



**HAL**  
open science

# Caractérisation du micro-environnement tumoral et des points de contrôle immunitaires dans les lymphomes B diffus à grandes cellules primitifs du système nerveux central : à propos d'une série de 57 cas

Marion Pirel

## ► To cite this version:

Marion Pirel. Caractérisation du micro-environnement tumoral et des points de contrôle immunitaires dans les lymphomes B diffus à grandes cellules primitifs du système nerveux central : à propos d'une série de 57 cas. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-02882041

**HAL Id: dumas-02882041**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02882041>**

Submitted on 26 Jun 2020

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - ShareAlike 4.0 International License

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER  
FACULTÉ DE MÉDECINE MONTPELLIER-NÎMES

**THESE**

Pour obtenir le titre de

**DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement par

**Marion PIREL**

Le 18 octobre 2019

**CARACTERISATION DU MICROENVIRONNEMENT TUMORAL ET DES POINTS  
DE CONTROLE IMMUNITAIRES DANS LES LYMPHOMES B DIFFUS A GRANDES  
CELLULES PRIMITIFS DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL  
A propos d'une série de 57 cas**

Directeur de thèse : Docteur Vanessa SZABLEWSKI

**JURY**

Président :

Madame le Professeur Valérie RIGAU

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Pascal ROGER

Madame le Docteur Valère CACHEUX

Madame le Docteur Vanessa SZABLEWSKI

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER  
FACULTÉ DE MÉDECINE MONTPELLIER-NÎMES

**THESE**

Pour obtenir le titre de

**DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement par

**Marion PIREL**

Le 18 octobre 2019

**CARACTERISATION DU MICROENVIRONNEMENT TUMORAL ET DES POINTS  
DE CONTROLE IMMUNITAIRES DANS LES LYMPHOMES B DIFFUS A GRANDES  
CELLULES PRIMITIFS DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL  
A propos d'une série de 57 cas**

Directeur de thèse : Docteur Vanessa SZABLEWSKI

**JURY**

Président :

Madame le Professeur Valérie RIGAU

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Pascal ROGER

Madame le Docteur Valère CACHEUX

Madame le Docteur Vanessa SZABLEWSKI

## ANNEE UNIVERSITAIRE 2018 - 2019

### PERSONNEL ENSEIGNANT

#### Professeurs Honoraires

ALLIEU Yves  
ALRIC Robert  
ARNAUD Bernard  
ASTRUC Jacques  
AUSSILLOUX Charles  
AVEROUS Michel  
AYRAL Guy  
BAILLAT Xavier  
BALDET Pierre  
BALDY-MOULINIER Michel  
BALMES Jean-Louis  
BALMES Pierre  
BANSARD Nicole  
BAYLET René  
BILLIARD Michel  
BLARD Jean-Marie  
BLAYAC Jean Pierre  
BLOTMAN Francis  
BONNEL François  
BOUDET Charles  
BOURGEOIS Jean-Marie  
BRUEL Jean Michel  
BUREAU Jean-Paul  
BRUNEL Michel  
CALLIS Albert  
CANAUD Bernard  
CASTELNAU Didier  
CHAPTAL Paul-André  
CIURANA Albert-Jean  
CLOT Jacques  
D'ATHIS Françoise  
DEMAILLE Jacques  
DESCOMPS Bernard  
DIMEGLIO Alain

DUBOIS Jean Bernard  
DUMAS Robert  
DUMAZER Romain  
ECHENNE Bernard  
FABRE Serge  
FREREBEAU Philippe  
GALIFER René Benoît  
GODLEWSKI Guilhem  
GRASSET Daniel  
GROLLEAU-RAOUX Robert  
GUILHOU Jean-Jacques  
HERTAULT Jean  
HUMEAU Claude  
JAFFIOL Claude  
JANBON Charles  
JANBON François  
JARRY Daniel  
JOYEUX Henri  
LAFFARGUE François  
LALLEMANT Jean Gabriel  
LAMARQUE Jean-Louis  
LAPEYRIE Henri  
LESBROS Daniel  
LOPEZ François Michel  
LORIOT Jean  
LOUBATIERES Marie  
Madeleine  
MAGNAN DE BORNIER  
Bernard  
MARY Henri  
MATHIEU-DAUDE Pierre  
MEYNADIER Jean  
MICHEL François-Bernard  
MICHEL Henri

MION Charles  
MION Henri  
MIRO Luis  
NAVARRO Maurice  
NAVRATIL Henri  
OTHONIEL Jacques  
PAGES Michel  
PEGURET Claude  
PELISSIER Jacques  
POUGET Régis  
PUECH Paul  
PUJOL Henri  
PUJOL Rémy  
RABISCHONG Pierre  
RAMUZ Michel  
RIEU Daniel  
RIOUX Jean-Antoine  
ROCHFORT Henri  
ROSSI Michel  
ROUANET DE VIGNE LAVIT  
Jean Pierre  
SAINT AUBERT Bernard  
SANCHO-GARNIER Hélène  
SANY Jacques  
SEGNARBIEUX François  
SENAC Jean-Paul  
SERRE Arlette  
SIMON Lucien  
SOLASSOL Claude  
THEVENET André  
VIDAL Jacques  
VISIER Jean Pierre

#### Professeurs Emérites

ARTUS Jean-Claude  
BLANC François  
BOULENGER Jean-Philippe  
BOURREL Gérard  
BRINGER Jacques  
CLAUSTRES Mireille  
DAURES Jean-Pierre  
DAUZAT Michel  
DEDET Jean-Pierre  
ELEDJAM Jean-Jacques  
GUERRIER Bernard  
JOURDAN Jacques

MARES Pierre  
MAURY Michèle  
MILLAT Bertrand  
MAUDELONDE Thierry  
MONNIER Louis  
PREFAUT Christian  
PUJOL Rémy  
SULTAN Charles  
TOUCHON Jacques  
VOISIN Michel  
ZANCA Michel

## Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

### PU-PH de classe exceptionnelle

ALBAT Bernard - Chirurgie thoracique et cardiovasculaire  
ALRIC Pierre - Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)  
BACCINO Eric - Médecine légale et droit de la santé  
BASTIEN Patrick - Parasitologie et mycologie  
BONAFE Alain - Radiologie et imagerie médicale  
CAPDEVILA Xavier - Anesthésiologie-réanimation  
COLSON Pascal – Anesthésie-réanimation  
COMBE Bernard - Rhumatologie  
COSTA Pierre - Urologie  
COTTALORDA Jérôme - Chirurgie infantile  
COUBES Philippe – Neurochirurgie  
COURTET Philippe – Psychiatrie d'adultes, addictologie  
CRAMPETTE Louis - Oto-rhino-laryngologie  
CRISTOL Jean Paul - Biochimie et biologie moléculaire  
DAVY Jean Marc - Cardiologie  
DE LA COUSSAYE Jean Emmanuel -Anesthésiologie-réanimation  
DELAPORTE Eric - Maladies infectieuses, maladies tropicales  
DEMOLY Pascal – Pneumologie, addictologie  
DE WAZIERES Benoît - Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie  
DOMERGUE Jacques - Chirurgie générale  
DUFFAU Hugues - Neurochirurgie  
DUJOLS Pierre - Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication  
ELIAOU Jean François - Immunologie  
FABRE Jean Michel - Chirurgie générale  
FRAPIER Jean-Marc –Chirurgie thoracique et cardiovasculaire  
GUILLOT Bernard - Dermato-vénéréologie  
HAMAMAH Samir-Biologie et Médecine du développement et de la reproduction, gynécologie médicale  
HEDON Bernard-Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale  
HERISSON Christian-Médecine physique et de réadaptation  
JABER Samir-Anesthésiologie-réanimation  
JEANDEL Claude-Médecine interne, gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie  
JONQUET Olivier-Réanimation ; médecine d'urgence  
JORGENSEN Christian-Thérapeutique, médecine d'urgence ; addictologie  
KOTZKI Pierre Olivier-Biophysique et médecine nucléaire  
LANDAIS Paul-Epidémiologie, Economie de la santé et Prévention  
LARREY Dominique-Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie  
LEFRANT Jean-Yves-Anesthésiologie-réanimation  
LE QUELLEC Alain-Médecine interne, gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie  
MARTY-ANE Charles - Chirurgie thoracique et cardiovasculaire  
MERCIER Jacques - Physiologie  
MESSNER Patrick – Cardiologie  
MONDAIN Michel – Oto-rhino-laryngologie  
PELLISSIER Jacques-Médecine physique et de réadaptation  
RENARD Eric-Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques, gynécologie médicale  
REYNES Jacques-Maladies infectieuses, maladies tropicales  
RIBSTEIN Jean-Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie  
RIPART Jacques-Anesthésiologie-réanimation  
ROUANET Philippe-Cancérologie ; radiothérapie  
SCHVED Jean François-Hématologie; Transfusion  
TAOUREL Patrice-Radiologie et imagerie médicale  
UZIEL Alain -Oto-rhino-laryngologie  
VANDE PERRE Philippe-Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière  
YCHOU Marc-Cancérologie ; radiothérapie

### PU-PH de 1<sup>re</sup> classe

AGUILAR MARTINEZ Patricia-Hématologie ; transfusion  
AVIGNON Antoine-Nutrition  
AZRIA David -Cancérologie ; radiothérapie  
BAGHDADLI Amaria-Pédopsychiatrie ; addictologie  
BEREGI Jean-Paul-Radiologie et imagerie médicale  
BLAIN Hubert-Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie  
BLANC Pierre-Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie  
BORIE Frédéric-Chirurgie digestive  
BOULOT Pierre-Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale

CAMBONIE Gilles -Pédiatrie  
CAMU William-Neurologie  
CANOVAS François-Anatomie  
CARTRON Guillaume-Hématologie ; transfusion  
CHAMMAS Michel-Chirurgie orthopédique, traumatologique  
CHANQUES Gérald – Anesthésie-réanimation  
CORBEAU Pierre-Immunologie  
COSTES Valérie-Anatomie et cytologie pathologiques  
CYTEVAL Catherine-Radiologie et imagerie médicale  
DADURE Christophe-Anesthésiologie-réanimation  
DAUVILLIERS Yves-Physiologie  
DE TAYRAC Renaud-Gynécologie-obstétrique, gynécologie médicale  
DEMARIA Roland-Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire  
DEREURE Olivier-Dermatologie – vénéréologie  
DE VOS John – Cytologie et histologie  
DROUPY Stéphane -Urologie  
DUCROS Anne-Neurologie  
GARREL Renaud – Oto-rhino-laryngologie  
HAYOT Maurice - Physiologie  
KLOUCHE Kada-Réanimation ; médecine d'urgence  
KOENIG Michel-Génétique moléculaire  
LABAUGE Pierre- Neurologie  
LAFFONT Isabelle-Médecine physique et de réadaptation  
LAVABRE-BERTRAND Thierry-Cytologie et histologie  
LAVIGNE Jean-Philippe – Bactériologie – virologie, hygiène hospitalière  
LECLERCQ Florence-Cardiologie  
LEHMANN Sylvain-Biochimie et biologie moléculaire  
LE MOING Vincent – Maladies infectieuses, maladies tropicales  
LUMBROSO Serge-Biochimie et Biologie moléculaire  
MARIANO-GOULART Denis-Biophysique et médecine nucléaire  
MATECKI Stéfan -Physiologie  
MEUNIER Laurent-Dermato-vénéréologie  
MOREL Jacques - Rhumatologie  
MORIN Denis-Pédiatrie  
NAVARRO Francis-Chirurgie générale  
PETIT Pierre-Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie  
PERNEY Pascal-Médecine interne, gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie  
PRUDHOMME Michel - Anatomie  
PUJOL Jean Louis-Pneumologie ; addictologie  
PUJOL Pascal-Biologie cellulaire  
PURPER-OUAKIL Diane-Pédopsychiatrie ; addictologie  
QUERE Isabelle-Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)  
SOTTO Albert-Maladies infectieuses ; maladies tropicales TOUITOU Isabelle-Génétique  
TRAN Tu-Anh-Pédiatrie  
VERNHET Hélène-Radiologie et imagerie médicale

### **PU-PH de 2ème classe**

ASSENAT Éric-Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie  
BERTHET Jean-Philippe-Chirurgie thoracique et cardiovasculaire  
BOURDIN Arnaud-Pneumologie ; addictologie  
CANAUD Ludovic-Chirurgie vasculaire ; Médecine Vasculaire  
CAPDEVIELLE Delphine-Psychiatrie d'Adultes ; addictologie  
CAPTIER Guillaume-Anatomie  
CAYLA Guillaume-Cardiologie  
COLOMBO Pierre-Emmanuel-Cancérologie ; radiothérapie  
COSTALAT Vincent-Radiologie et imagerie médicale  
COULET Bertrand-Chirurgie orthopédique et traumatologique  
CUVILLON Philippe-Anesthésiologie-réanimation  
DAIEN Vincent-Ophtalmologie  
DORANDEU Anne-Médecine légale -  
DUPEYRON Arnaud-Médecine physique et de réadaptation  
FAILLIE Jean-Luc – Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique, addictologie  
FESLER Pierre-Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie  
GAUJOUX Viala Cécile-Rhumatologie  
GENEVIEVE David-Génétique  
GODREUIL Sylvain-Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière  
GUILLAUME Sébastien-Urgences et Post urgences psychiatriques -  
GUILPAIN Philippe-Médecine Interne, gériatrie et biologie du vieillissement; addictologie

GUIU Boris-Radiologie et imagerie médicale  
HERLIN Christian –Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, brulologie  
HOUEDE Nadine-Cancérologie, radiothérapie  
JACOT William-Cancérologie, Radiothérapie  
JUNG Boris-Réanimation ; médecine d'urgence  
KALFA Nicolas-Chirurgie infantile  
KOUYOUMDJIAN Pascal-Chirurgie orthopédique et traumatologie  
LACHAUD Laurence-Parasitologie et mycologie  
LALLEMANT Benjamin-Oto-rhino-laryngologie  
LE QUINTREC Moglie - Néphrologie  
LETOUZEY Vincent-Gynécologie-obstétrique, gynécologie médicale  
LONJON Nicolas - Neurologie  
LOPEZ CASTROMAN Jorge-Psychiatrie d'Adultes, addictologie  
LUKAS Cédric-Rhumatologie  
MAURY Philippe-Chirurgie orthopédique et traumatologie  
MILLET Ingrid-Radiologie et imagerie médicale  
MORANNE Olivier-Néphrologie  
NAGOT Nicolas-Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication  
NOCCA David-Chirurgie digestive  
PANARO Fabrizio-Chirurgie générale  
PARIS Françoise-Biologie et médecine du développement et de la reproduction, gynécologie médicale  
PASQUIE Jean-Luc-Cardiologie  
PEREZ MARTIN Antonia-Physiologie  
POUDEROUX Philippe-Gastroentérologie, hépatologie, addictologie  
RIGAU Valérie-Anatomie et cytologie pathologiques  
RIVIER François-Pédiatrie  
ROGER Pascal-Anatomie et cytologie pathologiques  
ROSSI Jean François-Hématologie ; transfusion  
ROUBILLE François-Cardiologie  
SEBBANE Mustapha-Anesthésiologie-réanimation  
SIRVENT Nicolas-Pédiatrie  
SOLASSOL Jérôme-Biologie cellulaire  
STOEBNER Pierre – Dermato-vénéréologie  
SULTAN Ariane-Nutrition  
THOUVENOT Éric-Neurologie  
THURET Rodolphe-Urologie  
VENAIL Frédéric-Oto-rhino-laryngologie  
VILLAIN Max-Ophtalmologie  
VINCENT Denis -Médecine interne, gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie  
VINCENT Thierry-Immunologie  
WOJTUSCISZYN Anne-Endocrinologie-diabétologie-nutrition

### **PROFESSEURS DES UNIVERSITES**

1<sup>re</sup> classe :

COLINGE Jacques - Cancérologie, Signalisation cellulaire et systèmes complexes

2<sup>ème</sup> classe :

LAOUDJ CHENIVESSE Dalila - Biochimie et biologie moléculaire

VISIÉ Laurent - Sociologie, démographie

### **PROFESSEURS DES UNIVERSITES - Médecine générale**

1<sup>re</sup> classe :

LAMBERT Philippe

2<sup>ème</sup> classe :

AMOUYAL Michel

### **PROFESSEURS ASSOCIES - Médecine Générale**

CLARY Bernard

DAVID Michel

### **PROFESSEUR ASSOCIE - Médecine**

BESSIS Didier - Dermato-vénéréologie

MEUNIER Isabelle – Ophtalmologie

MULLER Laurent – Anesthésiologie-réanimation

PERRIGAULT Pierre-François - Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence

ROUBERTIE Agathe – Pédiatrie

## Maîtres de Conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers

### MCU-PH Hors classe

BOULLE Nathalie – Biologie cellulaire  
CACHEUX-RATABOUL Valère-Génétique  
CARRIERE Christian-Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière  
CHARACHON Sylvie-Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière  
FABBRO-PERAY Pascale-Epidémiologie, économie de la santé et prévention  
HILLAIRE-BUYS Dominique-Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie  
GIANSILY-BLAIZOT Muriel – Hématologie, transfusion  
PELLESTOR Franck-Cytologie et histologie  
PUJOL Joseph-Anatomie  
RICHARD Bruno-Thérapeutique ; addictologie  
RISPAIL Philippe-Parasitologie et mycologie  
SEGONDY Michel-Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière

### MCU-PH de 1<sup>re</sup> classe

BADIOU Stéphanie-Biochimie et biologie moléculaire  
BOUDOUSQ Vincent-Biophysique et médecine nucléaire  
BOURGIER Céline-Cancérologie ; Radiothérapie  
BRET Caroline-Hématologie biologique  
COSSEE Mireille-Génétique Moléculaire  
GABELLE DELOUSTAL Audrey-Neurologie  
GIRARDET-BESSIS Anne-Biochimie et biologie moléculaire  
LAVIGNE Géraldine-Hématologie ; transfusion  
LESAGE François-Xavier – Médecine et santé au travail

MATHIEU Olivier-Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique, addictologie  
MENJOT de CHAMPFLEUR Nicolas-Neuroradiologie  
MOUZAT Kévin-Biochimie et biologie moléculaire  
PANABIERES Catherine-Biologie cellulaire  
PHILIBERT Pascal-Biologie et médecine du développement et de la reproduction  
RAVEL Christophe - Parasitologie et mycologie  
SCHUSTER-BECK Iris-Physiologie  
STERKERS Yvon-Parasitologie et mycologie  
TUAILLON Edouard-Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière  
YACHOUH Jacques-Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

### MCU-PH de 2<sup>ème</sup> classe

BERTRAND Martin-Anatomie  
DE JONG Audrey – Anesthésie-réanimation  
DU THANH Aurélie-Dermato-vénérologie  
GALANAUD Jean Philippe-Médecine Vasculaire  
GOUZI Farès-Physiologie  
HERRERO Astrid – Chirurgie générale  
JEZIORSKI Éric-Pédiatrie  
KUSTER Nils-Biochimie et biologie moléculaire  
MAKINSON Alain-Maladies infectieuses, Maladies tropicales  
MURA Thibault-Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication  
OLIE Emilie-Psychiatrie d'adultes ; addictologie  
PANTEL Alix - Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière  
PERS Yves-Marie -Thérapeutique, addictologie  
SABLEWSKI Vanessa - Anatomie et cytologie pathologiques  
THEVENIN-RENE Céline-Immunologie

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - Médecine Générale

### Maîtres de conférence de 1<sup>ère</sup> classe

COSTA David

### Maîtres de conférence de 2<sup>ème</sup> classe

FOLCO-LOGNOS Béatrice  
OUDE-ENGBERINK Agnès



## **MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES - Médecine Générale**

GARCIA Marc  
MILLION Elodie  
PAVAGEAU Sylvain  
REBOUL Marie-Catherine  
SERAYET Philippe

## **MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES**

### **Maîtres de Conférences hors classe**

BADIA Eric - Sciences biologiques fondamentales et cliniques

### **Maîtres de Conférences de classe normale**

BECAMEL Carine - Neurosciences  
BERNEX Florence - Physiologie  
CHAUMONT-DUBEL Séverine - Sciences du médicament et des autres produits de santé  
CHAZAL Nathalie - Biologie cellulaire  
DELABY Constance - Biochimie et biologie moléculaire  
GUGLIELMI Laurence - Sciences biologiques fondamentales et cliniques  
HENRY Laurent - Sciences biologiques fondamentales et cliniques  
LADRET Véronique - Mathématiques appliquées et applications des mathématiques  
LAINE Sébastien - Sciences du Médicament et autres produits de santé  
LE GALLIC Lionel - Sciences du médicament et autres produits de santé  
LOZZA Catherine - Sciences physico-chimiques et technologies pharmaceutiques  
MAIMOUN Laurent - Sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé  
MOREAUX Jérôme - Science biologiques, fondamentales et cliniques  
MORITZ-GASSER Sylvie - Neurosciences  
MOUTOT Gilles - Philosophie  
PASSERIEUX Emilie - Physiologie  
RAMIREZ Jean-Marie - Histologie  
TAULAN Magali - Biologie Cellulaire

## **PRATICIENS HOSPITALIERS UNIVERSITAIRES**

CLAIRE DAIEN-Rhumatologie  
BASTIDE Sophie-Epidémiologie, économie de la santé et prévention  
GATINOIS Vincent-Histologie, embryologie et cytogénétique  
PINETON DE CHAMBRUN Guillaume-Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie  
SOUCHE François-Régis – Chirurgie générale  
TORRE Antoine-Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale

## REMERCIEMENTS

Au Professeur Valérie RIGAU, merci de me faire l'honneur de présider ce jury. Merci également pour votre gentillesse et votre bienveillance à l'égard de tous ceux avec qui vous travaillez, pour votre grande disponibilité, toujours avec le sourire. Merci enfin pour l'opportunité que vous m'avez offerte, je vous en suis infiniment reconnaissante.

Au Professeur Pascal ROGER, merci d'avoir accepté de juger ce travail. Vos précieux enseignements m'ont apporté la rigueur nécessaire à tout pathologiste, ainsi que de solides bases en gynéco-pathologie, qui m'ont été très utiles. Merci également pour votre patience et votre compréhension lors de notre collaboration en tant que coordonnateur de DES et référente de filière.

Au Docteur Valère CACHEUX, merci d'avoir accepté de siéger au sein de ce jury. Merci pour ton accueil chaleureux en cytogénétique. Merci de toujours prendre le temps de former les internes d'anapath malgré un emploi du temps chargé, et de rendre cette spécialité, par ailleurs indispensable à l'anapath, d'autant plus vivante !

