



HAL
open science

Expression de l'enzyme immunosuppressive IL4I1 dans les lymphomes B et T cutanés primitifs : un rôle dans l'échappement tumoral ?

Barbara Papouin

► **To cite this version:**

Barbara Papouin. Expression de l'enzyme immunosuppressive IL4I1 dans les lymphomes B et T cutanés primitifs : un rôle dans l'échappement tumoral?. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-02996785

HAL Id: dumas-02996785

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02996785>

Submitted on 9 Nov 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 - NoDerivatives 4.0 International License

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2019

N° 42

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE
DOCTEUR EN MÉDECINE
Spécialité Anatomie et Cytologie Pathologiques

Expression de l'enzyme immunosuppressive IL4I1 dans les lymphomes
B et T cutanés primitifs : un rôle dans l'échappement tumoral ?

Présentée et soutenue publiquement
le 9 avril 2019

Par

Barbara PAPOUIN

Née le 18 octobre 1988 à Marseille (13)

Dirigée par M. Le Professeur Nicolas Ortonne, PU-PH

Jury :

M. Le Professeur Philippe Gaulard, PU-PH Président

M. Le Professeur Antoine Martin, PU-PH

Mme Le Docteur Saskia Oro, PH

Mme Le Docteur Valérie Molinier-Frenkel, PH

Remerciements

A Monsieur le Professeur Philippe Gaulard qui me fait l'honneur de présider ce jury de thèse. Merci de m'avoir transmis de précieuses connaissances dans le domaine de l'hématopathologie. Mon semestre dans votre service aura été extrêmement formateur et je suis très heureuse de pouvoir y poursuivre ma formation en tant qu'assistante.

A Monsieur le Professeur Nicolas Ortonne qui a accepté de diriger ma thèse et m'a donné l'opportunité de réaliser ce travail. Merci pour ton aide précieuse, ta pédagogie, ta relecture, tes conseils et tes encouragements. Tu m'as beaucoup appris dans le domaine de la dermatopathologie, discipline que j'affectionne particulièrement aujourd'hui grâce à cet enseignement bienveillant.

A Monsieur le Professeur Antoine Martin pour avoir accepté de participer à ce jury. Votre gentillesse, votre patience et votre bienveillance durant mon semestre dans votre service ont su me conforter dans mon choix pour la pathologie, et lever mes doutes alors que je renonçais à la rhumatologie.

A Madame Saskia Oro pour avoir accepté de participer à ce jury. Merci pour vos précieux conseils et votre disponibilité au cours de ce travail.

A Madame Valérie Molinier-Frenkel pour avoir accepté de participer à ce Jury. Merci à vous et à Madame Flavia Castellano pour m'avoir donné accès à vos connaissances et outils scientifiques indispensables à ce travail.

A Madame Nadine Martin sans qui je n'aurais pu réaliser cette thèse. Merci pour ta grande disponibilité, ton aide répétée, ton encadrement technique et tes précieux conseils qui ont plus que contribué à ce travail.

Merci à l'ensemble de l'équipe médicale et technique du département de pathologie d'Henri-Mondor pour son accueil, son encadrement et son aide, tant au cours de mon semestre au sein du service que tout au long de la préparation de cette thèse. Merci à tous les techniciens pour leur précieuse contribution à ce travail en ayant réalisé d'innombrables coupes, que je n'aurais ni su ni pu faire toute seule. Merci à Martine, Maryline, Françoise et Pascale pour leurs allers-retours itératifs aux archives qui m'ont permis d'économiser beaucoup de temps et d'énergie.

Aux Professeurs Marianne Ziol, Homa Adle-Biassette, Philippe Bertheau et leurs équipes médicales pour m'avoir accueillie dans leurs services respectifs, et m'avoir tant appris au cours de mon internat.

A toutes les équipes techniques que j'ai rencontrées, pour leur aide au quotidien. Merci pour ces échanges enrichissants, souvent bien au-delà du domaine de l'anapath.

Merci à Madame le Professeur Catherine Guettier pour sa disponibilité et son encadrement, et pour m'avoir donné l'opportunité d'écrire mes premiers articles, en alliant rigueur et bienveillance.

Merci à Madame Françoise Cornelis pour m'avoir enseigné la gynécopathologie. Merci pour votre confiance et votre proximité durant ces 6 mois, au cours desquels nous avons formé un réel binôme.

A mon père, qui a toujours cru plus que quiconque en mes capacités, tout en mesurant très bien mes faiblesses. « Je sais que tu réussiras médecine, mais seulement si tu passes la P1 du premier coup ; toi tu n’y arriveras pas si tu doubles. » Je suis convaincue que tu avais raison.

A ma mère, pour tes encouragements et ton aide durant toutes ces années. Même si tu la fais volontairement discrète, je sais ta présence, qui m’a apporté le soutien et la réassurance sans lesquels je n’aurais pu arriver au bout de ces études.

A mon frère Matthieu, pour m’avoir appris dès mon plus jeune âge la patience et la persévérance si précieuses en médecine... car il m’en a fallu pour te supporter petite...! Mais mon admiration l’a toujours emporté. Merci pour tes appels quasi quotidiens qui veillent encore sur moi aujourd’hui.

A mon frère Guillaume, sans qui je n’aurais sûrement pas franchi certaines étapes...Merci pour ta présence, ton aide et ta compréhension durant ces longues années... Pour ces voyages à deux qui m’ont permis d’aller mieux.

A Théa, ma nièce adorée, qui du haut des ses 9 ans a même appris le titre de cette thèse par cœur !

A César et Hector, mes bouts de chou de neveux, qui liront peut-être un jour ce pavé, qui sait !

A Stéphanie pour avoir su ramener mon frère à Paris, et à Emilie à pour son énergie débordante.

A mon grand-père Etienne, puits de science tant médicales qu’historiques. J’aurais été si fière de pouvoir soutenir cette thèse à tes côtés aujourd’hui.

A mon grand-père Gérard, qui m’a tant donné et appris dès toute petite, que j’ai fait tourner en bourrique plus d’une fois, et qui n’a jamais su me dire non. Je pense à toi.

A ma grand-mère Simone, qui m’a appris très tôt la rigueur dans le travail, mais aussi la pétanque et le rami. J’aurais aimé pouvoir te montrer aujourd’hui où ces après-midi de dictées m’ont menées.

A ma grand-mère Marie-Antoinette, qui ne peut être là aujourd’hui, avec toute mon affection.

A Martine, Gérard, Nicolas, Audrey, Magali, Marcel et Blandine, pour m’avoir accueillie tous ces étés. Merci pour tous ces moments de convivialité, de jeu, de partage et de gaîté.

A Hervé et Corinne, pour m’avoir prouvé que même en médecine aucun parcours n’était vraiment tracé, et qu’on pouvait toujours changer si on le voulait.

A Agnès, pour son soutien et sa tendresse. Merci pour tes multiples attentions et petites recettes pour me remettre d’aplomb, depuis les huiles essentielles jusqu’aux cocktails Jet-Bourbon.

A Franck, pour sa bienveillance toujours déguisée d’ironie. Et oui Franck ça y est, je suis finalement arrivée au bout de cette ritournelle du fameux « plus que 3 ans »!

A Aymeric, Clémence, Victoire et Apolline pour ces apéros du dimanche soir qui ont su rendre les fins de week-end moins amères. La suite à Courtalain!

A Léonor et Dan, pour votre disponibilité et votre douceur de *cat-sitter* sans égal qui m’ont permis de partir recharger les batteries en toute tranquillité, avant cette dernière longue ligne droite pour finir cette thèse.

A mes co-internes d'Anapath Justine C., Ruiqian, Justine W., Clarisse, Gabriel, Rémi, Valérie, Christophe, Selma, Alice, Charlotte, Julien, Rémie, Pauline, Lucie, Charles L., Michèle, Caroline, Sophie, Jérôme, ... avec qui j'ai partagé de très bons moments durant cet internat.

A Flore, Glen et Julien... Merci Flore pour ce rire au niveau sonore inégalable ; Glen pour ces coiffures endurées et assumées jusqu'au PMU de Marnes-la-Coquette ; Julien pour avoir supporté et formé avec humour 3 internes sans limites, même si au début, quoi que tu en dises, ce n'était pas gagné!

A Romain, Quentin et Ilaria pour ce premier stage d'internat qui nous aura bien lessivé...Merci d'avoir été présents et soudés dans ces moments difficiles.

A Elsa, pour son humour sans pareil. Merci de m'avoir fait découvrir l'hématopathologie avec cette pédagogie si personnelle, décomplexée et décomplexante, et plus qu'efficace...comment oublier ton mime du macrophage ou le *blush* du petit PAXou?!!! J'ai hâte de pouvoir travailler à tes côtés.

A Anne-Laure pour cette amitié si précieuse. Même si la démonstration n'est pas notre fort, je te sais toujours là. Merci pour tous ces moments complices, parfois un peu trop « sans filtre » selon l'auditoire... mais aussi ton soutien, ton écoute et tes conseils depuis toutes ces années.

A Marc, pour ces 10 ans d'amitié ponctuées de conversations autant philosophiques et sérieuses qu'hasardeuses et inadaptées. Merci de partager cette attirance pour les extrêmes avec cette tendance « schizophrénique » qui nous caractérise, et nous a tant rapproché.

A Anatole et Barnabé, qui ont toujours répondu présents depuis toutes ces années, tant dans les bons moments que les mauvais. Merci pour ces étés à la Croix, ces soirées de Marseille à Paris et votre soutien infailible. Merci à Mariel, Denis, Dora, Marthe et Brune pour leur accueil toujours familial et si chaleureux.

A Ludivine, pour cette amitié qui nous lie depuis 20 ans, ton soutien, tes conseils et douces attentions presque maternelles...même si tu nous as lâchement quittés pour retourner au soleil !

A Lionel, Pierre, Loren et Florian pour notre amitié depuis le collège malgré la distance qui nous sépare. A tous ces moments, ces fous-rires...Vous me manquez.

A Anne, parce que même le temps et la distance ne changent en rien à la force de notre amitié. Merci d'être toujours la même avec ce naturel et cette spontanéité que je retrouve dès les premiers instants. Merci d'avoir choisi Kévin, capable d'endurer mes blagues et mon comique de répétition sur sa chevelure...avec toujours autant d'humour et de tendresse.

A Benjamin, qui m'a accompagnée et soutenue durant tout mon externat. Merci pour ces imitations et ces blagues dont toi seul as le secret...et que je massacrais allègrement en tentant de retranscrire. Merci d'avoir toujours répondu présent.

A Alan et Helena, pour ces soirées mêlant sujets d'actualité et potins médisants... Merci de m'avoir si bien acceptée. Anatole, tu auras bientôt un compagnon pour endurer ces moments.

Aux ROBO, pour cette découverte inoubliable de l'Albanie avec ses portions inattendues, ses soirées mousses à 15h sur la plage et la chaleur du raki. Merci pour ces *pancakes* maison qui ont adouci des dimanches difficiles durant ces derniers mois de préparation de thèse.

A Max qui m'a accompagnée depuis tant d'années, et qui aura bien participé -à sa façon- à la rédaction de cette thèse !

A Arthur, toi qui sais me rassurer et me modérer, tout en me poussant à me surpasser.
Toi qui m'équilibre et me supporte avec patience et constance, même ces derniers mois face à un caractère « méditerranéen » décuplé par le stress de la thèse et la grossesse... quelle performance !
Merci d'être toujours là, malgré les études envahissantes d'un monde médical qui t'est étranger.
J'arrive au bout de ce marathon grâce à toi.

Table des matières

REMERCIEMENTS	2
GLOSSAIRE	8
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	10
INTRODUCTION.....	11
I. SYSTEME IMMUNITAIRE ET TUMEURS.....	11
1. <i>Généralités</i>	11
2. <i>De l'immunosurveillance à l'immunoediting.....</i>	11
3. <i>Les principaux mécanismes d'échappement.....</i>	13
4. <i>Les principales stratégies tumorales immunosuppressives.....</i>	15
II. LES ENZYMES IMMUNOSUPPRESSIVES	20
1. <i>Propriétés communes.....</i>	20
2. <i>Les principales enzymes immunosuppressives et leurs voies métaboliques</i>	21
3. <i>IL4I1 : InterLeukine 4 Induced gene 1.....</i>	24
III. LES LYMPHOMES CUTANES.....	30
1. <i>Généralités</i>	30
2. <i>Lymphomes T.....</i>	30
3. <i>Lymphomes B.....</i>	37
4. <i>Prise en charge et traitements actuels.....</i>	39
IV. LYMPHOMES CUTANES ET ENVIRONNEMENT IMMUNOREGULATEUR	42
1. <i>Lymphomes T.....</i>	42
2. <i>Lymphomes B.....</i>	46
OBJECTIFS DE L'ÉTUDE.....	47
MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	48
I. POPULATION ETUDIEE	48
II. ANALYSES IMMUNOHISTOCHIMIQUES.....	49
1. <i>Anticorps et immunomarquages.....</i>	49
2. <i>Méthodologie d'analyse immunohistochimique quantitative</i>	49
III. ANALYSES STATISTIQUES	52
RESULTATS	53
I. DESCRIPTION DE LA POPULATION DE LYMPHOMES CUTANES	53
II. CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DES LYMPHOMES CUTANES.....	55
1. <i>Expression d'IL4I1 et corrélation au type histologique.....</i>	55
2. <i>Corrélation entre IL4I1 et L'environnement lymphocytaire T : CD8, GranzymeB, FoxP3</i>	63
DISCUSSION	67
I. PRESENCE D'IL4I1 DANS L'ENVIRONNEMENT DES LYMPHOMES CUTANES	67
II. CORRELATION ENTRE L'EXPRESSION D'IL4I1 ET LE TYPE HISTOLOGIQUE.....	69
III. INTERACTION ENTRE IL4I1 ET L'ENVIRONNEMENT LYMPHOCYTAIRE T	71
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	75
BIBLIOGRAPHIE	76
ANNEXE 1 PRINCIPALES VOIES DE DIFFERENCIATION DES LT AUXILIAIRES	88
ANNEXE 2 CLASSIFICATION DES LYMPHOMES PRIMITIFS CUTANES (REVISION OMS 2017)	89
ANNEXE 3 SYSTEME TNM(B) DES LYMPHOMES CUTANES	90
ANNEXE 4 ASPECTS CLINIQUES ET HISTOLOGIQUES REPRESENTATIFS DES PRINCIPAUX LYMPHOMES CUTANES.....	92

GLOSSAIRE

AA	Acide aminé
Ag	Antigène
AHR	<i>Aryl Hydrocarbon Receptor</i>
ATP	Adénosine triphosphate
CCL22	CC-chemokine ligand 22
CF	Lymphome centro-folliculaire cutané
cHL	Lymphome de Hodgkin classique
CK	Cytokines
CMH-I	Complexe Majeur d'Histocompatibilité de type I
CPA	Cellules présentatrices d'antigènes
CTLA-4	<i>Cytotoxic T lymphocyte Associated protein 4</i>
DC	Cellules dendritiques
DLBCL-LT	Lymphome B diffus à grandes cellules de type jambe
FoxP3	<i>Forkhead box P3</i>
GC	Centre germinatif
GrB	Granzyme B
IDO	Indoléamine 2,3 dioxygénase
IFNγ	Interféron γ
IL	Interleukine
IL4I1	<i>Inteleukin 4 Induced gene 1</i>
iNOS	NO synthétase inductible
LACP	Lymphome anaplasique cutané primitif à grandes cellules
LLC	Leucémie lymphoïde chronique
LP	Lymphoproliférations
LP TCD30+	Lymphoproliférations T CD30+
LT	Lymphocytes T
M-CSF	<i>Monocyte chemotactic protein-1</i>
MDSCs	Cellules myéloïdes immunosuppressives
MET	Micro-environnement tumoral
MF	Mycosis Fongoïde
MFT	Mycosis Fongoïde transformé
NFκB	<i>Nuclear Factor-kappa B</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
NLPHL	<i>Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma</i>
NO	Monoxyde d'azote
NS	Différence statistique : Non Significantive
PD-1	<i>Programmed Death 1</i>
PD-L1	<i>Programmed Death Ligand 1</i>
PMBL	Lymphome B diffus à grandes cellules primitif du médiastin
PL	Papulose lymphomatoïde
SAM	Syndrome d'activation macrophagique
SI	Système immunitaire
SS	Syndrome de Sézary
STAT	<i>Signal Transducers and Activators of Transcription</i>

TAMs	Macrophages associés aux tumeurs
TCR	<i>T Cell Receptor</i>
TDO	Tryptophane 2,3 dioxygénase
Th-	<i>T helpers</i> (T auxiliaires)
TILs	<i>Tumor Infiltrating Lymphocytes</i>
TNFα	<i>Tumor Necrosis Factor α</i>
Treg	Lymphocytes T régulateurs
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
ZM	Lymphome de la Zone Marginale

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures et Tableaux explicatifs relatifs au MET et aux lymphomes cutanés

Figure 1.	<i>Les 3 phases de l'Immunoediting et la progression tumorale</i>	<i>p.14</i>
Figure 2.	<i>Les TAMs : leur polarisation M2 et leurs rôles au sein du MET</i>	<i>p.19</i>
Figure 3.	<i>IL4I1 : fonctions et conséquences sur le MET et la progression tumorale</i>	<i>p.25</i>
Figure 4.	<i>Stratégie thérapeutique des MF/SS en fonction du stade</i>	<i>p.40</i>
Figure 5.	<i>Cellule tumorale du MF/SS : production cytokinique Th2 et conséquences immunitaires</i>	<i>p.43</i>
Figure 6.	<i>Environnement immunitaire et progression tumorale au cours du MF</i>	<i>p.44</i>
Figure 7.	<i>Mécanismes d'action des thérapies utilisées dans les MF/SS et leur rationnel physiopathologique</i>	<i>p.45</i>
Tableau 1.	<i>Les sous-types histologiques de papulose lymphomatoïde</i>	<i>p.33</i>

Figures et Tableaux d'analyse

Figure 8.	<i>Exemple illustrant le comptage réalisé à l'aide du logiciel ImageJ</i>	<i>p.49</i>
Figure 9.	<i>Illustration du score utilisé pour quantifier la densité des infiltrats</i>	<i>p.50</i>
Figure 10.	<i>Exemples de marquages positifs IL4I1, CD8, GrB et FoxP3</i>	<i>p.51</i>
Figure 11.	<i>Hétérogénéité du marquage IL4I1 dans les lymphomes cutanés</i>	<i>p.55</i>
Figure 12.	<i>Doubles marquages IL4I1/CD163</i>	<i>p.57</i>
Figure 13.	<i>Doubles marquages IL4I1/PD-1</i>	<i>p.58</i>
Figure 14.	<i>Doubles marquages IL4I/CD1a</i>	<i>p.58</i>
Figure 15.	<i>Nombres de cellules IL4I1+ : lymphomes indolents/agressifs</i>	<i>p.59</i>
Figure 16.	<i>Nombres de cellules IL4I1+ : MF/MFT+SS</i>	<i>p.61</i>
Figure 17.	<i>IL4I1 et environnement T : MF/MFT</i>	<i>p.65</i>
Figure 18.	<i>IL4I1 et environnement T : biopsies séquentielles MF/MFT</i>	<i>p.65</i>
Figure 19.	<i>IL4I1 et environnement T : PL/LACP</i>	<i>p.66</i>
Tableau 2.	<i>Population d'étude : 67 cas de lymphomes cutanés primitifs</i>	<i>p.53</i>
Tableau 3.	<i>Analyse séquentielle du marquage IL4I1 de 3 cas de MF/MFT</i>	<i>p.60</i>
Tableau 4.	<i>Analyse de l'environnement T : MF/MFT</i>	<i>p.63</i>
Tableaux 5/5'.	<i>Analyse séquentielle de l'environnement T de 3 cas de MF/MFT</i>	<i>p.64</i>
Tableau 6.	<i>Environnement T et LP TCD30+ : PL/LACP</i>	<i>p.64</i>

INTRODUCTION

I. SYSTEME IMMUNITAIRE ET TUMEURS

1. GENERALITES

Il est désormais acquis que le système immunitaire joue un rôle majeur dans le développement tumoral. Les tumeurs ne sont pas qu'un amas de cellules anormales présentant des altérations génétiques mais un tissu complexe, qui va interagir avec les différents types cellulaires du micro-environnement qui l'entoure. La compréhension - encore partielle aujourd'hui - de ces interactions a permis l'avènement d'une nouvelle grande classe thérapeutique qui a révolutionné le domaine de la cancérologie ces dernières années : l'immunothérapie. La cible directe de ces traitements n'est plus la cellule tumorale mais le système immunitaire.

2. DE L'IMMUNOSURVEILLANCE A L'IMMUNOEDITING

Le système immunitaire (SI) entretient une relation très complexe et dynamique avec les cellules tumorales, voire paradoxale : il peut osciller d'un rôle protecteur à un rôle promoteur dans le développement tumoral. Les deux grandes théories qui se sont succédées sur plus d'un siècle pour tenter d'expliquer le rôle du système immunitaire reflètent bien cette dualité : l'immunosurveillance (protection anti-tumorale) et l'immunostimulation (promotion tumorale) [1].

L'immunosurveillance (protection anti-tumorale) :

Dès 1909, Paul Ehrlich évoquait la capacité du système immunitaire à reconnaître des cellules tumorales et à contrôler leur développement, sans pouvoir à l'époque appuyer cette hypothèse [2,3]. Cinquante ans plus tard, alors que l'on comprend de mieux en mieux le système immunitaire, cette idée refait surface avec le concept d'immunosurveillance anti-tumorale formulé en 1957 par Lewis Thomas puis par Mac Farlane Burnet [4], en parallèle de la découverte des antigènes tumoraux [2,3,5]. Des cellules seraient capables de reconnaître et d'éradiquer les cellules tumorales émergentes ; ce rôle sera attribué quelques années plus tard aux cellules T, découvertes dans les années 1970. Cette théorie permettait d'expliquer les cas de rémission spontanée. Par la suite, la découverte des cellules *Natural Killers* (NK) et de cytokines (CK) telles que l'IFN γ viendra renforcer cette hypothèse avec de nouveaux acteurs protecteurs contre le cancer.

L'immunostimulation (promotion tumorale) :

La théorie de l'immunosurveillance va cependant être assez rapidement oubliée à l'époque : il y a en effet peu de preuves tangibles pour l'étayer et de nouvelles études viennent la contredire. Stutman démontre à cette époque que la susceptibilité à développer un cancer est similaire entre des souris immunocompétentes et immunodéficientes (on comprendra plus tard que ce modèle de souris athymiques n'était en fait que très partiellement immunodéficient) [6,7].

En parallèle, en 1972, Richmond Prehn propose une nouvelle théorie qui illustre la dualité de la réaction immunitaire dans la croissance tumorale selon son intensité : une réponse immunitaire « trop faible » ne serait non seulement pas protectrice, mais pourrait au contraire

favoriser la croissance tumorale [8]. Par la suite, la découverte de multiples mécanismes mis en place par la tumeur pour « détourner » les cellules immunitaires au profit de sa croissance, de sa vascularisation et de son pouvoir métastatique a conforté l'hypothèse que le système immunitaire pouvait servir la progression tumorale [9].

Dans les années 1990, l'idée d'une immunosurveillance anti-tumorale refait surface avec la découverte du rôle protecteur des cellules NK, de l'IFN γ et de la perforine dans le développement tumoral de modèles murins [1,10–13]. La constatation d'un risque accru de néoplasies chez les patients immunodéprimés (transplantés, VIH+, ...) vient aussi appuyer cette fonction protectrice du système immunitaire [14–18]. De même, la succession d'études qui mettent alors en évidence l'impact pronostique positif de l'infiltration tumorale par des lymphocytes T CD8+, les TILs (*Tumor Infiltrating Lymphocytes*), dans divers cancers [19–23].

La théorie des 3E ou Cancer Immunoediting (immunosélection) est proposée par Dunn et Schreiber au début des années 2000 et permet d'intégrer cette relation complexe et paradoxale, entre protection et promotion tumorale [3]. La « clé de voute » de cette théorie est que **l'immunogénicité des cellules tumorales peut être façonnée par le système immunitaire** [1,11]. Le système immunitaire et la tumeur interagiraient de façon étroite et dynamique en 3 phases : une phase d'**Elimination**, puis d'**Equilibre** et enfin d'**Echappement** tumoral.

Ainsi, si toutes les cellules tumorales ne sont pas éliminées au cours de la première phase, le système immunitaire va exercer, durant la deuxième phase, une **pression de sélection** sur ces cellules génétiquement très instables. Cette forme de sélection naturelle, « Darwinienne », va finalement permettre l'émergence de clones tumoraux résistants, moins immunogènes, capables d'échapper à ce contrôle. Ces cellules tumorales résiduelles vont acquérir des propriétés les rendant « invisibles » vis-à-vis du système immunitaire, et évoluer au sein d'un micro-environnement immunosuppresseur qui va promouvoir leur développement [1,3,24].

La plupart de ces transformations se produirait précocement dans la tumorigenèse, et l'immunogénicité des tumeurs cliniquement détectables serait déjà en partie modifiée par ses interactions avec le système immunitaire [1].

C'est l'identification des stratégies immunosuppressives mises en place par la tumeur pour échapper au contrôle du système immunitaire qui a permis le développement de ces nouvelles thérapies.

3. LES PRINCIPAUX MECANISMES D'ÉCHAPPEMENT

1) *La modification des cellules tumorales*

L'instabilité génétique inhérente aux cellules tumorales va permettre l'émergence de modifications les rendant « invisibles » et plus résistantes vis-à-vis des cellules effectrices du système immunitaire. Ces clones, sélectionnés par l'*immunoediting*, vont ainsi pouvoir se développer [1,3,25].

a) Des cellules devenues « invisibles »

Lorsqu'elles sont encore immunogènes, les cellules tumorales sont spécifiquement reconnues par les lymphocytes T (LT) par l'expression d'antigènes (Ag) tumoraux présentés par les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité de type I (CMH-I) à leur surface.

On classe ces **Ag tumoraux** en 5 catégories [26] :

- Ag de type oncofoetal (MAGE-1, NY-Eso,..) : qui ne sont pas exprimés par les cellules somatiques normales mais par les cellules germinales et placentaires (sans coexprimer les molécules de CMH I pour les présenter aux LT).
- Ag tissus spécifiques ou de différenciation (Tyrosinase, Mart-1, gp100, PSA, PAP, PMSA...) : associés à la différenciation d'un tissu, ils sont exprimés par des cellules tumorales mais aussi par les cellules normales des tissus correspondants.
- Ag mutés : correspondant à des mutations ponctuelles (KRAS, p53), à des produits de fusion par translocation (Bcr-Abl),... qui ne sont pas exprimés par les cellules normales.
- Ag surexprimés (HER2, Muc-1,...) : faiblement exprimés par les cellules normales et surexprimés par les cellules tumorales.
- Ag dérivés d'agents pathogènes : correspondant aux virus, bactéries ou parasites impliqués dans la transformation maligne.

Ainsi, l'altération de la reconnaissance des cellules tumorales peut se faire par plusieurs mécanismes [3,25,26] :

- par la perte d'expression d'Ag tumoraux,
- par la perte de protéines du CMH-I dont le rôle est de présenter ces Ag aux cellules T,
- par la perte de peptides nécessaires à la liaison Ag/CMH-I.

b) Des cellules « plus résistantes »

Ces cellules acquièrent une **résistance à l'apoptose** et aux effets cytotoxiques du système immunitaire, et une **capacité proliférative accrue**.

Ce phénotype peut être lié à un défaut de signalisation et d'expression des récepteurs de mort cellulaire comme Fas, TRAIL (récepteurs induisant l'apoptose lorsqu'il sont activés par leurs ligands), à l'activation de facteurs de transcription pro-oncogènes comme STAT3 ou à l'expression de molécules aux fonctions anti-apoptotiques comme Bcl-2 [25].

2) *La mise en place d'un micro-environnement tumoral (MET) immunosuppresseur*

Les cellules tumorales vont recruter et détourner de nombreux acteurs du système immunitaire pour mettre en place une **immunosuppression locale** et favoriser la croissance tumorale [3]. Les mécanismes mis en place par la tumeur sont multiples et leur identification ouvre peu à peu de nouvelles pistes thérapeutiques.

Ces principales voies sont détaillées ci-dessous.

