (Groupe français d'étude des lymphomes cutanés) selon **schéma de Simon en 2 étapes** (arrêt précoce si traitement inefficace) (1)
- Taux de réponse attendu = 40% (p_1), taux de réponse minimal = 20% (p_0), risque α bilatéral=10% et risque β=10%
- Essai arrêté à 32 mois devant des difficultés de recrutement, sans connaissance des résultats de l'analyse intermédiaire (n=19).
- Face au manque de puissance attendu dans l'analyse statistique, nous avons utilisé une **approche bayésienne comme analyse de sensibilité** afin de considérer plusieurs scenarii traduits par plusieurs distributions a priori (2,3).



Méthodes et résultats

1ère étape : Définition des distributions *a priori*
Le critère de jugement principal θ est le taux de réponse global (RC+RP) à 6 mois. On suppose une distribution a priori Beta avec les paramètres a et b. Cette distribution correspond à l'observation de a succès et b échecs sur (a + b) patients :

$$P(\theta) \propto \theta^{a-1}(1-\theta)^{b-1}$$

Il faut faire attention au choix de la distribution *a priori* pour qu'elle apporte la même quantité d'information que l'échantillon de l'étude. Les paramètres α et β sont à définir suivant les différentes hypothèses *a priori* qui représentent l'incertitude autour du taux de réponse θ :

- ***A priori* clinique** : En l'absence de données de la littérature sur lesquelles s'appuyer, nous avons utilisé les hypothèses du calcul de la taille d'étude qui reflètent l'opinion de l'investigateur principal de l'essai. On suppose une loi Beta telle que $P(\theta < 20\%) = P(20\% < \theta < 40\%) = P(\theta > 40\%) = 1/3$. Il y a autant de chance que θ soit inférieur à p_0, que θ soit entre p_0 et p_1 ou que θ soit supérieur à p_1.
- ***A priori* de référence** : On suppose une loi uniforme qui est non informative.
- ***A priori* sceptique** : Il représente l'opinion d'un individu qui avant l'essai pense qu'il y a très peu de chance (5%) que θ soit supérieur à p_1. On suppose une loi Beta avec une moyenne égale à p_0 = 20% et telle que $P(\theta > 40\%) = 5\%$.
- ***A priori* optimiste** : Il représente l'opinion d'un individu qui avant l'essai pense qu'il y a très peu de chance (5%) que θ soit inférieur à p_0. Loi Beta avec une moyenne égale à p_1 = 40% et telle que $P(\theta < 20\%) = 5\%$.

2ème étape : L'information issue de l'essai est utilisée.
Soit k le nombre de réponses complètes ou partielles observées dans l'essai sur n individus recrutés. La vraisemblance s'écrit :

$$P(y|\theta) \propto \theta^{k}(1-\theta)^{n-k}$$

3ème étape : Calcul des distributions *a posteriori* en utilisant le théorème de Bayes

$$A\ Posteriori \propto Vraisemblance\ x\ A\ priori \iff P(\theta|y) \propto P(y|\theta)\ x\ P(\theta)$$

$$\iff P(\theta|y) \propto \theta^{a+k-1}(1-\theta)^{b+n-k-1}$$

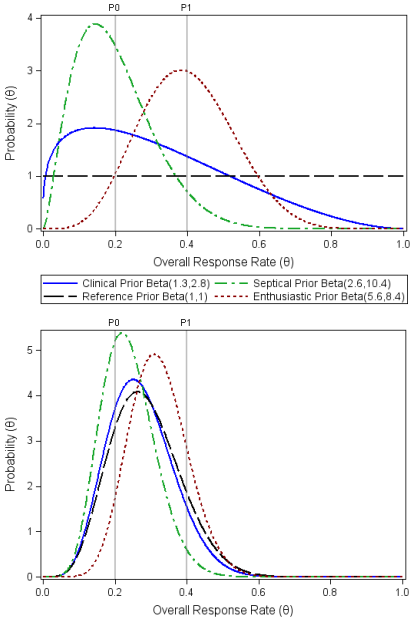


Figure 1 : Distributions *a priori* (haut) et *a posteriori* (bas)

On utilise la distribution de probabilité a posteriori pour fournir les intervalles de crédibilité (ICr) tels que θ soit dans [c ; d] avec une probabilité de (1-α)% et pour estimer la probabilité que le traitement soit inefficace $P(\theta \leq 20\%)$.

L'intervalle de crédibilité à 90% s'interprète de la façon suivante : étant donné les observations, il y a 90% de chance que la proportion vraie θ soit comprise entre les bornes de l'intervalle.

19 patients d'un âge médian de 79 ans ont été inclus entre juillet 2012 et septembre 2014.
Le taux de réponse à 6 mois était de 26,3% (IC90% = [11,0-47,6] ; soit 5/19 patients).

Tableau 1 : Intervalle de crédibilité (ICr) du taux de réponse global θ

Distribution *a priori*	ICr 90%	Probabilité($\theta \leq 20\%$)
Clinique	[13,5% - 43,3%]	0,22
Référence	[14% - 45,6%]	0,20
Sceptique	[12,6% - 36,8%]	0,33
Optimiste	[19,6% - 45,9%]	0,057

Conclusion

- Selon l'approche fréquentiste, on conclut que le traitement est inefficace sur les 19 patients recrutés mais avec un manque de puissance important. Selon l'approche bayésienne, même avec un *a priori* optimiste sur l'efficacité du traitement, l'intervalle de crédibilité n'est pas strictement supérieur à 20% après avoir pris en compte les données de l'essai.
- Ces deux approches tendent vers la même conclusion d'efficacité insuffisante du traitement.
- En l'absence de données de la littérature sur ce traitement dans des populations comparables, l'analyse bayésienne a permis d'interpréter les résultats suivant différents contextes et il a été possible d'utiliser les hypothèses du calcul de la taille d'étude pour définir les distributions a priori.

(1) Simon R. Optimal two-stage designs for phase II clinical trials. *Control Clin Trials* 1989;10(1):1–10
(2) Zohar S, Teramukai S, Zhou Y. Bayesian design and conduct of phase II single-arm clinical trials with binary outcomes: a tutorial. *Contemp Clin Trials*. 2008;29:608–16
(3) Tan SB, Machin D, Tai BC, et al. A Bayesian re-assessment of two phase II trials of gemcitabine in metastatic nasopharyngeal cancer. *Br J Cancer* 2002;86:843–50

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admise 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.

Admise 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 moeurs.

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 déshonorée et méprisée si j'y manque.