Au Docteur Vanessa SZABLEWSKI, merci de m'avoir confié ce sujet de thèse, que tu as su mener, comme à ton habitude, avec une énergie et un enthousiasme communicatifs. Travailler à tes côtés, que ce soit pour ce travail ou pour des avis hématologiques, est toujours une expérience enrichissante. Merci pour ton investissement dans la formation des internes.

A tous ceux qui ont participé à ce travail : à Frédérique, Alicia, Ariane, l'équipe d'immunohistochimie. Merci pour votre aide précieuse.

A toute l'équipe du laboratoire du CHU de Montpellier

A l'équipe médicale: le Pr Valérie Rigau, le Pr Valérie Costes-Martineau, Benjamin, Christophe, Hélène, Isabelle, Jeanne, Sylvianne, Thérèse, Vanessa, Yuri, et enfin à l'ineffable Dr Durand, toujours « à la rue ». Merci à tous pour le temps passé à notre formation, toujours avec passion et patience. Merci également de la confiance que vous m'accordez, j'espère m'en montrer digne. Vous me permettez ainsi d'apprendre encore beaucoup à vos côtés.

Merci aux techniciens et aux aides-labo du CHU de Montpellier, pour votre bonne humeur, pour vos conseils précieux aux internes jeunes (et moins jeunes !), pour m'avoir maintes fois entendue râler à l'annonce d'une pièce fraîche, pour m'avoir souvent redonné le sourire.

Merci aux secrétaires pour les mille et un services rendus ! Merci à notre carte, Mme Hertogh, pour l'organisation, j'imagine fastidieuse, du fonctionnement de ce laboratoire.

Merci à l'équipe de la tumorothèque pour votre participation aux projets de recherche et aux thèses.

A l'équipe de Béziers, Evangeline, Marie-Laure, Malik, l'équipe technique, les secrétaires et aides-labo. Merci à tous de m'avoir accueillie avec tant de bienveillance et de m'avoir fait apprécier l'anapath dès mon premier semestre. Vous m'avez appris des bases solides qui m'auront servi durant tout mon internat.

A l'équipe de Nîmes, avec qui j'ai partagé une année bien remplie. Au Pr Roger, à Samia, Jean-Marie, Cindy, Anne-Sophie, Anne-Florence, merci pour vos précieux enseignements. Un grand merci à Jérôme pour ta gentillesse avec tous les internes, ta patience. Merci à Nathalie, à la superbe équipe technique et bien sûr aux inoubliables aides-labo et ASH ! Merci aux secrétaires.

A l'équipe de Val d'Aurelle, au Pr Bibeau, à Cristina, Aurélie, Marie-Christine, Didier merci pour ce semestre dans la bonne humeur ! Merci aux techniciens, cadre et secrétaires.

A l'équipe de cytogénétique de Montpellier : Valère, Mélissa, Alexandra, Dolores, Mathieu, Elisabeth, Caroline, Ariane. Merci pour votre accueil et de m'avoir initiée à la cytogénétique !

Enfin, à tous mes co-internes, pour leur soutien, pour les fous rires, les repas animés à l'internat, les débats, les moments de craquage, pour les souvenirs en congrès. Aux « p'tits jeunes » prometteurs : Nizar, Aude, Florian, Capucine, Audrey, ne changez rien ! A Elise et Alicia, avec qui il est toujours agréable de travailler ou bavarder. Dorian, pour les week-ends de thèse, pour ton amour des expressions françaises désuètes, et ton légendaire « ah d'accord ». A Eric, pour m'avoir supportée pendant le temps record de 2 ans de colocation de bureau ! Merci pour ton humour et ton soutien. A ceux que je ne connais pas encore : Aline, Maxime. Aux hors filières dermatologiques, radiologiques et néphrologiques, qui apportent un peu de fraîcheur en anapath : Florian, Mathilde, Elsa, Maciej, Elise, Sarah, Amandine, Camille, Béatrice, Benjamin. A Abderrahim pour ta sagesse. A mes anciens co-internes, dont certains sont devenus mes assistants : Hugo, Assia, Anna, Rémi, Maxime, Cindy, Anne-Sophie, Jérôme, Evelyne, Lakhdar, Matthieu pour tes contrepèteries avec le Dr Durand, « Wesh-Wesh » Mehdi.

A ma mère, mon pilier, je te suis infiniment reconnaissante pour tout ce que tu m'as apporté : ton éducation, tes valeurs, ton soutien à chaque étape de ma vie. Merci de m'avoir toujours poussée à donner le meilleur de moi-même, de m'avoir épaulée plus que personne dans mes études, si j'en suis la aujourd'hui c'est en grande partie grâce à toi. J'aime ton charisme, ta détermination mais aussi ton humour, qui m'a valu de nombreux fous-rires !

A mon père, Babou, héros de mon enfance : Tom Sawyer, l'alliance sacrée, les chasses au trésor, et j'en passe ! Tu nous as transmis avec amour ton goût du travail acharné et des voyages au bout du monde. Près de 10000km nous séparent aujourd'hui, mais je sais que je pourrai toujours compter sur toi. J'espère que le jour viendra où nous serons tous les deux plus disponibles pour passer du temps ensemble.

A ma sœur, qui a égayé tant de souvenirs depuis l'enfance, à notre complicité de toujours, à nos confidences sans fin, à nos différences qui nous rendent complémentaires. Tu peux être fière de tes choix et de la jeune femme que tu es devenue. Tu es ma sœur mais aussi mon amie. Je te souhaite le meilleur.

A Grand-Mère, pour tout ton amour, ta sensibilité, ton courage, ton altruisme, tes anecdotes et tes analyses psychologiques.

A Titi, pour ta générosité, ton dynamisme, ta force dans les épreuves endurées, mais aussi tes gratins de crozets légendaires !

A mes grands-pères : Grand-Père et Paulin, deux grands hommes différents mais forts et admirables, finalement vaincus par de vilains crabes. J'espère aujourd'hui vous rendre fiers.

A la famille Maffre : Lionel, Lolo, Marine, Sarah, pour votre indéfectible bonne humeur, votre hospitalité sans égale, et aux innombrables bons moments passés à Vacquières. J'admire la famille que vous êtes, simple, vraie, rassurante.

A la famille Pirel : Marie, Gégé, Camille, Jeanne, aux fous-rires, à notre passion des bonnes bouffes, aux repas animés, de Saint-Sulpice à Valloire. J'espère pouvoir venir vous rendre visite prochainement à Laize ou en Angleterre.

A Jeff, la force tranquille, merci pour ta patience, ta curiosité, ton humour et de toujours nous accueillir comme ta propre famille.

Aux arrière-grands-parents que j'ai eu la chance de connaître : Papy, Mamie, Papo, Gaiï, Mamie Julie. A Bonne Maman, dont la légende vit encore.

A la famille Celik : Ayse, Nail, Ceyda, Anil. Merci pour votre accueil chaleureux, à Paris comme à Antalya.

A Baris, ma plus belle rencontre, mon homme et mon meilleur ami. Merci d'être si parfaitement fait pour moi. J'espère construire avec toi encore une tonne de souvenirs, et bien plus encore. Je t'aime.

A Olivia, voilà 17 ans que tu te renseignais sur le prochain cours auprès d'une camarade peu sociable. Pas le temps de dire « Doc Franck » que nous étions déjà inséparables ! Je n'énumérerai pas ici nos souvenirs parfois ras les pâquerettes mais on sait qui a le plus de dossiers sur l'autre ;) 17 ans ont passé est tu restes fidèle à toi-même, petit soleil avec son petit caractère génial ! Ne change pas pour les 17 ans à venir !

A Joanna, une rencontre des plus sensationnelles à la fête des voisins, downtown Clapiers. Une scolarité côte à côte, parsemée de tracteurs. Des dizaines de surnoms, des centaines de potins. Sans compter les montées de la Fiole par tous les temps ! Tout est dit. J'admire ta détermination, ton style, ta force.

A Isa, rencontrée au lycée, devenue une amie en P1. Merci pour ton sens de l'écoute, pour ta gentillesse, pour tes petites attentions, pour ta générosité et ta grande sensibilité. Ton courage va payer. Gaine est fière de toi !

A Justine, incroyable petit bout de femme ! Pour tes valeurs, pour les souvenirs qui datent du collège, pour avoir longtemps été notre Sam, pour tout le temps passé à Guzargues, pour nous intégrer à ta famille, pour tes anecdotes animalières à mourir de rire !

A Caro, l'exilée, que j'adore revoir une fois par an, avec toujours cette impression que nous nous sommes quittées la veille. Je suis une fan inconditionnelle de ta spontanéité et de ta « pétillance ». Reviens nous un jour !

A Clément, petit génie du ping-pong et du Panama, entre autres choses. Merci pour tous les souvenirs de soirée et tes points de vue clairvoyants sur les gens et sur la vie !

A mes colocs, avec qui j'ai partagé tant d'histoires rocambolesques et de soirées plaid :

A Claire, maman Clairou, la plus merveilleuse des canes ! Merci pour ton écoute, ton sourire, ta patience, ton côté apaisant, tes bons conseils, mais aussi pour certaines aventures hilarantes que je ne peux hélas pas narrer ici.

A Melissa, coquillette un peu « brazy ». Merci pour ton grain de folie entraînant, pour ta douceur, pour les séances d'abdos sur fond de Ciara ou Chris Brown, et plus récemment, pour les week-ends de travail parsemés de craquage.

A Victoria, princesse Vicky, moitié des Jean Cucules. Merci pour 3 ans de vie commune from Béziers to Montpellier, merci de faire des blagues à mon niveau et de rire aux miennes en retour, pour ta motivation sans limites pour toutes sortes d'activités, pour ta sensibilité. Merci à Max et Ben de nous supporter.

A la Team Saint Eloi et ses extensions « bernardesques », avec qui j'ai partagé de nombreuses soirées terrasse, des plages, des week ends skis, des repas au coin du feu, de mémorables covois : Alex, Anto, Boran, Davy, Guigui, Hamza, Nathou, Pauline, Quentin, Sarah, Stan, Suzanne, Téa, Thomas.

A toute la Team Biterrois, pour les mémorables améliorés et week-ends barcelonais, et plus particulièrement au fabuleux Robinou, à Nina, Marie, Chloé et Aude, membres de la fantasque Colove.

A Fanny, Alizée, Flora, Bruno pour les sous-colles de D4.

A tous ceux que j'ai injustement oubliés.

## SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>p.1</b>
1 - Généralités sur les Lymphomes B-diffus à grandes cellules .....	p.1
1.1 - Epidémiologie et définition .....	p.1
1.2 - Classifications .....	p.1
1.3 - Clinique .....	p.3
1.4 - Histologie .....	p.4
1.5 - Pronostic .....	p.5
2 - Lymphomes B diffus à grandes cellules primitifs du SNC .....	p.5
2.1 - Définition .....	p.5
2.2 - Epidémiologie .....	p.5
2.3 - Clinique et imagerie .....	p.6
2.4 - Pronostic et scores pronostiques .....	p.6
2.5 - Histologie .....	p.7
2.6 - Prise en charge .....	p.8
3 - Points de contrôle immunitaires/Immune Checkpoints .....	p.9
3.1 - Généralités sur les Immune Checkpoints .....	p.9
3.2 - PD-1/PD-L1 .....	p.10
3.2.1 - Mécanismes d'action .....	p.10
3.2.2 - Applications .....	p.10
3.2.3 - PD-1/PD-L1 dans les LBDGC-SNC .....	p.11
4 - Microenvironnement tumoral .....	p.13
4.1 - Tumor-associated macrophages (TAMs) .....	p.13
4.2 - Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) .....	p.14
4.3 - Particularités du microenvironnement tumoral dans les LBDGC-SNC .....	p.14
5 - Objectifs de l'étude .....	p.15
<b>MATERIEL ET METHODES</b> .....	<b>p.17</b>
1 - Sélection des patients .....	p.17
2 - Données cliniques .....	p.17
3 - Etude histologique .....	p.17
4 - Etude immunohistochimique et cytogénétique .....	p.18
4.1- Technique immunohistochimique .....	p.18
4.2 - Evaluation de l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales .....	p.19
4.3 - Evaluation de la composition du microenvironnement .....	p.19
4.4 - Etude par Hybridation in situ en fluorescence (FISH) .....	p.19
5 - Analyses statistiques .....	p.21
<b>RESULTATS</b> .....	<b>p.22</b>
1 - Caractéristiques cliniques et suivi .....	p.22
2 - Caractéristiques immuno-phénotypiques et moléculaires .....	p.22
3 - Voie PD-1/PD-L1 .....	p.22

4 - Microenvironnement tumoral .....	p.26
4.1 - Composition du microenvironnement tumoral .....	p.26
4.2 - Microenvironnement tumoral et pronostic .....	p.29
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>p.34</b>
1 - Forces et limites de l'étude .....	p.34
2 - Aspects cliniques et cellule d'origine .....	p.34
3 - Voie PD1/PD-L1 .....	p.35
3.1 - Evaluation de l'expression de PD-L1 .....	p.35
3.2 - Impact pronostique de la voie PD-1/PD-L1 .....	p.36
3.3 - Mécanismes d'expression de PD-L1 .....	p.37
3.4 - Ouvertures et perspectives .....	p.38
4 - Microenvironnement tumoral .....	p.39
4.1 - TAMs .....	p.39
4.2 - TILs .....	p.40
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>p.42</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>p.43</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>p.53</b>

## **INTRODUCTION**

### **1 - Généralités sur les Lymphomes B-diffus à grandes cellules**

#### **1.1 - Epidémiologie et définition**

Les lymphomes constituent actuellement un enjeu majeur de santé publique, avec une incidence en augmentation, représentant 452000 nouveaux cas par an dans le monde (1). Parmi eux, les lymphomes B diffus à grandes cellules (LBDGC) sont les lymphomes B les plus fréquents, mais aussi les plus agressifs, représentant 30 à 35% des lymphomes non hodgkiniens dans les pays occidentaux (2).

Les LBDGC touchent légèrement plus les hommes que les femmes, et l'âge moyen au diagnostic se situe dans la septième décennie. L'étiologie de cette pathologie n'est pas encore connue à ce jour, mais il est à noter qu'une immunodépression sous-jacente est un facteur de risque significatif (3).

Les LBDGC sont définis, selon l'OMS, comme une prolifération de lymphocytes B matures de taille moyenne à grande, d'architecture diffuse, et dont les noyaux sont de taille égale ou supérieure à ceux de macrophages normaux, ou plus de deux fois plus grands que ceux de lymphocytes normaux (3).

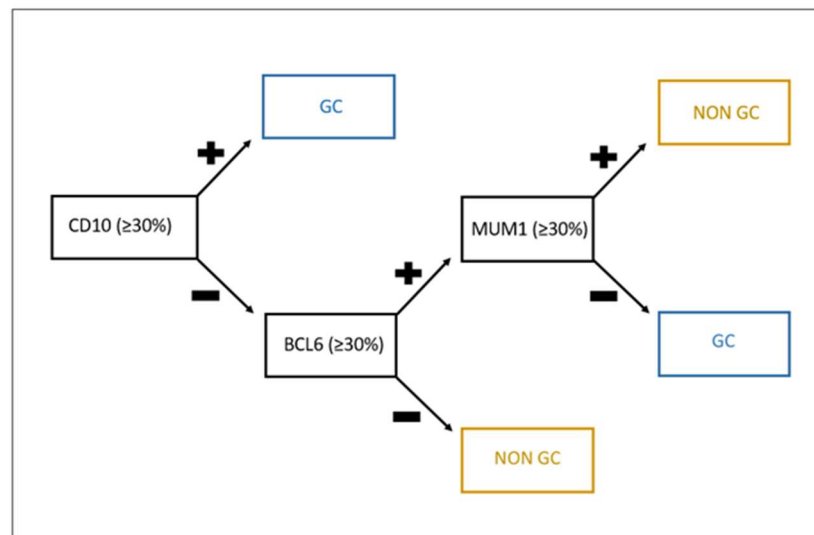
#### **1.2 - Classifications**

Ce groupe de lymphomes est divisé en nombreux sous-groupes (Tableau 1), basés sur des critères anatomo-cliniques, morphologiques, phénotypiques, moléculaires. Il reste une importante proportion de cas, ne pouvant pour l'instant pas être classés dans l'une de ces catégories. Malgré des caractéristiques hétérogènes, ces lymphomes sont regroupés sous la dénomination de diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified (DLBCL-NOS), c'est-à-dire de lymphome B diffus à grandes cellules sans autre indication (LBDGC-SAI) (3,4).

Ils sont eux-mêmes l'objet d'un démembrement plus poussé, avec variantes morphologiques ou moléculaires. Les principales variantes morphologiques sont les variantes centroblastique, immunoblastique ou anaplasique. Il existe des variantes morphologiques plus rares : stroma myxoïde, matrice fibrillaire, pseudo-rosettes, cellules fusiformes, cellules en bague à chaton, granules cytoplasmiques, structures microvillaires, jonctions intercellulaires (4). Au niveau moléculaire, les LBDGC peuvent être divisés en deux groupes selon leur cellule d'origine : les LBDGC Germinal Center B-Cell (GCB), qui dérivent des centroblastes des centres



germinatifs et les LBDGC Activated B-Cell (ABC), dont l'origine est plasmablastique, post-centre germinatif (3,4). Un troisième groupe peut être défini par sa cellule d'origine : il s'agit des LBGC primitifs du médiastin, dérivant des lymphocytes B thymiques (5). Ces différents profils ont pu être établis grâce au gene expression profiling (GEP). La détermination du sous-type moléculaire est un élément important lors du diagnostic de LBDGC, notamment en tant que facteur pronostique : les patients atteints de LBDGC de type GCB présentent une meilleure survie ainsi qu'une meilleure réponse au traitement que ceux atteints de LBDGC de type ABC (4,5). L'analyse par GEP étant peu disponible et coûteuse, plusieurs algorithmes immunohistochimiques ont été établis, avec une fiabilité acceptable. Parmi eux, le plus utilisé est l'algorithme de Hans (Figure 1), basé sur l'expression immunohistochimique du CD10, du BCL6 et de MUM-1 par les cellules tumorales (seuil de positivité 30%), avec une concordance de 70% avec l'analyse par GEP (6,7). Cet algorithme permet de classer les LBDGC en deux phénotypes : GC et non-GC (correspondant respectivement aux sous-types GC et ABC définis par GEP). Par ailleurs, il est à noter que 10 à 15% des LBDGC restent inclassables selon leur cellule d'origine (3).



*Figure 1 : Algorithme de Hans*

<b>Lymphomes B diffus à grandes cellules, SAI</b>	Variants morphologiques Centroblastiques Immunoblastiques Anaplasiques Autres variants rares (stroma myxoïde, pseudo-rosettes, etc.) Sous-types moléculaires Sous-type <i>Germinal centre B-cell</i> Sous type <i>Activated B-cell</i>
<b>Autres lymphomes B à grandes cellules</b>	LBGC riche en lymphocytes T/histiocytes LBDGC primitif du système nerveux central LBDGC primitif cutané, de type jambe LBDGC EBV-positif, SAI LBDGC associé à une inflammation chronique Granulomatose lymphomatoïde LBGC avec réarrangement <i>IRF4</i> LBGC primitif du médiastin (thymique) LBGC intra-vasculaire LBGC ALK-positif Lymphome plasmablastique LBDGC HHV8-positif* Lymphome primitif des séreuses
<b>Lymphomes B de haut grade</b>	Lymphomes B de haut grade avec réarrangements de <i>MYC</i> et <i>BCL2</i> et/ou de <i>BCL6</i> Lymphomes B de haut grade, SAI
<b>Lymphomes B inclassables</b>	Lymphomes B inclassables, avec caractéristiques intermédiaires entre un LBDGC et un lymphome de Hodgkin classique
*entité provisoire LBDGC : lymphome B diffus à grandes cellules LBGC : lymphome B à grandes cellules	

Tableau 1 : Lymphomes B à grandes cellules

*Classification OMS 2016 des Tumeurs des Tissus Hématopoïétiques et Lymphoïdes*

### 1.3 - Clinique

Les patients atteints de LBDGC présentent une masse, rapidement croissante, pouvant atteindre un ou plusieurs sites ganglionnaires. Les patients peuvent être par ailleurs asymptomatiques, ou présenter des symptômes « B » (fièvre, sueurs nocturnes, perte de poids). En cas d'atteinte extra-ganglionnaire, les patients peuvent également présenter des symptômes plus spécifiques en fonction de l'organe atteint (3,5).

## 1.4 - Histologie

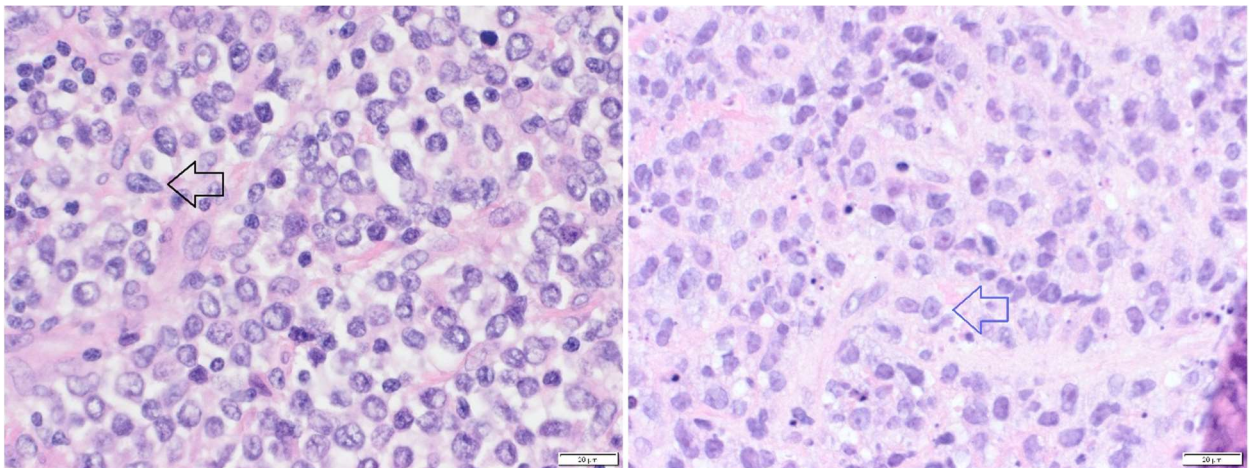
Histologiquement, on retrouve un ganglion dont l'architecture est en partie ou totalement détruite par une prolifération diffuse faite de cellules lymphoïdes de taille moyenne ou grande, pouvant également infiltrer le tissu péri-ganglionnaire. Les trois variantes morphologiques les plus communes sont, par ordre de fréquence :

- Centroblastique : cellules de taille moyenne à grande, avec noyaux renfermant 2 à 4 nucléoles collés à la membrane nucléaire, et cytoplasme amphophile peu abondant,

- Immunoblastique : cellules au noyau renfermant un seul nucléole central proéminent, et au cytoplasme plus abondant et basophile,

- Anaplasique : cellules de taille grande à très grande, avec noyaux bizarres et important pléomorphisme nucléaire.