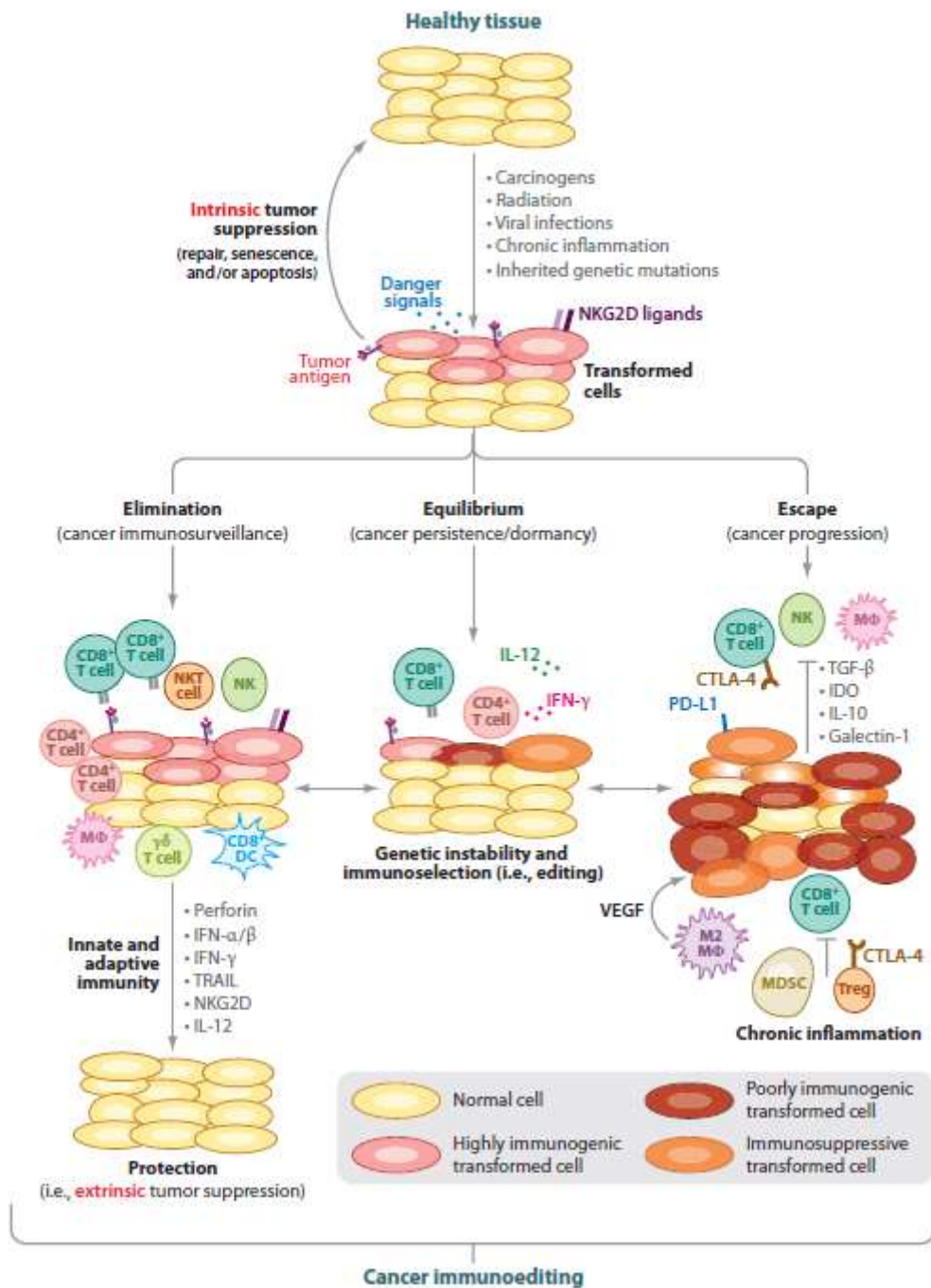


Figure 1. Les 3 phases de l'Immunoediting et la progression tumorale.
D'après Vesely et al, 2011 [24]

4. LES PRINCIPALES STRATEGIES TUMORALES IMMUNOSUPPRESSIVES

Les tumeurs vont favoriser la différenciation et le recrutement de cellules myéloïdes et lymphoïdes aux fonctions immunosuppressives.

1) Lignée lymphoïde et inhibition de la réponse T anti-tumorale

Les lymphocytes T (LT) effecteurs CD8⁺ jouent un rôle anti-tumoral important.

L'intensité de l'infiltration tumorale par **les TILs** (*Tumor Infiltrating Lymphocytes*) a en effet été rapportée comme un facteur pronostique dans de nombreux cancers (mélanome, ovaire, colon,...). Dans le cancer du côlon, Pagès *et al* ont récemment démontré dans une large cohorte internationale que l'*Immunescore* présentait une signification pronostique déterminante, indépendante et même supérieure au stade TNM en terme de récurrence et de survie [27,28]. Mais cette ligne de défense T effectrice peut être altérée par son inhibition directe ou par la présence de LT régulateurs (Treg).

a) Rappels sur la réponse T effectrice anti-tumorale

Les LT reconnaissent spécifiquement les Ag tumoraux présentés par les molécules du CMH-I à la surface des cellules tumorales. Mais l'activation des LT ne se fait pas directement par la reconnaissance de l'Ag exprimé par la cellule tumorale.

Les LT naïfs circulent au sein des organes lymphoïdes secondaires comme les ganglions lymphoïdes et la rate ; ils ne peuvent donc pas interagir avec les cellules tumorales dans les tissus périphériques.

Ce sont **les cellules dendritiques (DC), cellules présentatrices d'antigènes (CPA)**, qui vont jouer un rôle majeur dans l'activation des LT. Les DC immatures, phagocytes sentinelles disséminées dans la plupart des tissus, vont internaliser les Ag exogènes issus de lysats ou de corps apoptotiques tumoraux. L'altération des cellules tumorales va en parallèle induire la libération de signaux (comme les protéines HSP (*Heat Shock protein*) produites en réponse à un stress) qui vont provoquer la maturation et la migration des DC vers le ganglion drainant où aura lieu l'activation des LT [26].

L'activation des LT nécessite alors 3 éléments :

- Signal 1 : la reconnaissance du complexe CMH-Ag par le TCR (*T-Cell Receptor*).
- Signal 2 : indispensable à l'activation efficace des LT, induit par l'interaction entre CD28, principal récepteur de co-stimulation du TCR, et son ligand B7. L'expression de ces récepteurs est influencée par le contexte inflammatoire et cytokinique. Afin de garantir un équilibre et d'éviter un emballement de la réponse immunitaire, il existe physiologiquement un rétro-contrôle négatif par l'expression de récepteurs de « co-inhibition » du TCR, dont les principaux sont CTLA-4 et PD-1.
- un environnement cytokinique propice.

Les LT activés vont alors acquérir de nouveaux profils d'expression de récepteurs aux chimiokines leur permettant de migrer au sein du lit tumoral.

LT et lyse des cellules tumorales :

Les LT effecteurs CD8 cytotoxiques peuvent lyser les cellules tumorales via deux voies principales :

- la voie perforine/granzyme ;
- l'activation de la voie extrinsèque de l'apoptose, secondaire à l'interaction entre des ligands exprimés par les LT effecteurs CD8 (TNF, Fas et DR5) et leur récepteurs

(TNFR1, Fas et TRAIL respectivement) sur les cellules tumorales. Ces « récepteurs de mort », conduisent à l'activation directe de l'apoptose en interagissant avec des caspases.

Les LT CD8 libèrent aussi des cytokines (CK) telles que le TNF α et l'IFN γ qui, libérées à proximité d'une cellule cible, ont une activité cytotoxique directe, par des mécanismes similaires à ceux décrits ci-dessus.

Les LT CD4 peuvent lyser les cellules tumorales indirectement par l'intermédiaire de CK ou en stimulant d'autres cellules comme les macrophages. Mais leur fonction principale réside dans leur capacité à promouvoir la différenciation des LT CD8 en cellules mémoires [26].

b) Les cellules lymphoïdes immunosuppressives

Les LT auxiliaires (*helpers*), par définition de phénotype CD4+, naïfs, peuvent selon l'environnement cytokinique se polariser en 3 types de populations effectrices (Th1, Th2, Th17) ou en une population régulatrice immunosuppressive, les LT régulateurs (Treg). Les **Treg** ont un phénotype particulier et, notamment, expriment constitutivement et fortement le récepteur de l'IL-2 (CD25) et le facteur de transcription FoxP3 (*Forkhead box P3*).

A l'état physiologique, la différenciation des LT CD4+ en cellules effectrices ou suppressives permet une régulation de la réponse immune et évite un emballement de la réponse immunitaire. Les Treg jouent également un rôle dans le contrôle des LT auto-réactifs, empêchant le développement de maladies auto-immunes.

En contexte tumoral, l'augmentation des Treg au sein du MET va jouer un rôle important dans l'inhibition des LT effecteurs anti-tumoraux : production de CK immunosuppressives (IL-10, TGF β), expression de molécules de co-inhibition (CTLA-4, PD-L1), consommation l'IL-2 (essentielle à la prolifération et à la fonction cellulaire T).

L'augmentation des Treg dans le lit tumoral peut se faire par leur recrutement, l'augmentation de leur capacité proliférative ou encore la conversion des LT en Treg (effet du TGF β).

Cette augmentation apparaît associée à l'évolution tumorale [24,29].

Un schéma reprenant les principales voies de différenciation des LT auxiliaires (helpers), les CK et les facteurs de transcription associés est disponible en Annexe 1.

c) L'épuisement des lymphocytes T

L'induction de **molécules de co-inhibition** va empêcher la pleine activation des LT et ainsi les conduire à un état d'anergie.

De façon très schématique, le récepteur **CTLA-4** bloque le signal de co-stimulation des LT dans les ganglions lymphatiques (en entrant en compétition avec le récepteur CD28 avec une plus grande affinité pour le ligand B7), et l'engagement de **PD-1** par ses ligands **PD-L1/PD-L2** inhibe les voies de signalisation activées en aval du TCR. Les ligands de PD-1, notamment PD-L1, sont exprimés par les cellules tumorales ou du MET.

La découverte de ces mécanismes d'inhibition de la réponse T anti-tumorale constitue une avancée majeure dans le monde de l'immunothérapie, puisqu'elle est à l'origine du développement des *Immune Checkpoints Inhibitors*, anticorps monoclonaux capables de bloquer ces voies de co-inhibition pour restaurer une réponse T anti-tumorale efficace.

Ces thérapies anti-CTLA-4 et anti-PD-1/PD-L1 ont permis la mise en rémission de patients en impasse de traitement dans de nombreux cancers au stade métastatique et prouvé une nette amélioration de la survie globale [26,30–33].

2) Lignée myéloïde

Les cellules myéloïdes regroupent schématiquement 3 lignages de différenciation (monocytes/macrophages, DC et granulocytes) aux fonctions essentielles pour la réponse immunitaire innée et adaptative. Ces vingt dernières années, de nombreuses études ont permis de mettre en évidence leur rôle majeur dans la progression tumorale invasive et métastatique, et la conversion de leur phénotype sous l'influence du MET [34].

a) Les cellules myéloïdes immunosuppressives (MDSCs)

Les tumeurs ont la capacité d'induire une profonde **altération de la myélopoïèse** via la production de facteurs solubles. Cette différenciation anormale et aberrante aboutit à une population hétérogène de cellules myéloïdes à différents stades de maturation et aux propriétés immunosuppressives : les **MDSCs** (*Myeloid-Derives Suppressor Cells*).

Deux grands types sont individualisés : les *monocytic MDSCs* (*M-MDSCs*) et les *polymorphonuclear ou granulocytic MDSCs* (*PMN-MDSCs*) [34].

Ce défaut de maturation et de différenciation se traduit par une **altération de fonctions**.

Pour les DC cela se traduit par une faible expression des molécules de co-stimulation, l'altération de leur fonction de CPA et donc d'activation des LT. Ces dégradations fonctionnelles vont ainsi participer à **l'anergie des LT** qui ne sont plus correctement activés.

Ces cellules immatures acquièrent ensuite un **phénotype alternatif immunosuppresseur**, avec l'expression de molécules de co-inhibition (PD-L1), la sécrétion d'enzymes immunosuppressives (iNOS, IDO, Arginase1,...) et de facteurs anti-inflammatoires immunosuppresseurs qui vont **inhiber la réponse T effectrice** (IL-10, TGF- β) et **favoriser l'expansion des Treg** (TGF β , Kynurénine).

Cette modification de phénotype semble se dérouler au cours de la progression tumorale, en réponse à un programme transcriptionnel induit par de multiples facteurs du MET [34,35]. STAT3 joue un rôle clé dans le phénotype des MDSCs : ce facteur de transcription n'étant pas seulement impliqué dans la prolifération cellulaire et l'inhibition de l'apoptose, mais étant aussi un régulateur de l'expression de multiples protéines cruciales pour la différenciation des cellules myéloïdes. D'autres acteurs de la voie de signalisation Jak-Stat (STAT1, STAT6), et de celle de NF- κ B, incluant MYD88, semblent impliqués dans cette transformation [34].

b) Les « TAMs » : macrophages associés aux tumeurs

Les monocytes sont recrutés au lit tumoral par l'expression de CK chemo-attractives et s'y différencient en macrophages. Le niveau d'expression de MCS-F (*macrophage colony stimulating factor* aussi appelé CSF-1) apparaît corrélé à l'intensité de l'infiltration macrophagique. Une caractéristique des macrophages est leur **grande plasticité** : ce sont de véritables « caméléons » qui adaptent leur phénotype à leur environnement.

On distingue classiquement 2 grandes voies macrophagiques [2,34,36–38] :

⇒ Les **macrophages M1**, au mode d'activation « classique » :

Induits par les CK de la voie Th1 (IFN γ) ou des ligands des TLR (*Toll-Like Receptors*), ils ont une fonction cytotoxique dans la lutte contre les infections. Ils participent à l'immunité anti-tumorale via :

- leur fonction cytotoxique anti-tumorale (liaison aux complexes anticorps-Ag tumoraux à la surface des cellules tumorales et relargage d'agents cytotoxiques comme des protéinases, le NO ou le TNF α) ;
- la sécrétion de fortes quantités d'IL-12 permettant d'influencer sur la polarisation Th1 du MET (qui est plus souvent de type Th2) ;
- leur fonction de CPA, par l'expression de ligands des récepteurs de co-stimulation du TCR (B7/CD80, CD86) et de molécules du CMH de type II, permettant d'activer les lymphocytes T CD4⁺ auxiliaires ;
- l'inhibition de l'angiogénèse (production d'angiostatine via la metalloprotéinase MMP-12) [39].

⇒ Les **macrophages M2**, au mode d'activation « alternative » :

Induits par des CK de la voie Th2 (IL-4, IL-10, IL-13) ou des CK immunosuppressives (IL-10, PGE2, TGF β), ils ont une fonction immunosuppressive dans la résolution de la phase inflammatoire et interviennent dans le remodelage tissulaire, la cicatrisation et l'angiogénèse [2,26,40].

Le **MET va influencer la polarisation des macrophages** : les M1 cytotoxiques recrutés sur le site tumoral pour lutter contre les cellules tumorales vont peu à peu être repolarisés en M2 immunosuppresseurs [40].

Ces TAMs vont alors favoriser la croissance tumorale par différents mécanismes [2,9,34,41] :

- altération de leur propres fonctions CPA et cytotoxiques (altération de leur production de TNF α et de NO) ;
- renforcement du déséquilibre Th2>Th1 du MET par production de fortes quantités d'IL-10 et de très peu d'IL-12 [42];
- inhibition des effecteurs anti-tumoraux, notamment les LT (par production de molécules immunosuppressives TGF β , IL-10, iNOS, Arginase-1, IDO, PD-L1) ;
- promotion et attraction des Treg (production d'IL-10 et de CCL22) [24] ;
- promotion de l'angiogénèse (VEGF et PDGF), de la prolifération des cellules tumorales (production de facteurs de croissance) et des métastases (production de protéases dégradant la matrice extra-cellulaire, et de facteurs favorisant la migration des cellules tumorales comme l'EGF (*Epidermal Growth Factor*) [43].

Plusieurs études ont montré une corrélation entre la densité de l'infiltration macrophagique tumorale et un pronostic péjoratif pour certains types de cancer (hors carcinome colorectal), de même que la forte expression de facteurs de croissance macrophagiques tels que le CSF-1 [37,37,43,44].

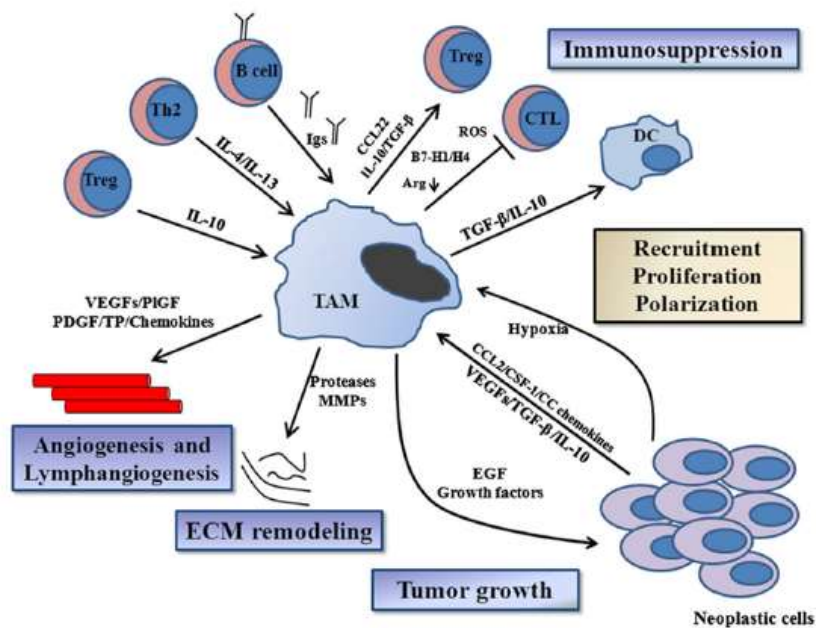


Figure 2. Les TAMs : leur polarisation M2 et leurs rôles au sein du MET
D'après Galdiero et al, 2013 [45]

c) Les polynucléaires neutrophiles associés aux tumeurs (TANs)

A l'instar des macrophages, ils semblent pouvoir jouer un rôle anti-tumoral (type N1) ou pro-tumoral (type N2).

Les neutrophiles de type N1 ont une activité cytotoxique et produisent des CK pro-inflammatoires telles que IL-1 β , TNF α , IL-6 et IL-12.

La présence de TGF β dans le MET pourrait induire le phénotype N2 capable de produire des réactifs oxygénés (ROS), des dérivés d'oxyde nitrique (NO), des facteurs pro-angiogéniques (VEGF) et des enzymes immunosuppressives inhibant la réponse T (Arginase 1, iNOS).

La présence des polynucléaires neutrophiles au sein du MET a été rapportée comme associée à un bon pronostic ou au contraire péjoratif, selon le type de cancer étudié [34,45–47].

3) L'environnement cytokinique tumoral

Les tumeurs sécrètent des CK et chemokines qui recrutent des cellules inflammatoires au lit tumoral et modulent leurs propriétés. Comme nous l'avons vu, ces infiltrats peuvent ensuite synthétiser à leur tour des CK, des facteurs de croissance et des facteurs angiogéniques qui vont accentuer ce phénomène et faciliter la croissance tumorale, sa vascularisation et sa dissémination métastatique.

Les principales CK d'intérêt du MET sont le **VEGF** (*Vascular endothelial growth factor*), le **TGF β** (*Transforming Growth Factor β*), l'**IL-10**, et la prostaglandine **PGE2**.

Elles **favorisent la réponse Th2** (IL-10), inhibent la réponse Th1 (inhibition d'IL-12) et affectent la maturation et la fonction des cellules immunitaires. L'expression de cytokines Th1 est d'ailleurs rapportée comme associée à un bon pronostic tandis que celles de la voie Th2 est associée à un pronostic péjoratif [2,25].

La production de réactifs oxygénés et de dérivés nitrés peut aussi promouvoir directement la progression tumorale en induisant des dommages ADN et donc l'acquisition de nouvelles mutations [2].

II. LES ENZYMES IMMUNOSUPPRESSIVES

1. PROPRIETES COMMUNES

Certaines enzymes participent physiologiquement à la régulation de la réponse immunitaire en exerçant des fonctions immunosuppressives. En oncologie, leur rôle dans l'échappement tumoral a été rapporté par plusieurs études et a mené au développement d'inhibiteurs spécifiques tels que les anti-IDO, aujourd'hui en cours d'essais cliniques comme thérapie adjuvante.

Deux grandes classes d'enzymes immunosuppressives ont été écrites [48] :

- Les enzymes qui catabolisent des acides aminés (AA) essentiels ou semi-essentiels, modifiant leur disponibilité tout en produisant des catabolites toxiques ;
- Les ectoenzymes qui dégradent l'ATP en adénosine, convertissant un message pro-inflammatoire en un signal anti-inflammatoire.

Nous nous intéresserons ici à la première classe enzymatique, découverte dans les années 1970. Les propriétés immunosuppressives de ces enzymes sont principalement associées à une inhibition de la réponse T : la privation du milieu extracellulaire en AA essentiels et la production de catabolites toxiques va altérer la prolifération et la fonction des LT. Après leur activation, les besoins nutritionnels et énergétiques des LT sont accrus et les rendent très sensibles aux modifications de leur microenvironnement métabolique [49].

Trois AA sont catabolisés par ces enzymes :

- l'**Arginine**, AA semi-essentiel catabolisé par les Arginases et iNOS (Oxyde Nitrique Synthase inductible);
- le **Tryptophane**, AA essentiel le moins abondant, catabolisé par IDO (Indoleamine 2,3 Dioxygénase) et TDO (Tryptophane 2,3 Dioxygénase);
- la **Phénylalanine**, AA essentiel catabolisé par IL4I1 (*IL-4 Induced gene1*).

A l'état basal, ces enzymes sont essentiellement produites par des cellules myéloïdes, mais leur expression a aussi été rapportée dans plusieurs types de tumeurs, par le MET et/ou les cellules tumorales elles-mêmes.

2. LES PRINCIPALES ENZYMES IMMUNOSUPPRESSIVES ET LEURS VOIES METABOLIQUES

1) Métabolisme du Tryptophane : IDO Tryptophane → Kynurénines

La dégradation oxydative du tryptophane en kynurénines peut être catalysée par 3 enzymes :

- IDO1, exprimée dans différents tissus (placenta, poumon, muqueuses, tissus lymphoïdes), par plusieurs types cellulaires (cellules endothéliales, épithéliales du tractus féminin, DC, macrophages), et inductible dans les cellules myéloïdes par des stimuli immunologiques (IFN γ , PGE2, ligands du TLR, interaction B7-CTLA4). Elle intervient à l'état physiologique dans la régulation de la réponse immunitaire : tolérance du fœtus, protection contre les maladies auto-immunes, prévention de dommages tissulaires en contexte inflammatoire [50,51].
- IDO2, de découverte plus récente, encore mal caractérisée.
- TDO, restreinte au foie et au cerveau.

IDO1 inhibe la prolifération et la fonction des LT (carence en tryptophane et toxicité des kynurénines) **et promeut la différenciation des Treg** (les kynurénines activent l'AHR *Aryl Hydrocarbon Receptor*, récepteur central dans la différenciation des Treg)[48,52–55]. Elle semble inhiber les LT de la voie Th1 sans affecter la population Th2, voire même favoriser la polarisation Th2 [56].

IDO est exprimée dans de nombreux types de proliférations tumorales solides et hématologiques, en proportion variable et par différents types cellulaires [51,57].

Dans une étude immunohistochimique sur 15 types de carcinomes, Théate *et al* ont observé son expression dans 58% des cas (505/866 échantillons). Les cellules marquées étaient des cellules tumorales, des cellules myéloïdes et/ou des cellules endothéliales, en proportion variable selon le type de cancer [51].

Elle est aussi exprimée dans différentes hémopathies (Lymphomes B diffus à grandes cellules, lymphomes de Hodgkin, leucémies aiguës myéloïdes) [58–61].

Son expression est associée à un enrichissement en Treg et à une inhibition de la réponse T CD8. Une forte expression d'IDO est corrélée à des paramètres de mauvais pronostic, appuyant le rôle de cette enzyme dans la progression tumorale [51,56,58–61].

Un nombre très minoritaire d'études ont au contraire rapporté une corrélation inverse, associant une forte expression d'IDO avec un bon pronostic; ces résultats étant peut être en rapport avec certains type tumoraux bien particuliers et/ou la nature des cellules exprimant IDO (cellules endothéliales notamment) ? [62,63]

In vitro et *in vivo*, l'impact d'IDO est réduit par le 1-méthyl-L-tryptophane (1MT), analogue compétiteur du tryptophane [57,58]. Plusieurs essais cliniques de phases 2 et 3 se sont développés ces dernières années afin d'évaluer l'efficacité de ces inhibiteurs d'IDO en tant que thérapie adjuvante [64,65].

2) Métabolisme de l'Arginine : iNOS et Arginase, 2 voies en compétition

La L-arginine peut être métabolisée par deux enzymes, compétitrices et respectivement inhibitrices, l'Arginase et iNOS :

• Arginase : Arginine → Urée + L-ornithine

Ils existe 2 isoformes d'arginase aux localisations tissulaire, cellulaire et intra-cellulaire différentes [48,66,67] :

- ARG1 : enzyme cytosolique constitutive, majoritairement exprimée chez l'homme dans le foie (cycle de l'urée), les érythrocytes et les granules de PNN. Chez la souris, son expression est induite dans les cellules myéloïdes par les CK de la voie Th-2 (IL-4, IL-13), le TGFβ. Partageant le même substrat, elle est en compétition avec iNOS, et régule ainsi la production de NO.
- ARG2, enzyme mitochondriale, exprimée par différents types cellulaires (cellules rénales, prostatiques, mammaires, neurones, macrophages, entérocytes...).

La L-ornithine est le précurseur de la synthèse des polyamines (essentiels à la prolifération cellulaire, y compris des cellules tumorales) et de la L-proline (composant du collagène).

L'arginase joue un rôle dans la promotion tumorale en altérant la réponse T (la déplétion en arginine inhibe l'expression de la chaîne ζ du TCR), en favorisant la croissance tumorale (synthèse de polyamines favorisant la prolifération cellulaire) et en diminuant la cytotoxicité anti-tumorale du NO (compétition avec iNOS) [68,69].

L'acquisition du phénotype immunosuppresseur des MDSCs au cours de l'évolution tumorale est marquée par une majoration significative de l'activité L-Arginase des DC.

• iNOS : Arginine → NO + L-citrulline

Il existe 3 isoformes de NOS qui diffèrent par leur localisation, leur régulation et leurs propriétés [48,67] :

- NOS1 (nNOS) : expression constitutive dans les neurones (signalisation) ;
- NOS2 (iNOS) : inductible dans des cellules immunitaires (immunomodulation) ;
- NOS3 (eNOS) : expression constitutive dans les cellules endothéliales (vasodilatation).

Chez la souris, iNOS est inductible par des CK pro-inflammatoires (IL-1, TNF, IFNβ) et les CK de la voie Th-1 (IFNγ).

Le NO possède des propriétés très diverses, pro- ou anti-tumorales pouvant favoriser ou ralentir la croissance tumorale selon son niveau et sa durée d'expression, et le contexte biologique [70]. Les différentes études réalisées sur l'expression d'iNOS au cours des cancers rapportent d'ailleurs des résultats variables, avec une corrélation à des facteurs pronostiques parfois positifs ou au contraire péjoratifs.

Il semble cependant que cette dichotomie métabolique de l'arginine entre voies iNOS/Th1 et ARG1/Th2 soit trop simpliste et que ces deux enzymes puissent en fait être coexprimées dans les MDSCs murines.

Cette coexpression aurait alors un effet toxique additionnel pour les LT par la génération de superoxyde O₂⁻ : la baisse de concentration en arginine catabolisée par ARG1 modifierait l'activité de iNOS, déplaçant sa production majoritaire de NO vers celle de O₂⁻. Elle générerait alors des dérivés réactifs de l'oxygène ou ROS (*reactive oxygen species*) comme le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, aux propriétés toxiques et inhibitrices sur les LT [67,69].

3) *Métabolisme de la Phénylalanine : IL411*

Phénylalanine → Phénylpyruvate + Ammonium + Peroxyde d'hydrogène

Voir chapitre détaillé ci-dessous.

3. IL4I1 : INTERLEUKINE 4 INDUCED GENE 1

1) Localisation et métabolisme

IL4I1 est le dernier membre découvert de cette famille d'enzymes immunosuppressives. Son gène, situé sur le chromosome 19 (19q13.3-19q13.4), code pour 2 isoformes selon un épissage alternatif [71,72] :

- l'isoforme 1 (567 AA), exprimée essentiellement dans les organes lymphoïdes (ganglion et rate ++), mais aussi le placenta et le poumon ;
- l'isoforme 2 (589 AA), exprimée dans les cellules de Sertoli, les cellules mitrales et le bulbe olfactif ;

IL4I1 est une oxydase de L-acides aminés (LAAO) : elle réalise la désamination oxydative d'un L-AA en présence d'oxygène. Elle a une activité plus spécifique de la phénylalanine, mais semble aussi métaboliser l'arginine et le tryptophane avec une plus faible affinité [40,73].

C'est donc une L-phénylalanine oxydase : elle dégrade la L-phénylalanine, produisant du phénylpyruvate, de l'ammonium (NH₃) et du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Le fait qu'elle soit N-glycosylée et plus active à pH acide suggère une localisation lysosomale, particulière pour les LAAO [74,75].

D'abord décrite chez la souris puis caractérisée dans les cellules B humaines, IL4I1 a fait l'objet de plusieurs études ces dernières années, suggérant un rôle immuno-régulateur de diverses fonctions T et d'autres acteurs de la réponse immunitaire adaptative [76].

Initialement décrite dans les lymphocytes B, elle est principalement sécrétée par des cellules myéloïdes, CPA des tissus lymphoïdes normaux et inflammatoires [74]. Elle y est observée dans les macrophages à corps tingibles des centres germinatifs et les histiocytes sinusoidaux ganglionnaires [74,77].

2) Rôle immunosuppresseur d'IL4I1

- ***In vitro*, IL4I1 présente différentes propriétés immunorégulatrices sur les LT [76] :**

Elle **inhibe la prolifération et la fonction des LT CD4 et CD8** (production d'H₂O₂, catabolite toxique qui induit une diminution transitoire de l'expression de la chaîne ζ du TCR) [49,74], diminue la production de chemokines et chimiokines Th1 (IFNγ et IL-2)[74,78] et **favorise la différenciation des Treg** (privation en phénylalanine et production de kynurénines)[79].

Dans l'étude de Boulland *et al*, la prolifération des LT en présence d'IL4I1 était réduite de 34%, avec une relation dose dépendante. Cette inhibition ne nécessitait pas de contact direct entre IL4I1 et les LT, suggérant l'action de molécules solubles issues de la réaction enzymatique. Elle se déroulait durant une période courte et précoce (3h).

Cette inhibition était similaire pour les CD4+ et CD8+ ; les LT CD45RO+ (mémoires) étaient en revanche plus sensibles que les CD45RA+ (naïfs).

Selon la durée d'exposition, H₂O₂ semble avoir divers effets sur les LT : une exposition courte inhibe leur prolifération et leur fonction sans affecter leur viabilité, tandis qu'une exposition longue entraîne leur apoptose [74,80].