La plupart du temps, on observe des centroblastes mêlés à des immunoblastes (3) (Figure 2).



*Figure 2 : Lymphome B diffus à grandes cellules (HE, X40)*

*flèche noire : centroblaste, flèche bleue : immunoblaste*

En immunohistochimie, les cellules tumorales expriment les marqueurs pan-B (PAX5, CD20, CD19, CD22, CD79a). Le CD30 est exprimé dans 10 à 20% des cas, le CD5 dans 5 à 10% des cas. L'index de prolifération évalué avec le Ki67 varie de 40% à plus de 90%. Les autres marqueurs à réaliser, pour définir la classification, le pronostic ou la prise en charge sont l'EBV, le BCL2, le BCL6, Le CD10, le MUM1 et MYC (3).

## **1.5 - Pronostic**

Avec l'association du Rituximab (anticorps monoclonal anti-CD20) à la classique chimiothérapie par CHOP (Cyclophosphamide Doxorubicine Vincristine Prednisone), le pronostic des patients atteints de LBDGC s'est nettement amélioré, avec des taux de survie globale avoisinant les 65%, sous R-CHOP (3,8,9). Le meilleur outil pour stratifier les patients selon leur pronostic à ce jour est l'IPI (International Prognostic Index) qui associe 5 variables clinico-biologiques (10,11). Cependant, on retrouve encore au sein de chaque groupe une hétérogénéité pronostique. Ceci s'explique par le fait que l'IPI ne reflète pas certaines caractéristiques cytogénétiques. Par exemple, des translocations des gènes *BCL2* et *MYC* sont associées à un plus faible pronostic (12,13).

## **2 - Lymphomes B diffus à grandes cellules primitifs du SNC**

### **2.1 - Définition**

Les lymphomes B diffus à grandes cellules primitifs du système nerveux central (LBDGC-SNC) sont des LBDGC se développant dans le cerveau, la moelle épinière, les leptoméniges ou les yeux. Les cas qui sont exclus de cette entité sont : les lymphomes de la dure-mère, les lymphomes B à grandes cellules intra-vasculaires, les lymphomes avec atteinte systémique, et les lymphomes associés à une immunodépression (3,4). Cette entité a été individualisée pour la première fois dans la 4<sup>ème</sup> édition de la classification OMS des tumeurs des tissus hématopoïétiques et lymphoïdes, en 2008 (14).

### **2.2 - Epidémiologie**

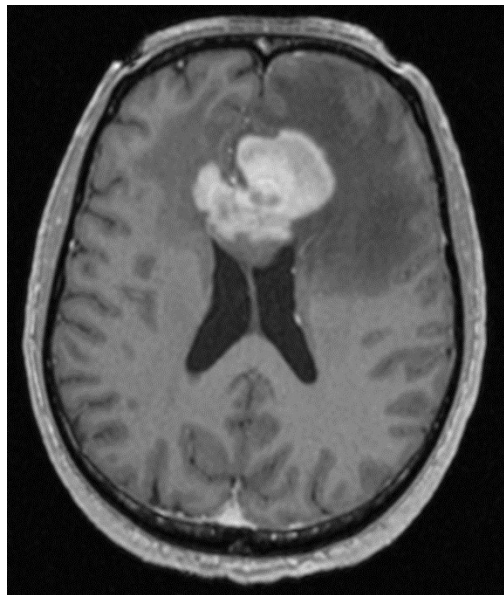
Les LBDGC-SNC sont des lymphomes rares : avec une incidence annuelle de 0.44 à 0.47 cas pour 100000 personnes, ils représentent 1% de l'ensemble des lymphomes et 2 à 3% des tumeurs du système nerveux central (3,15). Depuis le début des années 2000, il a été observé une augmentation de l'incidence de ces lymphomes, notamment chez les plus de 60 ans (3). Par ailleurs, il est à noter que les LBDGC-SNC constituent plus de 95% des lymphomes du système nerveux central (16).

Les LBDGC-SNC peuvent se déclarer à tout âge, avec un pic d'incidence entre la cinquième et la septième décade, et un âge moyen au diagnostic de 56 ans. Le sex-ratio est de 3 hommes pour 2 femmes (3).

### 2.3 - Clinique et imagerie

La présentation clinique des LBDGC-SNC est variable selon la région du SNC atteinte, et peut comprendre un ou plusieurs des symptômes suivants : troubles cognitifs, ralentissement psychomoteur, déficits neurologiques focaux, convulsions, signes d'hypertension intracrânienne. Ces symptômes peuvent évoluer sur plusieurs semaines (3,17).

La technique d'imagerie la plus sensible pour la détection des LBDGC-SNC est l'IRM. La présentation la plus fréquente est celle d'une masse unique relativement homogène, avec œdème péri-tumoral limité (Figure 3). La localisation la plus fréquemment retrouvée de cette pathologie est l'espace supra-tentoriel (3,17). Il a longtemps été difficile de différencier en imagerie les lymphomes primitifs du SNC des autres tumeurs malignes du SNC, mais des critères récents, comme la plus haute densité cellulaire et la vascularisation moins développée des lymphomes par rapports aux autres lésions ont permis d'affiner le diagnostic (18).



*Figure 3: IRM cérébrale : masse frontale correspondant à un lymphome du SNC*

### 2.4 - Pronostic et scores pronostiques

Les LBDGC-SNC ont un pronostic bien plus faible que leurs homologues systémiques. En effet le taux de survie à 5 ans de ces deux entités est de 26,9% et de 65,5%, respectivement (19). Malgré des taux de réponse élevés aux traitements de première ligne, les LBDGC-SNC montrent une forte proportion de rechutes (20). Cela suggère des propriétés particulières de ces tumeurs (pouvant être liées à leur topographie, au microenvironnement tumoral, ou encore à certaines caractéristiques moléculaires), dont certaines sont encore insuffisamment explorées.

Deux scores couramment utilisés permettent de stratifier les patients atteints de lymphomes primitifs du SNC selon leur pronostic. Le premier, l'International Extranodal Lymphoma Study Group (IELSG), indique cinq variables associées à un mauvais pronostic : l'âge supérieur à 60 ans, le statut de performance selon l'OMS supérieur à 1, un taux sanguin élevé de lactate dehydrogenase (LDH), une concentration en protéines élevée dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) et l'infiltration profonde du SNC (atteinte des régions péri-ventriculaires, des noyaux gris centraux, du tronc cérébral et/ou du cervelet). Ces variables permettent de classer les patients en trois groupes de risque : risque faible, intermédiaire ou élevé (21). Le deuxième, le Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) prognostic model, permet de classer les patients en trois groupes pronostiques : groupe 1 si l'âge est inférieur à 50 ans, groupe 2 si l'âge est supérieur ou égal à 50 ans avec un score de performance selon Karnofsky supérieur ou égal à 70, et enfin groupe 3, avec le moins bon pronostic, si l'âge est supérieur ou égal à 50 ans avec un score de performance selon Karnofsky inférieur à 70 (22).

## **2.5 - Histologie**

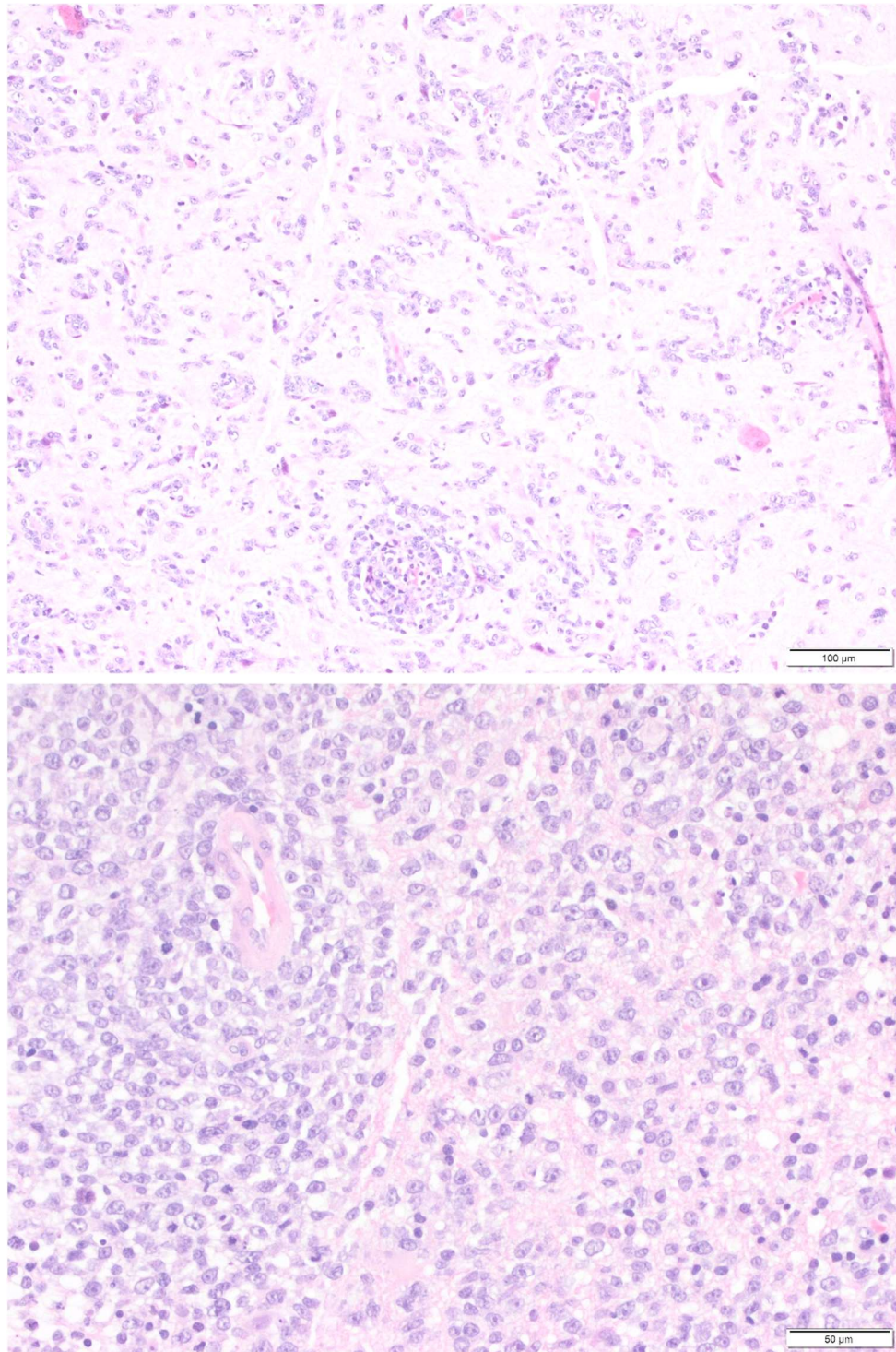
L'établissement du diagnostic histologique de LBDGC-SNC se fait préférentiellement sur biopsie stéréotaxique.

Les LBDGC-SNC sont généralement des tumeurs très cellulaires, constituées de cellules de grande taille aux noyaux pléomorphes avec nucléole mal défini. Ces lésions présentent un mode de croissance hétérogène, mal délimité avec une organisation angio-centrique (Figure 4). Ainsi, les cellules tumorales infiltrent le parenchyme neural et les espaces sous-arachnoïdiens depuis ces couronnes péri-vasculaires, avec un front d'invasion tantôt bien délimité, tantôt sous forme de cellules isolées. Il est souvent également observé de la nécrose, et/ou un infiltrat inflammatoire de contact (3,17,23).

En immunohistochimie, les cellules expriment les marqueurs B : PAX5, CD19, CD20, CD22, CD79a. Elles n'expriment pas le CD138. La majorité de ces tumeurs expriment BCL6 et MUM1, tandis que le CD10 est exprimé dans moins de 10% des cas. Sauf exceptions, ces tumeurs sont négatives pour l'EBV (3).

De plus, il a été observé que l'immense majorité des LBDGC-SNC sont de phénotype non-GC (sous-type ABC) (24).





*Figure 4 : Lymphome B diffus à grande cellules primitif du système nerveux central : organisation angio-centrique (Haut, HE x10) et cellularité élevée (Bas, HE x20)*

## **2.6 - Prise en charge**

Le passage de la barrière hémato-encéphalique représente une difficulté majeure dans le traitement des LBDGC-SNC. La pierre angulaire de ce traitement est le Méthotrexate, dont l'administration à hautes doses permet le passage de la barrière hémato-encéphalique(17). Il est

le plus souvent associé à d'autres agents tels que la Cytarabine et le Rituximab. D'autres prises en charge peuvent être proposées au cas par cas comme l'autogreffe de cellules souches ou une radiothérapie panencéphalique (25).

Cependant, la toxicité de ces traitements n'est pas négligeable (notamment la neurotoxicité secondaire à la radiothérapie panencéphalique) (15,17,26), et la prise en charge des LBDGC-SNC réfractaires ou en rechute est mal définie, manquant d'essais de puissance suffisante du fait de la faible incidence de cette pathologie. De nouveaux agents thérapeutiques prometteurs sont apparus mais sont encore à l'étude (27).

### **3 - Points de contrôle immunitaires/Immune Checkpoints**

L'homéostasie du système immunitaire est assurée par l'expression coordonnée de signaux inhibiteurs ou stimulateurs. Certains de ces mécanismes sont exploités par les tumeurs pour contrer la réaction immunitaire anti-tumorale.

#### **3.1 - Généralités sur les Immune Checkpoints**

Physiologiquement, les immune checkpoints, ou points de contrôle immunitaires, permettent une régulation de la réponse immunitaire, et ainsi le maintien de la tolérance du soi, en prévenant l'auto-immunité (28). Plusieurs voies de signalisation permettent de moduler en intensité et en durée la réponse des lymphocytes T, initiée à partir des TCR (T-Cell Receptors) (29).

Les immune checkpoints représentent l'un des mécanismes utilisés par les tumeurs pour échapper à l'immunité (30). En effet, les cellules tumorales ou certaines cellules du microenvironnement tumoral peuvent exprimer des protéines inhibitrices, résultant en une inactivation des lymphocytes T (29). Dans ce cadre, les deux voies les plus étudiées dans la littérature sont CTLA-4 et ses ligands CD80 et CD86, et PD-1 et ses ligands PD-L1 et PD-L2 (28).

Les premières applications thérapeutiques de l'étude des immune checkpoints sont apparues à la fin des années 1990, avec mise en évidence d'une réduction significative de la croissance tumorale suite à l'administration d'anticorps anti-CTLA-4, notamment chez des souris (31).



## **3.2 - PD-1/PD-L1**

### **3.2.1 - Mécanismes d'action**

La protéine PD-1 (Programmed Cell Death 1) est codée par le gène *PDCD1* situé en 2q37.3. Cette protéine est exprimée dans les lymphocytes T CD4 + et CD8+ activés, dans les lymphocytes B naïfs et activés, dans les cellules dendritiques myéloïdes et, à plus faible intensité, dans les monocytes (32).

Les deux ligands de PD-1 sont PD-L1 (Programmed Cell Death Ligand 1) et PD-L2 (Programmed Cell Death Ligand 2), codés respectivement par les gènes *CD274* et *PDCD1LG2*, situés tous deux en 9p24.1. Ils appartiennent à la famille des récepteurs B7, qui jouent un rôle de régulation de la réponse immunitaire. Dans les tissus normaux, l'expression de PD-L1 est observée sur les lymphocytes T folliculaires, les macrophages et un sous-groupe de cellules dendritiques du tissu lymphoïde, les syncytiotrophoblastes du placenta, et les cellules dendritiques dans les poumons et le foie. PD-L2 est exprimé à de faibles niveaux d'intensité, dans certains sous-groupes de lymphocytes T CD4 + ou CD8 + activés, les cellules dendritiques myéloïdes, les monocytes, les cellules endothéliales et les syncytiotrophoblastes placentaires. L'expression de PD-L1 et de PD-L2 est induite par des signaux inflammatoires tels que l'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ), le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF) et l'Interleukine 4 (IL-4)(32,33).

Physiologiquement, cette voie de signalisation a pour fonction de limiter certaines réponses immunitaires médiées par les lymphocytes T. Les ligands PD-L1 et PD-L2 exprimés par les cellules présentatrices d'antigène, les cellules dendritiques et les macrophages se lient au récepteur PD-1 sur les cellules T activées. Cette liaison induit, via plusieurs voies de signalisation, une inhibition de l'activation et de la prolifération cellulaire des lymphocytes T. Lors d'une stimulation antigénique prolongée, il se produit une régulation à la hausse de PD-1, provoquant un épuisement des lymphocytes, qui deviennent alors totalement dysfonctionnels (32,34–36).

### **3.2.2 - Applications**

Lors d'un processus néoplasique, le système immunitaire reconnaît les antigènes tumoraux, entraînant une réaction immunitaire visant à contrôler la prolifération tumorale. Pour échapper à ce mécanisme de défense de l'organisme, de nombreuses tumeurs solides utilisent la voie PD-1/PD-L1 et son action inhibitrice des lymphocytes T. Il a été démontré que l'expression

de PD-L1 par les cellules tumorales ou encore les macrophages du microenvironnement tumoral est associée à un pronostic plus faible dans plusieurs tumeurs solides ou hématologiques (34,37–40).

L'expression de PD-L1 par les cellules tumorales peut être extrinsèque (inductible) ou intrinsèque (constitutive). Les facteurs extrinsèques induisant une expression de PD-L1 par les cellules tumorales sont la sécrétion d'INF- $\gamma$  par les lymphocytes T, ce qui suggère un mécanisme de défense immunitaire adaptatif ; l'hypoxie, secondaire à une vascularisation anormale de la tumeur ; les Toll-like receptors (TLRs). Les facteurs intrinsèques susceptibles de mener à une expression de PD-L1 sont tout d'abord les anomalies cytogénétiques impliquant 9p24.1 : amplifications, gains, translocations. Les autres mécanismes intrinsèques sont l'infection à EBV, une activation constitutive de la voie JAK/STAT, une interruption de la 3'-Untranslated Region (3'-UTR) de PD-L1. Le mécanisme induisant l'expression de PD-L1 varie d'un type de cancer à un autre (32,41).

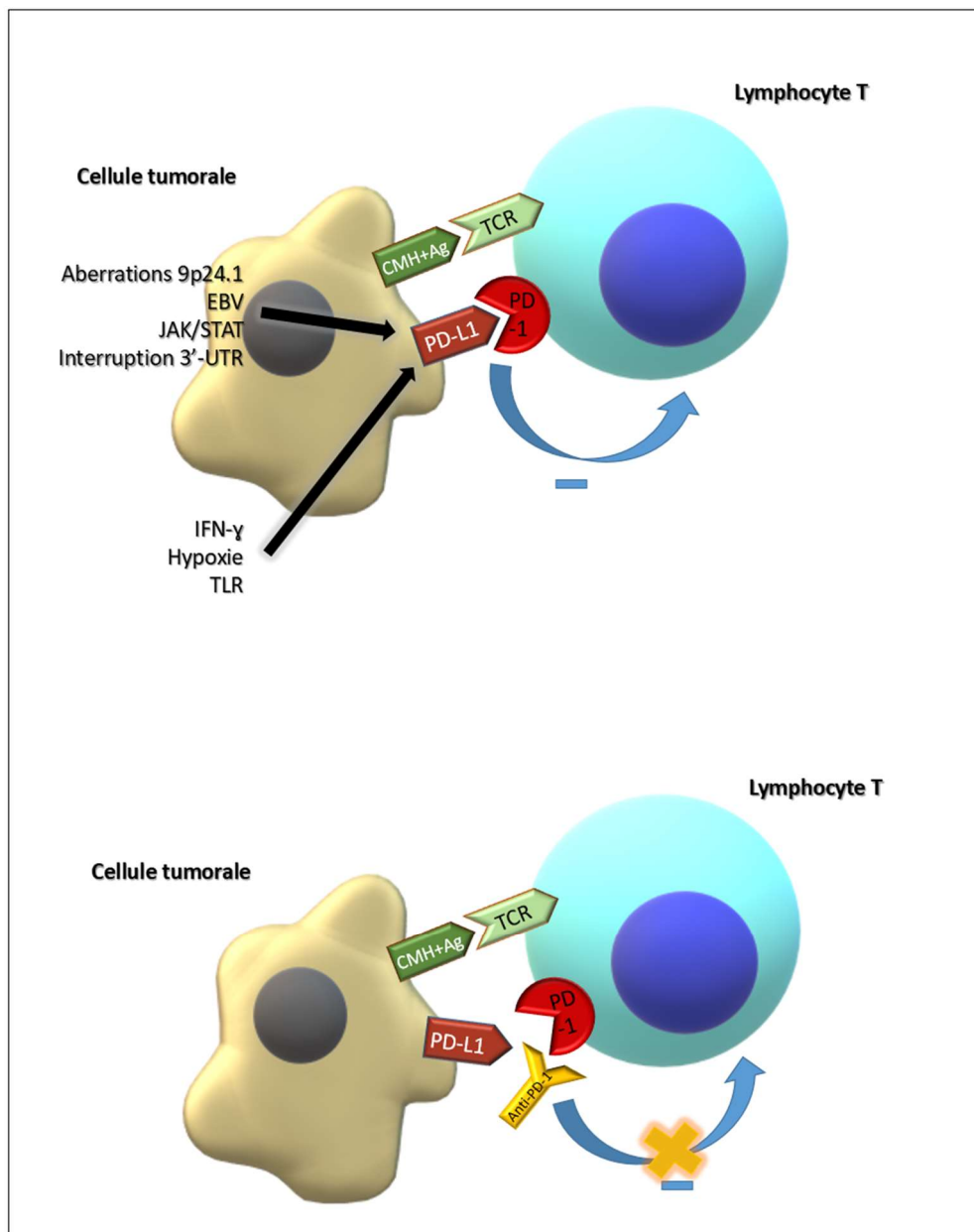
L'action inhibitrice de la voie PD-1/PD-L1 sur la réponse immunitaire anti-tumorale en fait une cible thérapeutique intéressante (Figure 5). Les anticorps anti-PD-1 (Nivolumab, Pembrolizumab, Pidilizumab) sont des anticorps monoclonaux qui empêchent l'interaction entre PD-1 et ses ligands PD-L1 et PD-L2, ce qui entraîne une restauration de la cytotoxicité des lymphocytes T, de la production de cytokines et de la prolifération cellulaire, et *in fine*, la lyse des cellules tumorales (34). Ces anticorps, Nivolumab en tête, ont montré leur efficacité dans plusieurs cancers solides et hémopathies, avec une sécurité satisfaisante. Notamment, on peut citer l'approbation récente du Nivolumab dans le traitement des lymphomes de Hodgkin réfractaires ou en rechute. Il est également intéressant de noter que la réponse aux anti-PD-1 est souvent corrélée à l'expression de PD-L1. Il existe également des anticorps anti-PD-L1 (Durvalumab, Atezolizumab, et Avelumab) encore en phase d'essai (34,42–45).

### **3.2.3 - PD-1/PD-L1 dans les LBDGC-SNC**

On retrouve dans la littérature des taux d'expression variables de PD-1 et PD-L1 dans les LBDGC-SNC : les lymphocytes du microenvironnement (TILs) expriment PD-1 dans 8 à 98% des cas, les cellules tumorales expriment PD-L1 dans 0 à 58% des cas, et les macrophages du microenvironnement (TAMs) expriment PD-L1 dans 20 à 83% des cas (23,46–53). Ces données sont mal corrélées à l'évolution clinique des patients, ou montrent des impacts pronostiques divergents. En effet, certaines études montrent, de manière non significative, que la présence de

TILs PD-1+ semble associée à une survie plus courte, tandis que l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales a tendance à être associée à un meilleur pronostic (48,49,51) ; alors qu'une autre étude montre au contraire que l'expression de PD-L1 est un facteur de mauvais pronostic, tandis qu'un fort nombre de TILs PD-1+ est un facteur de bon pronostic (53).

Il est retrouvé dans les LBDGC-SNC des altérations de 9p24.1, avec fréquemment des altérations du nombre de copies (CNA, copy number alterations) et, plus rarement des translocations des gènes de *PD-L1* ou *PD-L2*. Ces anomalies sont généralement associées à une surexpression de PD-L1 et/ou de PD-L2 (54–56).



*Figure 5 : Mécanismes d'expression et d'action de PD-L1 dans les cellules tumorales et application thérapeutique (Anticorps anti-PD-1)*

## **4 - Microenvironnement tumoral**

L'étude des différents constituants du microenvironnement tumoral a permis de mieux comprendre les interactions entre cellules tumorales et système immunitaire, et ainsi d'apporter des précisions pronostiques voire théranostiques. Les deux éléments les plus importants du microenvironnement tumoral sont les macrophages associés à la tumeur (Tumor-associated macrophages ou TAMs) et les lymphocytes infiltrant la tumeur (Tumor-infiltrating lymphocytes ou TILs).

### **4.1 - Tumor-associated macrophages (TAMs)**

Les macrophages peuvent être classés en deux lignées, qui diffèrent par leur immunophénotype et leur fonction : les macrophages M1 pro-inflammatoires, et les macrophages M2 pro-tumoraux. Cette différenciation, ou « polarisation », en macrophage M1 ou M2 se fait sous l'influence de facteurs du microenvironnement, et notamment de certaines molécules issues des cellules tumorales, dont le but est de détourner les fonctions des macrophages vers la promotion tumorale (57–60).

Les cellules tumorales jouent également un rôle sur le recrutement des macrophages au niveau du site tumoral : en effet, les TAMs proviennent des monocytes circulants sanguins, via l'action de différents facteurs dérivés des cellules tumorales, dont le plus important est la chimiokine CCL2 (61).

Les macrophages M1 sont, physiologiquement, des cellules effectrices luttant contre les agents pathogènes. En condition tumorale, ils produisent des cytokines pro-inflammatoires, permettant de stimuler la réponse immune anti-tumorale. Les macrophages M2, qui expriment CD163 et CD204, protègent les cellules tumorales, stimulent leur prolifération, favorisent l'angiogenèse, facilitent les métastases et contribuent à l'immunosuppression notamment via la production de cytokines, de facteurs de croissance et de protéases (30,57,62). Pour rappel, les TAMs peuvent également inhiber la réponse immune anti-tumorale via l'expression de PD-L1.

Dans la littérature, la densité de TAMs est le plus souvent corrélée à un pronostic plus faible, une moins bonne réponse au traitement ou encore à la croissance tumorale (57,63,64). Cependant, leur évaluation avec le CD68 seul montre des résultats contradictoires concernant la corrélation avec la survie ou le pronostic. L'étude des TAMs à l'aide de l'anticorps anti-CD163 (évaluation du nombre de macrophages CD163+ ou du ratio CD163/CD68), ciblant les

macrophages M2 pro-tumoraux, montre, en revanche, une bonne corrélation entre le nombre augmenté ou la proportion élevée de ces macrophages et un pronostic moins favorable, notamment dans les LBDGC (65–70).

A l'ère de l'immunothérapie, les TAMs peuvent être envisagés comme cible thérapeutique. En effet, il a été montré que la croissance tumorale et le nombre de sites métastatiques peuvent être considérablement réduits en diminuant la population de macrophages dans le tissu tumoral. Plusieurs options existent ou sont à l'étude pour y parvenir : bloquer le recrutement de monocytes par la tumeur, éliminer les TAMs présents dans le tissu tumoral, reprogrammer les TAMs en macrophages M1 pro-inflammatoires, ou encore de neutraliser certains effets pro-tumoraux des TAMs (57,62).

#### **4.2 - Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs)**

Il a été démontré qu'un nombre élevé de TILs ou une forte proportion de TILs parmi les composants du microenvironnement est le plus souvent associé à un meilleur pronostic (61,71) ; ou encore qu'à contrario un faible nombre de TILs est associé non seulement à un plus faible pronostic mais aussi à une résistance à l'immunothérapie (72,73). Le nombre de TILs CD4+ a aussi un impact sur le pronostic : il est associé à de meilleurs résultats notamment dans les LBDGC (71,73,74).

Les TILs CD4+ et CD8+ peuvent indépendamment avoir des effets anti-tumoraux, cependant il semble que la présence à la fois de lymphocytes T CD4+ et CD8+ activés soit nécessaire à une réponse immunitaire anti-tumorale optimale (75,76).

Les TILs peuvent également jouer un rôle dans l'immunité anti-tumorale via l'expression de PD-1.

#### **4.3 - Particularités du microenvironnement tumoral dans les LBDGC-SNC**

Le microenvironnement des lymphomes B dépend généralement du tissu où la tumeur est développée (77). Une des particularités principales du microenvironnement des LBDGC-SNC réside dans le fait que le SNC est un « site immun privilégié », étant séparé de la circulation générale par la barrière hémato-encéphalique (BHE). Le recrutement de cellules immunes circulantes est donc plus difficile, ce qui peut contribuer à une efficacité moindre de la réponse immunitaire anti-tumorale. En effet, dans le microenvironnement des LBDGC-SNC, l'infiltrat de

lymphocytes T mais aussi de macrophages, CD68+ et CD163+, est moindre que dans le microenvironnement des LBDGC systémiques (30,78,79).

La composition du microenvironnement tumoral des LBDGC-SNC est encore insuffisamment connue. Néanmoins, certaines études ont permis de souligner certaines caractéristiques. Il semble tout d'abord que les TILs dans les LBDGC-SNC soient composés en majorité de cellules T CD8+, ce qui correspond également aux données retrouvées dans les LBDGC-SAI (47,80,81). Les TAMs sont le plus souvent des macrophages de type M2 (pro-tumoraux), avec un impact pronostique : tandis qu'un nombre élevé de macrophages CD68+ est corrélé à un meilleur pronostic, un nombre élevé de macrophages CD204+ ou un ratio CD204/CD68 augmenté est associé à une plus faible survie (30,82).

Le pattern de croissance des LBDGC-SNC est également un élément à prendre en compte : comme il a été décrit précédemment, ils montrent une organisation angio-centrique, souvent associée à une infiltration des parois vasculaires. Il a également été mis en évidence le fait que, dans les LBDGC-SNC, les TILs, et notamment les TILs PD-1+, s'accumulent le plus souvent dans les zones péri-vasculaires. Cette répartition particulière des cellules tumorales et du microenvironnement serait due à l'expression de chimiokines spécifiques par les macrophages péri-vasculaires et les péricytes (23,47,81). L'ensemble de ces éléments semble jouer un rôle dans l'interaction entre les LBDGC-SNC et le système immunitaire.

Une meilleure connaissance des particularités du microenvironnement tumoral des LBDGC-SNC pourrait aider à expliquer leur pronostic péjoratif, mais aussi à pouvoir adapter au mieux la prise en charge de cette pathologie, notamment en deuxième ligne.

## **5 - Objectifs de l'étude**

Les lymphomes B diffus à grandes cellules primitifs du système nerveux central constituent donc une entité encore mal étudiée, du fait de sa faible incidence et de sa localisation, ne permettant pas l'obtention d'un matériel suffisamment abondant pour une utilisation à des fins de recherche, et dont le pronostic est bien plus faible que celui des LBDGC systémiques. Par ailleurs, les connaissances croissantes sur les immune checkpoints et le microenvironnement tumoral permettent d'améliorer la compréhension des interactions entre tumeur et système immunitaire, et ainsi de mieux évaluer le pronostic des patients mais aussi d'établir de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Les objectifs de cette étude sont donc d'une part d'étudier la voie PD-1/PD-L1 dans les LBDGC-SNC, en analysant l'expression immunohistochimique de PD-1 et PD-L1, et en recherchant des réarrangements du gène *PD-L1* par FISH (Fluorescence in situ hybridization) ; et d'autre part de mieux caractériser la composition du microenvironnement tumoral des LBDGC-SNC. Le but est de renforcer les données de la littérature, de comprendre les mécanismes d'expression de PD-L1, de mettre en évidence des facteurs pronostiques permettant de stratifier les patients mais aussi d'expliquer la différence de pronostic entre les LBDGC-SNC et leurs homologues systémiques, et enfin d'établir de potentielles cibles thérapeutiques.

## **MATERIEL ET METHODES**

### **1 - Sélection des patients**

57 patients des Centres Hospitalo-Universitaires (CHU) de Montpellier et Nîmes, nouvellement diagnostiqués pour un LBDGC-SNC entre Mars 2002 et Août 2018, sur biopsies pré-traitement, ont été rétrospectivement sélectionnés. Il s'agissait de patients immunocompétents, et les cas de lymphomes B de bas grade antérieurs ou concomitants ainsi que les cas de LBDGC systémiques avec atteinte secondaire du SNC ont été exclus.

L'étude a été approuvée par un comité d'éthique local (Centre des ressources biologiques, CRB, Montpellier) conformément à la déclaration d'Helsinki. Le consentement écrit des patients a été obtenu.

### **2 - Données cliniques**

Pour tous les patients, le sexe, l'âge au diagnostic ainsi que la date du diagnostic ont été recueillis. Les données suivantes ont également été recueillies lorsqu'elles étaient disponibles : le type de prise en charge initiale, la réponse thérapeutique, les événements carcinologiques au cours du suivi, la date et le statut du dernier suivi, ainsi que les différents éléments permettant d'établir les scores pronostiques du LBDGC-SNC (statut de performance de l'OMS, taux sanguin de LDH, protéinorachie, présence ou non d'une infiltration profonde du SNC).

Ces données ont été collectées à partir des logiciels de gestion du dossier médical patient du CHU de Montpellier, du CHU de Nîmes et de l'Institut du Cancer de Montpellier (ICM-Val d'Aurelle) selon le lieu de suivi et de prise en charge des patients.

### **3 - Etude histologique**

L'ensemble des cas a été relu par deux pathologistes référents en neuropathologie et en hématopathologie (VR et VS). Le diagnostic de LBDGC-SNC a été posé sur biopsies stéréotaxiques colorées par l'hématoxyline-éosine (HE) et selon la classification OMS 2016 des Tissus Hématopoïétiques et Lymphoïdes.



## 4 - Etude immunohistochimique et cytogénétique

### 4.1- Technique immunohistochimique

Les techniques immunohistochimiques ont été réalisées sur des coupes tissulaires de 3 µm d'épaisseur, provenant de blocs fixés en formol et inclus en paraffine, déparaffinées et réhydratées et soumises à une technique de récupération d'antigène. Ces coupes ont ensuite été immuno-colorées sur un automate de coloration Ventana Benchmark XT (Ventana Tucson, Arizona, États-Unis), en utilisant les anticorps suivants conformément aux instructions des fabricants : CD20, PAX5, CD3, CD5, CD4, CD8, CD10, BCL6, MUM1, P53, MYC, CD68, CD163, Ki-67, PD-1, PD-L1 (Tableau 2).

Anticorps	Clone	Fabricant	Dilution
CD20	L26	Dako, Denmark A/S	1:300
PAX5	DAK-PAX5	Dako, Denmark A/S	1:25
CD3	2GV6	PREP Kit Ventana, USA	–
CD5	4C7	Dako, Denmark A/S	1:100
CD4	SP35	PREP Kit Ventana, USA	–
CD8	SP57	PREP Kit Ventana, USA	–
CD10	56C6	Menarini, California USA	1:10
BCL6	G119E/A8	PREP Kit Ventana, USA	–
MUM1	MUM1p	Dako, Denmark A/S	1:50
P53	DO7	PREP Kit Ventana, USA	–
MYC	EP121	Epitomics, Burlingame, CA, USA	1:100
CD68	KP1	Dako, Denmark A/S	1:400
CD163	MRQ-26	PREP Kit Ventana, USA	–
KI-67	30-sept	PREP Kit Ventana, USA	–
PD-1	NAT105	Abcam, Paris, France	1:100
PD-L1	E1L3N	Cell signaling, Leiden, The Netherlands	1:200

*Tableau 2 : Caractéristiques des anticorps utilisés*

L'association avec l'EBV a été étudiée par hybridation in situ en utilisant une sonde EBER (EBV-encoded small RNA).

Selon les données de la littérature, l'expression des protéines MUM1, MYC et P53 était considérée comme positive si un marquage nucléaire était observé respectivement dans au moins 30%, 40% et 10% des cellules tumorales (10,83).

L'ensemble des immunohistochimies ont été lues par deux pathologistes (VS et MP), en aveugle des données cliniques.

#### **4.2 - Evaluation de l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales**

Afin de mieux évaluer l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales, un double marquage PAX5/PDL1 a été réalisé. En effet, les cellules marquées à la fois par le marqueur B PAX5 et par PD-L1 pouvaient avec certitude être identifiées comme des cellules tumorales exprimant PD-L1. Ceci a permis de ne pas considérer à tort une simple expression de PD-L1 par les cellules du microenvironnement tumoral comme étant une expression de PD-L1 par les cellules tumorales. Ainsi, le pourcentage de cellules tumorales exprimant PD-L1 correspondait au pourcentage de cellules avec double marquage parmi l'ensemble des cellules marquées par PAX5.

Pour PD-L1, une expression positive était retenue devant un marquage membranaire et/ou cytoplasmique, d'intensité quelconque, dans au moins 1% des cellules tumorales (84). La positivité de PD-1 était également retenue en cas de marquage membranaire et/ou cytoplasmique, de toute intensité, dans au moins 1% des cellules tumorales (85).

#### **4.3 - Evaluation de la composition du microenvironnement**

Concernant les TAMs, le CD68 a été utilisé comme marqueur « pan-macrophage » (macrophages M1 et M2), et le CD163 comme marqueur des macrophages M2. La densité de macrophages, estimée à l'aide de l'anticorps anti-CD68 a été évaluée de manière semi-quantitative, définissant quatre groupes : (0) absent, (1) faible, (2) intermédiaire et (3) élevé. Pour chaque cas, le ratio CD68+/CD163+ a été calculé. L'expression de PD-L1 par les TAMs a également été analysée, en utilisant le pourcentage de TAMs PD-L1+ (donc après exclusion des cellules double-marquées PAX5 et PD-L1) parmi les cellules CD68+.

Pour les TILs, leur densité, estimée à l'aide du CD3, a également été classée en quatre groupes de densité croissante : (0) absent, (1) faible, (2) intermédiaire et (3) élevé. La proportion de TILs CD4+ et CD8+ a été mesurée, afin de calculer le ratio de TILs CD4+/CD8+. Enfin, l'expression de PD-1 par les TILs a été évaluée et exprimée sous forme de taux TILs PD-1+/ TILs PD-L1+.

#### **4.4 - Etude par Hybridation in situ en fluorescence (FISH)**

Afin de mettre en évidence des réarrangements des gènes *PD-L1*, *cMYC*, *BCL6* et *BCL2*, des techniques FISH sur noyaux interphasiques ont été réalisées, suivant le protocole suivant :

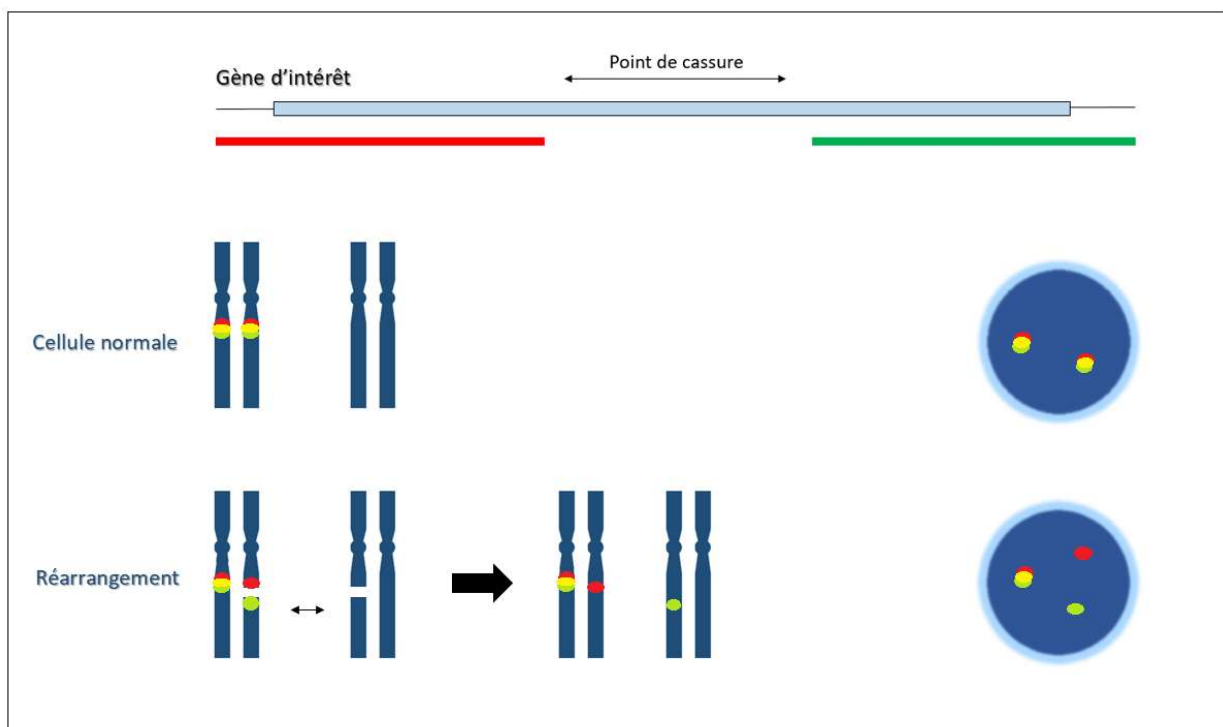
- réalisation de lames blanches avec coupes tissulaires de 3 µm,
- chauffage des lames à 56°C avec le système ThermoBrite,
- déparaffinage des lames dans un bain de Xylène, puis réhydratation de lames dans des bains d'alcool successifs, de concentration décroissante (100°, 90°, 80°, 70°),
- mise des lames dans un bain de citrate à 96°C,
- digestion des membranes dans une solution de pepsine à 37,5°C,
- lavage des lames puis déshydratation dans des bains d'alcool successifs, de concentration croissante (70°, 80°, 90°, 100°),
- dépôt de 2,5 µL de sonde (*PD-L1*, *cMYC*, *BCL2* ou *BCL6*) sur les lames, au niveau d'une zone d'intérêt préalablement sélectionnée, à recouvrir avec des lamelles scellées à l'aide d'une colle spécifique (Ruber Cement),
- codénaturation des lames à 80°C (5 minutes) à l'aide du système ThermoBrite,
- mise en chambre humide des lames, placée au four à 39°C pour hybridation « over night »
- le lendemain, les lamelles sont retirées, puis lavage des lames dans des bains de solutions stringentes et coloration au DAPI,
- enfin, montage des lames avec du VectaShield et des grandes lamelles, et conservation à 4°C à l'abri de la lumière.

Les sondes utilisées (Tableau 3) sont toutes des sondes de séparation encore appelées « break-apart » ou « split signal ». Ce type de sonde permet de mettre en évidence le réarrangement d'un gène, indépendamment du gène partenaire. Dans une cellule normale, en l'absence de réarrangement, on obtiendra deux signaux de fusion, et en cas de réarrangement du gène sur un des chromosomes, on obtiendra un signal de fusion et un signal séparé (Figure 6).

Gène	Localisation	Sonde	Fabricant
PD-L1	9p24.1	CD274 Break Apart Probe	Empire Genomics
cMYC	8q24	Probe Y5410	Dako A/S
BCL2	18q21	Probe Y5407	Dako A/S
BCL6	3q27	Probe Y5408	Dako A/S

*Tableau 3 : Caractéristiques des sondes utilisées en FISH*

L'interprétation des résultats a été pratiquée sur images numérisées. L'acquisition de ces images a été réalisée à l'aide d'un microscope à fluorescence Leica Axioplan (Zeiss Axio Imager M1), équipé d'une caméra, couplé à la plateforme de numérisation Metafer, en association avec le logiciel de capture d'images ISIS (MetaSystem, FISH Imaging System). Ces images étaient acquises après détermination de zones d'intérêt. Une fois les images numérisées, elles étaient analysées via le logiciel TissueFish. Pour chaque cas, au minimum 100 noyaux ont été examinés. Les cas étaient considérés comme positifs pour un réarrangement si au minimum 15% des noyaux examinés montraient des signaux anormaux.