Aubatin *et al* ont suggéré un autre mode d'inhibition des LT, indépendant de son activité enzymatique. IL4I1 pourrait moduler la voie de signalisation du TCR par sa sécrétion polarisée

dans la « synapse immunitaire », à l'interface LT/CPA, où elle pourrait se lier aux LT via un potentiel récepteur.

Dans cette étude, la présence d'IL4I1 lors de l'activation des cellules T affectait la phosphorylation de protéines impliquées très précocement dans la voie de signalisation du TCR, résultant en une inhibition globale des LT. L'activité enzymatique ne semblait pas responsable de cette inhibition : ni la déplétion en phénylalanine, ni les catabolites produits par la réaction enzymatique n'étaient responsables de cette diminution de signal. IL4I1 diminuait l'expression de tous les marqueurs d'activation des LT [81].

Elle joue un rôle « **auto-régulateur** » dans une population particulière de LT CD4+, les **Th17** : elle limite leur expansion médiée par le TCR en empêchant leur entrée dans le cycle cellulaire. En effet, malgré leur implication dans les désordres inflammatoires chroniques, les Th17 sont rarement retrouvés dans les sites inflammatoires. Ces cellules sont caractérisées par une très faible capacité à proliférer et à produire de l'IL-2 en réponse à l'activation du TCR.

Il a été démontré qu'IL4I1 est constitutivement exprimée dans ces cellules Th17, où elle incarne un mécanisme auto-régulateur de leur activité pro-inflammatoire : elle freine leur prolifération en bloquant la voie d'activation du promoteur d'IL-2 et en maintenant des niveaux élevés de protéines antiprolifératives qui inhibent leur entrée dans le cycle cellulaire [82].

- ***In vitro*, IL4I1 exerce aussi son rôle immunosuppresseur sur d'autres acteurs de la réponse immunitaire :**

Elle **inhibe la voie Th1** de l'inflammation [74,78].

Dans des modèles murins et sous l'influence d'IL-4, elle favorise la **polarisation des macrophages M2** (via la phosphorylation de STAT6 et STAT3), la sécrétion d'IL-10 et d'arginase 1 [40]. Elle interviendrait aussi dans l'activation et la différenciation des cellules B, en limitant leur prolifération induite par le BCR [83].

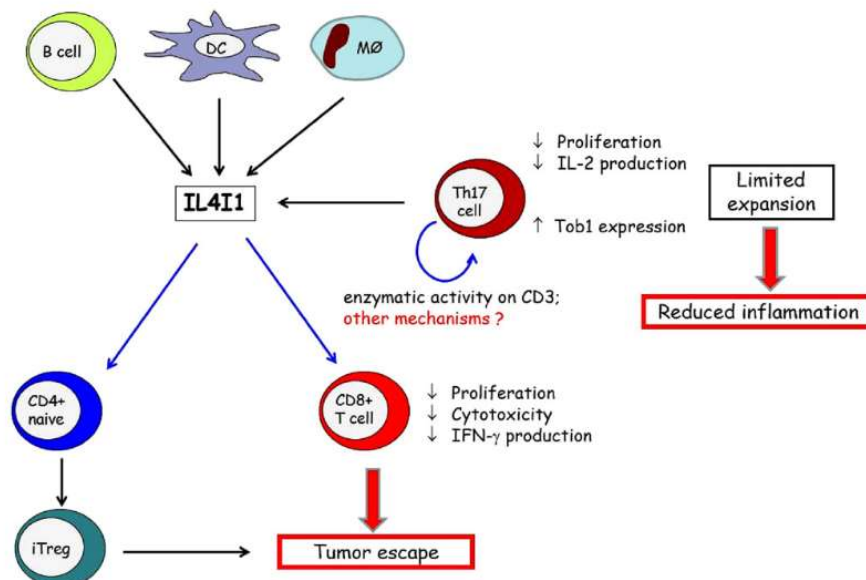


Figure 3. IL4I1 : fonctions et conséquences sur le MET et la progression tumorale
D'après Romagnani et al, 2016 [76]

3) Les promoteurs d'IL4I1

Les facteurs induisant IL4I1 semblent différents dans les cellules B et myéloïdes [78].

- **Cellules B : IL-4, voie Th2, STAT6**

Les cellules B ont été le premier type cellulaire où IL4I1 a été caractérisée, dans des modèles murins puis humains. Comme son nom l'indique, IL4I1 y est rapidement induite par IL-4 (CK de la voie Th2 jouant un rôle important dans l'activation des LB par les LT auxiliaires dans les centres germinatifs des organes lymphoïdes secondaires) [78].

Cette induction est STAT6 dépendante : IL-4 agit via les récepteur IL-4/IL-13 en induisant la phosphorylation du facteur de transcription STAT6, responsable de l'induction et de la répression de multiples gènes.

L'expression d'IL4I1 serait induite par l'activation constitutive de STAT6 dans les lymphomes de Hodgkin classiques et les lymphomes B primitifs du médiastin qui sont les principaux lymphomes dans lesquels les cellules tumorales expriment cette enzyme [77].

- **Cellules myéloïdes : IFN γ , voie Th1, STAT1**

En contexte inflammatoire, les macrophages et les DC sont les principaux producteurs d'IL4I1, en quantité bien plus élevée que dans les LB.

IL4I1 y est notamment induite par l'IFN- γ , via STAT1 [74,78,81].

Le promoteur d'IL4I1 comporte des sites de liaison aux protéines STAT (*Signal Transducers and Activators of Transcription*). Pour ces différents types cellulaires, des cofacteurs semblent nécessaires pour stimuler la pleine activité des facteurs STAT.

NF- κ B semble représenter un régulateur commun d'IL4I1 dans les deux types de cellules, en se liant à son promoteur [78].

4) Expression d'IL4I1 et tumeurs

Dans les tumeurs, IL4I1 est surtout exprimée par les TAMs et participerait à l'échappement tumoral en entravant la réponse T [49]. Elle a aussi été identifiée dans les cellules tumorales elles-mêmes, notamment dans certains types de lymphomes B systémiques [77].

a) IL4I1 et lymphomes systémiques

⇒ Expression d'IL4I1 par les cellules tumorales :

Dans une étude réalisée par Carbonnelle-Puscian *et al* portant entre autres sur 194 lymphomes, IL4I1 était exprimée par les cellules tumorales de **plusieurs types de lymphomes B**, notamment les PMBL (lymphome B diffus à grandes cellules primitif du médiastin), les lymphomes folliculaires, les lymphomes de Hodgkin et les lymphomes lymphocytiques/leucémies lymphoïdes chroniques (LLC) [77].

Il n'était en revanche pas observé d'expression significative d'IL4I1 dans les cellules tumorales des lymphomes NK/T [77].

- La plupart des **PMBL** présentaient un marquage fort des cellules tumorales. Ces résultats corroborent ceux de Copie-Bergman *et al*, qui avaient montré qu'une forte expression de ce gène était caractéristique de ce lymphome et pouvait résulter d'une activation constitutive de STAT6, émettant l'hypothèse d'un possible rôle de la voie IL4/IL13 dans la pathogénèse des PMBL.
- Contrairement aux PMBL, la plupart des DLBCL (*diffuse large B cells lymphoma*) non médiastinaux étaient IL4I1-. De rares cas montraient un marquage focal, sans corrélation avec le phénotype centro-germinatif (GC) ou non-GC.
- Un peu moins de la moitié des lymphomes de Hodgkin classiques (**cHL**) montraient une positivité des cellules de Hodgkin et de Reed-Sternberg, sans corrélation avec le statut EBV. La plupart des maladies de Hodgkin nodulaires à prédominance lymphocytaire (**NLPHL** : *nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma*) comportaient des cellules tumorales IL4I1+.
- Concernant les lymphomes B à petites cellules, les cellules tumorales des lymphomes de la zone marginale, du manteau, des plasmocytomes et myélomes n'exprimaient pas IL4I1. En revanche, la majorité des lymphomes **folliculaires** et 40% des **LLC** étaient IL4I1+. Dans les lymphomes folliculaires, ce marquage était observé essentiellement dans les follicules, et n'était pas corrélé au grade. Dans les LLC, les auteurs observaient un pattern particulier d'expression restreint aux para-immunoblastes des centres de prolifération.

Les cellules tumorales des lymphomes folliculaires, des cHL et des NLPHL sont supposées dériver de cellules B du centre germinatif (GC). Le micro-environnement associé aux GC pourrait donc favoriser l'expression d'IL4I1, en partie via l'activation de STAT6. Bien qu'ils n'aient pas observé de marquage d'IL4I1 dans les cellules B des GC normaux, une faible expression pouvant participer à la régulation des interactions entre cellules B et T auxiliaires à certains stades de leur développement ne peut être exclue.

En revanche, l'absence d'expression dans les DLBCL de type GC et les lymphomes de Burkitt va contre cette hypothèse. Pour les lymphomes de Burkitt, cette discordance pourrait être expliquée par l'expression de Myc, qui a récemment montré pouvoir induire une forte répression du gène IL4I1 *in vitro* chez la souris [77,84].

⇒ Expression d'IL4I1 par le MET :

Si l'expression d'IL4I1 par les cellules tumorales était restreinte à certains types de lymphomes, elle était en revanche observée dans des **cellules d'allure histiocyttaire dans les différents lymphomes étudiés** [77].

Les lymphomes de Hodgkin montraient une expression particulièrement forte des histiocytes, avec, dans les cHL, une corrélation inverse entre cellules de Reed-Sternberg (HRS) et TAMs. Lorsque IL4I1 était fortement exprimée par les HRS, l'infiltrat inflammatoire macrophagique était majoritairement négatif ; à l'inverse, lorsque les HRS étaient négatives ou faiblement marquées, la plupart des TAMs étaient positifs.

b) IL4I1 et tumeurs solides

Dans les tumeurs solides, **l'expression d'IL4I1 par les cellules tumorales paraît moins fréquente** qu'au cours des lymphomes systémiques B, restreinte à de rares types histologiques. Dans l'étude de Carbonelle-Puscian *et al*, parmi les 121 tumeurs solides, seuls 9 cas comportaient des cellules tumorales marquées : 5/10 mésothéliomes, 2/13 CBPNPC (carcinomes broncho-pulmonaires non à petites cellules), 1/6 carcinome thyroïdien et 1/3 carcinome ovarien. L'expression par les cellules tumorales de certains mésothéliomes pourrait être due à une régulation positive d'IL4I1 par les voies STAT1 et NF-κB [85–87].

En revanche, **la plupart présentait des macrophages CD14+ CD68+ IL4I1+**. Les cas négatifs correspondaient souvent à des échantillons riches en cellules tumorales et pauvres en infiltrat inflammatoire. Il n'y avait pas d'expression d'IL4I1 dans les lymphocytes réactionnels [77].

c) IL4I1 et tumeurs : rôle dans le développement tumoral et impact pronostique

IL4I1 module différents types de populations lymphocytaires avec des conséquences parfois inverses sur l'évolution tumorale, notamment entre tumeurs solides et pathologies lymphoïdes.

⇒ Dans les tumeurs solides, IL4I1 semble surtout affecter la réponse T antitumorale et promouvoir l'échappement tumoral :

Dans le mélanome, plusieurs modèles murins et humains montrent qu'IL4I1 favorise le développement tumoral en modifiant la composition du MET. Son expression semble associée à un pronostic plus péjoratif.

Dans un modèle murin de mélanome, Lasoudris *et al* ont montré que l'expression d'IL4I1 favorisait la croissance tumorale en inhibant la réponse T CD8 anti-tumorale [49].

Lloyd Bod *et al* ont étudié les conséquences de l'inactivation génétique d'IL4I1 chez des souris exprimant constitutivement le proto-oncogène c-ret induisant le développement précoce d'un mélanome de dissémination rapide. L'expression d'IL4I1 favorisait l'accumulation de MDSCs et de macrophages au site tumoral, limitait celle des cellules B et T et était corrélée à l'agressivité de la maladie. L'inactivation génétique d'IL4I1 chez ces souris retardait le développement tumoral et sa dissémination métastatique, limitait le recrutement de MDSCs et macrophages, et améliorait l'infiltration par des cellules B et T cytotoxiques Th1 [88].

Ces constatations se confirment chez l'homme où l'expression locale d'IL4I1 par des cellules myéloïdes limite l'infiltration par des LT CD8+, favorise l'enrichissement en Treg et est associée à un impact pronostique péjoratif [88,89].

Dans une étude sur 39 mélanomes cutanés primitifs, la proportion d'IL4I1 était plus importante dans les mélanomes ulcérés ou avec ganglion sentinelle (GS) positif et avait tendance à être associée à une rechute rapide et une survie plus courte. La localisation d'IL4I1 par rapport aux cellules tumorales semblait aussi associée à l'agressivité : sa présence au sein de la tumeur (près

des cellules tumorales et non en périphérie) était associée à une invasion du GS et un stade plus élevé.

Dans les cancers du sein, Finak *et al* ont observé que l'expression d'ARNm d'IL4I1 était associée à un mauvais pronostic parmi la signature de 163 gènes exprimés dans les cellules stromales [90].

⇒ **Dans les lymphomes, l'impact d'IL4I1 peut être très différent puisque les cellules tumorales sont elles-mêmes d'origine hématopoïétique et capables d'exercer des fonctions immunitaires, entretenant des interactions complexes et parfois paradoxales avec le MET.**

Par exemple, dans le lymphome folliculaire le maintien d'interactions entre les cellules B et les T auxiliaires a été proposé comme support à la prolifération du clone.

Dans ce contexte, l'inhibition T médiée par IL4I1 peut donc supprimer ce stimulus exercé par les T auxiliaires et qui est nécessaire à la survie des cellules tumorales...

Dans une étude portant sur 23 lymphomes folliculaires, Carbonnelle *et al* ont observé que l'expression d'IL4I1 était associée à des paramètres de meilleur pronostic. Il existait en effet une corrélation significative entre absence d'infiltration de la moelle osseuse et expression d'IL4I1 par les cellules tumorales ($p=0,02$), et absence de rechute et expression par les TAMs ($p=0,03$) [77].

⇒ Par ailleurs, Molinier-Frenkel *et al* ont mis en évidence que **dans certaines tumeurs, le polymorphisme génétique ou des mutations pouvaient modifier l'activité enzymatique d'IL4I1** [73]. Certaines mutations pourraient donc majorer ou au contraire minorer le rôle d'IL4I1 dans l'échappement tumoral au cours de certains cancers, et ainsi en grever ou au contraire améliorer le pronostic.

Il apparaît donc manifeste que IL4I1 joue un rôle régulateur important dans la réponse immunitaire anti-tumorale avec un impact globalement péjoratif, mais parfois complexe et paradoxal, notamment dans les pathologies lymphoïdes.

Tandis que son expression a été étudiée dans plusieurs types de tumeurs solides et de lymphomes systémiques, il n'y a pas à ce jour de donnée disponible pour les lymphomes cutanés primitifs.

III. LES LYMPHOMES CUTANES

1. GENERALITES

Les lymphomes cutanés primitifs constituent un groupe hétérogène d'entités, de nature B et T, d'incidence et d'agressivité très variées [91,92].

Leur classification a récemment été réévaluée par l'OMS, avec production d'une classification mise à jour en 2017 (Annexe 2).

*Les entités nouvelles ou révisées par l'OMS 2017 sont marquées d'une **.

En raison d'une possible invasion sanguine pour certains lymphomes T (lymphomes T cutanés épidermotropes : mycosis fongoïde et Sézary), deux systèmes d'évaluation du stade d'invasion selon le standard TNM ont été mis en place. Le système TNM(B) selon l'ISCL/EORTC (*International Society for Cutaneous Lymphomas/ European Organisation for Research and Treatment of Cancer*) est disponible en Annexe 3, où B désigne le niveau d'invasion leucémique (Blood).

Des photographies cliniques et histologiques représentatives des principales entités sont disponibles en Annexe 4.

2. LYMPHOMES T

Les lymphomes T cutanés les plus fréquents dans les pays occidentaux regroupent principalement les lymphomes T cutanés épidermotropes (Mycosis Fongoïde et Syndrome de Sézary) et les lymphoproliférations (LP) T cutanées CD30+ (LP TCD30+ : papuloses lymphomatoïdes et lymphomes T anaplasiques cutanés).

1) *Le Mycosis Fongoïde (MF)*

Entité la plus fréquente ($\approx 50\%$ des lymphomes cutanés), le MF survient généralement chez des sujets de 40-60 ans, avec une prédominance masculine (2:1) et une incidence majorée chez les sujets de peau noire. Au stade non transformé il a une évolution indolente avec un taux de survie à 5 ans de 88% [93].

La maladie se traduit typiquement par des plaques érythémateuses finement squameuses non infiltrées, avec des contours géographiques, encochés ou digitiformes, siégeant sur les zones non photo-exposées. Puis ces lésions peuvent s'infiltrer et former de véritables tumeurs. Le développement de tumeurs est généralement la marque d'un tournant évolutif, où l'infiltrat lymphocytaire néoplasique devient plus dense et s'enrichit en grandes cellules. On parle alors de MF transformé. Le pronostic chute à ce stade et la prise en charge thérapeutique doit être intensifiée.

Plus rarement, il peut s'agir d'une érythrodermie.

Dans les stades avancés, une dissémination extra-cutanée peut se produire (ganglions, foie, rate, poumons, sang).

Histologiquement, on observe un infiltrat lymphocytaire T en bande sous-épidermique, épidermotrope et/ou pilotrope, formant des amas (« micro-abcès de Pautrier ») intra-épidermiques ou s'alignant le long de la basale épidermique. Les cellules tumorales ont un noyau de taille petite ou moyenne, parfois atypique (plissé, circonvolé).

Dans les formes débutantes, le diagnostic est parfois difficile à affirmer cliniquement et histologiquement, d'autant plus qu'un clone T dominant n'est identifié que dans environ 55% des cas. Au stade non transformé il peut nécessiter plusieurs séries de biopsies, car l'infiltrat lymphocytaire néoplasique peut être très discret et moins abondant que l'environnement lymphocytaire réactionnel. A ce stade, la maladie est donc facilement confondue avec une maladie inflammatoire chronique de la peau (eczéma, psoriasis, toxidermie...).

Au plan phénotypique il s'agit d'un lymphome T de phénotype mature, TCR $\alpha\beta$ + CD3+, plus souvent CD4+ que CD8+, avec ou sans perte(s) antigénique(s) (CD7>CD5, CD2). Il peut exister une expression du CD30.

Trois variants de MF sont individualisés dans la classification OMS : le MF chalazodermique/granulomateux, le MF pagétoïde (tous deux de meilleur pronostic que le MF classique avec 100% de survie à 5 ans), et le MF pilotrope (au pronostic un peu moins bon avec 80% de survie à 5 ans) [93].

Le MF transformé (MFT) se définit histologiquement par des plages de cellules de grande taille (théoriquement > 4 lymphocytes normaux) représentant plus de 25% de l'infiltrat total.

On y observe souvent une perte de l'épidermotropisme et parfois l'expression aberrante du CD20. Les formes CD30+ posent le problème du diagnostic différentiel avec une LP TCD30+ associée [91,92], situation relativement fréquente.

Contrairement au MF indolent, le MFT est d'évolution agressive avec une médiane de survie de 2 ans et un taux de survie à 5 ans de 33% [94]. Chez ces patients, la négativité du CD30, le pilotropisme, l'étendue des lésions cutanées et l'atteinte extra-cutanée de la transformation sont des facteurs de mauvais pronostic [94].

2) *Le Syndrome de Sézary (SS)*

Ce lymphome T cutané épidermotrope et leucémique, représente moins de 5% des lymphomes T cutanés. Contrairement au MF non transformé, il est d'emblée d'évolution agressive, avec une survie à 5 ans de 10-30% [92,93].

Il est caractérisé par la triade érythrodermie, polyadénopathies et cellules tumorales circulantes. Ces cellules de Sézary aux noyaux cérébriiformes correspondent à un clone T de différenciation auxiliaire mémoire TRC $\alpha\beta$ +, CD45RO+, CD3+, CD4+, avec le plus souvent un phénotype particulier CD26-, KIR3DL2+, PD1+.

Le diagnostic nécessite au moins 1 des critères suivants [92] :

- Nombre absolu de cellules circulantes de Sézary $\geq 1000/\mu\text{L}$;
- Expansion de la population CD4 circulante avec un ratio CD4/CD8 ≥ 10 ;
- Expansion de la population T CD4 circulante avec perte antigénique (CD4+/CD7- ou CD4+/CD26-).

Cliniquement, on observe une érythrodermie infiltrée, à gros plis, souvent très prurigineuse, associée à des polyadénopathies.

L'aspect histologique est proche du MF.

L'infiltrat est typiquement de phénotype T CD3+ CD4+/CD8-, avec ou sans perte(s) antigénique(s) T (CD7>CD2, CD5) et il existe dans la majorité des cas une expression intense de PD1 [92,93].

Les altérations génétiques identifiées dans le MF et le SS sont très hétérogènes.

L'activation constitutive de la voie NF- κ B observée dans ces lymphomes cutanés, leur confère une résistance à l'apoptose [92,95–99].

L'activation de la voie Jack/STAT3, facteur de transcription régulant de nombreux gènes régulateurs de l'apoptose (Bcl2/Bax) joue aussi un rôle dans les SS et le développement des MF au stade tumoral [100,101].

L'activation de ces voies de signalisation pourrait être expliquée par des mutations récurrentes avec gain de fonction de gènes notamment impliqués dans la signalisation du TCR et des récepteurs cytokiniques (PLCG1, CD28, CARD11, TNFRSF1B).

D'autres altérations, affectant des régulateurs épigénétiques, du cycle cellulaire (TP53), de la réparation de l'ADN ou de la différenciation cellulaire (ZEB1) ont par ailleurs été décrites.

3) Les LP TCD30+

Les LP TCD30+ représentent 30% des lymphomes T cutanés, regroupant un spectre de maladies allant de la papulose lymphomatoïde (PL) (12%) au lymphome anaplasique cutané primitif à grandes cellules (LACP) (8%), avec des formes intermédiaires difficiles à classer [93].

Si ces différentes entités sont d'évolution indolente, le LACP présente un potentiel d'agressivité locale tandis que la PL est d'évolution souvent spontanément régressive.

L'aspect clinique et l'évolution sont déterminants pour le diagnostic, tandis que l'histologie ne permet pas de différencier ces deux entités : on observe dans tous les cas de grandes cellules atypiques CD30+, anaplasiques et/ou pléomorphes, associées à un infiltrat inflammatoire polymorphe d'intensité variée [92,93].

a) La papulose lymphomatoïde (PL)

Il s'agit d'une éruption chronique, récurrente et auto-régressive de papules ou nodules multiples, parfois nécrotiques, pouvant survenir chez des enfants ou des adultes. Les sites électifs sont le tronc et les extrémités.

Dans 20% des cas, la PL est associée ou suivie d'un autre type de lymphome (MF, LACP, lymphome de Hodgkin) [102].

Histologiquement, il existe 5 sous-types de PL selon la proportion de cellules anaplasiques, leur distribution, leur phénotype et la présence d'une angio-invasion.

Cette classification n'a pas d'impact pronostique ni thérapeutique reconnu à ce jour [92].

Le sous-type D semble moins souvent associé au développement d'un autre lymphome [102].

Les sous-types cytotoxiques D et E sont importants à connaître car ils ne doivent pas être confondus avec d'autres lymphomes cytotoxiques très agressifs (lymphome cutané épidermotrope agressif CD8+ cytotoxique et lymphome NK/T).

Sous-types	Particularités histologiques	Diagnostics différentiels
A (>80%)	Grandes cellules CD30+ CD4+ en petits clusters Important infiltrat inflammatoire polymorphe	LACP MFT Hodgkin
B (<5%)	Petites cellules cérébriformes CD30+/- CD4+ Epidermotropisme	MF
C (10%)	Riche en plages de grandes cellules CD30+ Infiltrat inflammatoire peu abondant	LACP MFT
D (<5%)*	Cellules petites/moyennes CD30+ CD8+ cytotoxiques Epidermotropisme++/pagétoïde	Lymphome cutané épidermotrope agressif CD8+ cytotoxique
E (<5%)*	Cellules petites/moyennes CD30+ CD8+ cytotoxiques Angio-invasion, nécrose, hémorragie (EBV-)	Lymphome NK/T

Tableau 1. Les sous-types histologiques de papulose lymphomatoïde

Un 6^{ème} sous-type a récemment été individualisé au plan moléculaire : **PL avec réarrangement DUSP22/IRF4* (5%)**. Il s'agit de patients souvent plus âgés, avec des lésions cutanées localisées. Histologiquement, on observe souvent un pattern biphasique avec un épidermotropisme de cellules petites à moyennes faiblement CD30+ et un infiltrat dermique de grandes cellules fortement CD30+, pouvant simuler un MF transformé [103].

b) Le lymphome anaplasique cutané primitif (LACP)

Il se présente sous la forme d'une tumeur unique, parfois ulcérée. La régression spontanée est possible mais est moins fréquente que pour la PL.

Une dissémination (souvent ganglionnaire régionale) survient dans 10% des cas.

Histologiquement, on observe un infiltrat diffus de grandes cellules, avec une cytologie parfois pléomorphe ou immunoblastique.

Les lésions ulcérées peuvent avoir l'aspect d'une PL avec un infiltrat réactionnel polymorphe et des cellules CD30 plus éparses.

Au plan phénotypique, ces cellules sont CD30+ CD4+ (parfois CD8+), avec une perte antigénique variable des marqueurs T, EBV-, CD56- [92,93].

Au plan moléculaire, contrairement au lymphome anaplasique systémique le réarrangement de ALK est exceptionnel (<1%, chez des enfants ou jeunes adultes).

En revanche, la translocation DUSP22/IRF4 est rapportée dans 25% des LACP [104,105].

Comme dans la PL, ces formes réarrangées comportent parfois un épidermotropisme pagétoïde inhabituel.

4) *Autres lymphomes T cutanés primitifs*

⇒ Lymphomes T cutanés d'évolution indolente

- **Lymphome T sous-cutané à type de panniculite**

Il s'agit d'un lymphome T cytotoxique sous-cutané rare (1% des lymphomes cutanés), survenant préférentiellement chez les femmes jeunes avec terrain auto-immun (lupus érythémateux disséminé notamment).

L'atteinte prédomine aux membres avec des nouures/nodules sous-cutanés, des placards profonds infiltrés, **sans signe épidermique en regard, sans ulcération.**

L'évolution se fait par poussées régressives puis les lésions restent fixes.

La dissémination extra-cutanée est très rare (cas d'infiltration médullaire).

Le pronostic est dominé par le syndrome d'activation macrophagique (SAM) parfois associé, avec un taux de survie à 5 ans de 82% [93].

A la biopsie (qui doit être profonde), on observe, sous un épiderme et un derme normaux, une panniculite lobulaire lymphocytaire avec une apoptose marquée et de la cytotéatonecrose.

Les lymphocytes **TCR $\alpha\beta$ +/ β F1+ CD8+** cytotoxiques activés (TiA1, GrB+, perforine+), CD56- forment des anneaux/colliers de perles autour des adipocytes.

Contrairement à la panniculite lupique, il n'y a typiquement pas de cellule plasmocytoïde dendritique (CD123), pas de follicule lymphoïde réactionnel et pas d'altération épidermique. Ces deux entités sont cependant parfois très difficiles à distinguer avec des formes frontières qui illustrent le fait que la panniculite lupique correspond plus vraisemblablement à un état pré-lymphomateux qu'à un véritable diagnostic différentiel.

Le principal autre diagnostic différentiel est le lymphome T cutané $\gamma\delta$, d'évolution agressive (TCR $\gamma\delta$ +, CD56+, atteinte dermique et épidermique, angiocentrisme) [92,106].

- **Lymphoprolifération T CD4+ primitive cutanée***

Cette entité rare représenterait 2% des lymphomes T cutanés.

Sa nouvelle dénomination souligne bien son évolution indolente (ancien « lymphome T CD4+ primitif cutané pléomorphe à petites et moyennes cellules »).

Elle se présente sous la forme d'un **nodule unique** dans la région cervico-céphalique ou la partie supérieure du tronc.

Il s'agit d'un infiltrat dermique dense et diffus, avec tendance à l'infiltration péri-annexielle et hypodermique. Les lymphocytes de taille moyenne, de phénotype T CD4+ **TFH** (PD1, CXCL13, ICOS) sont dispersés ou en petits amas, mêlés à un infiltrat réactionnel polymorphe avec parfois de **nombreux lymphocytes B** pouvant masquer la lymphoprolifération.

Les principaux diagnostics différentiels sont les autres lymphomes de différenciation TFH, le MF en voie de transformation (notamment en cas d'épidermotropisme) justifiant une confrontation anatomo-clinique [92], et lorsque le contingent B est abondant un simple infiltrat réactionnel ou un lymphome B cutané de la zone marginale.

- **Lymphome T CD8+ primitif cutané acral***

Il s'agit d'une lésion très rare, réalisant un nodule unique de l'oreille ou de topographie acrale (nez, doigts, orteils), de croissance lente, d'évolution indolente avec possibilité de récidives locales.

L'aspect histologique inquiétant contraste avec l'évolution indolente de ce lymphome :

la prolifération dermique est dense, non épidermotrope (présence d'une *grenz zone*) et s'étend fréquemment à l'hypoderme. Elle est faite de cellules de taille moyenne, monomorphes et atypiques, fréquemment associées à des îlots lymphoïdes B réactionnels.

Il n'y a pas d'angiotropisme, de destruction vasculaire ni de nécrose.

L'immunohistochimie montre que ces cellules sont T CD8+ cytotoxiques avec un marquage TiA1+ en « dot » (golgi) et un taux de prolifération bas (<10%), une négativité de CD56, CD30 et EBV. A noter que les marqueurs GranzymeB et Perforine sont souvent négatifs [92].

⇒ Lymphomes T cutanés agressifs

Ce groupe comporte trois entités très rares (<1% des cas de LT cutanés chacune) mais d'évolution particulièrement agressive.