*Figure 6 : Schématisation d'une technique FISH avec sonde Break Apart*

## 5 - Analyses statistiques

Les tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel GraphPad Prism 6.0. Le test exact de Fisher a été utilisé pour calculer la p-value. Une p-value inférieure à 0.05 était considérée comme significative.

## RESULTATS

### 1 - Caractéristiques cliniques et suivi

Les caractéristiques de la population étudiée sont décrites dans le Tableau 4. L'âge moyen au diagnostic était 65,5 ans. Le sex ratio Hommes/Femmes était de 1.28 (32 hommes pour 25 femmes).

La durée moyenne du suivi des patients était de 20 mois (1-72). La plupart des patients ont été traités par chimiothérapie à base de Méthotrexate à hautes doses, associée au Rituximab. Une majorité des patients a montré une évolution défavorable, 66% (33/50) d'entre eux présentant une rechute ou une progression au cours du suivi, et 47,2% (25/53) étant décédés de la maladie.

### 2 - Caractéristiques immuno-phénotypiques et moléculaires

La plupart des cas (42/53) présentait un phénotype non-GC, sans différence significative entre les patients avec cellules tumorales PD-L1 positives ou avec cellules tumorales sans expression de PD-L1.

En immunohistochimie, il existait une positivité de MYC dans 32,1 % des cas et de BCL2 dans 70,2% des cas. Cependant, il n'a pas été observé de réarrangement de *cMYC* ou *BCL2* en FISH.

Il a en revanche été retrouvé des réarrangements des gènes *BCL6* et *PD-L1* dans 22,2% (12/54) et chez 17% (8/47) des cas, respectivement.

### 3 - Voie PD-1/PD-L1

L'utilisation d'un double marquage PAX5/PD-L1 a mis en évidence une positivité des cellules tumorales dans 17,5% (10/57) des cas (Figure 7). Parmi ces cas, une positivité de PD-L1 était observée dans 30% des cellules tumorales au minimum, avec un taux moyen d'expression de PD-L de 61% (30%-100%).

Concernant l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales, elle n'était pas prédictive du pronostic des patients : il n'a pas été retrouvé de corrélation significative entre l'expression de PD-L1 et les différents paramètres cliniques, excepté une tendance à présenter un score pronostique MSKCC plus faible (meilleur pronostic) pour les patients avec expression de PD-L1 par les cellules tumorales ( $p=0.06$ ).

	Patients (n=57)	Patients avec cellules tumorales PD-L1 + (n=10)	Patients avec cellules tumorales PD-L1 - (n=47)	P value
<b>Patients</b>				
Age moyen, années (intervalle)	65,5 (41-89)	64 (46-89)	65,5 (41-84)	
Hommes, n (%)	32/57 (56,1)	4/10 (40)	28/47 (59,6)	
Femmes, n (%)	25/57 (43,9)	6/10 (60)	19/47 (40,4)	0,31
<b>MSKCC : groupe pronostique</b>				
Groupe 1, n (%)	8/56 (14,3)	1/9 (11,1)	7/47 (14,9)	
Groupe 2, n (%)	25/56 (44,6)	7/9 (77,8)	18/47 (38,3)	
Groupe 3, n (%)	23/56 (41,1)	1/9 (11,1)	22/47 (46,8)	<b>0,06*</b>
<b>Score pronostique IELSG</b>				
Faible, n (%)	9/36 (25)	2/6 (33,3)	7/30 (23,3)	
Intermédiaire, n (%)	15/36 (41,7)	4/6 (66,7)	21/30 (70)	
Elevé, n (%)	12/36 (33,3)	0/6 (0)	12/30 (40)	0,31**
<b>Prise en charge initiale</b>				
Palliative (radiothérapie +/- corticothérapie), n (%)	7/51 (13,7)	1/9 (11,1)	6/42 (14,3)	
Chimiothérapie + rituximab +/- radiothérapie +/- corticothérapie, n (%)	44/51 (86,3)	8/9 (88,9)	36/42 (85,7)	1
<b>Nombre de lignes de chimiothérapie</b>				
1, n (%)	15/43 (34,9)	3/7 (42,9)	12/36 (33,3)	
≥2, n (%)	28/43 (65,1)	4/7 (57,1)	24/36 (66,7)	0,68
<b>Evénements cliniques</b>				
RC après première ligne de traitement, n (%)	19/50 (38)	4/8 (50)	15/42 (35,7)	0,43
RC lors du dernier suivi, n (%)	20/53 (37,7)	5/8 (62,5)	15/45 (33,3)	
Vivant avec maladie lors du dernier suivi, n (%)	8/53 (15,1)	1/8 (12,5)	7/45 (15,6)	
Décès du à la maladie, n (%)	25/53 (47,2)	2/8 (25)	23/45 (51,1)	0,13***
Rechute ou progression, n (%)	33/50 (66)	4/8 (50)	29/42 (69)	0,42
<b>Durée moyenne de suivi, mois (intervalle)</b>	20 (1-72)	23,4 (1-60)	19,1 (1-72)	

**Phénotype des cellules tumorales**

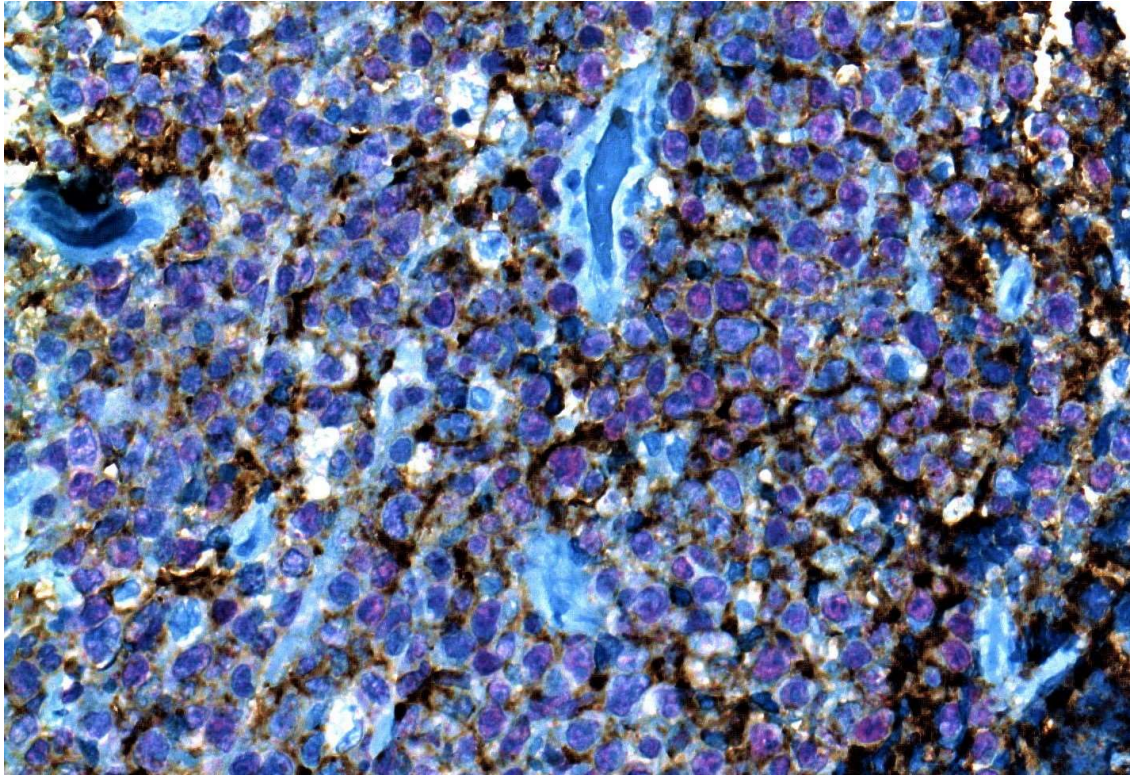
Phénotype non-GC, n (%)	42/53 (79,2)	7/9 (77,8)	35/44 (79,5)	
Phénotype GC, n (%)	11/53 (20,8)	2/9 (22,2)	9/44 (20,5)	1
cMYC positif, n (%)	18/56 (32,1)	2/10 (20)	16/46 (56,5)	0,47
BCL2 positif, n (%)	40/57 (70,2)	6/10 (60)	34/47 (70,8)	0,46
cMYC/BCL2 positif, n (%)	15/56 (26,8)	1/10 (10)	14/46 (30,4)	0,26
CD5 positif, n (%)	2/57 (3,5)	0/10 (0)	2/47 (4,3)	1
P53 positif, n (%)	14/55 (25,5)	2/8 (25)	12/47 (25,5)	1
EBER positif, n (%)	0/57 (0)	0/10 (0)	0/47 (0)	1
PD-L1 positif, n (%)	10/57 (17,5)	10/10 (100)	0/47 (0)	
<b>Cytogénétique</b>				
Réarrangement <i>BCL2</i> positif, n (%)	0/54 (0)	0/9 (0)	0/45 (0)	1
Réarrangement <i>BCL6</i> positif, n (%)	12/54 (22,2)	2/9 (22,2)	10/45 (22,2)	1
Réarrangement <i>cMYC</i> positif, n (%)	0/55 (0)	0/10 (0)	0/45 (0)	1
Réarrangement <i>PD-L1</i> positif, n (%)	8/47 (17)	8/10 (80)	0/37 (0)	<b>0,0001</b>

---

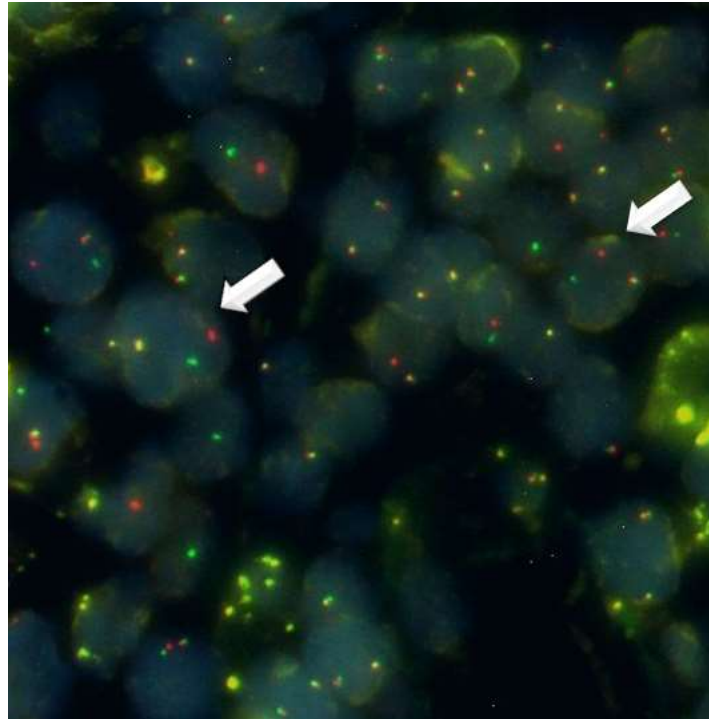
MSKCC: Memorial Sloan-Kettering Cancer Center ; IELSG: International Extranodal Lymphoma Study Group ; RC: rémission complète ; \* Comparaison des groupes MSKCC 1+2 versus groupe 3 ; \*\* Comparaison des groupes IELSG faible+intermédiaire versus groupe IELSG élevé ; \*\*\* Comparaison de RC versus vivants avec maladie+décès dus à la maladie

*Tableau 4 : Caractéristiques cliniques, immuno-phénotypiques et cytogénétiques de la population étudiée*





*Figure 7 : Double marquage PAX5/PDL1, x40. Marquage cytoplasmique marron avec l'anticorps anti-PD-L1 et marquage nucléaire rouge avec l'anticorps anti-PAX5*



*Figure 8 : FISH PD-L1, noyaux montrant un signal de fusion et deux signaux, rouge et vert séparés (flèches) témoins d'une translocation du gène PD-L1*



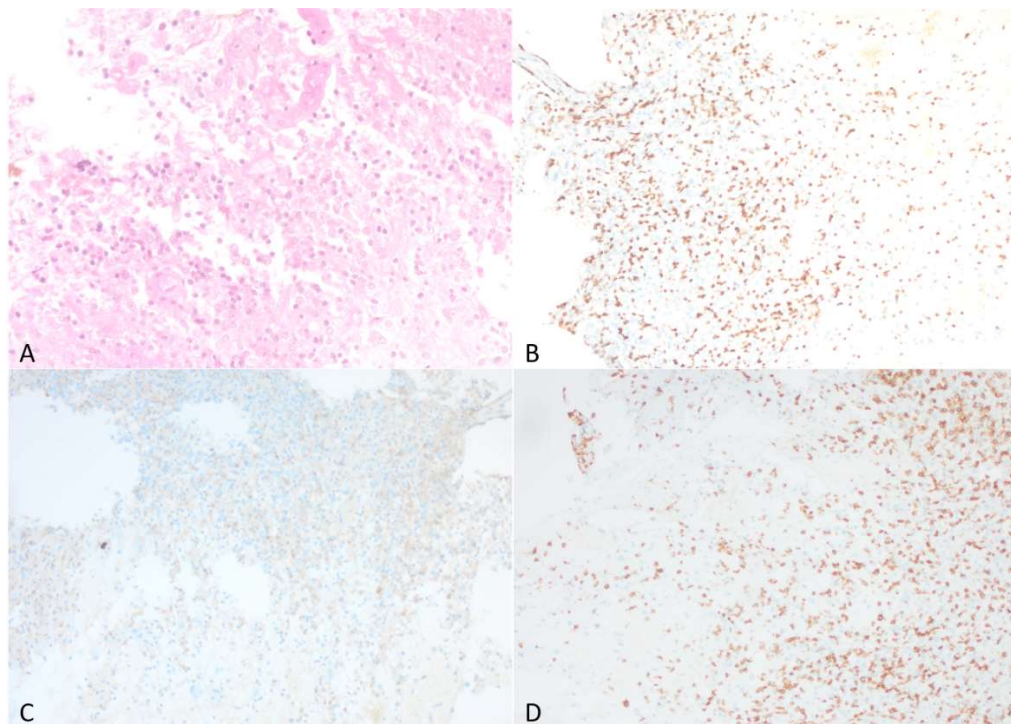
Par ailleurs, il a été retrouvé une association significative de l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales avec la mise en évidence d'une translocation du gène de *PD-L1* en FISH ( $p=0,0001$ )(Figures 7 et 8). Parmi les cas avec expression de PD-L1 dans les cellules tumorales, seulement deux ne présentaient pas de translocation de *PD-L1* associée. L'un de ces deux cas était de phénotype GC, et montrait à la fois des TILs PD-1+ et des TAMs PD-L1+. Le deuxième cas était de phénotype non GC, et montrait des TILs PD-1+, sans TAMs PD-L1+. Enfin, ces deux cas étaient EBER négatifs.

#### 4 - Microenvironnement tumoral

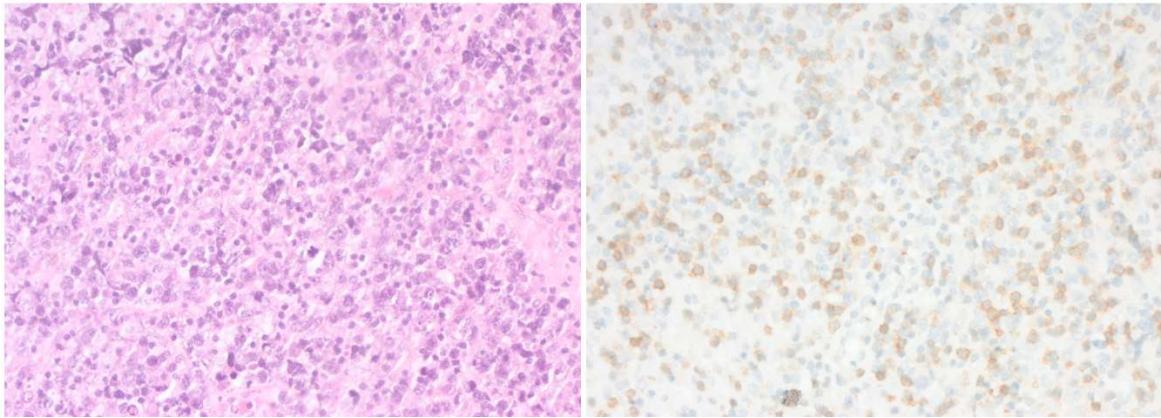
##### 4.1 - Composition du microenvironnement tumoral

Les caractéristiques du microenvironnement tumoral sont présentées dans le Tableau 5.

Il a été mis en évidence, à l'aide de l'anticorps anti-CD3, des TILs dans l'ensemble des cas étudiés. Ceux-ci étaient le plus souvent faiblement abondants. Les TILs étaient constitués essentiellement de lymphocytes CD8+ (Figure 9), avec un ratio CD4+/CD8+<1 dans 52,7% (29/55) des cas. Une forte proportion de cas (69,6%) montrait une expression de PD-1 par les TILs (Figure 10).



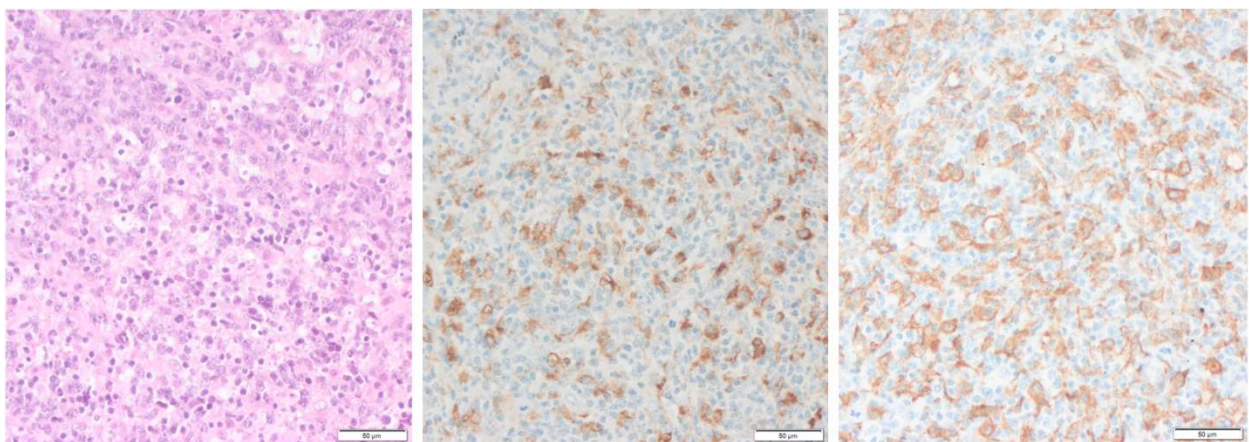
*Figure 9 : Etude immunohistochimique des TILs  
(A : HE x20 ; B : CD3 x10 ; C : CD4 X10 ; D : CD8 x10)*



*Figure 10 : Expression de PD-1 par les TILs (Gauche : HE x20, Droite : PD-1 x20)*

L'analyse de la densité de TAMs à l'aide de l'anticorps anti-CD68 a révélé l'absence de macrophage dans 10,9% (6/55) des cas, une faible densité de macrophages dans 45,5% (25/55) des cas, une densité modérée dans 34,5% (19/55) des cas et une forte densité dans 9,1% (5/55) des cas. Les cellules CD68+ montraient dans une grande majorité des cas (95,9%) une co-expression de CD163, révélant que la plupart des TAMs correspondent à des macrophages M2 (Figure 11). Les TAMs montraient généralement une expression de PD-L1 (28/49, 57,1%), et rarement une expression de PD-1 (3/37, 6,4%).

Il n'a pas été identifié de corrélation entre l'expression de PD-1 dans les TILs et l'expression de PD-L1 dans les cellules tumorales ( $p=0,25$ ). Néanmoins, l'expression de PD-L1 dans les cellules tumorales était significativement associée à une densité élevée de TAMs ( $p=0,015$ ) et tendait à être corrélée à une densité élevée de TILs ( $p=0,06$ ).



*Figure 11 : Etude immunohistochimique des TAMs : mise en évidence de macrophages M2 (Gauche : HE x20, Milieu : CD68 x20, Droite : CD163 x20)*

	Patients (n=57)	Patients avec cellules tumorales PD-L1+ (n=10)	Patients avec cellules tumorales PD-L1- (n=47)	P value
<b>TILs</b>				
<b>Densité de TILs</b>				
0, n (%)	0/57 (0)	0/10 (0)	0/47 (0)	
1, n (%)	38/57 (66,7)	4/10 (40)	34/47 (72,3)	
2, n (%)	15/57 (26,3)	4/10 (40)	11/47 (23,4)	
3, n (%)	4/57 (7)	2/10 (20)	2/47 (4,3)	<b>0,06*</b>
<b>Ratio TILs CD4+/CD8+</b>				
CD4+/CD8+ =1, n (%)	17/55 (30,9)	2/10 (20)	15/45 (33,3)	
CD4+/CD8+ <1, n (%)	29/55 (52,7)	7/10 (70)	22/45 (48,9)	
CD4+/CD8+ >1, n (%)	9/55 (16,4)	1/10 (10)	8/45 (17,8)	1
<b>TILs PD-1+, n (%)</b>	39/56(69,6)	9/10 (90)	30/46 (66,2)	0,25
<b>TAMs</b>				
<b>Densité de TAMs</b>				
0, n (%)	6/55 (10,9)	2/10 (20)	4/45 (8,9)	
1, n (%)	25/55 (45,5)	0/10 (0)	25/45 (55,6)	
2, n (%)	19/55 (34,5)	5/10 (50)	14/45 (31,1)	
3, n (%)	5/55 (9,1)	3/10 (30)	2/45 (4,4)	<b>0,015*</b>
<b>Ratio CD68+/CD163+</b>				
CD68+/CD163+ =1, n (%)	47/49 (95,9)	7/7 (100)	40/42 (95,2)	
CD68+/CD163+ >1, n (%)	2/49 (4,1)	0/7 (0)	2/42 (4,8)	1
<b>TAMs PD-L1+, n (%)</b>	28/49 (57,1)	7/10 (70)	21/39 (53,8)	0,48
<b>TAMs PD-1+, n (%)</b>	3/47 (6,4)	0/7 (0)	3/40 (7,5)	1

TILs: tumor-infiltrating lymphocytes ; TAMs: tumor associated macrophages ; \* Comparaison 0+1 versus 2+3 ; \*\* Comparaison CD4+/CD8 + ≤1 versus >1

*Tableau 5 : Composition du microenvironnement tumoral*

#### **4.2 - Microenvironnement tumoral et pronostic**

Les Tableaux 6 et 7 décrivent la corrélation entre les différents paramètres microenvironnementaux et les différents paramètres clinico-pathologiques.

La densité de TILs et le ratio CD4+/CD8+ n'étaient significativement associés à aucun des paramètres clinico-pathologiques étudiés, à l'exception d'une corrélation entre un ratio CD4+/CD8+ supérieur ou égal à 1 et un score pronostique MSKCC élevé. Par ailleurs, les patients avec des TILs PD-1+ montraient une meilleure évolution clinique. En effet, l'expression de PD-1 par les TILs était significativement corrélée à une rémission complète lors du dernier suivi, alors que les cas avec TILs PD-1- était significativement associés à un plus fort taux de rechute ou de progression, mais aussi à un plus fort taux de décès dus à la maladie.

La densité de TAMs ne s'est pas révélée prédictive de l'évolution clinique des patients. Bien que les patients avec une densité élevée de TAMs aient souvent été en rémission complète après le traitement de première ligne, il n'a pas été identifié d'impact significatif ni sur la présentation clinique lors du diagnostic (que ce soit avec le score pronostique MSKCC ou le score pronostique IELSG), ni sur le statut de la maladie lors du dernier suivi. En revanche, la présence de TAMs PD-L1+ était significativement corrélée à une meilleure survie : les patients avec TAMs PD-L1+ ont plus souvent montré une rémission complète, après la première ligne de traitement ou lors du dernier suivi, et ont présenté moins de rechutes ou progressions que les patient sans expression de PD-L1 par les TAMs.

	Densité élevée de TILs	Densité faible de TILs	P value	Ratio CD4+/ CD8+≥ 1	Ratio CD4+/ CD8+< 1	P value	TILs PD-1+	TILs PD-1-	P value
<b>Sexe</b>									
Homme, n (%)	10/19 (52,6)	22/38 (57,9)		16/26 (61,5)	17/29 (58,6)		21/39 (53,8)	11/17 (64,7)	
Femme, n (%)	9/19 (47,4)	16/38 (42,1)	0,78	10/26 (38,5)	12/29 (41,4)	1	18/39 (46,2)	6/17 (35,3)	0,56
<b>MSKCC : groupe pronostique</b>									
Groupe 1, n (%)	1/19 (5,3)	7/37 (19)		2/26 (7,7)	6/28 (21,4)		1/35 (2,9)	4/17 (23,5)	
Groupe 2, n (%)	10/19 (52,6)	15/37 (40,5)		9/26 (34,6)	15/28 (53,6)		19/35 (54,3)	6/17 (35,3)	
Groupe 3, n (%)	8/19 (42,1)	15/37 (40,5)	0,55*	15/26 (57,7)	7/28 (25)	<b>0,026</b>	15/35 (42,9)	7/17 (41,2)	<b>1*</b>
<b>Score pronostique IELSG</b>									
Faible, n (%)	4/12 (33,3)	5/24 (20,8)		4/17 (23,5)	5/18 (27,8)		5/22 (22,7)	4/13 (30,8)	
Intermediaire, n (%)	6/12 (50)	9/24 (37,5)		7/17 (41,2)	7/18 (38,9)		11/22 (50)	4/13 (30,8)	
Elevé, n (%)	2/12 (16,7)	10/24 (41,7)	0,26**	6/17 (35,3)	6/18 (33,3)	1	6/22 (27,3)	5/13 (38,4)	0,71**
<b>Prise en charge initiale</b>									
Palliative (radiothérapie +/- corticothérapie), n (%)	1/18 (5,6)	6/33 (18,2)		4/23 (17,4)	3/25 (12)		3/35 (8,6)	4/15 (26,7)	
Chimiothérapie + rituximab +/- radiothérapie +/-	17/18 (94,4)	27/33 (81,8)	0,4	19/23 (82,6)	22/25 (88)	0,67	32/35 (91,4)	11/15 (73,3)	0,18
<b>Nombre de lignes de chimiothérapie</b>									
1, n (%)	8/15 (53,3)	7/28 (25)		6/19 (31,6)	8/20 (40)		14/29 (48,3)	0/11 (0)	
≥2, n (%)	7/15 (46,7)	21/28 (75)	<b>0,09</b>	13/19 (68,4)	12/20 (60)	0,74	15/29 (51,7)	11/11 (100)	<b>0,004</b>
<b>Evénement clinique</b>									
RC après la première ligne de traitement, n (%)	9/16 (56,25)	10/34 (29,4)	0,11	9/22 (41)	9/20 (45)	1	17/30 (56,7)	1/11 (9,1)	<b>0,01</b>
RC lors du dernier suivi, n (%)	8/17 (47,1)	12/36 (33,3)		9/25 (36)	10/26 (38,5)		18/36 (50)	2/16 (12,5)	
Vivant avec maladie lors du dernier suivi, n (%)	1/17 (5,9)	7/36 (19,4)		4/25 (16)	4/26 (15,4)		6/36 (16,7)	2/16 (12,5)	
Décès du à la maladie, n (%)	8/17 (47,1)	17/36 (47,2)	0,38***	12/25 (48)	12/26 (46,1)	1	12/36 (33,3)	12/16 (75)	<b>0,01***</b>
Rechute ou progression, n (%)	8/15 (53,3)	25/35 (71,4)	0,33	17/25 (68)	15/23 (65,2)	1	18/34 (52,9)	15/16 (93,8)	<b>0,0008</b>

<b>Phénotype non-GC</b>									
Oui, n (%)	13/18 (72,2)	29/35 (82,9)		20/25 (80)	21/27 (77,8)		29/37 (78,4)	12/15 (80)	
Non, n (%)	5/18 (27,8)	6/35 (17,1)	0,48	5/25 (20)	6/27 (22,2)	1	8/37 (21,6)	3/15 (20)	1
<b>Cellules tumorales PD-L1+</b>									
Oui, n (%)	6/19 (31,6)	4/38 (10,5)		3/26 (11,5)	7/29 (24,1)		9/39 (23,1)	1/17 (5,9)	
Non, n (%)	13/19 (68,4)	34/38 (89,5)	<b>0,067</b>	23/26 (88,5)	22/29 (75,9)	0,3	30/39 (76,9)	16/17 (94,1)	0,25
<b>Réarrangement PD-L1 positif</b>									
Oui, n (%)	5/17 (29,4)	3/30 (10)		3/23 (13)	5/23 (21,7)		7/33 (21,2)	1/12 (8,3)	
Non, n (%)	12/17 (70,6)	27/30 (90)	0,12	20/23 (87)	18/23 (78,3)	0,69	26/33 (78,8)	11/12 (91,7)	0,42
<b>Réarrangement BCL6 positif</b>									
Oui, n (%)	4/17 (23,5)	8/37 (21,6)		5/24 (20,8)	7/28 (25)		10/39 (25,6)	2/14 (14,3)	
Non, n (%)	13/17 (76,5)	29/37 (78,4)	1	19/24 (79,2)	21/28 (75)	0,75	29/39 (74,4)	12/14 (85,7)	0,48

MSKCC: Memorial Sloan-Kettering Cancer Center ; IELSG: International Extranodal Lymphoma Study Group ; RC : rémission complète ; \* Comparaison groupes pronostiques MSKCC 1+2 versus groupe 3; \*\* Comparaison des groupes IELSG faible+intermediaire versus élevé; \*\*\* Comparaison RC versus vivants avec la maladie+décès dus à la maladie

*Tableau 6 : Distribution des paramètres cliniques et pathologiques en fonction de la densité de TILs et de leur expression de PD-1*

	Densité élevée de TAMs	Densité faible de TAMs	P value	TAMs PD-L1+	TAMs PD-L1-	P value
<b>Sexe</b>						
Homme, n (%)	16/24 (66,7)	15/31 (48,4)		20/28 (71,4)	8/21 (71,4)	
Femme, n (%)	8/24 (33,3)	16/31 (51,6)	0,27	8/28 (28,6)	13/21 (61,9)	<b>0,04</b>
<b>MSKCC : groupe pronostique</b>						
Groupe 1, n (%)	4/23 (17,4)	4/31 (12,9)		4/27 (14,8)	2/21 (9,5)	
Groupe 2, n (%)	10/23 (43,5)	13/31 (41,9)		13/27 (48,1)	9/21 (42,9)	
Groupe 3, n (%)	9/23 (39,1)	14/31 (45,2)	0,78	10/27 (37)	10/21 (47,6)	0,75*
<b>Score pronostique IELSG</b>						
Faible, n (%)	4/13 (30,8)	4/22 (18,2)		5/16 (31,3)	4/17 (23,5)	
Intermediaire, n (%)	5/13 (38,5)	10/22 (45,5)		5/16 (31,3)	8/17 (47,1)	
Elevé, n (%)	4/13 (30,8)	8/22 (36,4)	1	6/16 (37,5)	5/17 (29,4)	0,72**
<b>Prise en charge initiale</b>						
Palliative (radiothérapie +/- corticothérapie), n (%)	2/20 (10)	5/29 (17,2)		1/23 (4,3)	6/20 (30)	
Chimiothérapie + rituximab +/- radiothérapie +/- corticothérapie, n (%)	18/20 (90)	24/29 (82,8)	0,68	22/23 (95,7)	14/20 (70)	<b>0,04</b>
<b>Nombre de lignes de chimiothérapie</b>						
1, n (%)	8/17 (47,1)	7/24 (29,2)		10/19 (52,6)	3/14 (21,4)	
≥2, n (%)	9/17 (52,9)	17/24 (70,8)	0,33	9/19 (47,4)	11/14 (78,6)	<b>0,09</b>
<b>Événement clinique</b>						
RC après la première ligne de traitement, n (%)	11/15 (73,3)	8/23 (34,8)	<b>0,04</b>	13/19 (68,4)	3/14 (21,4)	<b>0,01</b>
RC lors du dernier suivi, n (%)	9/20 (45)	10/31 (32,3)		12/24 (50)	4/21 (19)	
Vivant avec maladie lors du dernier suivi, n (%)	4/20 (20)	4/31 (12,9)		5/24 (20,8)	1/21 (4,8)	
Décès du à la maladie, n (%)	7/20 (35)	17/31 (54,8)	0,39***	7/24 (29,2)	16/21 (79,2)	<b>0,06</b>
Rechute ou progression, n (%)	9/18 (50)	22/30 (73,3)	0,13	9/21 (42,9)	19/21 (90,5)	<b>0,002</b>



<b>Phénotype non-GC</b>						
Oui, n (%)	18/23 (78,3)	22/28 (78,6)		20/26 (76,9)	16/19 (84,2)	
Non, n (%)	5/23 (21,7)	6/28 (21,4)	1	6/26 (23,1)	3/19 (15,8)	0,71
<b>Cellules tumorales PD-L1+</b>						
Oui, n (%)	8/24 (33,3)	2/31 (6,5)		7/28 (25)	2/21 (9,5)	
Non, n (%)	16/24 (66,7)	29/31 (93,5)	<b>0,01</b>	21/28 (75)	19/21 (90,5)	0,27
<b>Réarrangement PD-L1 positif</b>						
Oui, n (%)	6/23 (26,1)	2/22 (9,1)		6/24 (25)	1/16 (6,3)	
Non, n (%)	17/23 (79,9)	20/22 (90,9)	0,24	16/24 (75)	15/16 (93,8)	0,21
<b>Réarrangement BCL6 positif</b>						
Oui, n (%)	6/23 (26,1)	6/29 (20,7)		9/27 (33,3)	2/18 (11,1)	
Non, n (%)	17/23 (79,9)	23/29 (79,3)	0,75	18/27 (66,7)	16/18 (88,9)	0,16

MSKCC: Memorial Sloan-Kettering Cancer Center ; IELSG: International Extranodal Lymphoma Study Group ; RC : rémission complète ; \* Comparaison groupes pronostiques MSKCC 1+2 versus groupe 3; \*\* Comparaison des groupes IELSG faible+intermédiaire versus élevé; \*\*\* Comparaison RC versus vivants avec la maladie+décès dus à la maladie

*Tableau 7 : Distribution des paramètres cliniques et pathologiques en fonction de la densité de TAMS et de leur expression de PD-L1*



## **DISCUSSION**

### **1 - Forces et limites de l'étude**

Cette étude présente plusieurs limites. On peut tout d'abord noter que certains cas étaient ininterprétables en immunohistochimie ou en FISH, entraînant une perte de puissance pour les données testées. Ces cas pouvaient être ininterprétables du fait du matériel à disposition, qui pouvait être insuffisant pour la réalisation de certaines techniques, ou encore en raison d'un délai trop important avant fixation en formol, qui peut potentiellement avoir un impact sur l'interprétation des résultats. Les échecs techniques peuvent également être dus à la réalisation de la technique en elle-même, et plus particulièrement en FISH, qui est une technique sensible, manuelle, opérateur-dépendant.

La représentativité des échantillons examinés constitue une autre limite de cette étude. S'agissant de biopsies stéréotaxiques, les échantillons disponibles sont en effet de très petite taille, et par conséquent parfois insuffisamment représentatifs de la tumeur étudiée. Ce manque de représentativité peut représenter une gêne en cas d'hétérogénéité d'expression d'une des protéines analysées : le risque est de surestimer ou sous-estimer la positivité de la protéine en question, créant un biais d'interprétation.

Une des forces de l'étude est le nombre de patients étudiés. Les LBDGC-SNC étant rares, les quelques études ayant auparavant étudié, dans cette pathologie, le microenvironnement tumoral ou la voie PD-1/PD-L1 ont concerné en moyenne 48 cas (5 à 114 cas étudiés). En ayant étudié les paramètres de 57 patients, la présente étude offre donc une puissance correcte au vu de l'incidence des LBDGC-SNC.

Les autres limites ou forces de l'étude, plus spécifiques de chaque paramètre étudié, sont discutées dans les parties correspondantes.

### **2 - Aspects cliniques et cellule d'origine**

La population étudiée a montré un âge moyen au diagnostic de 65,5 ans, ainsi qu'une légère prédominance masculine, données sensiblement comparables à celles retrouvées dans la littérature (3,15).

La plupart des patients ont montré une évolution défavorable, avec seulement 37,7% des patients en rémission complète lors du dernier suivi, et un fort taux de rechutes et de progressions, confirmant le pronostic sombre de cette pathologie (19,20).

Le phénotype prédominant parmi les lymphomes analysés était le phénotype non-GC (sous-type ABC), représentant 79,2% des cas, corroborant ainsi les données de la littérature (24,30).

### **3 - Voie PD1/PD-L1**

#### **3.1 - Evaluation de l'expression de PD-L1**

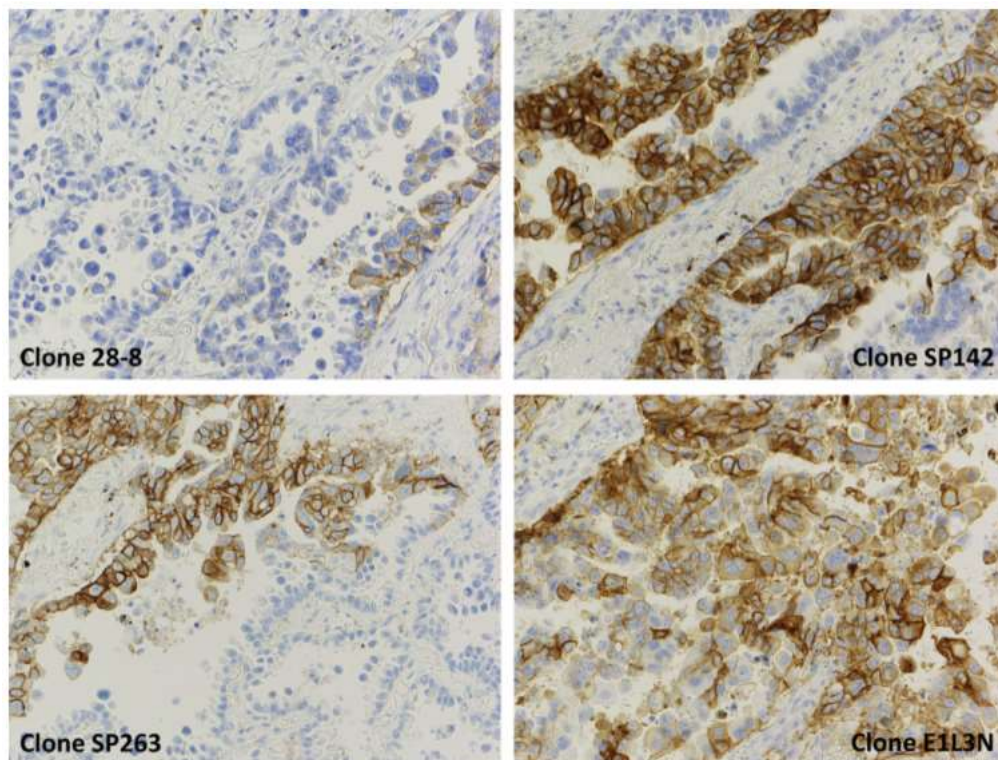
L'expression immunohistochimique de PD-L1 est d'évaluation délicate, et dépend de nombreux facteurs, avec un manque de standardisation qui explique une faible reproductibilité entre les différentes études, notamment dans les pathologies dont l'incidence est rare. Tout d'abord, le taux de positivité de PD-L1 varie selon le compartiment étudié : cellules tumorales ou microenvironnement (TAMs essentiellement). Il y a donc une nécessité de préciser le taux d'expression de chaque type cellulaire, à la fois pour l'interprétation et la comparaison des résultats (86). Cette nécessité est communément acquise, seules de rares études ne faisant pas cette distinction (51). Néanmoins, il n'est pas toujours évident en immunohistochimie de différencier cellules tumorales et cellules du microenvironnement. C'est pourquoi certains auteurs ont utilisé, dans différents types de lymphomes B, un double marquage PAX5/PD-L1 (38,39,87–90). Cette technique, facilement interprétable et relativement peu coûteuse, a permis de mieux préciser l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales par rapport au marquage PD-L1 seul : dans la littérature, les taux d'expression de PD-L1 par les cellules tumorales dans les LBDGC-SAI varient de 20 à 30% en cas de marquage seul, et de 10,5 à 11% en cas de double marquage (38,89,91). L'utilisation d'un double marquage permet également une meilleure reproductibilité.

Un autre facteur impactant l'évaluation de PD-L1 est le seuil de positivité choisi. Celui-ci varie dans la littérature entre 1% et 30% des cellules tumorales (91,92).

Enfin, le dernier facteur pouvant modifier les taux d'expression de PD-L1 est le clone de l'anticorps utilisé pour les marquages immunohistochimiques (Figure 12). Le clone utilisé dans cette étude (E1L3N, Cell Signaling), a déjà été utilisé de nombreuses fois dans la littérature sur des cas de LBDGC systémiques, et a montré un meilleur ratio signal sur bruit que le clone SP142 (37,87).

La présente étude est la première à utiliser le double marquage PAX5/PD-L1 pour l'évaluation de l'expression de PD-L1 dans les LBDGC-SNC, et retrouve une expression de PD-L1

dans 17,5%(10/57) des cas. Un précédent travail, effectué en 2016, sur la première partie de la cohorte ici étudiée (concernant les 32 patients diagnostiqués entre 2002 et 2015), avait retrouvé une expression de PD-L1 par les cellules tumorales dans 37% des cas, en utilisant le clone SP142 (Spring Bioscience) et un marquage PD-L1 seul (48). La différence constatée entre ces deux résultats souligne l'importance, pour l'obtention du résultat le plus fiable possible, du choix du clone utilisé et de la réalisation d'un double marquage, permettant une identification optimale du compartiment cellulaire d'intérêt.



*Figure 12 : Exemples de marquages immunohistochimiques comparant différents clones d'anticorps anti-PD-L1 : 28-8 (Dako, Carpinteria, CA), SP142 (Spring Bioscience, Pleasanton, CA), SP263 (Spring Bioscience), and E1L3N (Cell Signaling Technology, Danvers, MA). D'après Shukuya et Carbone, 2016(84)*

### **3.2 - Impact pronostique de la voie PD-1/PD-L1**

Dans cette série, il n'a pas été identifié de corrélation entre le pronostic des patients et l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales, ce qui coïncide avec les résultats de la littérature. En effet, comme énoncé en introduction de ce travail, les précédentes études menées à ce sujet ne mettaient que rarement en évidence des associations entre PD-L1 et pronostic. De plus, ces résultats étaient peu reproductibles, et souvent non significatifs, montrant parfois une association avec un meilleur pronostic, parfois avec un pronostic plus sombre (48,49,51,53).

Cependant, dans les LBDGC systémiques, l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales est associée de manière significative à un pronostic plus faible (37,38,54,93). Ceci pourrait être dû à un échappement immunitaire de la tumeur via l'activation de la voie PD-1/PD-L1, mais aussi au fait que l'expression de PD-L1 est plus souvent observée dans les LBDGC de phénotype non-GC, plus souvent associés à un mauvais pronostic (54,94,95). A noter, cette association entre expression de PD-L1 et phénotype non-GC n'a pas été retrouvée dans cette série.

Enfin, il a été démontré que, pour l'évaluation de l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales en immunohistochimie, un seuil de positivité plus élevé, établi à 30% des cellules tumorales, permettaient d'obtenir une meilleure corrélation avec le pronostic (54), ce qui est un point intéressant pour la réalisation d'études ultérieures. Néanmoins, dans cette étude, bien que le seuil de positivité ait été établi à 1%, aucun des cas positifs n'exprimait PD-L1 sur moins de 30% des cellules tumorales.

### **3.3 - Mécanismes d'expression de PD-L1**

Dans la littérature, les anomalies du chromosome 9p24.1 (gains, amplifications, translocations du locus du gène *PD-L1*) retrouvées dans les lymphomes B sont significativement corrélées à l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales (19,35,55,88,94,96). La présente série a mis en évidence un réarrangement du gène *PD-L1* dans 17% (8/47) des cas, et, plus particulièrement, dans 8 des 10 cas montrant une expression de PD-L1 par les cellules tumorales, individualisant donc deux cas pour lesquels l'expression de PD-L1 reste inexplicée. Ceci suggère l'existence d'autres mécanismes pouvant entraîner l'expression de PD-L1 dans les LBDGC-SNC. L'infection à EBV peut, dans certains cas de lymphomes, expliquer l'expression de PD-L1 (89). Cependant, il n'a été retrouvé aucun cas EBER positif. Par ailleurs, il est connu d'une part que les mutations oncogéniques du gène *MYD88* induisent une activation de la kinase JAK (97), et d'autre part que l'activation de la voie de signalisation JAK/STAT3 est associée à une stimulation de l'expression de PD-L1 dans plusieurs sous-types de lymphomes (35,98,99). Les mutations de *MYD88* étant fréquentes dans les LBDGC-SNC (20,52,100–102), on peut supposer que dans ces lymphomes, les mutations de *MYD88* sont associées à la réactivation de STAT3 par JAK, ce qui entraîne ensuite une stimulation de l'expression de PD-L1.