• **Lymphome NK/T de type nasal cutané**

Ce lymphome se présente sous la forme de nodules, tumeurs, ulcérations ou infiltrations sous-cutanées souvent multiples, dans un contexte d'altération de l'état général.

Il survient chez des adultes avec une prédominance masculine et dans les populations d'Asie et d'Amérique centrale ou du sud.

A l'histologie, on observe un infiltrat dermique ou dermo-hypodermique fait de lymphocytes de taille moyenne à grande, à l'activité mitotique marquée, caractérisé par son angiocentrisme induisant fréquemment de la nécrose et des ulcérations.

Ces cellules expriment classiquement le CD2, le CD3 intracytoplasmique, le CD56, les marqueurs cytotoxiques et sont associées à l'EBV (latence de type II : LMP1+, EBNA2-). Le CD30 peut être exprimé [92].

• **Lymphome T cutané primitif $\gamma\delta$**

Ce lymphome atteint souvent les extrémités et peut être de présentation clinique très variée : nodules sous-cutanés (panniculite), plaques ou nodules ulcérés.

Il est souvent associé à un SAM (notamment en cas de panniculite).

C'est un lymphome très agressif avec une médiane de survie de 15 mois et un taux de survie à 5 ans de 33%.

La biopsie montre un infiltrat de cellules T de taille moyenne pouvant toucher l'épiderme, le derme et l'hypoderme (alors associées à des histiocytes avec cytophagocytose).

Les images d'apoptose et de nécrose sont communes, de même que l'angioinvasion.

Ce sont des cellules T $\gamma\delta$ matures **TCR $\gamma\delta$ +/ $\alpha\beta$ -**, CD2+, CD3+, CD4-/CD8-, **cytotoxiques activées** (TiA1+, GrB+, perforine+), souvent **CD56+**, **EBV-**

En cas de panniculite isolée, le principal diagnostic différentiel est le lymphome T sous-cutané à type de panniculite (TCR $\alpha\beta$ +) [92,107].

• **Lymphome T épidermotrope CD8 cytotoxique agressif**

Ce lymphome rare a un pronostic catastrophique avec une évolution rapide et un taux de survie à 5 ans de 18% [93].

Cette entité provisoire se distingue des autres lymphomes T CD8 cytotoxiques cutanés par sa présentation clinique, son évolution et certains aspects histologiques tels qu'un épidermotropisme marqué avec nécrose épidermique.

Cliniquement, il s'agit d'une éruption généralisée de plaques, nodules et tumeurs ulcérées, érosives ou nécrotiques avec altération de l'état général et dissémination viscérale (poumons,

testicules, système nerveux central, muqueuse orale), le plus souvent sans atteinte ganglionnaire.

On observe un infiltrat très épidermotrope et pilotrope fait de lymphocytes pléomorphes, de taille moyenne à grande. Les dommages épidermiques (nécroses kératinocytaires, spongiose, bulles) et annexiels (destruction) sont fréquents.

Ces cellules sont CD3+, CD8+, cytotoxiques (TiA1+, GrB+, Perforine+), EBV-, CD56-.

Les pertes antigéniques T sont fréquentes [92,108].

Il pose un problème de diagnostic différentiel avec les autres lymphomes T CD8+ épidermotropes, indolents, au pronostic radicalement différent (pityriasis lichénoïde aigu de Mucha-Abermann, PL de type D, MF CD8+), d'autant plus que des formes débutant par des lésions d'allure plus indolentes et chroniques ont été décrites dans une grande série par Guitart *et al* [108].

3. LYMPHOMES B

Les lymphomes B cutanés les plus fréquents regroupent 2 entités indolentes (lymphome B centro-folliculaire cutané primitif et lymphome cutané de la zone marginale, représentant environ 40% des cas de lymphomes B cutanés chacun) et une entité agressive (lymphome B diffus à grandes cellules de type jambe).

1) *Lymphome B centro-folliculaire cutané primitif (CF)*

Ce lymphome B se présente sous la forme d'une lésion souvent unique (plaque indurée, ou nodule érythémateux) de la partie supérieure du tronc ou sur la région céphalique. La dissémination extra-cutanée est exceptionnelle et la survie à 5 ans est > 95% [92,93].

A l'histologie, on observe une prolifération lymphomateuse dermique d'architecture diffuse plus souvent que nodulaire, avec typiquement une infiltration interstitielle d'allure réticulée entre les faisceaux de collagène dermique et des artefacts d'écrasement des lymphocytes tumoraux. La cytologie associe en proportions variées des centrocytes d'aspect clivé (petits ou grands) et des centroblastes.

Ces cellules ont un phénotype B (CD20+) centro-germinatif (Bcl6+, Stathmin+, Mum1-). Contrairement au lymphome folliculaire ganglionnaire, **CD10 et Bcl2 sont rarement exprimés**, l'expansion du réseau de cellules folliculaires dendritiques (CD21, CD23) peut être très discrète et la translocation du gène Bcl2 est habituellement absente, expliquant le phénotype Bcl2-. Il existe d'authentiques lymphomes B CF cutanés primitifs Bcl2+ (avec ou sans réarrangement de Bcl2), qui représenteraient moins de 10% des cas. Une forte positivité de Bcl2 et CD10 et la présence d'une translocation impliquant Bcl2 doivent avant tout faire éliminer une localisation cutanée secondaire de lymphome folliculaire ganglionnaire. Au plan moléculaire, on peut noter la délétion 1p36 (17% des cas) et plus rarement des réarrangements de Bcl2 ou Bcl6 [92].

2) *Lymphome B cutané de la Zone Marginale (ZM)*

Ce lymphome indolent et fréquent se présente sous la forme de papules ou nodules érythémateux de tailles variées, souvent multiples, siégeant sur le tronc, les extrémités ou plus rarement la tête et le cou. Le pronostic est excellent avec un taux de survie à 5 ans de 99% et la transformation en lymphome agressif est quasi-inexistante [93].

La biopsie montre un infiltrat lymphoïde dermique assez dense, d'architecture diffuse formant des « coulées », avec parfois des renforcements nodulaires (présence de follicules réactionnels). Cet infiltrat est constitué de petites cellules B, d'aspect régulier ou plasmocytoïde qui **infiltrant et dissocient souvent des centres germinatifs réactionnels**. Il s'y mêle un infiltrat T réactionnel parfois prédominant.

Ces cellules ont un phénotype B mature (CD20+, CD79a+, CD5-) post-germinatif (Bcl2+, Mum1+), et le contingent plasmocytoïde/plasmocytaire (CD138+) permet généralement de caractériser la nature clonale de la lésion par la mise en évidence d'une expression dominante d'une chaîne légère d'immunoglobuline (monotypie kappa ou lambda). Elles sont négatives pour les marqueurs centro-germinatifs (CD10-, Bcl6-) qui mettent en revanche en valeur les follicules réactionnels infiltrés.

Le principal diagnostic différentiel est l'**hyperplasie lymphoïde réactionnelle**, parfois très difficile à différencier lorsqu'il manque l'image d'invasion des centres germinatifs, ou que la

différenciation plasmocytaire est insuffisante, ne permettant pas d'identifier d'expression monotypique des chaînes légères d'immunoglobulines [92].

3) *Lymphome B diffus à grandes cellules « type jambe » (DLBCL-LT) **

Ce lymphome agressif représente 20% des lymphomes B cutanés et 4% de l'ensemble des lymphomes cutanés. Il a été individualisé comme une entité à part entière dans la classification OMS 2017 des lymphomes.

Il survient chez des sujets âgés avec, comme son nom l'indique, une atteinte préférentielle des jambes (bien que d'autres localisations soient possibles) sous la forme de nodules tumoraux rouges à violacés, parfois coalescents, ulcérés.

La dissémination extra-cutanée est fréquente et la survie à 5 ans est d'environ 50% [92,93,109].

L'histologie montre une prolifération dermique ou dermo-hypodermique dense, non épidermotrope, diffuse, faite de grandes cellules rondes nucléolées centroblastiques et immunoblastiques, avec de nombreuses mitoses.

Le phénotype est lymphocytaire B **non centro-germinatif** (CD20+, Bcl6-, CD10-, **MuM1+**), avec une **forte expression de Bcl2**.

Les localisations cutanées de DLBCL dont le phénotype est inhabituel, ne rentrant pas dans la définition du « type jambe », doivent faire considérer les diagnostics de DLBCL EBV+ et de localisation cutanée secondaire de DLBCL systémique. Un diagnostic de DLBCL primitif cutané non classable (NOS) pourra être retenu par élimination.

Les altérations moléculaires les plus fréquentes affectent des partenaires de la voie NF-κB avec comme altération la plus fréquente la mutation hot-spot de **MYD88** L265P, présente dans environ 2/3 des cas [92].

4) *Lymphome B Intravasculaire*

Ce lymphome agressif est exceptionnel.

Il réalise une infiltration œdémateuse de la peau avec parfois des plaques érythémateuses télangiectasiques peu infiltrées. L'atteinte cutanée peut être infraclinique, justifiant la réalisation de biopsies cutanées en peau saine chez les adultes développant une comitialité.

Les atteintes neurologiques associées sont en effet fréquentes, notamment dans le variant « occidental ». Le variant « oriental » se caractériserait par une atteinte systémique prédominante avec volontiers un SAM. La survie à 5 ans est de 65%.

La biopsie cutanée doit être profonde, comportant l'hypoderme. Les cellules tumorales CD20+ sont de grande taille, nucléolées, présentes dans des capillaires dilatés du derme ou parfois seulement de l'hypoderme. Les lésions sont parfois très subtiles à identifier sur coupes histologiques du fait de la discrétion de l'infiltrat intravasculaire qui peut passer inaperçu.

4. PRISE EN CHARGE ET TRAITEMENTS ACTUELS

En France, la prise en charge des lymphomes cutanés est idéalement discutée en réunion de concertation pluridisciplinaire d'un centre de référence régional du Groupe Français d'Etude des Lymphomes Cutanés (GFELC) labellisé par l'Inca, afin de valider le diagnostic et la stratégie thérapeutique.

1) MF et SS

Des recommandations européennes concernant la prise en charge du MF et du SS ont été publiées en 2017 [110].

C'est le stade qui détermine la stratégie thérapeutique [110].

⇒ **Stades IA-IIA** (macules ou plaques, sans atteinte ganglionnaire) :

Stades IAT1a : surveillance clinique seule possible, le risque de progression étant très faible (<10% à 10ans).

Stades IAT1b et IB : traitement local en 1^{ère} intention:

- par dermocorticoïdes de classe forte (94% de taux de réponse globale) ;
- en cas d'échec, la chlorméthine en gel (agent alkylant) pourra être utilisée.

En cas de surface cutanée étendue, la photothérapie PUVA ou UVB pourra être bénéfique, avec le facteur limitant des doses cumulatives d'UV à respecter.

A l'inverse, en cas d'atteinte en plaque très localisée comme dans le MF pagétoïde, une radiothérapie localisée fractionnée faible dose peut être proposée.

Le recours aux **traitements systémiques** est justifié en 2^{ème} intention en cas d'échec des traitements topiques : Bexarotène (agoniste synthétique des rétinoïdes), IFN α , Méthotrexate. Ces traitements peuvent être administrés en monothérapie, combinés entre eux, ou associés à la photothérapie.

En cas d'atteinte étendue T2b réfractaire, l'électronthérapie corporelle peut être proposée.

⇒ **Stades IIB** (tumeur sans atteinte ganglionnaire) : **traitements systémiques** (Bexarotène, IFN α , Méthotrexate), associés ou non à une radiothérapie locale en cas de lésion tumorale gênante. En cas d'échec, on aura recours aux **chimiothérapies** (gemcitabine, doxorubicine liposomale pegylée ou Caelyx®).

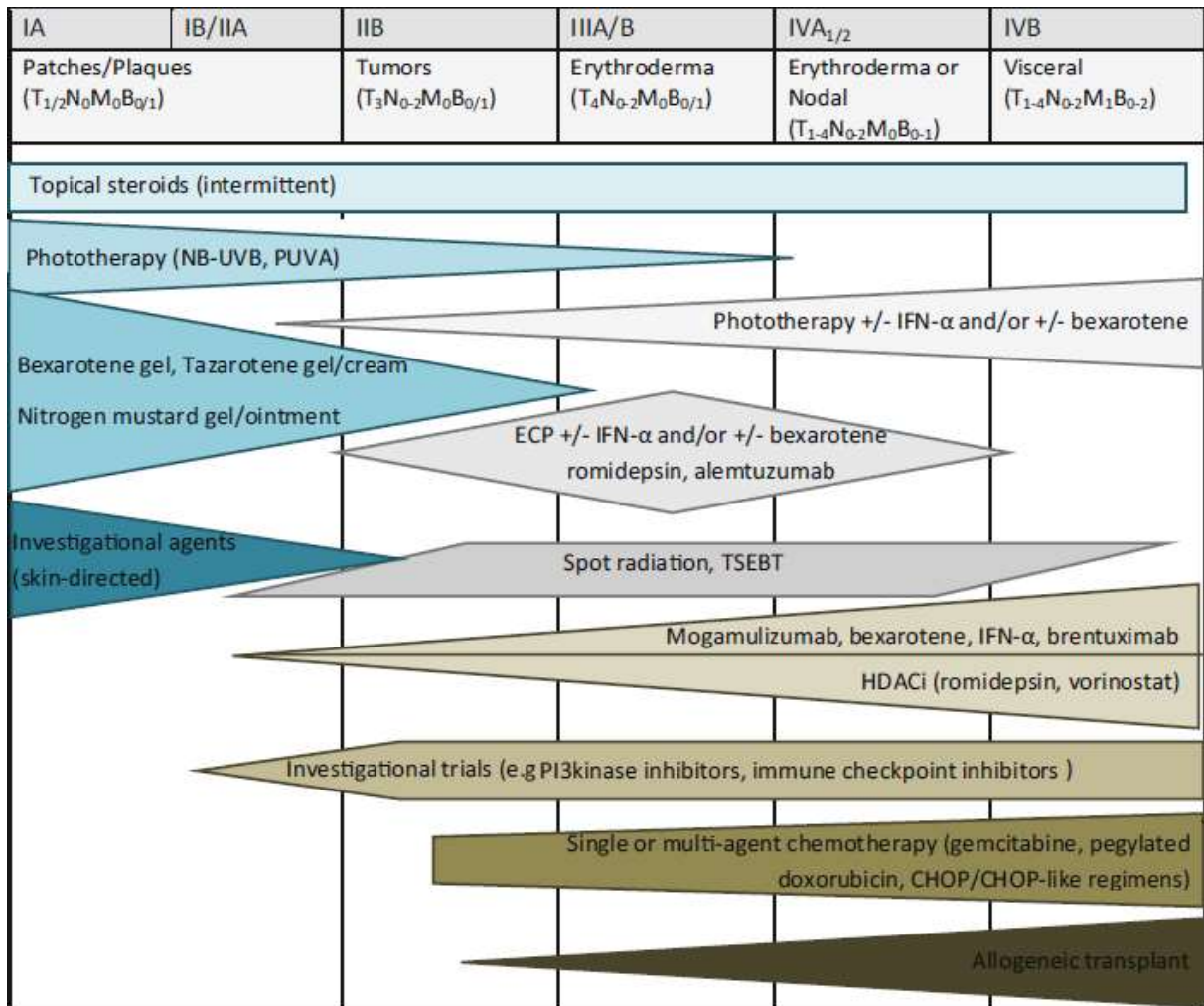
⇒ **Stades III** (érythrodermie) : **traitements systémiques** (Bexarotène, IFN α , Méthotrexate) et/ou photophérèse ou électronthérapie corporelle totale. En cas d'échec, les **chimiothérapies** seront indiquées et la mise en place d'une **allogreffe** devra être envisagée (nécessitant une rémission pré-greffe quasi-complète).

⇒ **En cas d'atteinte ganglionnaire ou viscérale, on aura recours d'emblée aux mono-/poly-chimiothérapie(s) et au projet d'allogreffe lorsqu'il est possible.**

⇒ **Les stades avancés peuvent aussi désormais bénéficier de nouveaux traitements, avec notamment le développement d'anticorps monoclonaux.** Ces traitements ont pu être développés ces dernières années par l'identification de nouveaux acteurs dans la prolifération tumorale ou de nouveaux marqueurs permettant de cibler les cellules tumorales [93] :

- Anticorps anti-CD30 couplé à un poison du fuseau (Brentuximab Vedotin) ayant l'AMM pour les MF/SS exprimant le CD30 ;

- Anticorps anti-CCR4 (mogalizumab), anti-KIR3DL2 (IPH4102), anti-PD1 (Pembrolizumab), anti-CD70, anti-CD52 (Alemtuzumab),... dans le cadre d'essais thérapeutiques.



Abbreviations: *ECP* extracorporeal photopheresis, *HDACi* histone deacetylase inhibitor; *IFN-α* interferon-alpha, *NB-UVB* narrowband-ultraviolet light B; *PUVA* psoralen ultraviolet light A; *TSEBT* total electron beam therapy; *CHOP* cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone

Figure 4. Stratégie thérapeutique des MF et SS en fonction du stade
D'après Querfeld et al, 2019 [93]

2) *Lymphomes B cutanés*

- **Les formes indolentes** (CF, ZM) sont le plus souvent traitées localement par **exérèse chirurgicale ou radiothérapie**. En cas de lésions multiples évolutives ou de masse tumorale élevée un traitement systémique par mono-chimiothérapie (Chlorambucil) ou Rituximab peut être proposé.
Les rares formes progressives avec extension extra-cutanée peuvent bénéficier de polychimiothérapies associées au Rituximab de type R-CHOP (Rituximab, Cyclophosphamide, Doxorubicine, Vincristine, Prednisone) [111].
- **Les DLBCL-LT** sont traités, par analogie aux DLBCL ganglionnaires, par **polychimiothérapies** de type R-CHOP. Il est cependant nécessaire de prendre en compte la toxicité de ces traitements chez des sujets souvent âgés : réduction des doses d'anthracyclines pour leur toxicité cardiaque (R-miniCHOP) voire suppression (R-CVP : cyclophosphamide, vincristine, prednisone) [111].

IV. LYMPHOMES CUTANES ET ENVIRONNEMENT IMMUNOREGULATEUR

Les cellules tumorales des lymphomes cutanés étant elles-mêmes des cellules immunes, l'étude de l'environnement immunorégulateur dans ce domaine doit s'intéresser 1) à la nature et fonction des cellules immunes du MET, 2) aux fonctions immunes des cellules tumorales elles-mêmes, 3) à l'environnement cytokinique résultant de l'activité du MET et des cellules lymphocytaires néoplasiques et 4) aux mécanismes d'échappement mis en jeu par les cellules néoplasiques.

1. LYMPHOMES T

L'environnement immunitaire des lymphomes cutanés primitifs a surtout été étudié dans les MF/SS et représente une cible thérapeutique, pouvant expliquer l'efficacité de certains des traitements classiques utilisés (figure 7).

1) *L'environnement cytokinique*

Au cours de ces lymphomes, **l'évolution tumorale est nettement associée à un profil cytokinique Th2** et à une altération de la voie Th1 [112–118].

Cette polarisation semble apparaître dans les stades avancés [119–123] et jouer un rôle important dans la progression tumorale en inhibant la réponse T effectrice, et en favorisant un MET immunosuppresseur [119].

En effet, les MF débutants présentent un profil Th1 avec une forte production d'IL-2 et d'IFN γ permettant une réponse immunitaire anti-tumorale. A l'inverse, les MF avancés (T3) et les SS sont caractérisés par un profil cytokinique Th2 et une altération de la réponse Th1 [124–126].

Ce « **virage** » **cytokinique** et la constitution d'un MET immunosuppresseur semble être un événement pivot dans l'évolution de ces lymphomes vers des stades agressifs en permettant l'échappement tumoral [117].

Ce déséquilibre Th2>>Th1 permet de comprendre l'intérêt des traitements utilisés dans ces lymphomes comme l'IFN.

Il explique aussi la forte susceptibilité aux infections et la fréquente association à une hyper-éosinophilie et à des taux élevés d'IgE observés chez ces patients aux stades avancés [127].

Outre leur effet immunosuppresseur, l'IL-4 et l'IL-13 auraient aussi un effet autocrine et favoriseraient la prolifération des cellules tumorales en activant STAT6 [128].

2) *Le MET*

La progression du SS et du MF est aussi associée à des modifications des acteurs cellulaires présents dans le MET. On peut observer en effet **l'accumulation de DC immatures, de MDSCs, de TAMs** et la **diminution d'effecteurs** fonctionnels tels que les cellules T CD8 et NK dans la peau et dans le sang circulant [117,126,127,129–133].

3) *Les cellules tumorales*

Les cellules tumorales semblent orchestrer elles-mêmes en grande partie cette polarisation : **elles acquièrent un profil d'expression cytokinique de type Th2** avec une production accrue d'IL-4, IL-5, IL-10 et IL-13 [114,117,127,134–137].

De façon intéressante, plusieurs auteurs ont observé la normalisation du pattern de sécrétion cytokinique avec la disparition des cellules tumorales [138].

De plus, l'activation de facteurs de transcription spécifiques de la voie Th2 (GATA-3 et JunB) et la répression de facteurs de transcription de la voie Th1 (T-bet) ont été rapportées dans les cellules de Sézary et les MF évolués (stade tumoral) [124,139].

La voie Jak/Stat semble aussi jouer un rôle important dans l'acquisition de ce phénotype : inactivation de STAT4 (requis pour la différenciation Th1), activation constitutive de STAT6 (impliquée dans la voie Th2) et de STAT3 (favorisant la prolifération tumorale et la résistance à l'apoptose) [140].

Ces cellules tumorales présentent d'autres mécanismes d'échappement, notamment une **résistance à la réponse T cytotoxique** par la perte d'expression de récepteurs de mort cellulaire (Fas) ou l'expression d'inhibiteurs d'apoptose (comme c-FLIP) [141–143].

Elles semblent même pouvoir renverser ce mécanisme en exprimant fortement Fas-L pour **induire l'apoptose des cellules T effectrices** immunitaires [144,145].

Par ailleurs, la sécrétion d'IL-10 altère les fonctions de présentation antigénique des DC, pouvant induire l'anergie des LT [146].

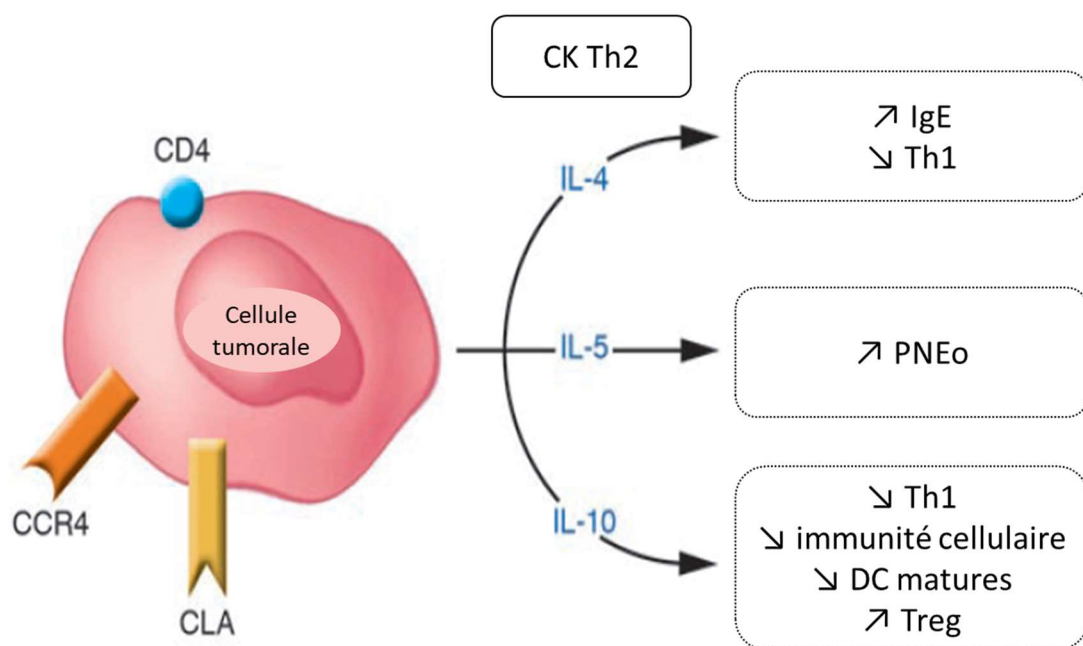
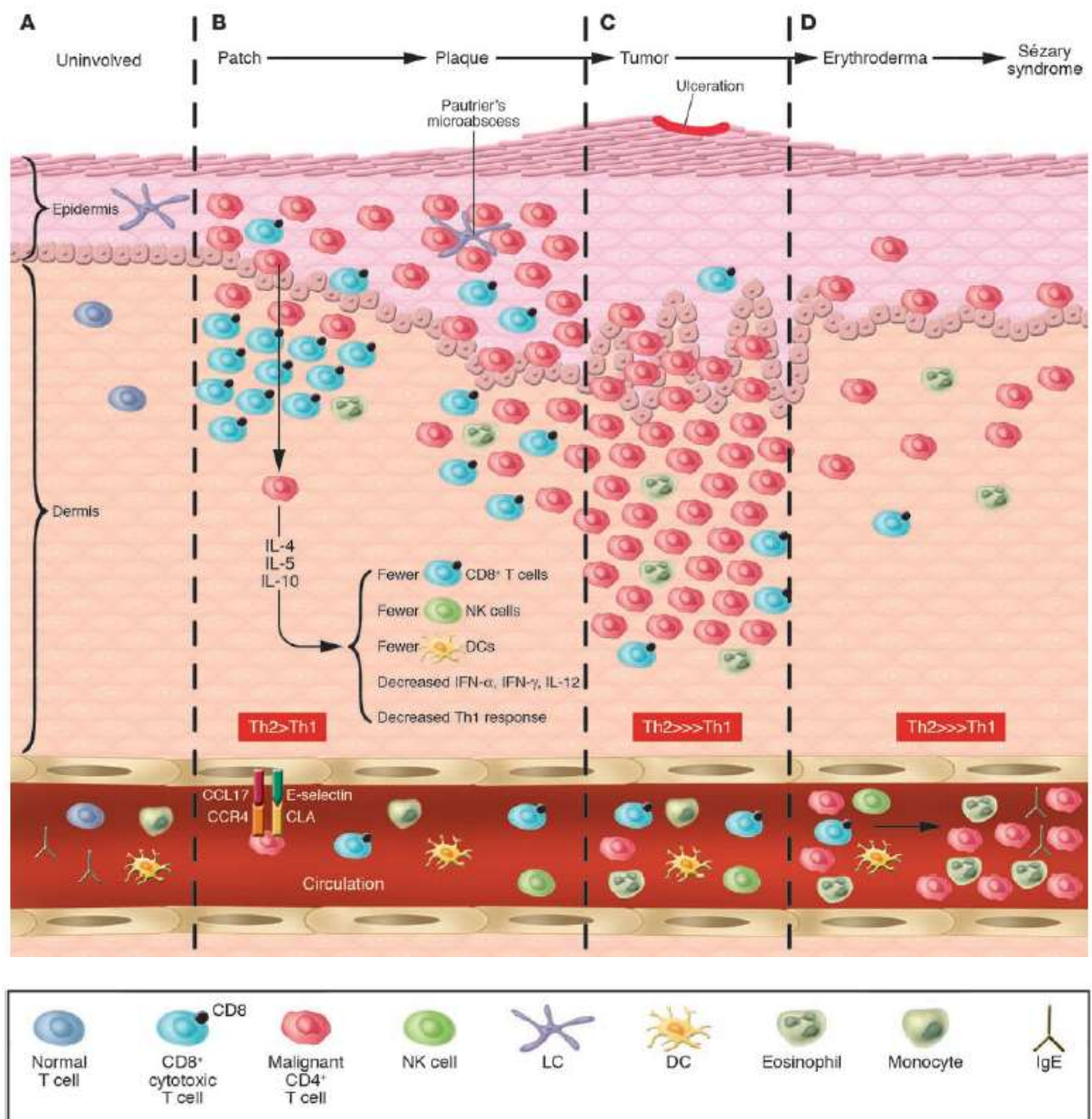


Figure 5. Cellule tumorale du MF/SS : production cytokinique Th2 et conséquences immunitaires. D'après Kim et al, 2005[127]
(PNEo : polynucléaires éosinophiles)



- (A) Peau normale : cellules de Langherans et quelques LT
 (B) MF patches et plaques : infiltrat T CD4 dermique épidermotrope et réponse T CD8
 (C) MF tumoral : majoration de la densité tumorale, net déséquilibre Th2 et diminution de la réponse T
 (D) MF érythrodermique/SS : cellules tumorales circulantes produisant des CK Th2

Figure 6. Environnement immunitaire cutané et progression tumorale au cours du MF
 D'après Kim et al, 2005 [127]

Skin-directed therapy	Mechanism of action
Topical corticosteroids	Tumor cell apoptosis; decreases skin LCs
Topical chemotherapy (nitrogen mustard, BCNU)	Tumor cell apoptosis
Topical retinoids (bexarotene, tazarotene)	Tumor cell apoptosis
Topical imiquimod	TLR-7 agonist; triggers innate and adaptive antitumor immunity
Phototherapy (UVB, PUVA)	Tumor cell apoptosis
Electron beam therapy	Decreases skin LCs
	Tumor cell apoptosis
Biological therapy	
RXR retinoid (bexarotene)	Tumor cell apoptosis
	Inhibits tumor cell IL-4 production
	Tumor cell apoptosis
RAR retinoid (isotretinoin, all- <i>trans</i> -retinoic acid)	
	Induces IFN- γ
IFN- α and IFN- γ	Enhances cell-mediated cytotoxicity
	Inhibits tumor cell Th2 cytokine production
	Inhibits tumor cell proliferation
GM-CSF	Enhances circulating DC numbers and function
ECP	Circulating tumor cell apoptosis
	Induces DC differentiation
Fusion protein/toxin (denileukin diftitox)	Targets and kills CD25-expressing (IL-2 receptor-expressing) tumor cells
Other systemic therapy	
Cytotoxic chemotherapy (Methotrexate, Doxil, gemcitabine, etoposide, pentostatin)	Cytotoxic agents
Bone marrow/stem cell transplantation	Cytotoxic agents (induction)
	Graft-versus-tumor effect
Experimental therapy	
Transimmunization ECP	Enhances antigen processing of apoptotic tumor cells by DCs
Targeted monoclonal antibodies (CD4, CD52, CD40, CCR4)	Target tumor cells (CD4, CD52, CCR4)
	Activate DCs (CD40)
HDACs (SAHA, depsipeptide)	Inhibit gene transcription
Cytokines (IL-12, IL-2, IL-15)	Augment cell-mediated antitumor immunity
TLR agonists (CpG-ODNs, imidazoquinolones)	Augment innate and adaptive antitumor immunity
Tumor vaccines	Clonotypic TCR as antigen
	DC-based vaccines

LC, Langerhans cell; BCNU, bischloroethylnitrosourea; UVB, ultraviolet B; SAHA, suberoylanilide hydroxamic acid.

Figure 7. Les mécanismes d'action des thérapies utilisées dans les MF/SS et leur rationnel physiopathologique. D'après Kim et al, 2005 [127]

2. LYMPHOMES B

Très peu de données sont disponibles à ce jour sur l'environnement immunitaire dans les lymphomes B cutanés.

Concernant les TILs, une étude de 53 cas a rapporté significativement moins d'infiltrat T CD8 dans des DLBCL-LT que dans des lymphomes B cutanés indolents (CF et ZM) [147].

Bien qu'anecdotiques et souvent transitoires, l'existence de cas de régression spontanée de DLBCL-LT de cas caractérisés par une forte infiltration T reflète bien le rôle - au moins temporaire - de la réponse T effectrice anti-tumorale dans ces entités [148,149].

Dans ces lymphomes, l'environnement cytokinique étudié par Asadullah *et al* apparaît caractérisé par une surexpression d'IL-6 et d'IL-10, CK impliquées dans la croissance des cellules B. Comme observé dans les lymphomes T cutanés, une quantité élevée d'IL-10 pourrait contribuer à la progression tumorale en tant que CK immunosuppressive de la voie Th2 [150].

OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Les lymphomes cutanés représentent donc un groupe très hétérogène de néoplasies lymphoïdes, comportant des pathologies indolentes telles que le MF ou les LP TCD30+ et d'autres agressives comme le Syndrome de Sézary ou le DLBCL-LT.

Certaines entités très fréquentes comme le MF semblent comporter des modifications charnières au sein de leur environnement immunologique, constituant ainsi de potentielles cibles thérapeutiques pour empêcher une évolution agressive.

A l'instar des tumeurs solides, de nouveaux traitements plus ciblés, adaptés au profil tumoral de chaque entité commencent à se développer.

Les immunothérapies, dont l'efficacité a révolutionné la prise en charge et le pronostic de tumeurs solides, sont encore peu utilisées dans ces pathologies aux régulations très complexes et encore insuffisamment comprises.

L'efficacité des traitements actuels réside aussi par la mise en place de thérapies combinées permettant d'attaquer le « réseau tumoral » par plusieurs voies immunologiques, pour idéalement réduire à néant la population tumorale et ainsi éviter l'émergence de nouveaux clones en répétant le cycle de l'*immunoediting*.

Il apparaît donc crucial d'avancer dans la compréhension de la régulation immunitaire des lymphomes cutanés pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

L'expression et la fonction des enzymes immunosuppressives n'a jamais été étudiée dans ce groupe de tumeurs.

L'**objectif principal** de cette étude était d'évaluer l'expression immunohistochimique de l'enzyme IL4I1 dans une série rétrospective monocentrique des principales entités de lymphomes cutanés primitifs, et son association ou non avec les entités d'évolution plus agressive.

L'**objectif secondaire** était d'analyser en parallèle l'environnement lymphocytaire T associé et d'étudier s'il existe ou non une corrélation entre certaines sous-populations immunes identifiées par leur phénotype et l'expression d'IL4I1.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. POPULATION ETUDIÉE

Notre étude a porté sur une cohorte de lymphomes cutanés primitifs, B et T, indolents et agressifs, incluant la plupart des entités listées dans la classification OMS 2017, et dont le diagnostic histologique avait été porté sur biopsie cutanée au centre hospitalo-universitaire Henri-Mondor (Créteil, France) entre janvier 2014 et septembre 2018.

Il s'agissait d'une étude descriptive, rétrospective, monocentrique.

Seuls étaient inclus les cas de lymphomes cutanés primitifs de diagnostic validé après confrontation anatomoclinique, et selon la classification OMS 2017.

Le recueil des cas était fait à partir du registre du service de pathologie (*Diamic*) en utilisant les codes *ADICAP* dédiés à ces lymphomes.

Le recueil des données cliniques et paracliniques pour cette confirmation diagnostique des cas internes au centre hospitalier était fait à partir des registres *Orbis* et *Mediwed*, au besoin, complété par la consultation des dossiers cliniques papiers.

Pour les cas externes au centre hospitalier (communiqués dans le cadre du réseau *lymphopath de l'INCa*), les données recueillies étaient celles disponibles dans les courriers joints aux prélèvements adressés pour relecture.

Étaient exclus les lymphomes de présentation cutanée dont l'origine systémique était finalement retenue ou restait douteuse après confrontation clinique et paraclinique.

Le matériel histologique (lames et blocs) devait être disponible, non épuisé, permettant la lecture des lames HES et immunohistochimiques réalisées lors du diagnostic, et la réalisation de nouvelles techniques d'immunohistochimie. Il en était de même pour les cas extérieurs qui avaient fait l'objet d'une relecture dans le cadre du réseau *lymphopath* : les lames et blocs devaient pouvoir nous être communiqués de nouveau pour cette étude.

II. ANALYSES IMMUNOHISTOCHIMIQUES

1. ANTICORPS ET IMMUNOMARQUAGES

Une étude immunohistochimique a été réalisée à l'aide des anticorps anti-IL4I1, anti-CD8, anti-Granzyme B et anti-FoxP3 sur coupes déparaffinées de 4 µm sur prélèvements fixés en formol.

L'anticorps anti-IL4I1 utilisé était celui mis au point par l'équipe INSERM U955 (équipe 9) de l'Institut de recherche Biomédicale de l'hôpital Henri Mondor (IMRB, <http://www.imrb.inserm.fr/>).

Le marquage était réalisé manuellement sur l'ensemble des prélèvements de la série, selon le protocole joint en Annexe 5.

Des doubles marquages ont été réalisés manuellement afin de préciser la nature des cellules exprimant IL4I1 : anti-CD163/-IL4I1, anti-PD-1/-IL4I1 et anti-CD1a/-IL4I1.

L'analyse immunohistochimique de l'environnement lymphocytaire T a été réalisée en automate (*Leica Bond III* ou *Bond-Max*) sur deux sous-groupes de la série : les MF/MFT et les LP TCD30+.

Ont été utilisés les anticorps anti-CD8, -Granzyme B et -FoxP3.

L'ensemble des clones, dilutions et protocoles techniques utilisés sont décrits en Annexe 5.

2. METHODOLOGIE D'ANALYSE IMMUNOHISTOCHIMIQUE QUANTITATIVE

- **Méthodologie de quantification** :

Chaque anticorps a fait l'objet d'une évaluation quantitative, en aveugle, sur 5 champs au grandissement x 400, représentatifs de l'ensemble de la lésion biopsiée.

Les photographies ont toutes été réalisées à l'aide du même dispositif (Microscope Optique *Olympus BX51*, caméra *Olympus DP26*).

Le comptage du nombre de cellules positives a ensuite été effectué pour tous les anticorps par un même pathologiste, en aveugle, à l'aide du logiciel *ImageJ*.

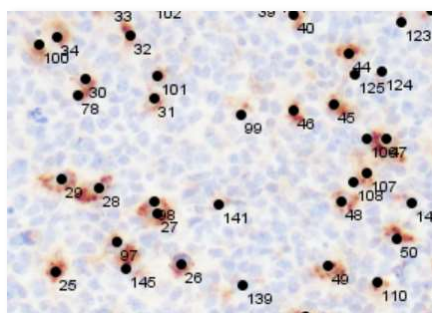
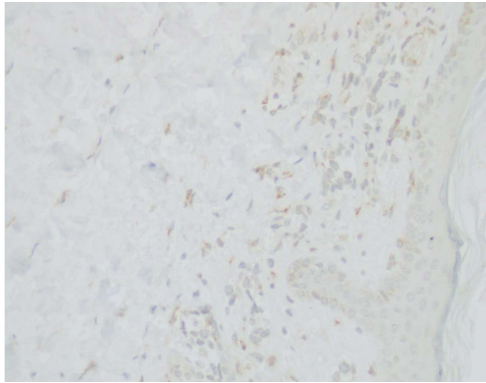


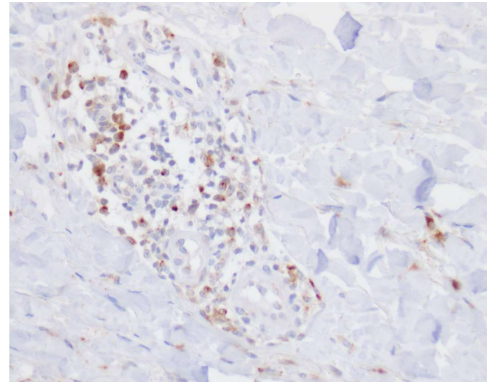
Figure 8. Exemple illustrant le comptage réalisé à l'aide du logiciel ImageJ.

Cette quantification a ensuite été rapportée à la densité cellulaire des infiltrats, évaluée de manière semi-quantitative pour chaque photographie selon le score suivant :

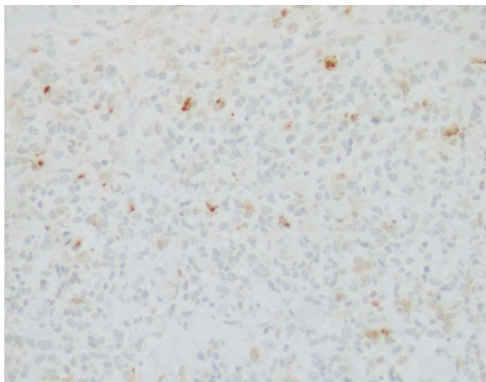
- 1 : cellules éparses,
- 2 : amas cellulaires,
- 3 : larges plages cellulaires,
- 4 : plage de forte densité cellulaire occupant l'ensemble du champ.



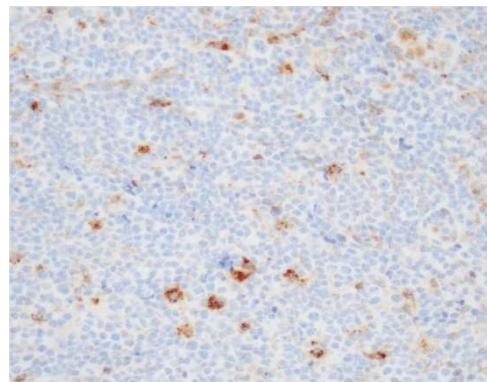
Score 1 : cellules éparses



Score 2 : amas cellulaires



Score 3 : larges plages cellulaires



Score 4 : forte densité cellulaire sur l'ensemble du champ

Figure 9. Illustration du score utilisé pour quantifier la densité des infiltrats

- **Interprétation de l'étude immunohistochimique IL4I1 :**

Était considéré comme positif tout marquage granulaire cytoplasmique (comportant un noyau visible à proximité), quelle que soit son intensité (après soustraction du bruit de fond global, et de l'accrochage non spécifique).

L'intensité du marquage était en parallèle évaluée, indépendamment de la quantification, en attribuant une valeur globale de 1 (léger), 2 (modéré) ou 3 (fort) pour chaque cas étudié.

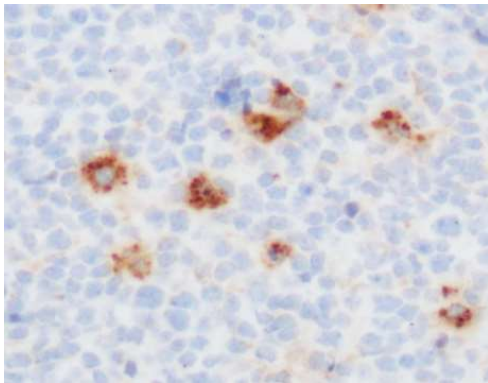
N'étaient pas considérés comme positifs les marquages non spécifiques : accrochage de la mélanine, des glandes sudorales, des cellules endothéliales, du collagène.

- **Interprétation des marquages de CD8, Granzyme B et FoxP3 :**

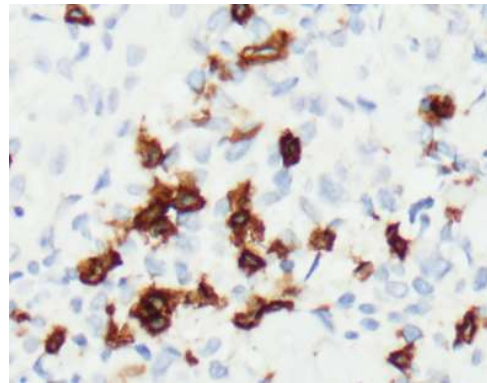
Pour l'anticorps anti-Granzyme B (GrB), était considéré comme positif un marquage cytoplasmique en grains (hors accrochage non spécifique des pigments mélaniques).

La positivité de l'anticorps anti-CD8 était retenue en cas de marquage membranaire.

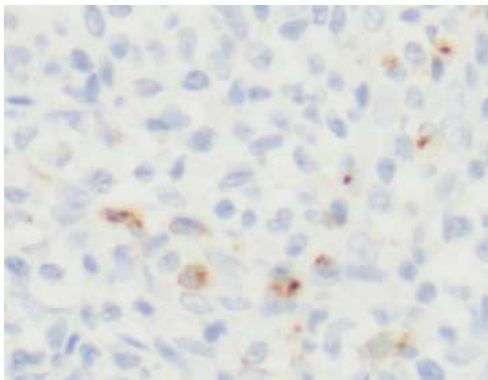
Pour l'anticorps anti-FoxP3, était comptabilisé tout marquage nucléaire.



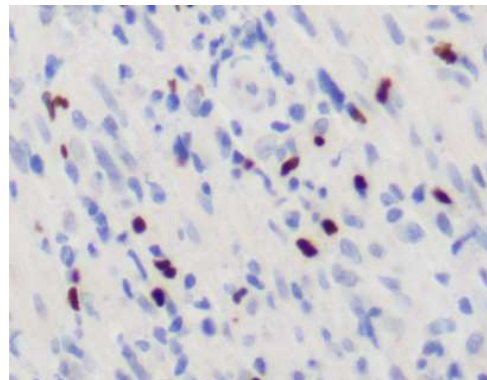
Marquage IL4I1



Marquage CD8



Marquage Granzyme B



Marquage FoxP3

Figure 10. Exemples de marquages positifs IL4I1, CD8, GrB et FoxP3

III. ANALYSES STATISTIQUES

Les variables analysées correspondaient, pour chaque anticorps, au nombre moyen de cellules marquées sur les 5 champs analysés.

Était également calculé le nombre moyen de cellules marquées rapporté à la densité cellulaire des infiltrats sur les 5 champs analysés.

Était testée la corrélation non-paramétrique entre l'expression d'IL4I1, de CD8, de Granzyme B et de FoxP3 comparée aux différents groupes de lymphomes.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel *Graphpad Prism 6.0*.

Les valeurs $p < 0,05$ ont été retenues comme statistiquement significatives.

RESULTATS

I. DESCRIPTION DE LA POPULATION DE LYMPHOMES CUTANES

Après confrontation anatomoclinique et récolte du matériel histologique, 67 cas ont été rétrospectivement inclus.

Ils concernaient des biopsies cutanées réalisées entre mars 2014 et septembre 2018.

Parmi ces 67 cas, 11 étaient des cas communiqués par des laboratoires extérieurs.

Il s'agissait de lymphomes cutanés primitifs, B (n=12) et T (n=55), considérés comme indolents° (n=45) et agressifs°° (n=22).

Les entités représentées étaient les suivantes :

- Mycosis Fongoïdes (n= 19) :
MF indolents° (MF) (n=12)
MF transformés°° (MFT) (n=7)
- LP TCD30+° (n= 19) :
PL (n=9)
LACP (n=10)
- Syndrome de Sézary°° (n=6)
- Lymphoproliférations T CD4+ primitives cutanées° (LP TCD4+, n=4)
- Lymphome T sous-cutané à type de panniculite° (n=2)
- Lymphome NK/T de type nasal cutané°° (n=3)
- Lymphome T cutané $\gamma\delta$ °° (n=2)
- Lymphome B centro-folliculaire cutané primitif° (CF) (n=4)
- Lymphome cutané de la Zone Marginale° (ZM) (n=4)
- DLBCL « type jambe »°° (n=3)
- Lymphome B Intravasculaire°° (n=1)

N=67	Lymphomes T (n=55)	Lymphomes B (n=12)
Indolents (n=45)	<ul style="list-style-type: none">- MF (n=12)- LP TCD30+ (n=19 : 9 PL et 10 LACP)- LP TCD4+ (n=4)- Type panniculite (n=2)	<ul style="list-style-type: none">- CF (n=4)- ZM (n=4)
Agressifs (n=22)	<ul style="list-style-type: none">- MFT (n=7)- Syndrome de Sézary (n=6)- NK/T (n=3)- Gamma-Delta (n=2)	<ul style="list-style-type: none">- DLBCL-LT (n=3)- Intravasculaire (n=1)

Tableau 2. Population d'étude : 67 cas de lymphomes cutanés primitifs

Pour 3 des MFT de la série, nous disposons aussi de biopsies antérieures à la transformation, au stade de MF indolent, permettant une analyse séquentielle pour ces 3 cas. Le délai entre les deux biopsies était respectivement de 36 mois (juin 2011/juin2014), 16 mois (février 2013/juin 2014) et 49 mois (février 2014/mars 2018).

II. CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DES LYMPHOMES CUTANES

1. EXPRESSION D'IL4I1 ET CORRELATION AU TYPE HISTOLOGIQUE

L'étude immunohistochimique portant sur l'expression d'IL4I1 a été réalisée sur tous les cas de la série. Le comptage a été effectué comme établi dans le chapitre « matériels et méthodes », à l'exception d'un cas dont la surface biopsique lésionnelle ne permettait pas une analyse sur 5 champs et a été effectué sur 4 champs (x 400).

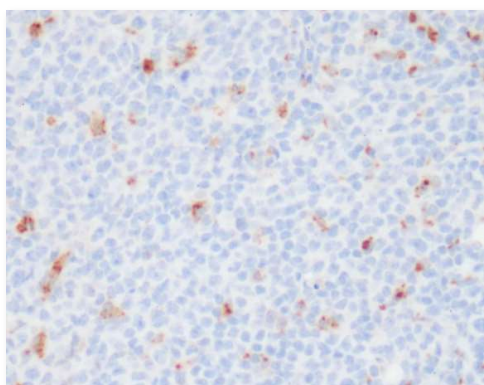
1) *Expression d'IL4I1 : constatations générales*

Marquage simple IL4I1 :

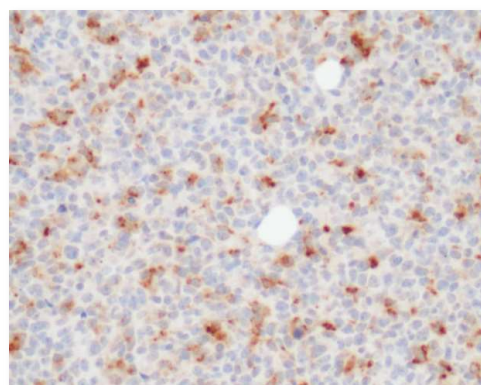
On observait qu'un marquage était présent dans tous les types de lymphomes cutanés étudiés, en intensité et quantité très variables, allant d'un marquage très focal et faible à un marquage intense et diffus.

Cette variabilité était aussi présente en terme de densité : on observait des marquages très focaux au sein de denses infiltrats, ou à l'inverse, un marquage intéressant la majorité des cellules d'infiltrats minimes.

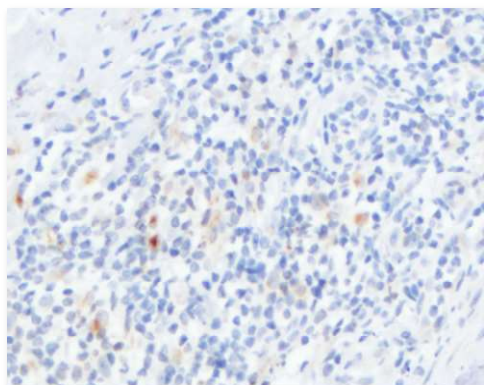
Ce marquage était localisé dans des cellules le plus souvent d'allure histiocytaire, au sein et en périphérie des infiltrats lymphoïdes.



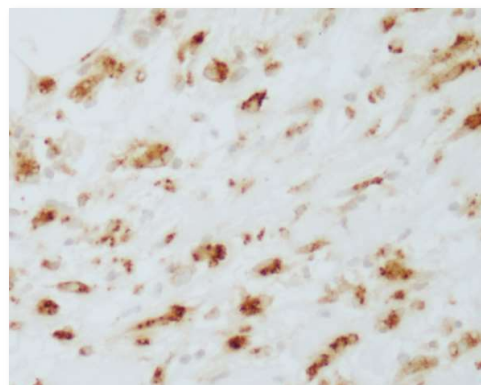
Zone marginale



DLBCL-LT



Papulose lymphomatoïde



NK/T

Figure 11. Hétérogénéité du marquage IL4I1 dans les lymphomes cutanés

Doubles marquages :

IL4I1/CD163

La réalisation de doubles marquages anti-IL4I1/-CD163 sur 5 cas de lymphomes de types différents confirmait la nature macrophagique de la plupart des cellules IL4I1+ par la colocalisation cellulaire de ces deux anticorps.

Mais elle mettait aussi en évidence la présence de cellules mononucléées IL4I1+/CD163-, plus particulièrement visibles dans un cas de syndrome de Sézary.

IL4I1/PD-1

Cette dernière constatation soulevait la question d'une expression possible d'IL4I1 par les cellules tumorales de Sézary.

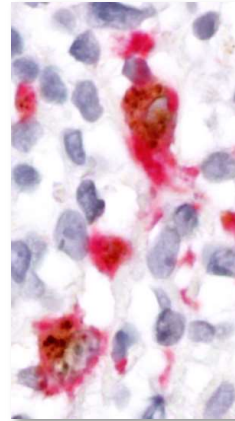
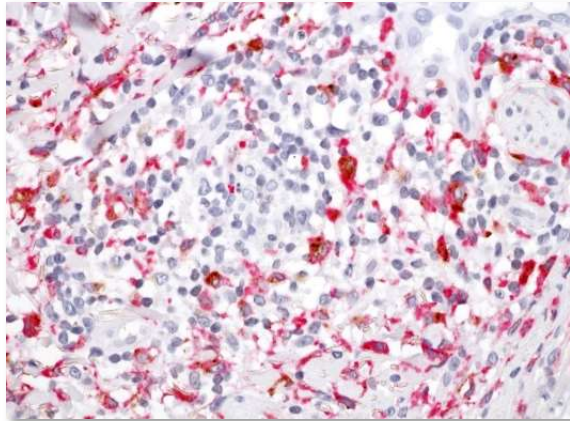
Nous avons donc réalisé sur les 6 cas de SS de la série un autre double marquage avec les anticorps anti-PD1 (identifiant, conjointement à leur morphologie, les cellules tumorales dans les infiltrats) et anti-IL4I1.

Ces doubles marquages ne mettaient pas en évidence de colocalisation cellulaire.

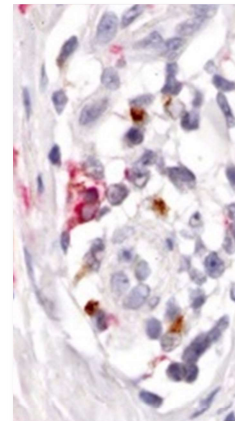
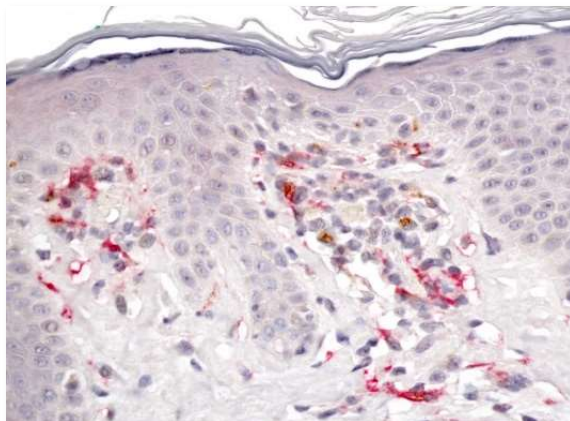
IL4I1/CD1a

Pour tenter d'identifier la nature de ces cellules IL4I1+/CD163- et IL4I1+/PD1-, nous avons procédé à un troisième double-marquage avec les anticorps anti-CD1a et anti-IL4I1 sur ces 6 cas de SS.

On observait dans tous les cas la présence de cellules IL4I1+/CD1a+, suggérant que la plupart des cellules non macrophagiques IL4I1+ observées dans cette situation étaient des cellules de Langerhans.

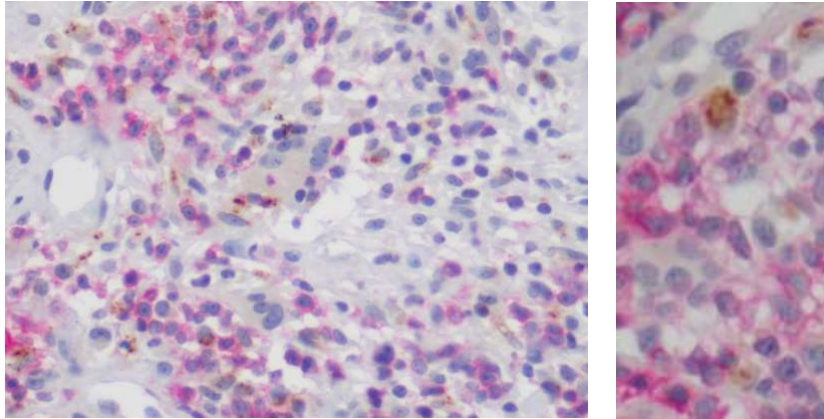


Présence de nombreuses cellules IL4I1+/CD163+ (biopsie de LACP)



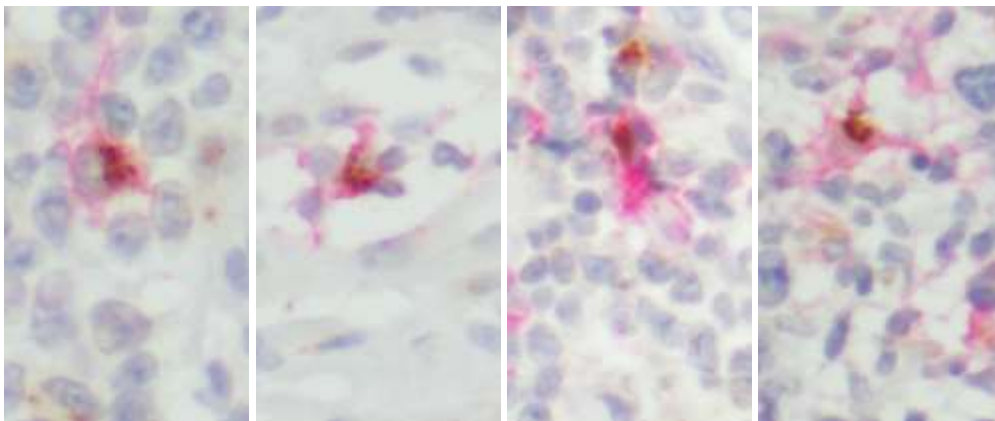
Présence de cellules IL4I1+/CD163- (biopsie de SS)

Figure 12. Doubles marquages IL4I1 (marron)/CD163 (rouge)



Absence de cellule IL4I1+/PD-1+ (biopsie de SS)

Figure 13. Doubles marquages IL4I1 (marron)/PD-1 (rouge)



Présence de cellules IL4I1+/CD1a+ (4 biopsies de SS)

Figure 14. Doubles marquages IL4I1 (marron)/CD1a (rouge)

2) Expression d'IL4I1 : lymphomes indolents/agressifs

En comparant l'expression d'IL4I1 entre les entités agressives^{oo} (n=22) et indolentes^o (n=45), on observait un nombre un peu plus élevé de cellules IL4I1+ dans les lymphomes agressifs, que ce soit en quantification brute ou rapportée à la densité cellulaire des infiltrats. Cette différence n'était pas statistiquement significative (NS).

Nombres de cellules IL4I1+/champ exprimés en moyennes/médianes (valeurs minimales-maximales) dans les lymphomes indolents^o et agressifs^{oo}:

- quantification brute : 95/76^o (4-292) contre 104/102^{oo} (8-285), $p=0,63$.
- rapportée à la densité cellulaire des infiltrats : 34/27^o (3-87) contre 37/37^{oo} (2-71), $p=0,38$.

L'intensité du marquage était en moyenne comparable (2,07^o contre 2,05^{oo}).