En résumé deux anomalies génétiques semblent être à l'origine de l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales dans les LBDGC-SNC : les translocations du gène *PD-L1* et les mutations du gène *MYD88*.

### 3.4 - Ouvertures et perspectives

L'expression de PD-L1 par les cellules tumorales semble plus élevée dans certains sous-types de LBDGC que dans les LBDGC systémiques : LBDGC-SNC, LBDGC primitifs cutanés de type jambe, LBDGC primitifs du médiastin, LBDGC primitifs testiculaires. Ceci est notamment dû à des gains, amplifications ou translocations plus fréquentes du locus *PD-L1* (55,96,103). Par exemple, on retrouve des translocations du locus du gène *PD-L1* dans jusqu'à 40% des cas dans les LBDGC primitifs cutanés de type jambe, et dans seulement 3% des cas dans les LBDGC systémiques (94,103). Ces sous-types de LBDGC sont donc plus susceptibles de répondre à une thérapie par anticorps anti-PD-1 ou anticorps anti-PD-L1.

Plus particulièrement, il est intéressant de faire le parallèle entre les LBDGC-SNC et les LBDGC primitifs testiculaires (LBDGC-T). En effet, ces deux entités, développées dans des sites immuns privilégiés, présentent des caractéristiques cliniques communes : faible pronostic, dissémination préférentielle dans d'autres sites immuns privilégiés (78). Il a également été mis en évidence que les LBDGC-SNC et les LBDGC-T partagent de nombreuses spécificités génétiques et moléculaires très rarement observées dans les LBDGC systémiques (55,56,78). Parmi elles, on notera les aberrations récurrentes en 9p24.1, associées à une surexpression de PD-L1, et les réarrangements récurrents du gène *BCL6*, qui sont retrouvés dans cette étude. Il est intéressant de noter que, comme dans ce travail, il n'a pas pu être montré d'impact pronostique de l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales dans les LBDGC-T (104). L'ensemble de ces caractéristiques, communes aux deux entités, pourraient d'une part expliquer leur pronostic, significativement moins bons que leurs homologues systémiques, et, d'autre part définir un profil spécifique des LBDGC développés dans des sites immuns privilégiés.

Les inhibiteurs des immune checkpoints ont déjà montré leur efficacité, notamment dans les lymphomes de Hodgkin, qui montrent une bonne sensibilité à ce type de thérapie, due à des altérations génétiques fréquentes en 9p24.1 et une forte expression de PD-L1 par les cellules tumorales (35,105). Des essais sont en cours sur les LBDGC, montrant des résultats satisfaisants sur la sécurité, mais plus variables sur l'efficacité de ces traitements (106,107). Les LBDGC-SNC, montrant des réarrangements plus fréquents du gène *PD-L1* ainsi qu'une expression plus fréquente de PD-L1 par les cellules tumorales que les LBDGC systémiques, constituent une bonne cible potentielle des anticorps anti-PD-1. De plus, il existe une importante nécessité de mettre au point de nouvelles stratégies thérapeutiques dans cette pathologie au pronostic sombre, et

dont la prise en charge est mal définie pour les formes réfractaires ou en rechute. Des essais utilisant des anticorps anti-PD-1 tels que le nivolumab chez des patients atteints de LBDGC-SNC réfractaires ou en rechute ont d'ores et déjà montré des réponses thérapeutiques intéressantes (56,105,108). Cependant, ces traitements ne sont pas dénués d'effets indésirables, et l'expression de PD-L1 ne semble pas toujours être un facteur prédictif de réponse au traitement suffisant, il y a donc un besoin de réaliser de nouvelles études afin de mieux définir un profil de patients « bons répondeurs » aux inhibiteurs des immune checkpoints (28,41,106,109).

#### **4 - Microenvironnement tumoral**

##### **4.1 - TAMs**

Deux principaux phénotypes de macrophages ont été décrits : les macrophages pro-inflammatoires (macrophages M1) et les macrophages pro-tumoraux (macrophages M2). Comme il a été vu précédemment, les macrophages M2 sont capables d'enrayer la réponse immunitaire anti-tumorale grâce à divers mécanismes. Ils exercent une partie de leur activité immunosuppressive en libérant certaines chimiokines (CCL17, CCL18 et CCL22), attirant ainsi préférentiellement des sous-ensembles de lymphocytes T dépourvus de fonction cytotoxique (110,111). Néanmoins dans cette série, bien que les TAMs aient présenté un phénotype M2, les TILs ont montré préférentiellement un phénotype cytotoxique CD8 +.

Dans ce travail, les cas avec expression de PD-L1 par les cellules tumorales montraient plus souvent une densité élevée de TAMs que les cas n'exprimant pas PD-L1. Cette association, rarement étudiée dans la littérature a déjà été rapportée dans les lymphomes de Hodgkin (37).

Dans la littérature, une forte densité de TAMs dans le micro-environnement tumoral est le plus souvent associée à un mauvais pronostic, et plus particulièrement, dans les LBDGC, une forte proportion de TAMs de phénotype M2 était également corrélée à un moins bon pronostic (58,66). Dans le présent travail, les TAMs étaient essentiellement constitués de macrophages M2 dans presque tous les cas, mais aucune corrélation entre la densité de TAMs et un pronostic défavorable n'a pu être mise en évidence. En revanche, ce travail a permis d'identifier une association entre la présence de TAMs PD-L1+ et une meilleure évolution clinique des patients. Une telle association a également été rapportée dans les LBDGC-T (104). Dans leur série de LBDGC primitifs cutanés, *Menguy et al.* ont mis en évidence un infiltrat de macrophages de phénotype M2 prédominant, et ont démontré que ceux-ci exprimaient PD-L1 (87). Néanmoins,

cette donnée n'était pas corrélée au pronostic des patients. Par contre, dans leur série de LBDGC primitifs intestinaux, *Ishikawa et al.* ont identifié que l'absence d'expression de PD-L1 par les cellules du microenvironnement était un facteur indépendant de plus faible survie globale (112). Ainsi, bien que, dans ce travail, la plupart des cas présentaient des TAMs de phénotype M2, généralement rapportés comme biomarqueurs péjoratifs dans les LBDGC, la présence de TAMs PD-L1+ a potentiellement pu annuler cet impact pronostique, et expliquerait donc l'absence de corrélation retrouvée entre la présence de TAMs M2 et un pronostic défavorable.

L'expression de PD-L1 par les cellules du microenvironnement tumoral est encore insuffisamment étudiée dans les lymphomes B, notamment parce que certains auteurs ne distinguent pas toujours les différents types cellulaires lors de l'évaluation de l'expression de PD-L1. De nouvelles études semblent donc nécessaires, en utilisant éventuellement un double marquage afin de mieux distinguer les macrophages du microenvironnement des cellules tumorales, pour obtenir des résultats plus concordants sur l'impact pronostique de l'expression de PD-L1 par les TAMs.

#### **4.2 - TILs**

Les TILs sont composées d'un mélange de lymphocytes ayant différentes fonctions et phénotypes. L'activation de TILs à la fois CD4+ et CD8+ est nécessaire pour une réponse immunitaire efficace (75,76,113). L'étude du microenvironnement tumoral dans différents types de cancers a montré des ratios CD4+/CD8+ très différents. Dans les LBDGC, il a été mis en évidence un infiltrat beaucoup plus riche en TILs CD8+ que dans de nombreux autres cancers (80). Cette caractéristique a déjà été retrouvée dans les LBDGC-SNC (47), ce qui a été confirmé dans cette étude.

Dans les lymphomes de Hodgkin classiques, un ratio CD4+/CD8+ élevé est associé à un échec du traitement (114), alors que, dans les LBDGC systémiques, un ratio CD4+/CD8+ supérieur ou égal à 2 est associé à une meilleure survie globale (71). Dans cette série, aucune association n'a pu être établie entre le pronostic des patients et le ratio CD4+/CD8+. Il a été rapporté que le seuil choisi pour définir un ratio CD4+/CD8+ élevé peut faire varier l'impact pronostique de ce ratio (71).

Une densité élevée de TILs est corrélée à un meilleur pronostic dans les LBDGC systémiques (71). En revanche, dans les LBDGC-SNC, les résultats sont divergents : des densités

élevées (115) ou faibles (79) de TILs ont été rapportés comme facteurs de pronostic péjoratif. Dans le présent travail, la densité de TILs n'a pas montré d'impact pronostique.

Néanmoins, les TILs ont tout de même pu être considérés comme représentant un facteur pronostique intéressant en prenant en compte leur expression de PD-1. En effet, ici, la présence de TILs PD1+ était significativement corrélée à une meilleure évolution clinique des patients. Bien que généralement corrélée à un meilleur pronostic dans les hémopathies malignes (39), dans les LBDGC, la présence de TILs PD1+ a été associée à un effet pronostique favorable, défavorable ou nul dans différentes études (95,116–119). Une telle discordance a également été observée dans les LBDGC-SNC (48,49,51,53). Ces différences pourraient résulter de disparités méthodologiques et techniques entre les études (120). Toutefois, le résultat obtenu ici est à rapprocher de celui observé dans la série de LBDGC-T de *Pollari et al.*, où la présence de TIL PD1+ prédisait une survie favorable (104).



## CONCLUSION

Les translocations du gène *PD-L1* représentent une altération cytogénétique récurrente dans les LBDGC-SNC, et sont associées à une expression immunohistochimique de PD-L1 par les cellules tumorales. Le microenvironnement tumoral des LBDGC-SNC est constitué majoritairement de macrophages M2 PD-L1 + et de lymphocytes T CD8+ PD-1+.

Les facteurs pronostiques mis en évidence dans ce travail sont l'expression de PD-L1 par les TAMs et l'expression de PD-1 par les TILs, corrélées avec un meilleur pronostic.

Les caractéristiques du microenvironnement et des immune checkpoints retrouvées dans les LBDGC-SNC sont comparables à celles des LBDGC primitifs testiculaires. Ces deux entités partagent par ailleurs d'autres similitudes, cliniques ou moléculaires, semblant définir un profil particulier des LBDGC développés dans des sites immuns privilégiés.

Si l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales ne s'est pas révélée être un facteur pronostique, elle pourrait en revanche être prédictive d'une bonne réponse aux inhibiteurs des immune checkpoints, comme les anticorps anti-PD-1. Des essais en cours concernant l'utilisation des anti-PD-1 dans les LBDGC-SNC et les LBDGC-T ont montré des premiers résultats prometteurs, dans des pathologies au pronostic sombre nécessitant de nouvelles stratégies thérapeutiques.

De nouvelles études semblent nécessaires pour mieux comprendre les interactions entre LBDGC-SNC et réponse immunitaire anti-tumorale, afin d'identifier ou de confirmer certains facteurs pronostiques et théranostiques de cette entité à la localisation particulière.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 1 mars 2015;136(5):E359-386.
2. Sabattini E, Bacci F, Sagranso C, Pileri SA. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues in 2008: an overview. *Pathologica*. juin 2010;102(3):83-7.
3. Swerdlow SHH ed. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues [Internet]. 2017 [cité 25 mars 2019]. 594 p. Disponible sur: <http://archive.org/details/whoclassificatio00swer>
4. Grimm KE, O'Malley DP. Aggressive B cell lymphomas in the 2017 revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. *Ann Diagn Pathol*. 1 févr 2019;38:6-10.
5. Li S, Young KH, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma. *Pathology (Phila)*. janv 2018;50(1):74-87.
6. Choi WWL, Weisenburger DD, Greiner TC, Piris MA, Banham AH, Delabie J, et al. A New Immunostain Algorithm Classifies Diffuse Large B-Cell Lymphoma into Molecular Subtypes with High Accuracy. *Clin Cancer Res*. 1 sept 2009;15(17):5494-502.
7. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 1 janv 2004;103(1):275-82.
8. Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 24 janv 2002;346(4):235-42.
9. Juárez-Salcedo LM, Sandoval-Sus J, Sokol L, Chavez JC, Dalia S. The role of anti-PD-1 and anti-PD-L1 agents in the treatment of diffuse large B-cell lymphoma: The future is now. *Crit Rev Oncol Hematol*. 1 mai 2017;113:52-62.
10. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, Connors JM, Ben-Neriah S, Rogic S, et al. Concurrent Expression of MYC and BCL2 in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone. *J Clin Oncol*. 1 oct 2012;30(28):3452-9.
11. Blay J, Gomez F, Sebban C, Bachelot T, Biron P, Guglielmi C, et al. The International Prognostic Index correlates to survival in patients with aggressive lymphoma in relapse: analysis of the PARMA trial. *Parma Group*. *Blood*. 15 nov 1998;92(10):3562-8.
12. Visco C, Tzankov A, Xu-Monette ZY, Miranda RN, Tai YC, Li Y, et al. Patients with diffuse large B-cell lymphoma of germinal center origin with BCL2 translocations have poor outcome, irrespective of MYC status: a report from an International DLBCL rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Haematologica*. févr 2013;98(2):255-63.

13. Xu-Monette ZY, Dabaja BS, Wang X, Tu M, Manyam GC, Tzankov A, et al. Clinical features, tumor biology, and prognosis associated with MYC rearrangement and Myc overexpression in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with rituximab-CHOP. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc.* déc 2015;28(12):1555-73.
14. SH S, E C, NL H, ES J, SA P, H S, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues [Internet]. Disponible sur: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Iarc-Classification-Of-Tumours/WHO-Classification-Of-Tumours-Of-Haematopoietic-And-Lymphoid-Tissues-2008>
15. Löw S, Han CH, Batchelor TT. Primary central nervous system lymphoma. *Ther Adv Neurol Disord.* 2018;11:1756286418793562.
16. Wu T, Kang H, Zhuang D, Ma Y, Lin Z, Suolitiken D, et al. The role of ABCB1 polymorphism as a prognostic marker for primary central nervous system lymphoma. *Ann Hematol.* 6 févr 2019;
17. Grommes C, DeAngelis LM. Primary CNS Lymphoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 juill 2017;35(21):2410-8.
18. Phillips EH, Fox CP, Cwynarski K. Primary CNS lymphoma. *Curr Hematol Malig Rep.* sept 2014;9(3):243-53.
19. Shi Y, Han Y, Yang J, Liu P, He X, Zhang C, et al. Clinical features and outcomes of diffuse large B-cell lymphoma based on nodal or extranodal primary sites of origin: Analysis of 1,085 WHO classified cases in a single institution in China. *Chin J Cancer Res Chung-Kuo Yen Cheng Yen Chiu.* févr 2019;31(1):152-61.
20. Zorofchian S, El-Achi H, Yan Y, Esquenazi Y, Ballester LY. Characterization of genomic alterations in primary central nervous system lymphomas. *J Neurooncol.* 1 déc 2018;140(3):509-17.
21. Ferreri AJM, Blay J-Y, Reni M, Pasini F, Spina M, Ambrosetti A, et al. Prognostic scoring system for primary CNS lymphomas: the International Extranodal Lymphoma Study Group experience. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 15 janv 2003;21(2):266-72.
22. Abrey LE, Ben-Porat L, Panageas KS, Yahalom J, Berkey B, Curran W, et al. Primary central nervous system lymphoma: the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center prognostic model. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 déc 2006;24(36):5711-5.
23. Sugita Y, Furuta T, Ohshima K, Komaki S, Miyoshi J, Morioka M, et al. The perivascular microenvironment in Epstein-Barr virus positive primary central nervous system lymphoma: The role of programmed cell death 1 and programmed cell death ligand 1. *Neuropathol Off J Jpn Soc Neuropathol.* avr 2018;38(2):125-34.
24. Camilleri-Broët S, Crinière E, Broët P, Delwail V, Mokhtari K, Moreau A, et al. A uniform activated B-cell-like immunophenotype might explain the poor prognosis of primary central nervous system lymphomas: analysis of 83 cases. *Blood.* 1 janv 2006;107(1):190-6.

25. Fox CP, Phillips EH, Smith J, Linton K, Gallop-Evans E, Hemmaway C, et al. Guidelines for the diagnosis and management of primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol.* févr 2019;184(3):348-63.
26. Rubenstein J, Ferreri AJM, Pittaluga S. Primary lymphoma of the central nervous system: epidemiology, pathology and current approaches to diagnosis, prognosis and treatment. *Leuk Lymphoma.* 2008;49 Suppl 1:43-51.
27. Illerhaus G, Schorb E, Kasenda B. Novel agents for primary central nervous system lymphoma: evidence and perspectives. *Blood.* 16 août 2018;132(7):681-8.
28. Hude I, Sasse S, Engert A, Bröckelmann PJ. The emerging role of immune checkpoint inhibition in malignant lymphoma. *Haematologica.* 2017;102(1):30-42.
29. Batlevi CL, Matsuki E, Brentjens RJ, Younes A. Novel immunotherapies in lymphoid malignancies. *Nat Rev Clin Oncol.* janv 2016;13(1):25-40.
30. Nam SJ, Kim S, Kwon D, Kim H, Kim S, Lee E, et al. Prognostic implications of tumor-infiltrating macrophages, M2 macrophages, regulatory T-cells, and indoleamine 2,3-dioxygenase-positive cells in primary diffuse large B-cell lymphoma of the central nervous system. *Oncoimmunology* [Internet]. 13 mars 2018 [cité 17 févr 2019];7(7). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5993494/>
31. Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science.* 22 mars 1996;271(5256):1734-6.
32. Ok CY, Young KH. Targeting the programmed death-1 pathway in lymphoid neoplasms. *Cancer Treat Rev.* mars 2017;54:99-109.
33. Collins M, Ling V, Carreno BM. The B7 family of immune-regulatory ligands. *Genome Biol.* 2005;6(6):223.
34. Wang Y, Wu L, Tian C, Zhang Y. PD-1-PD-L1 immune-checkpoint blockade in malignant lymphomas. *Ann Hematol.* 1 févr 2018;97(2):229-37.
35. Green MR, Monti S, Rodig SJ, Juszczynski P, Currie T, O'Donnell E, et al. Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood.* 28 oct 2010;116(17):3268-77.
36. Salmaninejad A, Valilou SF, Shabgah AG, Aslani S, Alimardani M, Pasdar A, et al. PD-1/PD-L1 pathway: Basic biology and role in cancer immunotherapy. *J Cell Physiol.* août 2019;234(10):16824-37.
37. Menter T, Bodmer-Haecki A, Dirnhofer S, Tzankov A. Evaluation of the diagnostic and prognostic value of PDL1 expression in Hodgkin and B-cell lymphomas. *Hum Pathol.* 2016;54:17-24.
38. Kiyasu J, Miyoshi H, Hirata A, Arakawa F, Ichikawa A, Niino D, et al. Expression of programmed cell death ligand 1 is associated with poor overall survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 5 nov 2015;126(19):2193-201.

39. Liu Y, Ma J, Yu K, Li M, Liu F, Yan Q, et al. Expression of programmed cell death 1/programmed cell death ligand 1 in the tumor microenvironments of primary gastrointestinal diffuse large B cell lymphomas. *Pathol - Res Pract.* 1 avr 2018;214(4):507-12.
40. Brody R, Zhang Y, Ballas M, Siddiqui MK, Gupta P, Barker C, et al. PD-L1 expression in advanced NSCLC: Insights into risk stratification and treatment selection from a systematic literature review. *Lung Cancer Amst Neth.* 2017;112:200-15.
41. Dong Z-Y, Wu S-P, Liao R-Q, Huang S-M, Wu Y-L. Potential biomarker for checkpoint blockade immunotherapy and treatment strategy. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med.* avr 2016;37(4):4251-61.
42. Taube JM, Klein A, Brahmer JR, Xu H, Pan X, Kim JH, et al. Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 oct 2014;20(19):5064-74.
43. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med.* 28 juin 2012;366(26):2443-54.
44. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, Halwani A, Scott EC, Gutierrez M, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 22 janv 2015;372(4):311-9.
45. von Keudell G, Younes A. Novel therapeutic agents for relapsed classical Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol.* janv 2019;184(1):105-12.
46. Nayyar N, White MD, Gill CM, Lastrapes M, Bertalan M, Kaplan A, et al. MYD88 L265P mutation and CDKN2A loss are early mutational events in primary central nervous system diffuse large B-cell lymphomas. *Blood Adv.* 5 févr 2019;3(3):375-83.
47. Berghoff AS, Ricken G, Widhalm G, Rajky O, Hainfellner JA, Birner P, et al. PD1 (CD279) and PD-L1 (CD274, B7H1) expression in primary central nervous system lymphomas (PCNSL). *Clin Neuropathol.* févr 2014;33(1):42-9.
48. Four M, Cacheux V, Tempier A, Platero D, Fabbro M, Marin G, et al. PD1 and PDL1 expression in primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma are frequent and expression of PD1 predicts poor survival. *Hematol Oncol.* déc 2017;35(4):487-96.
49. Hayano A, Komohara Y, Takashima Y, Takeya H, Homma J, Fukai J, et al. Programmed Cell Death Ligand 1 Expression in Primary Central Nervous System Lymphomas: A Clinicopathological Study. *Anticancer Res.* 2017;37(10):5655-66.
50. Miyasato Y, Takashima Y, Takeya H, Yano H, Hayano A, Nakagawa T, et al. The expression of PD-1 ligands and IDO1 by macrophage/microglia in primary central nervous system lymphoma. *J Clin Exp Hematop.* 2018;58(2):95-101.
51. Cho H, Kim SH, Kim S-J, Chang JH, Yang W-I, Suh C-O, et al. Programmed cell death 1 expression is associated with inferior survival in patients with primary central nervous system lymphoma. *Oncotarget.* 14 août 2017;8(50):87317-28.