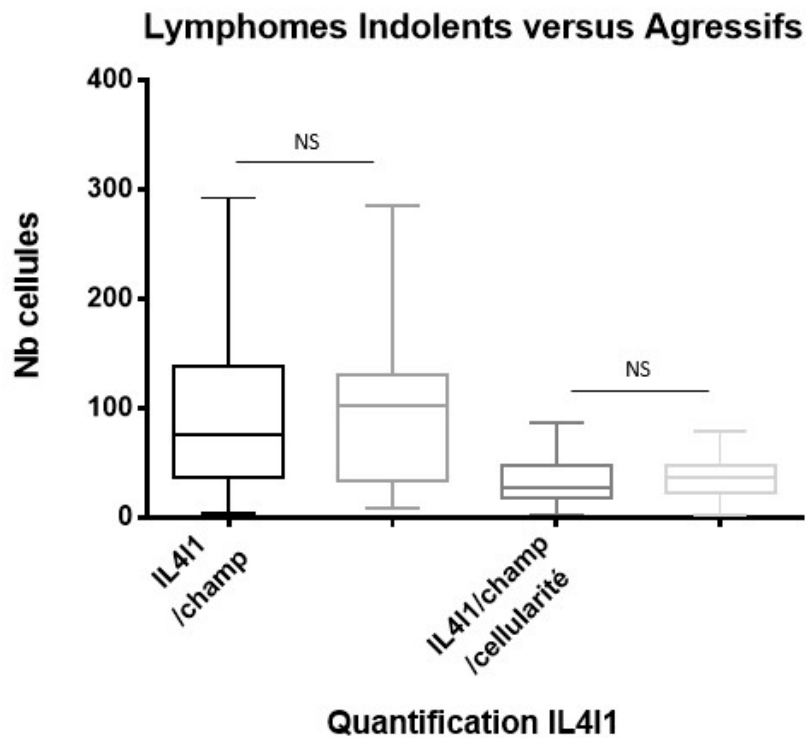


Figure 15. Nombres bruts et relatifs de cellules IL4I1+ : lymphomes indolents et agressifs
Les lymphomes indolents sont représentés en gris foncé et les agressifs en plus clair
(représentation en médianes et écart-types, NS : différence non significative)

3) Expression d'IL4I1 et Mycosis Fongoïde : MF/MFT

Afin d'évaluer l'expression d'IL4I1 au sein d'un continuum lésionnel d'agressivité, nous avons ensuite effectué cette même comparaison entre MF (n=12) et MFT (n=7).

Il existait un plus grand nombre de cellules IL4I1+ dans les formes agressives transformées^{oo} que dans les MF indolents^o, que ce soit en quantification brute ou rapportée à la densité cellulaire des infiltrats. Ces différences étaient statistiquement non significatives (NS).

Nombres de cellules IL4I1+/champ exprimés en moyennes/médianes (valeurs minimales-maximales) dans les MF^o et les MFT^{oo} :

- quantification brute : 30/26,5^o (4-63) contre 56/34^{oo} (8-133), $p=0,252$.
- rapportée à la densité cellulaire des infiltrats : 16/18^o (3-26) contre 21/24^{oo} (2-47), $p=0,37$.

L'intensité du marquage était un peu plus marquée en moyenne dans les MFT (1,5^o contre 1,9^{oo}).

L'étude des 3 cas de biopsies séquentielles de MF/MFT montrait une quantité plus élevée de cellules IL4I1+ dans les MFT que sur les biopsies initiales au stade indolent (en analyse brute et rapportée à la densité cellulaire).

Cette différence était très marquée pour le patient 1 atteint de MF pilotrope transformé (passant d'une moyenne de 9 à 69 cellules par champ et de 6 à 25 cellules par champ, rapporté à la densité cellulaire).

Elle était plus discrète dans les 2 autres cas de MF transformés non pilotropes.

	IL4I1+/champ		IL4I1+/champ /densité cellulaire	
	MF	MFT	MF	MFT
Diagnostic				
Patient 1 (36 mois)	9	69	6	25
Patient 2 (16 mois)	1	8	<1	2
Patient 3 (49 mois)	3	28	3	9

Tableau 3. Analyse séquentielle du marquage IL4I1 sur 3 cas de MF ayant évolué en MFT

En effectuant cette même comparaison au sein des lymphomes cutanés épidermotropes entre MF indolents^o et MFT+SS^{oo}, on observait significativement plus de marquage IL4I1 dans les entités agressives de lymphomes cutanés épidermotropes que dans les indolentes, que ce soit en quantification brute ou rapportée à la densité cellulaire.

Nombres de cellules IL4I1+/champ exprimés en moyennes/médianes (valeurs minimales-maximales) dans les MF^o et les MFT+SS^o:

- quantification brute : 30/26.5^o (4-63) contre 65/66^{oo} (8-133), $p=0,018^*$.
- rapportée à la densité cellulaire des infiltrats : 16/18.5^o (3-26) contre 29/31^{oo} (2-56), $p=0,0286^*$.

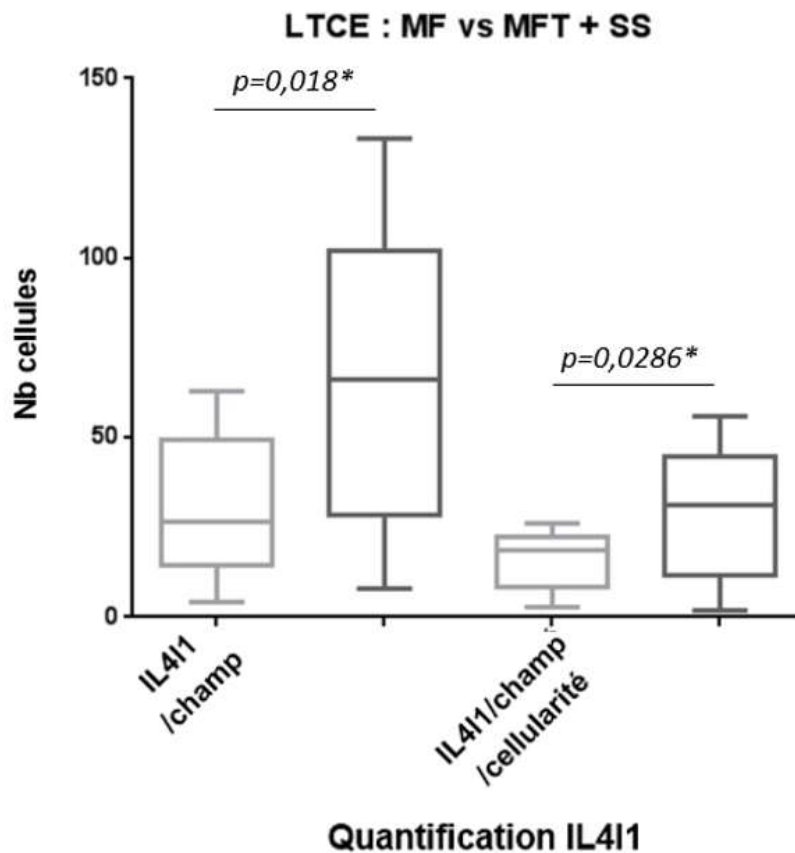


Figure 16. Nombres bruts et relatifs de cellules IL4I1+ :
lymphomes T cutanés épidermotropes (LTCE) indolents (MF) et agressifs (MFT+SS)
 Les lymphomes indolents sont représentés en gris clairs et les agressifs en plus foncé
 (représentation en médianes et écart-types)

4) Expression d'IL4I1 et LP TCD30+ : PL/LACP

Nous avons effectué cette même comparaison au sein du groupe des LP TCD30+ entre PL (n=9) et LACP (n=10).

Il existait une différence statistiquement significative entre les PL et les LACP avec un nombre beaucoup plus élevé de cellules IL4I1+ dans les LACP que dans les PL, que ce soit en quantification brute ou rapporté à la densité cellulaire.

Nombres de cellules IL4I1+/champ exprimés en moyennes/médianes (valeurs minimales-maximales) :

- quantification brute : 69/63° (22-169) contre 183/157°° (93-292), $p=0,0012^{**}$.
- rapporté à la densité cellulaire des infiltrats : 27/24° (8-56) contre 60/55°° (29-87), $p=0,004^{**}$.

Le marquage apparaissait par ailleurs plus intense dans les LACP (moyenne 2,9) que dans les PL (moyenne 1,4).

5) Expression d'IL4I1 : lymphomes T/B

Le nombre de cellules marquées par IL4I1 en quantification brute était un peu plus élevé dans les lymphomes B (moyenne :107, médiane : 92, min 18-max 256) que dans les lymphomes T (moyenne : 96, médiane : 72, min 4-max 292) ($p=0,376$).

Rapportée à la densité cellulaire des infiltrats, cette discrète différence s'inversait avec un peu plus de marquage IL4I1 dans les entités T (moyenne : 35, médiane : 32, min 2-max 87) que dans les B (moyenne : 32, médiane : 28, min 11-max 64) ($p=0,879$).

L'intensité de marquage était un peu plus marquée dans les lymphomes B (moyennes : 2,5 contre 1,96).

2. CORRELATION ENTRE IL4I1 ET L'ENVIRONNEMENT LYMPHOCYTAIRE T : CD8, GRANZYMEB, FOXP3

L'étude de l'environnement lymphocytaire T (CD8, Granzyme B, FoxP3) n'a été réalisée que sur deux sous-groupes MF (n=12) *versus* MFT (n=7) et LP TCD30+ (PL (n=9) *versus* LACP (n=10)).

Pour l'anticorps anti-FoxP3, l'analyse immunohistochimique n'a été réalisée que sur 6 des 7 biopsies de MFT en raison de l'épuisement d'un bloc.

1) Environnement T et MF/MFT

L'étude de l'environnement T montrait significativement plus d'infiltrat T CD8+, GrB+ et significativement moins de LT FoxP3+ dans les MFT agressifs que dans les formes indolentes de MF.

On pouvait observer qu'il y avait proportionnellement très peu de LT Granzyme B+ rapporté aux infiltrats CD8.

	MF	MFT	
CD8+/champ	101/97,5 (28-243)	176/184 (121-241)	p=0,0013**
CD8+/champ/densité \mathcal{C}	50/45 (24-101)	67/75 (39-86)	p=0,10
GrB+/champ	1/0 (0-7)	21/17 (0-43)	p=0,0051**
GrB+/champ/densité \mathcal{C}	1/0 (0-3)	8/9 (0-14)	p=0,018*
FoxP3+/champ	111/89,5 (28-275)	68/59,5 (13-148)	p=0,479
FoxP3+/champ/densité \mathcal{C}	53/50 (14-105)	23/20 (11-44)	p=0,03*

Tableau 4. Analyse de l'environnement T : MF/MFT

Résultats exprimés en moyennes/médianes (valeurs minimales - maximales)

Cette même analyse a été réalisée sur les 3 antécédents de MF avant transformation.

Pour FoxP3, cette comparaison n'a pu être effectuée que sur 2 des 3 cas en raison de l'épuisement du bloc du patient 2 au stade MFT.

L'étude de ces biopsies séquentielles révélait aussi un enrichissement en LT CD8+ Granzyme B+ au cours de leur transformation.

On observait en parallèle un enrichissement en LT FoxP3+.

	CD8		GrB		FoxP3	
Diagnostic	MF	MFT	MF	MFT	MF	MFT
Patient 1	40	207	1	2	29	148
Patient 2	82	124	3	43	12	NE
Patient 3	45	146	2	37	37	90

Données exprimées en nombre moyen de cellules positives par champ.

	CD8		GrB		FoxP3	
Diagnostic	MF	MFT	MF	MFT	MF	MFT
Patient 1	20	83	1	1	21	44
Patient 2	32	86	1	14	5	NE
Patient 3	37	43	1	13	26	30

Données exprimées en nombre moyen de cellules positives par champ, rapporté à la densité cellulaire des infiltrats.

Tableaux 5/5'. Analyse séquentielle de l'environnement T de 3 cas de MF/MFT

NE : non évaluable.

2) Environnement T et PL/LACP

L'étude de l'environnement T montrait un peu plus de LT CD8+ GrB+ dans les LACP que dans les LP, que ce soit en quantification brute ou rapportée à la densité cellulaire des infiltrats. Cette différence n'était pas statistiquement significative.

L'étude du marquage FoxP3+ montrait en parallèle un peu plus de LT FoxP3+ dans les PL en quantification brute ou au contraire un peu plus dans les LACP lorsque l'on rapportait ce comptage à la densité cellulaire des infiltrats.

Dans les deux cas, cette différence n'était pas statistiquement significative.

Pour ces différentes analyses, on observait une distribution très étendue des valeurs avec d'importants écarts types, notamment pour FoxP3 dans les PL (17-353) et pour CD8 dans les LACP (18-653).

	PL	LACP	
CD8+/champ	94/78 (38-187)	179/125 (18-653)	$p=0,293$
CD8+/champ/densité \mathcal{C}	40/32 (15-94)	57/57 (6-172)	$p=0,62$
GrB+/champ	31/31 (4-71)	79/53 (11-291)	$p=0,108$
GrB+/champ/densité \mathcal{C}	13/13 (1-31)	24/20 (4-76)	$p=0,2$
FoxP3+/champ	95/60 (17-353)	87/76 (5-223)	$p=0,777$
FoxP3+/champ/densité \mathcal{C}	35/22 (6-118)	28/27 (1-74)	$p=0,88$

Tableau 6. Environnement T et LP TCD30+ : PL/LACP

Résultats exprimés en moyennes/médianes (valeurs minimales - maximales)

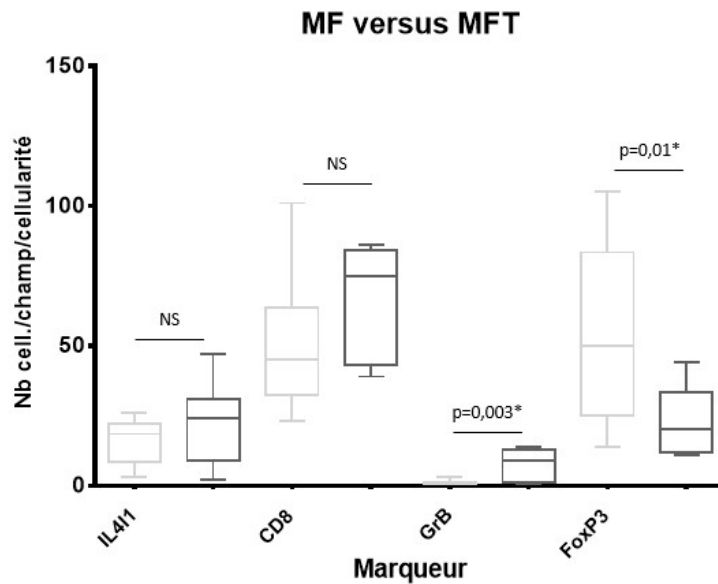


Figure 17. IL4I1 et environnement T : MF/MFT

Nombre de cellules IL4I1+, CD8+, GranzymeB+ et FoxP3+ rapporté à la densité cellulaire
 Les MF sont représentés en gris clair et les MFT en plus foncé
 (représentation en médianes et écart-types)

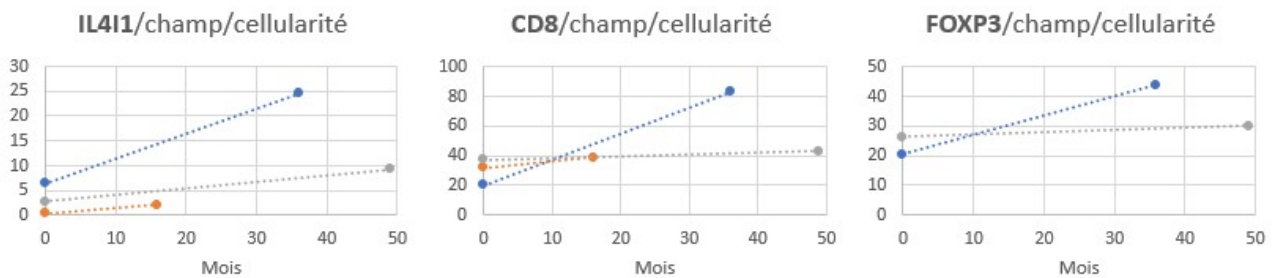


Figure 18. IL4I1 et environnement T : biopsies séquentielles de 3 patients MF/MFT

Evolution du nombre moyen de cellules IL4I1+, CD8+, FoxP3+ rapporté à la densité cellulaire entre 2 biopsies séquentielles chez 3 patients atteints de MF ayant évolué en MFT.

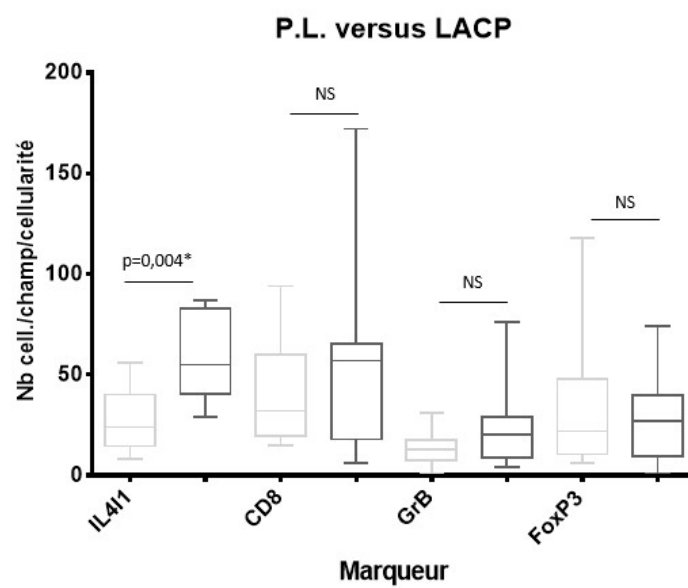


Figure 19. IL4I1 et environnement T : PL/LACP

Nombre de cellules IL4I1+, CD8+, GranzymeB+ et FoxP3+ rapporté à la densité cellulaire
 Les PL sont représentées en gris clair et les LACP en plus foncé
 (représentation en médianes et écart-types)

DISCUSSION

Cette étude descriptive, rétrospective et monocentrique constitue la première étude à évaluer l'expression immunohistochimique d'IL4I1 au cours des principaux types de lymphomes cutanés primitifs.

Dans cette série de 67 cas, les principales entités définies par la classification OMS 2017 étaient représentées en proportions variables, relatives aux différences d'incidence de ces pathologies.

I. PRESENCE D'IL4I1 DANS L'ENVIRONNEMENT DES LYMPHOMES CUTANES

Nous avons pu constater que l'enzyme immunosuppressive IL4I1 était présente dans les biopsies cutanées de toutes les entités étudiées. Les données de la littérature attestent déjà de sa présence dans divers types de proliférations tumorales, mais n'avaient porté que sur des tumeurs solides et des lymphomes systémiques [72,77]. De façon générale, on peut donc envisager que cette enzyme pourrait participer au développement des lymphomes cutanés primitifs, quel que soit leur sous-type histologique, et qu'elle pourrait constituer une cible thérapeutique dans les formes les plus agressives.

Nous avons cependant constaté une forte variabilité d'expression d'IL4I1 en termes d'intensité et de proportion de cellules positives. Cette variabilité était présente entre et au sein même de groupes de lymphomes étudiés, comme en attestent les valeurs moyennes et l'étendue des écart-types. Il est difficile de savoir si cette variabilité a une signification biologique sur la base des résultats obtenus. L'approche méthodologique souffre en effet de limites intrinsèques, puisqu'elle n'offre qu'une « photographie » des lésions, à un temps donné et sur une partie seulement des infiltrats.

Nous avons pu observer que IL4I1 était présente aussi bien dans les lymphomes T que B, en plus forte quantité dans les lymphomes B lorsque le comptage était effectué de manière brute. Rapportée à la densité cellulaire des infiltrats, cette tendance s'inversait avec un marquage un peu plus élevé dans les entités T. Cette différence de résultats reflète donc probablement la densité cellulaire souvent plus marquée dans les lymphomes B.

La réalisation de doubles marquages anti-CD163/-IL4I1 nous a permis de mieux identifier les cellules produisant IL4I1 dans les infiltrats.

Ils ont confirmé que les principales cellules produisant cette enzyme *in situ* sont des macrophages de type M2 localisés dans le MET, comme rapporté dans les tumeurs solides et les lymphomes systémiques [77]. Les macrophages M2 pourraient donc, comme dans les tumeurs solides, favoriser le développement des lymphomes cutanés primitifs via la production de l'enzyme immunosuppressive IL4I1 [129,151]. Cette série de doubles marquages a aussi mis en évidence l'expression d'IL4I1 par des cellules non macrophagiques (IL4I1+/CD163-) et en l'occurrence par des cellules de Langerhans dans les infiltrats de syndromes de Sézary.

Ils ont permis d'éliminer l'hypothèse d'une sécrétion d'IL4I1 par des cellules tumorales dans ce modèle, rapportée par ailleurs au cours de certaines tumeurs solides et de lymphomes systémiques, notamment les PMBL [72,77]. Dans les PMBL, la forte expression d'IL4I1 observée résulterait d'une activation constitutive de STAT6, également décrite dans les lymphomes T cutanés épidermotropes.

L'hypothèse que nous avons formulée que la cellule tumorale de Sézary puisse exprimer IL4I1 repose également sur l'existence d'une activation constitutive de la voie NF- κ B dans les cellules lymphomateuses [95–97], qui paraît impliquée dans la régulation d'expression d'IL4I1 [78]. Ces divers éléments nous ont incité à effectuer des doubles marquages avec le récepteur PD-1, exprimé dans la majorité des cas par les cellules tumorales du syndrome de Sézary.

Les résultats obtenus suggèrent qu'il n'y a pas d'expression de l'enzyme par les cellules tumorales, ce qui mérite d'être vérifié par d'autres études, notamment en profitant de la phase leucémique que présentent généralement ces malades, qui permettrait de vérifier cela à l'échelle protéique et transcriptionnelle dans des cellules triées.

Nous avons en revanche montré qu'IL4I1 était aussi produite par des cellules de Langherans du MET dans les lésions cutanées de syndrome de Sézary. De façon intéressante, l'interaction entre les cellules de Langherans (DC immatures résidentes cutanées) et les cellules tumorales pourrait jouer un rôle dans la tumorigenèse des MF et SS [102,107], qui n'a encore été que très peu étudiée.

II. CORRELATION ENTRE L'EXPRESSION D'IL4I1 ET LE TYPE HISTOLOGIQUE

Compte-tenu du rôle qu'IL4I1 semble jouer dans l'échappement tumoral, nous avons recherché s'il existait une corrélation entre l'expression de cette enzyme et l'agressivité des lymphomes cutanés primitifs inclus dans cette série.

Il existait une discrète différence d'expression, non significative d'un point de vue statistique, entre les entités agressives et celles d'évolution habituellement indolente.

Cette différence pourrait être sous-évaluée par un manque de puissance en rapport avec des effectifs de trop faible importance. Il est tout à fait envisageable que l'enzyme puisse jouer un rôle dans l'échappement tumoral, quel que soit l'agressivité du lymphome, et ce dès les premières étapes de leur oncogenèse. Enfin, ces deux grandes catégories « indolents » et « agressifs » englobent une grande variété de lymphomes cutanés ayant des pathogenèses très diverses, pouvant influencer différemment la présence et l'impact d'IL4I1.

En effet, si l'impact pronostique d'IL4I1 semble négatif dans les tumeurs solides, il apparaît plus complexe dans les pathologies lymphoïdes, voire paradoxal selon les entités.

L'étude de Carbonnelle *et al* sur 23 lymphomes folliculaires systémiques illustre bien cette complexité : l'expression d'IL4I1 dans ce type de lymphome était associée à des paramètres de meilleur pronostic (cf introduction) [77].

L'analyse d'IL4I1 dans les sous-groupes MF/MFT et LP TCD30+ nous a ensuite permis d'étudier son expression dans deux ensembles de lymphomes pour lesquels il existe un continuum lésionnel d'agressivité croissante. Contrairement aux MF indolents, les MFT ont en effet une évolution agressive, avec une survie plus proche de celle des SS.

Les LP TCD30+ ne regroupent en revanche que des entités indolentes. Cependant, tandis que les PL sont peu délabrantes et souvent spontanément régressives, les LACP ont une évolution locale généralement plus agressive.

Dans les MFT, nous avons observé une tendance à une plus grande quantité d'IL4I1 comparativement aux MF indolents.

L'étude des biopsies séquentielles de 3 patients atteints de MF montrait aussi un enrichissement en IL4I1 avec la transformation. Bien que réalisée sur un effectif très réduit, cette analyse séquentielle apporte un argument supplémentaire avec l'avantage d'une analyse évolutive qui permet de s'affranchir de la variabilité inter-individuelle. On peut noter par ailleurs que le cas ayant montré l'enrichissement le plus important en IL4I1 au cours de sa transformation correspondait à un MF de type pilotrope, reconnu comme de moins bon pronostic.

Parmi les lymphomes T cutanés épidermotropes, nous avons observé statistiquement plus d'IL4I1 dans les entités agressives regroupant les MFT et les SS que dans les MF indolents ($p=0,018^*$ en quantification brute et $p=0,0286^*$ rapportée à la densité cellulaire).

Ce regroupement des formes agressives de MF et des SS est discutable, s'agissant de deux lymphomes cutanés différents. S'ils ne représentant pas un réel continuum lésionnel, le MF et le SS partagent cependant de nombreuses caractéristiques et posent d'ailleurs fréquemment un problème de diagnostic différentiel. Ils ont en effet de nombreuses caractéristiques communes à la fois cliniques (présentations érythrodermique et leucémique de certains MF), histologiques (aspect similaire), phénotypiques (LT CD4+ auxiliaires mémoires) et moléculaires (exemple de l'acquisition aberrante de KIR3DL2 observée dans les MF et les SS [154]).

Ces deux entités sont ainsi souvent regroupés au sein d'un même groupe, celui des lymphomes T cutanés épidermotropes, et partagent la même classification TNMB, à part des autres lymphomes cutanés.

Concernant le groupe des LP TCD30+, il y avait statistiquement plus d'IL4I1 dans les LACP que dans les PL, en quantification brute et rapportée à la densité cellulaire ($p=0,004^{**}$ et $p=0,0012^{**}$).

Ces résultats soulèvent donc la question de l'implication d'IL4I1 dans l'acquisition d'un phénotype plus agressif au cours des LP TCD30+ et des MF.

III. INTERACTION ENTRE IL4I1 ET L'ENVIRONNEMENT LYMPHOCYTAIRE T

Au vu des effets connus d'IL4I1, notre objectif secondaire était d'évaluer quantitativement l'environnement lymphocytaire T cytotoxique et régulateur, en parallèle de l'expression d'IL4I1. Cette étude n'a été réalisée que sur les sous-groupes MF/MFT et LP TCD30+, dans lesquels une tendance (MF/MFT) ou une augmentation significative (LP TCD30+) d'expression d'IL4I1 étaient identifiées dans les formes plus agressives.

Nous avons observé plus de LT CD8+ cytotoxiques GrB+ dans les formes agressives (MFT) ou à agressivité locale (LACP) que dans leurs formes indolentes respectives (MF et PL). Cette différence était statistiquement significative entre MF et MFT en quantification brute ($p=0,0013^{**}$). Il s'agissait d'une tendance entre PL et LACP.

La quantité de LT régulateurs FoxP3 était quant à elle variable avec :

- significativement moins de LT FoxP3+ dans les MFT que dans les MF indolents ($p=0,03^*$), rapporté à la densité cellulaire des infiltrats ;
- à l'inverse, plutôt une discrète majoration dans les LACP en comparaison aux PL (NS).

En parallèle d'une majoration d'IL4I1, et au vu des données de la littérature, ces constatations allaient plutôt à l'inverse de ce que l'on aurait initialement pu attendre. En effet, face à une quantité plus importante de cette enzyme immunosuppressive dans les formes plus agressives, on aurait présumé une diminution de la réponse T effectrice et une majoration des LT régulateurs.

Face à ces résultats, on peut émettre plusieurs hypothèses :

- Les cellules tumorales resteraient immunogènes et il persisterait une réponse immunitaire T effectrice anti-tumorale qui aurait tendance à s'accroître à mesure que progresse le lymphome. On peut imaginer qu'IL4I1 puisse tout de même freiner cette réponse T, qui aurait peut-être été encore plus importante et efficace en son absence.
- Il est possible que l'impact d'IL4I1 soit plus fonctionnel que quantitatif, ce qui ne peut être évalué dans cette étude ;
- A l'inverse, on pourrait en déduire que l'environnement T est peu sensible à IL4I1 dans ces lymphomes;
- Ou encore que dans les lymphomes cutanés, IL4I1 n'exerce pas les mêmes effets qu'*in vitro* ou que dans les tumeurs solides étudiées dans la littérature, sachant que les cellules tumorales elles-mêmes sont des cellules immunes.

D'une manière générale, ces résultats amènent à reconsidérer la fonction des LT CD8+ et des Treg dans les lymphomes : s'agit-il de cellules aux fonctions effectrices anti-tumorales, et si tel est le cas, quelle est leur réelle efficacité dans le contrôle de la progression tumorale? Quel impact peuvent avoir les lymphocytes Treg sur les cellules tumorales elles-mêmes qui sont de nature lymphoïde?

Les études réalisées à ce jour sur la fonction immunosuppressive d'IL4I1 dans l'environnement du cancer ont porté sur des tumeurs solides (essentiellement le mélanome). Dans ce modèle, l'importance de la réponse immune médiée par les lymphocytes T CD8+ anti-tumoraux est cruciale, ce dont atteste l'efficacité des immunothérapies actuellement utilisées. Or, dans les

lymphomes, et plus encore dans les lymphomes cutanés primitifs, le rôle des TILs et la corrélation infiltrat CD8/réponse anti-tumorale sont beaucoup moins clairement définis, avec peu d'études et des résultats contradictoires. Concernant les approches d'immunothérapie dans les lymphomes, on sait que les anti-PD1 sont très efficaces dans le lymphome de Hodgkin et pourraient également représenter une option thérapeutique dans les lymphomes NK/T. Inversement, leur utilisation s'est avérée inefficace voire dangereuse dans d'autres situations en particulier pour le traitement de lymphomes T associés au virus HTLV1 [155]. Tel que prédit dans un modèle murin de lymphome T, le rôle fonctionnel de PD1 (récepteur inhibiteur et donc possiblement suppresseur de tumeur dans ce modèle) dans les cellules lymphomateuses elles-mêmes, pourrait expliquer cela [156].

Ces résultats hétérogènes illustrent une nouvelle fois la complexité des immunothérapies dans les lymphomes où les cellules néoplasiques ont elles-mêmes des fonctions immunologiques, et où l'efficacité des TILs dans le contrôle de la progression tumorale reste incertaine.

Si deux études ont montré une plus forte proportion de CD8 dans les stades précoces de MF avec une corrélation à un meilleur pronostic [126,133], d'autres auteurs rapportent des résultats différents. Dans une série de 46 biopsies de MF, Goteri *et al* n'ont pas démontré de corrélation entre le nombre de CD8+ et le stade ou la survie globale. Ils ont observé une augmentation du nombre de CD8+ avec la densité des cellules tumorales, ce que nous retrouvons globalement dans notre étude, suggérant la nature réactionnelle de ces cellules [157]. Iliadis *et al* ont eu des résultats similaires sur une série de 16 MF avec un infiltrat CD8+ plus important dans les MF tumoraux que dans les stades plus précoces, relatif à l'infiltration tumorale [158].

Une récente étude ayant analysé les LT CD8 circulants dans le SS a montré que ces cellules présentaient un phénotype d'activation chronique, avec un profil cytotoxique atténué [159]. Wood *et al* avaient déjà montré en 1991 que les cellules CD8+ présentaient souvent une expression altérée des marqueurs cytotoxiques dans les MF [122].

De plus, des données récentes montrent que les TILs sont une population très hétérogène, rassemblant au moins deux grands groupes de LT selon leur spécificité antigénique : des LT spécifiques de la tumeur (caractérisés par l'expression de CD39) et des LT non spécifiques de la tumeur. Ces LT non spécifiques de la tumeur sont caractérisés par un phénotype CD8+/CD39-, et rassemblent des LT dits « *bystanders* » (spécifiques d'autres antigènes : viraux,..), et des lymphocytes T résidents mémoires (LT non circulants, prédominants dans les muqueuses en contact avec l'environnement (digestive, pulmonaire, génitale) et abondants notamment dans la peau) [160,161].

Concernant le nombre de cellules FoxP3+, comme pour les TCD8+, la transposition de résultats et concepts issus des modèles de tumeurs solides est sujette à discussion. Dans les hémopathies, les cellules tumorales étant elles-mêmes des cellules lymphoïdes, elles pourraient en effet, tout autant que les TILs, être sensibles à la fonction T régulatrice.

Si l'enrichissement en Treg est généralement associé à un mauvais pronostic dans les tumeurs solides [162], certaines études rapportent au contraire un impact pronostique positif [163,164]. Ces discordances peuvent être en rapport avec les différents types de tumeurs étudiés (hétérogénéité tumorale et spatiale), mais aussi avec une probable modification du rôle des Treg au cours de la progression tumorale (hétérogénéité temporelle) [164].

Les données sont plus rares et différentes dans les pathologies lymphoïdes.

Dans le lymphome de Hodgkin il a été montré qu'une faible infiltration par des Treg FoxP3 associée à un nombre élevé de cellules TiA1 était associée à un mauvais pronostic [165].

De façon comparable, une forte infiltration par des Treg dans les lymphomes folliculaires a été associée à un bon pronostic [166].

Concernant les lymphomes cutanés, plusieurs études montrent aussi une association entre une forte infiltration en Treg et un bon pronostic, dans des entités T et B [167–172].

Dans une étude portant sur 86 lymphomes T cutanés, Gjerdum *et al* ont montré qu'une forte infiltration en Treg était associée à un meilleur pronostic [169]. Les auteurs observaient notamment significativement moins de Treg dans les formes transformées et tumorales de MF que dans les MF débutants, ces derniers résultats étant donc comparables aux nôtres.

Ils observaient par ailleurs une forte expression de FoxP3 dans l'environnement des LP TCD4+ primitives cutanées, entité dont on connaît le très bon pronostic [169].

Ces résultats soulèvent donc l'hypothèse d'un rôle régulateur paradoxal, anti-tumoral, des Treg dans les lymphomes, qui serait plus important surtout dans les stades précoces, et qui serait déjoué par les cellules tumorales dans les stades avancés.

Si cette hypothèse se confirmait, une grande prudence serait de mise quant à l'utilisation d'immunothérapies pouvant moduler les Treg, surtout dans les stades précoces de MF [171,173].

De plus, il semble que les cellules tumorales des lymphomes T cutanés puissent elles-mêmes acquérir un phénotype Treg (exprimant FoxP3, CTLA-4, IL10, TGF β et inhibant la sécrétion d'IL-2 et IFN γ). Ces constatations ont même amené certains auteurs à considérer certains lymphomes T (Sézary, MF) comme des proliférations tumorales dérivées de cellules Treg, expliquant la nature immunosuppressive de cette pathologie [114,134,152,171,174,175].

L'expression de FoxP3 par les cellules tumorales est encore très débattue et n'a pas été observée dans toutes les études. L'acquisition de ce phénotype pourrait aussi dépendre du stade d'évolution de la maladie [171,176].

Dans notre expérience, l'expression de FoxP3 par les cellules tumorales de MF/SS est peu observée. Dans notre étude, la diminution du nombre de cellules FoxP3 dans les MFT par rapport aux MF va également plutôt contre cette hypothèse.

Les études s'étant intéressées à ces cellules au phénotype Treg dans les MF/SS rapportent des fonctions immunosuppressives hétérogènes, altérées par rapport aux « vrais » Treg, notamment dans les formes avancées de MF/SS avec charge tumorale importante.

Elles semblent aussi exprimer de façon hétérogène, globalement plus faible FoxP3 et CTLA4 en comparaison aux « vrais » Treg fonctionnels [167,177]. L'expression de deux autres formes de la protéine FoxP3 ayant subi un épissage alternatif, avec des propriétés différentes, a aussi été rapportée dans ce contexte [175].

D'autres études sont donc encore nécessaires aujourd'hui pour déterminer si l'expression de FoxP3 par ces cellules tumorales reflète une particularité phénotypique, l'acquisition de réelles fonctions immunosuppressives ou si elle reflète seulement un état d'activation chronique [175].

Concernant les LP TCD30+, on peut noter la forte dispersion des valeurs observées pour les marqueurs CD8 (LACP : min 18-max 653) et Foxp3 (PL : min 17-max 353). Dans ces pathologies au potentiel régressif, on peut imaginer que ces importantes disparités concernant l'environnement T puissent avoir un lien avec l'évolutivité de la maladie. Il serait donc intéressant de confronter ces données aux paramètres cliniques afin d'évaluer un potentiel lien entre environnement T (effecteur/régulateur) et stade lésionnel (régression/évolutivité).

Au total, contrairement aux études *in vitro* et aux constatations faites sur des tumeurs solides, l'impact d'IL4I1 sur l'environnement T apparaît beaucoup plus complexe dans les pathologies lymphoïdes. Des résultats comparables ont été rapportés avec IDO, une autre enzyme immunosuppressives, étudiée dans les lymphomes de Hodgkin : Choe *et al* ont en effet observé une corrélation entre une forte expression d'IDO et un mauvais pronostic avec, en parallèle, un enrichissement en lymphocytes T CD8⁺ et une élévation du ratio FoxP3/CD4 [60].

D'autres études plus larges, fonctionnelles, avec des marqueurs plus spécifiques de l'environnement T anti-tumoral et immunorégulateur sont donc nécessaires pour évaluer l'impact réel d'IL4I1 sur le MET et l'impact des lymphocytes T CD8⁺ et Treg dans les lymphomes cutanés.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude est la première à évaluer l'expression d'IL4I1 dans les lymphomes cutanés primitifs. Il s'agit d'une étude préliminaire, descriptive et rétrospective, avec les limites méthodologiques qui lui incombent.

Elle nous a permis de mettre en évidence la présence d'IL4I1 dans l'environnement tumoral des principales entités de lymphomes cutanés primitifs.

Elle soulève la question de l'implication d'IL4I1 dans l'acquisition d'un phénotype plus agressif au cours du MF et des LP TCD30+. Ceci reste à démontrer par l'étude de plus grandes séries de cas, et idéalement par des approches fonctionnelles.

L'impact de cette enzyme sur l'environnement T apparaît plus complexe dans ces pathologies où les cellules tumorales sont elles-mêmes de nature lymphoïde, que dans les tumeurs solides. Pour cette même raison, il apparaît crucial de déterminer le rôle réel des populations T dans l'évolution de ces hémopathies, afin de mieux comprendre leur pathogénèse et d'identifier de nouvelles pistes thérapeutiques. La cellule tumorale étant elle-même une cellule lymphoïde, elle entretient avec l'environnement inflammatoire des relations parfois paradoxales, très différentes de celles observées dans les tumeurs solides.

Ceci appelle à la prudence quant à la manipulation du MET et à l'utilisation de l'immunothérapie dans les lymphomes en général, et dans les lymphomes cutanés en particulier. La récente publication de cas d'aggravation de lymphomes T associés au virus HTLV1, consécutive à l'utilisation d'anticorps anti-PD-1, ne fait que renforcer cette mise en garde.

Des analyses complémentaires sont actuellement en cours afin de compléter ces résultats.

Nous y intégrerons des données cliniques et paracliniques permettant de mieux stratifier ces groupes de patients (âge, TNM(B), traitements, clones, évolutions,...) et d'évaluer d'autres paramètres relatifs à la progression tumorale.

Pour mieux caractériser cet environnement T aux fonctions complexes, nous évalueront le rapport CD8/FoxP3, reflet indirect de la balance LT effecteurs/régulateurs.

Afin d'évaluer le rôle potentiel d'autres enzymes immunosuppressives dans la pathogénèse des lymphomes cutanés, des marquages anti-Arginase 1 et anti-IDO seront également réalisés et intégrés à cette analyse. Ces études complémentaires nous permettront d'avoir une vue d'ensemble de l'expression des enzymes immunosuppressives dans les lymphomes cutanés primitifs, et d'évaluer si globalement leur expression est associée à l'agressivité clinique.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002;3:991–8. doi:10.1038/ni1102-991.
- [2] Ichim CV. Revisiting immunosurveillance and immunostimulation: Implications for cancer immunotherapy. *J Transl Med* 2005;3:8. doi:10.1186/1479-5876-3-8.
- [3] Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011;331:1565–70. doi:10.1126/science.1203486.
- [4] Burnet M. Cancer; a biological approach. I. The processes of control. *Br Med J* 1957;1:779–86.
- [5] Old LJ, Boyse EA. IMMUNOLOGY OF EXPERIMENTAL TUMORS. *Annu Rev Med* 1964;15:167–86. doi:10.1146/annurev.me.15.020164.001123.
- [6] Stutman O. Tumor development after 3-methylcholanthrene in immunologically deficient athymic-nude mice. *Science* 1974;183:534–6.
- [7] Stutman O. Immunodepression and malignancy. *Adv Cancer Res* 1975;22:261–422.
- [8] Prehn RT. The immune reaction as a stimulator of tumor growth. *Science* 1972;176:170–1.
- [9] Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001;357:539–45. doi:10.1016/S0140-6736(00)04046-0.
- [10] Dighe AS, Richards E, Old LJ, Schreiber RD. Enhanced in vivo growth and resistance to rejection of tumor cells expressing dominant negative IFN gamma receptors. *Immunity* 1994;1:447–56.
- [11] Shankaran V, Ikeda H, Bruce AT, White JM, Swanson PE, Old LJ, et al. IFNgamma and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature* 2001;410:1107–11. doi:10.1038/35074122.
- [12] van den Broek ME, Kägi D, Ossendorp F, Toes R, Vamvakas S, Lutz WK, et al. Decreased tumor surveillance in perforin-deficient mice. *J Exp Med* 1996;184:1781–90.
- [13] Street SE, Cretney E, Smyth MJ. Perforin and interferon-gamma activities independently control tumor initiation, growth, and metastasis. *Blood* 2001;97:192–7.
- [14] Penn I. Posttransplant malignancies. *Transplant Proc* 1999;31:1260–2.
- [15] Birkeland SA, Storm HH, Lamm LU, Barlow L, Blohmé I, Forsberg B, et al. Cancer risk after renal transplantation in the Nordic countries, 1964–1986. *Int J Cancer* 1995;60:183–9.
- [16] Boshoff C, Weiss R. AIDS-related malignancies. *Nat Rev Cancer* 2002;2:373–82. doi:10.1038/nrc797.
- [17] Penn I. Malignant melanoma in organ allograft recipients. *Transplantation* 1996;61:274–8.
- [18] Penn I. Sarcomas in organ allograft recipients. *Transplantation* 1995;60:1485–91.
- [19] Clark WH, Elder DE, Guerry D, Braitman LE, Trock BJ, Schultz D, et al. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J Natl Cancer Inst* 1989;81:1893–904.
- [20] Clemente CG, Mihm MC, Bufalino R, Zurrida S, Collini P, Cascinelli N. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous

- melanoma. *Cancer* 1996;77:1303–10. doi:10.1002/(SICI)1097-0142(19960401)77:7<1303::AID-CNCR12>3.0.CO;2-5.
- [21] Lipponen PK, Eskelinen MJ, Jauhiainen K, Harju E, Terho R. Tumour infiltrating lymphocytes as an independent prognostic factor in transitional cell bladder cancer. *Eur J Cancer* 1992;29A:69–75.
- [22] Nacopoulou L, Azaris P, Papacharalampous N, Davaris P. Prognostic significance of histologic host response in cancer of the large bowel. *Cancer* 1981;47:930–6.
- [23] Naito Y, Saito K, Shiiba K, Ohuchi A, Saigenji K, Nagura H, et al. CD8+ T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:3491–4.
- [24] Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu Rev Immunol* 2011;29:235–71. doi:10.1146/annurev-immunol-031210-101324.
- [25] Khong HT, Restifo NP. Natural selection of tumor variants in the generation of “tumor escape” phenotypes. *Nat Immunol* 2002;3:999–1005. doi:10.1038/ni1102-999.
- [26] Terme M, Tanchot C. [Immune system and tumors]. *Ann Pathol* 2017;37:11–7. doi:10.1016/j.annpat.2016.12.004.
- [27] Pagès F, Mlecnik B, Marliot F, Bindea G, Ou F-S, Bifulco C, et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet* 2018;391:2128–39. doi:10.1016/S0140-6736(18)30789-X.
- [28] Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* 2006;313:1960–4. doi:10.1126/science.1129139.
- [29] Terabe M, Berzofsky JA. Immunoregulatory T cells in tumor immunity. *Curr Opin Immunol* 2004;16:157–62. doi:10.1016/j.coi.2004.01.010.
- [30] Hodi FS, O’Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:711–23. doi:10.1056/NEJMoa1003466.
- [31] Hodi FS, Chesney J, Pavlick AC, Robert C, Grossmann KF, McDermott DF, et al. Combined nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab alone in patients with advanced melanoma: 2-year overall survival outcomes in a multicentre, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17:1558–68. doi:10.1016/S1470-2045(16)30366-7.
- [32] Weber JS, D’Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015;16:375–84. doi:10.1016/S1470-2045(15)70076-8.
- [33] Papouin B, Mussini C, De Martin E, Guettier C. [Hepatic and digestive adverse events of immune checkpoint inhibitors (anti-CTLA-4 and, anti-PD-1/PD-L1): A clinico-pathological review]. *Ann Pathol* 2018;38:338–51. doi:10.1016/j.annpat.2018.07.005.
- [34] Gabrilovich DI, Ostrand-Rosenberg S, Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours. *Nat Rev Immunol* 2012;12:253–68. doi:10.1038/nri3175.
- [35] Tesone AJ, Svoronos N, Allegrezza MJ, Conejo-Garcia JR. Pathological mobilization and activities of dendritic cells in tumor-bearing hosts: challenges and opportunities for immunotherapy of cancer. *Front Immunol* 2013;4:435. doi:10.3389/fimmu.2013.00435.
- [36] Bonelli S, Geeraerts X, Bolli E, Keirsse J, Kiss M, Pombo Antunes AR, et al. Beyond the M-CSF receptor - novel therapeutic targets in tumor-associated macrophages. *FEBS J* 2018;285:777–87. doi:10.1111/febs.14202.
- [37] Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol* 2010;11:889–96. doi:10.1038/ni.1937.

- [38] Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest* 2012;122:787–95. doi:10.1172/JCI59643.
- [39] Cornelius LA, Nehring LC, Harding E, Bolanowski M, Welgus HG, Kobayashi DK, et al. Matrix metalloproteinases generate angiostatin: effects on neovascularization. *J Immunol* 1998;161:6845–52.
- [40] Yue Y, Huang W, Liang J, Guo J, Ji J, Yao Y, et al. IL4I1 Is a Novel Regulator of M2 Macrophage Polarization That Can Inhibit T Cell Activation via L-Tryptophan and Arginine Depletion and IL-10 Production. *PLoS ONE* 2015;10:e0142979. doi:10.1371/journal.pone.0142979.
- [41] Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 2002;23:549–55.
- [42] Sica A, Saccani A, Bottazzi B, Polentarutti N, Vecchi A, van Damme J, et al. Autocrine production of IL-10 mediates defective IL-12 production and NF-kappa B activation in tumor-associated macrophages. *J Immunol* 2000;164:762–7.
- [43] Qian B-Z, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell* 2010;141:39–51. doi:10.1016/j.cell.2010.03.014.
- [44] Tang R, Beuvon F, Ojeda M, Mosseri V, Pouillart P, Scholl S. M-CSF (monocyte colony stimulating factor) and M-CSF receptor expression by breast tumour cells: M-CSF mediated recruitment of tumour infiltrating monocytes? *J Cell Biochem* 1992;50:350–6. doi:10.1002/jcb.240500403.
- [45] Galdiero MR, Bonavita E, Barajon I, Garlanda C, Mantovani A, Jaillon S. Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer. *Immunobiology* 2013;218:1402–10. doi:10.1016/j.imbio.2013.06.003.
- [46] Ocana A, Nieto-Jiménez C, Pandiella A, Templeton AJ. Neutrophils in cancer: prognostic role and therapeutic strategies. *Mol Cancer* 2017;16. doi:10.1186/s12943-017-0707-7.
- [47] Hurt B, Schulick R, Edil B, El Kasmi KC, Barnett C. Cancer-promoting mechanisms of tumor-associated neutrophils. *Am J Surg* 2017;214:938–44. doi:10.1016/j.amjsurg.2017.08.003.
- [48] Molinier-Frenkel V, Castellano F. Immunosuppressive enzymes in the tumor microenvironment. *FEBS Lett* 2017;591:3135–57. doi:10.1002/1873-3468.12784.
- [49] Lasoudris F, Cousin C, Prevost-Blondel A, Martin-Garcia N, Abd-Alsamad I, Ortonne N, et al. IL4I1: an inhibitor of the CD8⁺ antitumor T-cell response in vivo. *Eur J Immunol* 2011;41:1629–38. doi:10.1002/eji.201041119.
- [50] Timosenko E, Hadjinicolaou AV, Cerundolo V. Modulation of cancer-specific immune responses by amino acid degrading enzymes. *Immunotherapy* 2017;9:83–97. doi:10.2217/imt-2016-0118.
- [51] Théate I, van Baren N, Pilotte L, Moulin P, Larrieu P, Renauld J-C, et al. Extensive profiling of the expression of the indoleamine 2,3-dioxygenase 1 protein in normal and tumoral human tissues. *Cancer Immunol Res* 2015;3:161–72. doi:10.1158/2326-6066.CIR-14-0137.
- [52] Munn DH, Sharma MD, Lee JR, Jhaveri KG, Johnson TS, Keskin DB, et al. Potential regulatory function of human dendritic cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase. *Science* 2002;297:1867–70. doi:10.1126/science.1073514.
- [53] Opitz CA, Litzenburger UM, Sahn F, Ott M, Tritschler I, Trump S, et al. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. *Nature* 2011;478:197–203. doi:10.1038/nature10491.

- [54] Chen W, Liang X, Peterson AJ, Munn DH, Blazar BR. The indoleamine 2,3-dioxygenase pathway is essential for human plasmacytoid dendritic cell-induced adaptive T regulatory cell generation. *J Immunol* 2008;181:5396–404.
- [55] Mezrich JD, Fechner JH, Zhang X, Johnson BP, Burlingham WJ, Bradfield CA. An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells. *J Immunol* 2010;185:3190–8. doi:10.4049/jimmunol.0903670.
- [56] Godin-Ethier J, Hanafi L-A, Piccirillo CA, Lapointe R. Indoleamine 2,3-dioxygenase expression in human cancers: clinical and immunologic perspectives. *Clin Cancer Res* 2011;17:6985–91. doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-1331.
- [57] Uyttenhove C, Pilotte L, Théate I, Stroobant V, Colau D, Parmentier N, et al. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nat Med* 2003;9:1269–74. doi:10.1038/nm934.
- [58] Curti A, Pandolfi S, Valzasina B, Aluigi M, Isidori A, Ferri E, et al. Modulation of tryptophan catabolism by human leukemic cells results in the conversion of CD25⁻ into CD25⁺ T regulatory cells. *Blood* 2007;109:2871–7. doi:10.1182/blood-2006-07-036863.
- [59] Liu X-Q, Lu K, Feng L-L, Ding M, Gao J-M, Ge X-L, et al. Up-regulated expression of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 in non-Hodgkin lymphoma correlates with increased regulatory T-cell infiltration. *Leuk Lymphoma* 2014;55:405–14. doi:10.3109/10428194.2013.804917.
- [60] Choe J-Y, Yun JY, Jeon YK, Kim SH, Park G, Huh JR, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) is frequently expressed in stromal cells of Hodgkin lymphoma and is associated with adverse clinical features: a retrospective cohort study. *BMC Cancer* 2014;14:335. doi:10.1186/1471-2407-14-335.
- [61] Ninomiya S, Hara T, Tsurumi H, Hoshi M, Kanemura N, Goto N, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase in tumor tissue indicates prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Ann Hematol* 2011;90:409–16. doi:10.1007/s00277-010-1093-z.
- [62] Jacquemier J, Bertucci F, Finetti P, Esterni B, Charafe-Jauffret E, Thibult M-L, et al. High expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in the tumour is associated with medullary features and favourable outcome in basal-like breast carcinoma. *Int J Cancer* 2012;130:96–104. doi:10.1002/ijc.25979.
- [63] Riesenberger R, Weiler C, Spring O, Eder M, Buchner A, Popp T, et al. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in tumor endothelial cells correlates with long-term survival of patients with renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007;13:6993–7002. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-0942.
- [64] Komiya T, Huang CH. Updates in the Clinical Development of Epcadostat and Other Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1 Inhibitors (IDO1) for Human Cancers. *Front Oncol* 2018;8:423. doi:10.3389/fonc.2018.00423.
- [65] Hornyák L, Dobos N, Koncz G, Karányi Z, Páll D, Szabó Z, et al. The Role of Indoleamine-2,3-Dioxygenase in Cancer Development, Diagnostics, and Therapy. *Front Immunol* 2018;9:151. doi:10.3389/fimmu.2018.00151.
- [66] Mondanelli G, Ugel S, Grohmann U, Bronte V. The immune regulation in cancer by the amino acid metabolizing enzymes ARG and IDO. *Curr Opin Pharmacol* 2017;35:30–9. doi:10.1016/j.coph.2017.05.002.
- [67] Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. *Nat Rev Immunol* 2005;5:641–54. doi:10.1038/nri1668.
- [68] Munder M. Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system. *Br J Pharmacol* 2009;158:638–51. doi:10.1111/j.1476-5381.2009.00291.x.

- [69] Raber P, Ochoa AC, Rodríguez PC. Metabolism of L-arginine by myeloid-derived suppressor cells in cancer: mechanisms of T cell suppression and therapeutic perspectives. *Immunol Invest* 2012;41:614–34. doi:10.3109/08820139.2012.680634.
- [70] Keshet R, Erez A. Arginine and the metabolic regulation of nitric oxide synthesis in cancer. *Dis Model Mech* 2018;11. doi:10.1242/dmm.033332.
- [71] Chavan SS, Tian W, Hsueh K, Jawaheer D, Gregersen PK, Chu CC. Characterization of the human homolog of the IL-4 induced gene-1 (Fig1). *Biochim Biophys Acta* 2002;1576:70–80.
- [72] Copie-Bergman C, Boulland M-L, Dehoule C, Möller P, Farcet J-P, Dyer MJS, et al. Interleukin 4-induced gene 1 is activated in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2003;101:2756–61. doi:10.1182/blood-2002-07-2215.
- [73] Molinier-Frenkel V, Mestivier D, Castellano F. Alterations of the immunosuppressive IL4I1 enzyme activity induced by naturally occurring SNP/mutations. *Genes Immun* 2016;17:148–52. doi:10.1038/gene.2015.55.
- [74] Boulland M-L, Marquet J, Molinier-Frenkel V, Möller P, Guiter C, Lasoudris F, et al. Human IL4I1 is a secreted L-phenylalanine oxidase expressed by mature dendritic cells that inhibits T-lymphocyte proliferation. *Blood* 2007;110:220–7. doi:10.1182/blood-2006-07-036210.
- [75] Mason JM, Naidu MD, Barcia M, Porti D, Chavan SS, Chu CC. IL-4-induced gene-1 is a leukocyte L-amino acid oxidase with an unusual acidic pH preference and lysosomal localization. *J Immunol* 2004;173:4561–7.
- [76] Romagnani S. IL4I1: Key immunoregulator at a crossroads of divergent T-cell functions. *Eur J Immunol* 2016;46:2302–5. doi:10.1002/eji.201646617.
- [77] Carbonnelle-Puscian A, Copie-Bergman C, Baia M, Martin-Garcia N, Allory Y, Haioun C, et al. The novel immunosuppressive enzyme IL4I1 is expressed by neoplastic cells of several B-cell lymphomas and by tumor-associated macrophages. *Leukemia* 2009;23:952–60. doi:10.1038/leu.2008.380.
- [78] Marquet J, Lasoudris F, Cousin C, Puiffe M-L, Martin-Garcia N, Baud V, et al. Dichotomy between factors inducing the immunosuppressive enzyme IL-4-induced gene 1 (IL4I1) in B lymphocytes and mononuclear phagocytes. *Eur J Immunol* 2010;40:2557–68. doi:10.1002/eji.201040428.
- [79] Cousin C, Aubatin A, Le Gouvello S, Apetoh L, Castellano F, Molinier-Frenkel V. The immunosuppressive enzyme IL4I1 promotes FoxP3(+) regulatory T lymphocyte differentiation. *Eur J Immunol* 2015;45:1772–82. doi:10.1002/eji.201445000.
- [80] Takahashi A, Hanson MGV, Norell HR, Havelka AM, Kono K, Malmberg K-J, et al. Preferential cell death of CD8+ effector memory (CCR7-CD45RA-) T cells by hydrogen peroxide-induced oxidative stress. *J Immunol* 2005;174:6080–7.
- [81] Aubatin A, Sako N, Decrouy X, Donnadiou E, Molinier-Frenkel V, Castellano F. IL4-induced gene 1 is secreted at the immune synapse and modulates TCR activation independently of its enzymatic activity. *Eur J Immunol* 2018;48:106–19. doi:10.1002/eji.201646769.
- [82] Santarlaschi V, Maggi L, Mazzoni A, Capone M, Querci V, Rossi MC, et al. IL-4-induced gene 1 maintains high Tob1 expression that contributes to TCR unresponsiveness in human T helper 17 cells. *Eur J Immunol* 2014;44:654–61. doi:10.1002/eji.201344047.
- [83] Bod L, Douguet L, Auffray C, Lengagne R, Bekkat F, Rondeau E, et al. IL-4-Induced Gene 1: A Negative Immune Checkpoint Controlling B Cell Differentiation and Activation. *J Immunol* 2018;200:1027–38. doi:10.4049/jimmunol.1601609.
- [84] YU D, COZMA D, PARK A, THOMAS-TIKHONENKO A. Functional Validation of Genes Implicated in Lymphomagenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1059:145–59. doi:10.1196/annals.1339.047.