52. Sethi TK, Kovach AE, Grover NS, Huang L-C, Lee LA, Rubinstein SM, et al. Clinicopathologic correlates of MYD88 L265P mutation and programmed cell death (PD-1) pathway in primary central nervous system lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 11 juin 2019;1-10.
53. Kim S, Nam SJ, Park C, Kwon D, Yim J, Song SG, et al. High tumoral PD-L1 expression and low PD-1+ or CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes are predictive of a poor prognosis in primary diffuse large B-cell lymphoma of the central nervous system. *Oncoimmunology*. 2019;8(9):e1626653.
54. Hu L-Y, Xu X-L, Rao H-L, Chen J, Lai R-C, Huang H-Q, et al. Expression and clinical value of programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) in diffuse large B cell lymphoma: a retrospective study. *Chin J Cancer*. déc 2017;36(1):94.
55. Chapuy B, Roemer MGM, Stewart C, Tan Y, Abo RP, Zhang L, et al. Targetable genetic features of primary testicular and primary central nervous system lymphomas. *Blood*. 18 févr 2016;127(7):869-81.
56. Nayak L, Iwamoto FM, LaCasce A, Mukundan S, Roemer MGM, Chapuy B, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed/refractory primary central nervous system and testicular lymphoma. *Blood*. 08 2017;129(23):3071-3.
57. Sawa-Wejksza K, Kandefer-Szerszeń M. Tumor-Associated Macrophages as Target for Antitumor Therapy. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2018;66(2):97-111.
58. Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol*. mars 2002;196(3):254-65.
59. Mu X, Shi W, Xu Y, Xu C, Zhao T, Geng B, et al. Tumor-derived lactate induces M2 macrophage polarization via the activation of the ERK/STAT3 signaling pathway in breast cancer. *Cell Cycle Georget Tex*. 2018;17(4):428-38.
60. Nie Y, Huang H, Guo M, Chen J, Wu W, Li W, et al. Breast Phyllodes Tumors Recruit and Repolarize Tumor-Associated Macrophages via Secreting CCL5 to Promote Malignant Progression, Which Can Be Inhibited by CCR5 Inhibition Therapy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 19 mars 2019;
61. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukoc Biol*. nov 2009;86(5):1065-73.
62. Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, Laghi L, Allavena P. Tumor-Associated Macrophages as Treatment Targets in Oncology. *Nat Rev Clin Oncol*. juill 2017;14(7):399-416.
63. Steidl C, Lee T, Shah SP, Farinha P, Han G, Nayar T, et al. Tumor-Associated Macrophages and Survival in Classic Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med*. 11 mars 2010;362(10):875-85.
64. Jakovic LR, Mihaljevic BS, Jovanovic MDP, Bogdanovic AD, Andjelic BM, Bumbasirevic VZ. The prognostic relevance of tumor associated macrophages in advanced stage classical Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 1 oct 2011;52(10):1913-9.
65. Marchesi F, Cirillo M, Bianchi A, Gately M, Olimpieri OM, Cerchiara E, et al. High density of CD68+/CD163+ tumour-associated macrophages (M2-TAM) at diagnosis is significantly

correlated to unfavorable prognostic factors and to poor clinical outcomes in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Hematol Oncol.* juin 2015;33(2):110-2.

66. Nam SJ, Go H, Paik JH, Kim TM, Heo DS, Kim CW, et al. An increase of M2 macrophages predicts poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone. *Leuk Lymphoma.* nov 2014;55(11):2466-76.
67. Klein JL, Nguyen TT, Bien-Willner GA, Chen L, Foyil KV, Bartlett NL, et al. CD163 immunohistochemistry is superior to CD68 in predicting outcome in classical Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol.* mars 2014;141(3):381-7.
68. Tan KL, Scott DW, Hong F, Kahl BS, Fisher RI, Bartlett NL, et al. Tumor-associated macrophages predict inferior outcomes in classic Hodgkin lymphoma: a correlative study from the E2496 Intergroup trial. *Blood.* 18 oct 2012;120(16):3280-7.
69. Wang J, Gao K, Lei W, Dong L, Xuan Q, Feng M, et al. Lymphocyte-to-monocyte ratio is associated with prognosis of diffuse large B-cell lymphoma: correlation with CD163 positive M2 type tumor-associated macrophages, not PD-1 positive tumor-infiltrating lymphocytes. *Oncotarget.* 17 janv 2017;8(3):5414-25.
70. Riihijärvi S, Fiskvik I, Taskinen M, Vajavaara H, Tikkala M, Yri O, et al. Prognostic influence of macrophages in patients with diffuse large B-cell lymphoma: a correlative study from a Nordic phase II trial. *Haematologica.* févr 2015;100(2):238-45.
71. Xu Y, Kroft SH, McKenna RW, Aquino DB. Prognostic significance of tumour-infiltrating T lymphocytes and T-cell subsets in de novo diffuse large B-cell lymphoma: a multiparameter flow cytometry study. *Br J Haematol.* mars 2001;112(4):945-9.
72. Leivonen S-K, Pollari M, Brück O, Pellinen T, Autio M, Karjalainen-Lindsberg M-L, et al. T-cell inflamed tumor microenvironment predicts favorable prognosis in primary testicular lymphoma. *Haematologica.* févr 2019;104(2):338-46.
73. Keane C, Gill D, Vari F, Cross D, Griffiths L, Gandhi M. CD4(+) tumor infiltrating lymphocytes are prognostic and independent of R-IP1 in patients with DLBCL receiving R-CHOP chemotherapy. *Am J Hematol.* avr 2013;88(4):273-6.
74. Ansell SM, Stenson M, Habermann TM, Jelinek DF, Witzig TE. CD4+ T-Cell Immune Response to Large B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma Predicts Patient Outcome. *J Clin Oncol.* 1 févr 2001;19(3):720-6.
75. Pardoll DM, Topalian SL. The role of CD4+ T cell responses in antitumor immunity. *Curr Opin Immunol.* 1 oct 1998;10(5):588-94.
76. Toes REM, Ossendorp F, Offringa R, Melief CJM. CD4 T Cells and Their Role in Antitumor Immune Responses. *J Exp Med.* 1 mars 1999;189(5):753-6.
77. Burger JA, Ghia P, Rosenwald A, Caligaris-Cappio F. The microenvironment in mature B-cell malignancies: a target for new treatment strategies. *Blood.* 15 oct 2009;114(16):3367-75.

78. Booman M, Szuhai K, Rosenwald A, Hartmann E, Kluijn-Nelemans H, de Jong D, et al. Genomic alterations and gene expression in primary diffuse large B-cell lymphomas of immune-privileged sites: the importance of apoptosis and immunomodulatory pathways. *J Pathol.* oct 2008;216(2):209-17.
79. Chang C, Lin C-H, Cheng A-L, Medeiros LJ, Chang K-C. Primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma has poorer immune cell infiltration and prognosis than its peripheral counterpart. *Histopathology.* nov 2015;67(5):625-35.
80. Steele KE, Tan TH, Korn R, Dacosta K, Brown C, Kuziora M, et al. Measuring multiple parameters of CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes in human cancers by image analysis. *J Immunother Cancer.* 06 2018;6(1):20.
81. Venetz D, Ponzoni M, Schiraldi M, Ferreri AJM, Bertoni F, Doglioni C, et al. Perivascular expression of CXCL9 and CXCL12 in primary central nervous system lymphoma: T-cell infiltration and positioning of malignant B cells. *Int J Cancer.* 15 nov 2010;127(10):2300-12.
82. Komohara Y, Horlad H, Ohnishi K, Ohta K, Makino K, Hondo H, et al. M2 macrophage/microglial cells induce activation of Stat3 in primary central nervous system lymphoma. *J Clin Exp Hematop JCEH.* 2011;51(2):93-9.
83. Chatzitoliou A, Venizelos I, Tripsiannis G, Anastassopoulos G, Papadopoulos N. Prognostic significance of CD95, P53, and BCL2 expression in extranodal non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol.* sept 2010;89(9):889-96.
84. Shukuya T, Carbone DP. Predictive Markers for the Efficacy of Anti-PD-1/PD-L1 Antibodies in Lung Cancer. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* 2016;11(7):976-88.
85. Krishnan C, Warnke RA, Arber DA, Natkunam Y. PD-1 expression in T-cell lymphomas and reactive lymphoid entities: potential overlap in staining patterns between lymphoma and viral lymphadenitis. *Am J Surg Pathol.* févr 2010;34(2):178-89.
86. Laurent C, Charmpi K, Gravelle P, Tosolini M, Franchet C, Ysebaert L, et al. Several immune escape patterns in non-Hodgkin's lymphomas. *Oncoimmunology.* août 2015;4(8):e1026530.
87. Menguy S, Prochazkova-Carlotti M, Beylot-Barry M, Saltel F, Vergier B, Merlio J-P, et al. PD-L1 and PD-L2 Are Differentially Expressed by Macrophages or Tumor Cells in Primary Cutaneous Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Leg Type. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(3):326-34.
88. Roemer MGM, Advani RH, Ligon AH, Natkunam Y, Redd RA, Homer H, et al. PD-L1 and PD-L2 Genetic Alterations Define Classical Hodgkin Lymphoma and Predict Outcome. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 2016;34(23):2690-7.
89. Chen BJ, Chapuy B, Ouyang J, Sun HH, Roemer MGM, Xu ML, et al. PD-L1 expression is characteristic of a subset of aggressive B-cell lymphomas and virus-associated malignancies. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 juill 2013;19(13):3462-73.
90. Mitteldorf C, Berisha A, Pfaltz MC, Broekaert SMC, Schön MP, Kerl K, et al. Tumor Microenvironment and Checkpoint Molecules in Primary Cutaneous Diffuse Large B-Cell Lymphoma-New Therapeutic Targets. *Am J Surg Pathol.* juill 2017;41(7):998-1004.



91. Burroni B, Broudin C, Damotte D, Laurent C. Les immune-checkpoints dans les hémopathies. *Ann Pathol.* 1 févr 2017;37(1):101-10.
92. Rimm DL, Han G, Taube JM, Yi ES, Bridge JA, Flieder DB, et al. A Prospective, Multi-institutional, Pathologist-Based Assessment of 4 Immunohistochemistry Assays for PD-L1 Expression in Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol.* 1 août 2017;3(8):1051-8.
93. Qiu L, Zheng H, Zhao X. The prognostic and clinicopathological significance of PD-L1 expression in patients with diffuse large B-cell lymphoma: a meta-analysis. *BMC Cancer.* 27 mars 2019;19(1):273.
94. Georgiou K, Chen L, Berglund M, Ren W, de Miranda NFCC, Lisboa S, et al. Genetic basis of PD-L1 overexpression in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood.* 16 2016;127(24):3026-34.
95. Kwon D, Kim S, Kim P-J, Go H, Nam SJ, Paik JH, et al. Clinicopathological analysis of programmed cell death 1 and programmed cell death ligand 1 expression in the tumour microenvironments of diffuse large B cell lymphomas. *Histopathology.* juin 2016;68(7):1079-89.
96. Twa DDW, Chan FC, Ben-Neriah S, Woolcock BW, Mottok A, Tan KL, et al. Genomic rearrangements involving programmed death ligands are recurrent in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood.* 27 mars 2014;123(13):2062-5.
97. Ngo VN, Young RM, Schmitz R, Jhavar S, Xiao W, Lim K-H, et al. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature.* 3 févr 2011;470(7332):115-9.
98. Ma C, Horlad H, Pan C, Yano H, Ohnishi K, Fujiwara Y, et al. Stat3 inhibitor abrogates the expression of PD-1 ligands on lymphoma cell lines. *J Clin Exp Hematop JCEH.* 5 juill 2017;57(1):21-5.
99. Horlad H, Ma C, Yano H, Pan C, Ohnishi K, Fujiwara Y, et al. An IL-27/Stat3 axis induces expression of programmed cell death 1 ligands (PD-L1/2) on infiltrating macrophages in lymphoma. *Cancer Sci.* nov 2016;107(11):1696-704.
100. Montesinos-Rongen M, Godlewska E, Brunn A, Wiestler OD, Siebert R, Deckert M. Activating L265P mutations of the MYD88 gene are common in primary central nervous system lymphoma. *Acta Neuropathol (Berl).* déc 2011;122(6):791-2.
101. Montesinos-Rongen M, Van Roost D, Schaller C, Wiestler OD, Deckert M. Primary diffuse large B-cell lymphomas of the central nervous system are targeted by aberrant somatic hypermutation. *Blood.* 1 mars 2004;103(5):1869-75.
102. Gonzalez-Aguilar A, Idbaih A, Boisselier B, Habbita N, Rossetto M, Laurence A, et al. Recurrent mutations of MYD88 and TBL1XR1 in primary central nervous system lymphomas. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 oct 2012;18(19):5203-11.
103. Zhou XA, Louissaint A, Wenzel A, Yang J, Martinez-Escala ME, Moy AP, et al. Genomic Analyses Identify Recurrent Alterations in Immune Evasion Genes in Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Leg Type. *J Invest Dermatol.* nov 2018;138(11):2365-76.

104. Pollari M, Brück O, Pellinen T, Vähämurto P, Karjalainen-Lindsberg M-L, Mannisto S, et al. PD-L1+ tumor-associated macrophages and PD-1+ tumor-infiltrating lymphocytes predict survival in primary testicular lymphoma. *Haematologica*. nov 2018;103(11):1908-14.
105. Hu B, Jacobs R, Ghosh N. Checkpoint Inhibitors Hodgkin Lymphoma and Non-Hodgkin Lymphoma. *Curr Hematol Malig Rep*. déc 2018;13(6):543-54.
106. Ansell SM, Minnema MC, Johnson P, Timmerman JM, Armand P, Shipp MA, et al. Nivolumab for Relapsed/Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma in Patients Ineligible for or Having Failed Autologous Transplantation: A Single-Arm, Phase II Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 févr 2019;37(6):481-9.
107. Lesokhin AM, Ansell SM, Armand P, Scott EC, Halwani A, Gutierrez M, et al. Nivolumab in Patients With Relapsed or Refractory Hematologic Malignancy: Preliminary Results of a Phase Ib Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 2016;34(23):2698-704.
108. Qiu Y, Li Z, Pouzoulet F, Vishnu P, Copland JA, Knutson KL, et al. Immune checkpoint inhibition by anti-PDCD1 (anti-PD1) monoclonal antibody has significant therapeutic activity against central nervous system lymphoma in an immunocompetent preclinical model. *Br J Haematol*. nov 2018;183(4):674-8.
109. Herbst RS, Soria J-C, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature*. 27 nov 2014;515(7528):563-7.
110. Adema GJ, Hartgers F, Verstraten R, de Vries E, Marland G, Menon S, et al. A dendritic-cell-derived C-C chemokine that preferentially attracts naive T cells. *Nature*. 12 juin 1997;387(6634):713-7.
111. Bonecchi R, Bianchi G, Bordignon PP, D'Ambrosio D, Lang R, Borsatti A, et al. Differential expression of chemokine receptors and chemotactic responsiveness of type 1 T helper cells (Th1s) and Th2s. *J Exp Med*. 5 janv 1998;187(1):129-34.
112. Ishikawa E, Kato S, Shimada K, Tanaka T, Suzuki Y, Satou A, et al. Clinicopathological analysis of primary intestinal diffuse large B-cell lymphoma: Prognostic evaluation of CD5, PD-L1, and Epstein-Barr virus on tumor cells. *Cancer Med*. déc 2018;7(12):6051-63.
113. Ho WY, Yee C, Greenberg PD. Adoptive therapy with CD8+ T cells: it may get by with a little help from its friends. *J Clin Invest*. 15 nov 2002;110(10):1415-7.
114. Alonso-Álvarez S, Vidriales MB, Caballero MD, Blanco O, Puig N, Martin A, et al. The number of tumor infiltrating T-cell subsets in lymph nodes from patients with Hodgkin lymphoma is associated with the outcome after first line ABVD therapy. *Leuk Lymphoma*. 2017;58(5):1144-52.
115. Riemersma SA, Oudejans JJ, Vonk MJ, Dreef EJ, Prins FA, Jansen PM, et al. High numbers of tumour-infiltrating activated cytotoxic T lymphocytes, and frequent loss of HLA class I and II expression, are features of aggressive B cell lymphomas of the brain and testis. *J Pathol*. juill 2005;206(3):328-36.

116. Fang X, Xiu B, Yang Z, Qiu W, Zhang L, Zhang S, et al. The expression and clinical relevance of PD-1, PD-L1, and TP63 in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Medicine (Baltimore)*. avr 2017;96(15):e6398.
117. Cohen M, Vistarop AG, Huaman F, Narbaitz M, Metrebian F, De Matteo E, et al. Cytotoxic response against Epstein Barr virus coexists with diffuse large B-cell lymphoma tolerogenic microenvironment: clinical features and survival impact. *Sci Rep*. 07 2017;7(1):10813.
118. Zhang W, Bai J-F, Zuo M-X, Cao X-X, Chen M, Zhang Y, et al. PD-1 expression on the surface of peripheral blood CD4+ T cell and its association with the prognosis of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Med*. 2016;5(11):3077-84.
119. Ahearne MJ, Bhuller K, Hew R, Ibrahim H, Naresh K, Wagner SD. Expression of PD-1 (CD279) and FoxP3 in diffuse large B-cell lymphoma. *Virchows Arch Int J Pathol*. sept 2014;465(3):351-8.
120. McClanahan F, Sharp TG, Gribben JG. Catching up with solid tumor oncology: what is the evidence for a prognostic role of programmed cell death-ligand 1/programmed cell death-1 expression in B-cell lymphomas? *Haematologica*. 2016;101(10):1144-58.

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

ABC : Activated B-Cell  
Ag : Antigène  
ALK : Anaplastic Lymphoma Kinase  
BCL2 : B-Cell Lymphoma 2  
BCL6 : B-Cell Lymphoma 6  
BHE : Barrière Hémato-Encéphalique  
CCL2 : Chemokine Ligand 2  
CHOP : Cyclophosphamide Doxorubicine Vincristine Prednisone  
CHU : Centre Hospitalo-Universitaire  
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité  
CNA : Copy Number Alterations  
CRB : Centre de Ressources Biologiques  
CTLA-4 : Cytotoxic T Lymphocyte-associated Antigen 4  
CRB : Centre des Ressources Biologiques  
DAPI : 4',6-Diamidino-2-Phénylindole  
DLBCL : Diffuse Large B-Cell Lymphoma  
EBER : EBV-Encoded small RNA  
EBV : Epstein Barr Virus  
FISH : Fluorescence In Situ Hybridization  
GC : Germinal Center  
GCB : Germinal Center B-Cell  
GEP : Gene Expression Profiling  
GM-CSF : Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor  
HE : Hématoxyline-Eosine  
HHV8 : Human Herpesvirus 8  
IELSG : International Extranodal Lymphoma Study Group  
IL-4 : Interleukine 4  
INF- $\gamma$  : Interféron gamma  
IPI : International Prognostic Index  
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique  
JAK : Janus Kinase

LBDGC : Lymphome B Diffus à Grandes Cellules  
LBDGC-SNC : Lymphome B Diffus à Grandes Cellules primitif du Système Nerveux Central  
LBDGC-T : Lymphome B Diffus à Grandes Cellules Primitif Testiculaire  
LBGC : Lymphome B à Grandes Cellules  
LCR : Liquide Céphalo-Rachidien  
LDH : Lactate Dehydrogenase  
MSKCC : Memorial Sloan-Kettering Cancer Center  
MUM-1 : Multiple Myeloma Oncogene 1  
NOS : Not Otherwised Specified  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
PAX5 : Paired Box Gene 5  
PD-1 : Programmed Cell Death 1  
PD-L1 : Programmed Cell Death Ligand 1  
R-CHOP : Rituximab-Cyclophosphamide Doxorubicine Vincristine Prednisone  
RC : Rémission Complète  
SAI : Sans Autre Indication  
SNC : Système Nerveux Central  
STAT : Signal Transducer and Activator of Transcription  
TAMs : Tumor-Associated Macrophages  
TCR : T-Cell Receptor  
TILs : Tumor-Infiltrating Lymphocytes  
TLRs : Toll-Like Receptors  
UTR : Untranslated Region

## SERMENT

- *En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.*
- *Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.*
- *Admis (e) dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.*
- *Respectueux (se) et reconnaissant (e) envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert (e) d'opprobre et méprisé (e) de mes confrères si j'y manque.*

## RESUME

Introduction : Le lymphome B diffus à grandes cellules primitif du système nerveux central (LBDGC-SNC) est une sous-entité rare et agressive de lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC). Il a été rapporté une association entre la survie et certains éléments du microenvironnement tumoral, comme les lymphocytes infiltrant la tumeur (TILs) et les macrophages associés à la tumeur (TAMs), dans les LBDGC, mais dans les LBDGC-SNC, leur composition et leur impact pronostique sont insuffisamment connus. La voie PD-1/PD-L1 est un point de contrôle immunitaire qui peut représenter une option thérapeutique intéressante. L'objectif de ce travail est de définir la composition du microenvironnement tumoral et de caractériser la voie PD-1/PD-L1 dans les LBDGC-SNC.

Matériel et méthodes : 57 cas de patients atteints de LBDGC-SNC avec du matériel tumoral exploitable ont été étudiés après recueil des données cliniques. Des examens immunohistochimiques ont été réalisés pour analyser les TAMs (CD68, CD163), les TILs (CD3, CD4, CD8, PD-1) et les cellules tumorales (double marquage PAX5/PD-L1, PD-L1). Le gène *PD-L1* a été étudié par hybridation in situ en fluorescence (FISH).

Résultats : Le double marquage PAX5/PD-L1 a identifié une expression de PD-L1 par les cellules tumorales dans 17,5% des cas (10/57). La translocation du gène *PD-L1* était une altération cytogénétique récurrente dans les LBDGC-SNC (8/47, 17%) et était corrélée à une expression de PD-L1 par les cellules tumorales. Le microenvironnement tumoral était composé principalement de TAMs M2 et de TILs CD8+. La majorité des TAMs exprimaient PD-L1 et la majorité des TILs exprimaient PD-1. La densité des TAMs et des TILs, ainsi que l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales, n'étaient pas associée à la survie. En revanche, l'expression de PD-1 par les TILs et de PD-L1 par les TAMs, étaient corrélées à un meilleur pronostic.

Conclusion : Ces résultats suggèrent que la composition du microenvironnement tumoral et la voie PD-1/PD-L1 jouent un rôle important dans la pathogenèse des LBDGC-SNC et apportent de nouvelles perspectives concernant les possibilités de thérapie ciblée dans ce lymphome agressif.

Mots clés : Lymphomes B diffus à grandes cellules, Système nerveux central, PD-L1, Microenvironnement tumoral