- [85] al JY et. Asbestos induces nuclear factor kappa B (NF-kappa B) DNA-binding activity and NF-kappa B-dependent gene expression in tracheal epithelial cells. - PubMed - NCBI n.d. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7667311> (accessed November 11, 2018).
- [86] Kothmaier H, Quehenberger F, Halbwedl I, Morbini P, Demirag F, Zeren H, et al. EGFR and PDGFR differentially promote growth in malignant epithelioid mesothelioma of short and long term survivors. *Thorax* 2008;63:345–51. doi:10.1136/thx.2007.085241.
- [87] Arzt L, Kothmaier H, Halbwedl I, Quehenberger F, Popper HH. Signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) acts like an oncogene in malignant pleural mesothelioma. *Virchows Arch* 2014;465:79–88. doi:10.1007/s00428-014-1584-8.
- [88] Bod L, Lengagne R, Wrobel L, Ramspott JP, Kato M, Avril M-F, et al. IL4-induced gene 1 promotes tumor growth by shaping the immune microenvironment in melanoma. *Oncoimmunology* 2017;6:e1278331. doi:10.1080/2162402X.2016.1278331.
- [89] Ramspott JP, Bekkat F, Bod L, Favier M, Terris B, Salomon A, et al. Emerging Role of IL-4-Induced Gene 1 as a Prognostic Biomarker Affecting the Local T-Cell Response in Human Cutaneous Melanoma. *J Invest Dermatol* 2018. doi:10.1016/j.jid.2018.06.178.
- [90] Finak G, Bertos N, Pepin F, Sadekova S, Souleimanova M, Zhao H, et al. Stromal gene expression predicts clinical outcome in breast cancer. *Nat Med* 2008;14:518–27. doi:10.1038/nm1764.
- [91] Kempf W, Kazakov DV, Kerl K. Cutaneous lymphomas: an update. Part 1: T-cell and natural killer/t-cell lymphomas and related conditions. *Am J Dermatopathol* 2014;36:105–23. doi:10.1097/DAD.0b013e318289b1db.
- [92] Serdlow S. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th Edn. 2017.
- [93] Querfeld C, Zain J, Rosen ST. Primary Cutaneous T-Cell Lymphomas: Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome. *Cancer Treat Res* 2019;176:225–48. doi:10.1007/978-3-319-99716-2_11.
- [94] Benner MF, Jansen PM, Vermeer MH, Willemze R. Prognostic factors in transformed mycosis fungoides: a retrospective analysis of 100 cases. *Blood* 2012;119:1643–9. doi:10.1182/blood-2011-08-376319.
- [95] da Silva Almeida AC, Abate F, Khiabani H, Martinez-Escala E, Guitart J, Tensen CP, et al. The mutational landscape of cutaneous T cell lymphoma and Sézary syndrome. *Nat Genet* 2015;47:1465–70. doi:10.1038/ng.3442.
- [96] Ungewickell A, Bhaduri A, Rios E, Reuter J, Lee CS, Mah A, et al. Genomic analysis of mycosis fungoides and Sézary syndrome identifies recurrent alterations in TNFR2. *Nat Genet* 2015;47:1056–60. doi:10.1038/ng.3370.
- [97] Sors A, Jean-Louis F, Pellet C, Laroche L, Dubertret L, Courtois G, et al. Down-regulating constitutive activation of the NF-kappaB canonical pathway overcomes the resistance of cutaneous T-cell lymphoma to apoptosis. *Blood* 2006;107:2354–63. doi:10.1182/blood-2005-06-2536.
- [98] Izbán KF, Ergin M, Qin JZ, Martinez RL, Pooley RJ JR, Saeed S, et al. Constitutive expression of NF-kappa B is a characteristic feature of mycosis fungoides: implications for apoptosis resistance and pathogenesis. *Hum Pathol* 2000;31:1482–90.
- [99] Vaqué JP, Gómez-López G, Monsálvez V, Varela I, Martínez N, Pérez C, et al. PLCG1 mutations in cutaneous T-cell lymphomas. *Blood* 2014;123:2034–43. doi:10.1182/blood-2013-05-504308.
- [100] Sommer VH, Clemmensen OJ, Nielsen O, Wasik M, Lovato P, Brender C, et al. In vivo activation of STAT3 in cutaneous T-cell lymphoma. Evidence for an antiapoptotic function of STAT3. *Leukemia* 2004;18:1288–95. doi:10.1038/sj.leu.2403385.

- [101] Nielsen M, Kaestel CG, Eriksen KW, Woetmann A, Stokkedal T, Kaltoft K, et al. Inhibition of constitutively activated Stat3 correlates with altered Bcl-2/Bax expression and induction of apoptosis in mycosis fungoides tumor cells. *Leukemia* 1999;13:735–8.
- [102] Wieser I, Oh CW, Talpur R, Duvic M. Lymphomatoid papulosis: Treatment response and associated lymphomas in a study of 180 patients. *J Am Acad Dermatol* 2016;74:59–67. doi:10.1016/j.jaad.2015.09.013.
- [103] Karai LJ, Kadin ME, Hsi ED, Sluzevich JC, Ketterling RP, Knudson RA, et al. Chromosomal rearrangements of 6p25.3 define a new subtype of lymphomatoid papulosis. *Am J Surg Pathol* 2013;37:1173–81. doi:10.1097/PAS.0b013e318282d01e.
- [104] Pham-Ledard A, Prochazkova-Carlotti M, Laharanne E, Vergier B, Jouary T, Beylot-Barry M, et al. IRF4 gene rearrangements define a subgroup of CD30-positive cutaneous T-cell lymphoma: a study of 54 cases. *J Invest Dermatol* 2010;130:816–25. doi:10.1038/jid.2009.314.
- [105] Wada DA, Law ME, Hsi ED, Dicaudo DJ, Ma L, Lim MS, et al. Specificity of IRF4 translocations for primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma: a multicenter study of 204 skin biopsies. *Mod Pathol* 2011;24:596–605. doi:10.1038/modpathol.2010.225.
- [106] Willemze R, Jansen PM, Cerroni L, Berti E, Santucci M, Assaf C, et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: definition, classification, and prognostic factors: an EORTC Cutaneous Lymphoma Group Study of 83 cases. *Blood* 2008;111:838–45. doi:10.1182/blood-2007-04-087288.
- [107] Toro JR, Liewehr DJ, Pabby N, Sorbara L, Raffeld M, Steinberg SM, et al. Gamma-delta T-cell phenotype is associated with significantly decreased survival in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* 2003;101:3407–12. doi:10.1182/blood-2002-05-1597.
- [108] Guitart J, Martinez-Escala ME, Subtil A, Duvic M, Pulitzer MP, Olsen EA, et al. Primary cutaneous aggressive epidermotropic cytotoxic T-cell lymphomas: reappraisal of a provisional entity in the 2016 WHO classification of cutaneous lymphomas. *Mod Pathol* 2017;30:761–72. doi:10.1038/modpathol.2016.240.
- [109] Grange F, Beylot-Barry M, Courville P, Maubec E, Bagot M, Vergier B, et al. Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type: clinicopathologic features and prognostic analysis in 60 cases. *Arch Dermatol* 2007;143:1144–50. doi:10.1001/archderm.143.9.1144.
- [110] Trautinger F, Eder J, Assaf C, Bagot M, Cozzio A, Dummer R, et al. European Organisation for Research and Treatment of Cancer consensus recommendations for the treatment of mycosis fungoides/Sézary syndrome - Update 2017. *Eur J Cancer* 2017;77:57–74. doi:10.1016/j.ejca.2017.02.027.
- [111] Grange F, D’Incan M, Ortonne N, Dalac S, Laroche L, Beylot-Barry M, et al. [Management of cutaneous B-cell lymphoma: recommendations of the French cutaneous lymphoma study group]. *Ann Dermatol Venereol* 2010;137:523–31. doi:10.1016/j.annder.2010.04.016.
- [112] Hahtola S, Tuomela S, Elo L, Häkkinen T, Karenko L, Nedoszytko B, et al. Th1 response and cytotoxicity genes are down-regulated in cutaneous T-cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2006;12:4812–21. doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-0532.
- [113] Papadavid E, Economidou J, Psarra A, Kapsimali V, Mantzana V, Antoniou C, et al. The relevance of peripheral blood T-helper 1 and 2 cytokine pattern in the evaluation of patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Br J Dermatol* 2003;148:709–18.
- [114] Guenova E, Watanabe R, Teague JE, Desimone JA, Jiang Y, Dowlathshahi M, et al. TH2 cytokines from malignant cells suppress TH1 responses and enforce a global TH2 bias in leukemic cutaneous T-cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2013;19:3755–63. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-3488.

- [115] Vowels BR, Lessin SR, Cassin M, Jaworsky C, Benoit B, Wolfe JT, et al. Th2 cytokine mRNA expression in skin in cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 1994;103:669–73.
- [116] Fierro MT, Comessatti A, Quaglino P, Ortoncelli M, Osella Abate S, Ponti R, et al. Expression pattern of chemokine receptors and chemokine release in inflammatory erythroderma and Sézary syndrome. *Dermatology (Basel)* 2006;213:284–92. doi:10.1159/000096191.
- [117] Krejsgaard T, Lindahl LM, Mongan NP, Wasik MA, Litvinov IV, Iversen L, et al. Malignant inflammation in cutaneous T-cell lymphoma—a hostile takeover. *Semin Immunopathol* 2017;39:269–82. doi:10.1007/s00281-016-0594-9.
- [118] Rook AH, Kubin M, Cassin M, Vonderheid EC, Vowels BR, Wolfe JT, et al. IL-12 reverses cytokine and immune abnormalities in Sezary syndrome. *J Immunol* 1995;154:1491–8.
- [119] Fujii K. New Therapies and Immunological Findings in Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Front Oncol* 2018;8:198. doi:10.3389/fonc.2018.00198.
- [120] Asadullah K, Döcke WD, Haeussler A, Sterry W, Volk HD. Progression of mycosis fungoides is associated with increasing cutaneous expression of interleukin-10 mRNA. *J Invest Dermatol* 1996;107:833–7.
- [121] Asadullah K, Haeussler A, Sterry W, Döcke WD, Volk HD. Interferon gamma and tumor necrosis factor alpha mRNA expression in mycosis fungoides progression. *Blood* 1996;88:757–8.
- [122] Wood GS, Dubiel C, Mueller C, Abel EA, Hoppe RT, Edinger A, et al. Most CD8+ cells in skin lesions of CD3+ CD4+ mycosis fungoides are CD3+ T cells that lack CD11b, CD16, CD56, CD57, and human Hanukah factor mRNA. *Am J Pathol* 1991;138:1545–52.
- [123] Asadullah K, Friedrich M, Döcke WD, Jahn S, Volk HD, Sterry W. Enhanced expression of T-cell activation and natural killer cell antigens indicates systemic anti-tumor response in early primary cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 1997;108:743–7.
- [124] Hsi AC, Lee SJ, Rosman IS, Carson KR, Kelley A, Viele V, et al. Expression of helper T cell master regulators in inflammatory dermatoses and primary cutaneous T-cell lymphomas: diagnostic implications. *J Am Acad Dermatol* 2015;72:159–67. doi:10.1016/j.jaad.2014.09.022.
- [125] Saed G, Fivenson DP, Naidu Y, Nickoloff BJ. Mycosis fungoides exhibits a Th1-type cell-mediated cytokine profile whereas Sezary syndrome expresses a Th2-type profile. *J Invest Dermatol* 1994;103:29–33.
- [126] Hoppe RT, Medeiros LJ, Warnke RA, Wood GS. CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes influence the long-term survival of patients with mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:448–53.
- [127] Kim EJ, Hess S, Richardson SK, Newton S, Showe LC, Benoit BM, et al. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma. *J Clin Invest* 2005;115:798–812. doi:10.1172/JCI24826.
- [128] Geskin LJ, Viragova S, Stolz DB, Fuschiotti P. Interleukin-13 is overexpressed in cutaneous T-cell lymphoma cells and regulates their proliferation. *Blood* 2015;125:2798–805. doi:10.1182/blood-2014-07-590398.
- [129] Sugaya M, Miyagaki T, Ohmatsu H, Suga H, Kai H, Kamata M, et al. Association of the numbers of CD163(+) cells in lesional skin and serum levels of soluble CD163 with disease progression of cutaneous T cell lymphoma. *J Dermatol Sci* 2012;68:45–51. doi:10.1016/j.jdermsci.2012.07.007.
- [130] Assaf C, Hwang ST. Mac attack: macrophages as key drivers of cutaneous T-cell lymphoma pathogenesis. *Exp Dermatol* 2016;25:105–6. doi:10.1111/exd.12894.

- [131] Pileri A, Agostinelli C, Sessa M, Quaglino P, Santucci M, Tomasini C, et al. Langerhans, plasmacytoid dendritic and myeloid-derived suppressor cell levels in mycosis fungoides vary according to the stage of the disease. *Virchows Arch* 2017;470:575–82. doi:10.1007/s00428-017-2107-1.
- [132] Abeni D, Frontani M, Sampogna F, Sera F, Bolli S, Corona R, et al. Circulating CD8+ lymphocytes, white blood cells, and survival in patients with mycosis fungoides. *Br J Dermatol* 2005;153:324–30. doi:10.1111/j.1365-2133.2005.06755.x.
- [133] Vermeer MH, van Doorn R, Dukers D, Bekkenk MW, Meijer CJ, Willemze R. CD8+ T cells in cutaneous T-cell lymphoma: expression of cytotoxic proteins, Fas Ligand, and killing inhibitory receptors and their relationship with clinical behavior. *J Clin Oncol* 2001;19:4322–9. doi:10.1200/JCO.2001.19.23.4322.
- [134] Dummer R, Heald PW, Nestle FO, Ludwig E, Laine E, Hemmi S, et al. Sézary syndrome T-cell clones display T-helper 2 cytokines and express the accessory factor-1 (interferon-gamma receptor beta-chain). *Blood* 1996;88:1383–9.
- [135] Karenko L, Nevala H, Raatikainen M, Franssila K, Ranki A. Chromosomally clonal T cells in the skin, blood, or lymph nodes of two Sezary syndrome patients express CD45RA, CD45RO, CDw150, and interleukin-4, but no interleukin-2 or interferon-gamma. *J Invest Dermatol* 2001;116:188–93. doi:10.1046/j.1523-1747.2001.00207.x.
- [136] Nakajima R, Miyagaki T, Hirakawa M, Oka T, Takahashi N, Suga H, et al. Interleukin-25 is involved in cutaneous T-cell lymphoma progression by establishing a T helper 2-dominant microenvironment. *Br J Dermatol* 2018;178:1373–82. doi:10.1111/bjd.16237.
- [137] Echchakir H, Bagot M, Dorothée G, Martinvalet D, Le Gouvello S, Boumsell L, et al. Cutaneous T cell lymphoma reactive CD4+ cytotoxic T lymphocyte clones display a Th1 cytokine profile and use a fas-independent pathway for specific tumor cell lysis. *J Invest Dermatol* 2000;115:74–80. doi:10.1046/j.1523-1747.2000.00995.x.
- [138] Yoo EK, Cassin M, Lessin SR, Rook AH. Complete molecular remission during biologic response modifier therapy for Sézary syndrome is associated with enhanced helper T type 1 cytokine production and natural killer cell activity. *Journal of the American Academy of Dermatology* 2001;45:208–16. doi:10.1067/mjd.2001.116345.
- [139] Kari L, Loboda A, Nebozhyn M, Rook AH, Vonderheid EC, Nichols C, et al. Classification and prediction of survival in patients with the leukemic phase of cutaneous T cell lymphoma. *J Exp Med* 2003;197:1477–88. doi:10.1084/jem.20021726.
- [140] Litvinov IV, Cordeiro B, Fredholm S, Ødum N, Zargham H, Huang Y, et al. Analysis of STAT4 expression in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) patients and patient-derived cell lines. *Cell Cycle* 2014;13:2975–82. doi:10.4161/15384101.2014.947759.
- [141] Contassot E, Kerl K, Roques S, Shane R, Gaide O, Dupuis M, et al. Resistance to FasL and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis in Sezary syndrome T-cells associated with impaired death receptor and FLICE-inhibitory protein expression. *Blood* 2008;111:4780–7. doi:10.1182/blood-2007-08-109074.
- [142] Braun FK, Fecker LF, Schwarz C, Walden P, Assaf C, Dürkop H, et al. Blockade of death receptor-mediated pathways early in the signaling cascade coincides with distinct apoptosis resistance in cutaneous T-cell lymphoma cells. *J Invest Dermatol* 2007;127:2425–37. doi:10.1038/sj.jid.5700868.
- [143] Dereure O, Portales P, Clot J, Guilhou JJ. Decreased expression of Fas (APO-1/CD95) on peripheral blood CD4+ T lymphocytes in cutaneous T-cell lymphomas. *Br J Dermatol* 2000;143:1205–10.
- [144] Ni X, Hazarika P, Zhang C, Talpur R, Duvic M. Fas ligand expression by neoplastic T lymphocytes mediates elimination of CD8+ cytotoxic T lymphocytes in mycosis fungoides: a potential mechanism of tumor immune escape? *Clin Cancer Res* 2001;7:2682–92.

- [145] Ni X, Zhang C, Talpur R, Duvic M. Resistance to activation-induced cell death and bystander cytotoxicity via the Fas/Fas ligand pathway are implicated in the pathogenesis of cutaneous T cell lymphomas. *J Invest Dermatol* 2005;124:741–50. doi:10.1111/j.0022-202X.2005.23657.x.
- [146] Rubio Gonzalez B, Zain J, Rosen ST, Querfeld C. Tumor microenvironment in mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Curr Opin Oncol* 2016;28:88–96. doi:10.1097/CCO.0000000000000243.
- [147] Kamarashev J, Schaerer L, Burg G, Schmid MH, Müller B, Kempf W. Tumor-infiltrating T cells in primary cutaneous B-cell lympho-proliferative disorders. *J Cutan Pathol* 2001;28:448–52.
- [148] Graham PM, Richardson AS, Schapiro BL, Saunders MD, Stewart DM. Spontaneous regression of primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type with significant T-cell immune response. *JAAD Case Rep* 2018;4:305–9. doi:10.1016/j.jdcr.2017.10.012.
- [149] Marrero-Alemán G, Montenegro-Dámaso T, Peñate Y. Primary Cutaneous Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Leg Type, With Spontaneous Regression After Biopsy. *Am J Dermatopathol* 2017;39:785–7. doi:10.1097/DAD.0000000000000874.
- [150] Asadullah K, Gellrich S, Haeussler-Quade A, Friedrich M, Döcke WD, Jahn S, et al. Cytokine expression in primary cutaneous germinal center cell lymphomas. *Exp Dermatol* 2000;9:71–6.
- [151] Wu X, Schulte BC, Zhou Y, Haribhai D, Mackinnon AC, Plaza JA, et al. Depletion of M2-like tumor-associated macrophages delays cutaneous T-cell lymphoma development in vivo. *J Invest Dermatol* 2014;134:2814–22. doi:10.1038/jid.2014.206.
- [152] Berger CL, Tigelaar R, Cohen J, Mariwalla K, Trinh J, Wang N, et al. Cutaneous T-cell lymphoma: malignant proliferation of T-regulatory cells. *Blood* 2005;105:1640–7. doi:10.1182/blood-2004-06-2181.
- [153] Berger CL, Hanlon D, Kanada D, Dhodapkar M, Lombillo V, Wang N, et al. The growth of cutaneous T-cell lymphoma is stimulated by immature dendritic cells. *Blood* 2002;99:2929–39.
- [154] Ortonne N, Le Gouvello S, Tabak R, Marie-Cardine A, Setiao J, Berrehar F, et al. CD158k/KIR3DL2 and NKp46 are frequently expressed in transformed mycosis fungoides. *Exp Dermatol* 2012;21:461–3. doi:10.1111/j.1600-0625.2012.01489.x.
- [155] Ratner L, Waldmann TA, Janakiram M, Brammer JE. Rapid Progression of Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma after PD-1 Inhibitor Therapy. *N Engl J Med* 2018;378:1947–8. doi:10.1056/NEJMc1803181.
- [156] Wartewig T, Kurgys Z, Keppler S, Pechloff K, Hameister E, Öllinger R, et al. PD-1 is a haploinsufficient suppressor of T cell lymphomagenesis. *Nature* 2017;552:121–5. doi:10.1038/nature24649.
- [157] Goteri G, Filosa A, Mannello B, Stramazotti D, Rupoli S, Leoni P, et al. Density of neoplastic lymphoid infiltrate, CD8+ T cells, and CD1a+ dendritic cells in mycosis fungoides. *J Clin Pathol* 2003;56:453–8.
- [158] Iliadis A, Koletsa T, Patsatsi A, Georgiou E, Sotiriadis D, Kostopoulos I. The cellular microenvironment and neoplastic population in mycosis fungoides skin lesions: a clinicopathological correlation. *Eur J Dermatol* 2016;26:566–71. doi:10.1684/ejd.2016.2847.
- [159] Torrealba MP, Manfrere KC, Miyashiro DR, Lima JF, de M Oliveira L, Pereira NZ, et al. Chronic activation profile of circulating CD8+ T cells in Sézary syndrome. *Oncotarget* 2018;9:3497–506. doi:10.18632/oncotarget.23334.

- [160] Nizard M, Roussel H, Diniz MO, Karaki S, Tran T, Voron T, et al. Induction of resident memory T cells enhances the efficacy of cancer vaccine. *Nat Commun* 2017;8. doi:10.1038/ncomms15221.
- [161] Simoni Y, Becht E, Fehlings M, Loh CY, Koo S-L, Teng KWW, et al. Bystander CD8+ T cells are abundant and phenotypically distinct in human tumour infiltrates. *Nature* 2018;557:575–9. doi:10.1038/s41586-018-0130-2.
- [162] Zou W. Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2006;6:295–307. doi:10.1038/nri1806.
- [163] Salama P, Phillips M, Grieu F, Morris M, Zeps N, Joseph D, et al. Tumor-infiltrating FOXP3+ T regulatory cells show strong prognostic significance in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:186–92. doi:10.1200/JCO.2008.18.7229.
- [164] Badoual C, Hans S, Rodriguez J, Peyrard S, Klein C, Agueznay NEH, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating CD4+ T-cell subpopulations in head and neck cancers. *Clin Cancer Res* 2006;12:465–72. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-1886.
- [165] Alvaro T, Lejeune M, Salvadó MT, Bosch R, García JF, Jaén J, et al. Outcome in Hodgkin's lymphoma can be predicted from the presence of accompanying cytotoxic and regulatory T cells. *Clin Cancer Res* 2005;11:1467–73. doi:10.1158/1078-0432.CCR-04-1869.
- [166] Carreras J, Lopez-Guillermo A, Fox BC, Colomo L, Martinez A, Roncador G, et al. High numbers of tumor-infiltrating FOXP3-positive regulatory T cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *Blood* 2006;108:2957–64. doi:10.1182/blood-2006-04-018218.
- [167] Kasprzycka M, Zhang Q, Witkiewicz A, Marzec M, Potoczek M, Liu X, et al. Gamma c-signaling cytokines induce a regulatory T cell phenotype in malignant CD4+ T lymphocytes. *J Immunol* 2008;181:2506–12.
- [168] Klemke C-D, Fritzsching B, Franz B, Kleinmann EV, Oberle N, Poenitz N, et al. Paucity of FOXP3+ cells in skin and peripheral blood distinguishes Sézary syndrome from other cutaneous T-cell lymphomas. *Leukemia* 2006;20:1123–9. doi:10.1038/sj.leu.2404182.
- [169] Gjerdrum LM, Woetmann A, Odum N, Burton CM, Rossen K, Skovgaard GL, et al. FOXP3+ regulatory T cells in cutaneous T-cell lymphomas: association with disease stage and survival. *Leukemia* 2007;21:2512–8. doi:10.1038/sj.leu.2404913.
- [170] Solomon GJ, Magro CM. Foxp3 expression in cutaneous T-cell lymphocytic infiltrates. *J Cutan Pathol* 2008;35:1032–9. doi:10.1111/j.1600-0560.2007.00969.x.
- [171] Krejsgaard T, Odum N, Geisler C, Wasik MA, Woetmann A. Regulatory T cells and immunodeficiency in mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Leukemia* 2012;26:424–32. doi:10.1038/leu.2011.237.
- [172] Felcht M, Heck M, Weiss C, Becker JC, Dippel E, Müller CSL, et al. Expression of the T-cell regulatory marker FOXP3 in primary cutaneous large B-cell lymphoma tumour cells. *Br J Dermatol* 2012;167:348–58. doi:10.1111/j.1365-2133.2012.10987.x.
- [173] Elpek KG, Lacelle C, Singh NP, Yolcu ES, Shirwan H. CD4+CD25+ T regulatory cells dominate multiple immune evasion mechanisms in early but not late phases of tumor development in a B cell lymphoma model. *J Immunol* 2007;178:6840–8.
- [174] Chong BF, Wilson AJ, Gibson HM, Hafner MS, Luo Y, Hedgcock CJ, et al. Immune function abnormalities in peripheral blood mononuclear cell cytokine expression differentiates stages of cutaneous T-cell lymphoma/mycosis fungoides. *Clin Cancer Res* 2008;14:646–53. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-0610.
- [175] Krejsgaard T, Gjerdrum LM, Ralfkiaer E, Lauenborg B, Eriksen KW, Mathiesen A-M, et al. Malignant Tregs express low molecular splice forms of FOXP3 in Sézary syndrome. *Leukemia* 2008;22:2230–9. doi:10.1038/leu.2008.224.

- [176] Hallermann C, Niermann C, Schulze H-J. Regulatory T-cell phenotype in association with large cell transformation of mycosis fungoides. *Eur J Haematol* 2007;78:260–3. doi:10.1111/j.1600-0609.2006.00809.x.
- [177] Tiemessen MM, Mitchell TJ, Hendry L, Whittaker SJ, Taams LS, John S. Lack of suppressive CD4+CD25+FOXP3+ T cells in advanced stages of primary cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 2006;126:2217–23. doi:10.1038/sj.jid.5700371.
- [178] Essakalli M, Brick C, Bennani N, Benseffaj N, Ouadghiri S, Atouf O. [The latest TH17 lymphocyte in the family of T CD4+ lymphocytes]. *Pathol Biol* 2010;58:437–43. doi:10.1016/j.patbio.2009.01.001.
- [179] Agar NS, Wedgeworth E, Crichton S, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S, et al. Survival outcomes and prognostic factors in mycosis fungoides/Sézary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organisation for Research and Treatment of Cancer staging proposal. *J Clin Oncol* 2010;28:4730–9. doi:10.1200/JCO.2009.27.7665.

ANNEXE 1

PRINCIPALES VOIES DE DIFFERENCIATION DES LT AUXILIAIRES

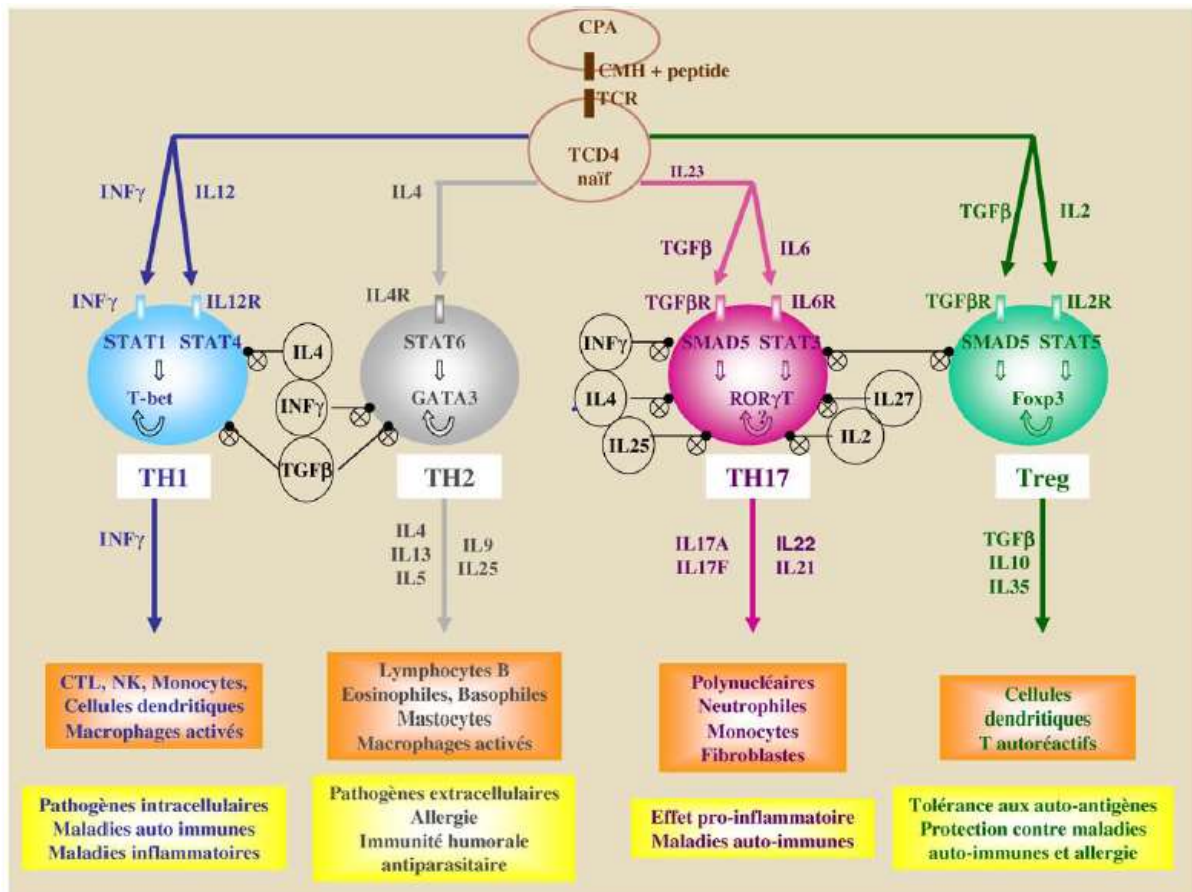


Fig. 1. Différenciation des lymphocytes T CD4+. Le lymphocyte T CD4+ naïf reçoit le premier signal d'activation dès que son TCR (récepteur T de l'antigène) se lie au complexe CMH-peptide (complexe majeur d'histocompatibilité [CMH]) de la cellule présentatrice d'antigène (CPA). Sous l'influence de différentes cytokines il se différencie en l'une des quatre sous-populations de lymphocytes T CD4+.

Le lymphocyte TH1 : l'interféron γ ($INF\gamma$) et l'interleukine (IL) 12 se lient à leurs récepteurs respectifs ($INF\gamma R$, IL12R) pour activer la voie de STAT1 et STAT 4 (*transducer and activator of transcription*) et le facteur de transcription T-bet (*T-box expressed in T cells*). Le lymphocyte TH1 sécrète alors de l' $INF\gamma$ et agit sur les lymphocyte T cytotoxiques (CTL), les *natural killer* (NK), les monocytes, les cellules dendritiques et les macrophages. Un contrôle négatif est exercé sur le lymphocyte TH1 par l'IL4 et le *transforming growth factor* β (TGF β). Le lymphocyte TH1 intervient dans la lutte contre les pathogènes intracellulaires, dans les maladies auto-immunes et inflammatoires.

Le lymphocyte TH2 : l'IL4 se lie à son récepteur (IL4R) pour activer la voie de STAT6 et le facteur de transcription guanosine adenosine thymidine adenosine 3 (GATA3) . Le lymphocyte TH2 sécrète alors l'IL4, l'IL5, l'IL13, IL9, IL25 et agit sur les lymphocytes B, les éosinophiles, les basophiles, les mastocytes et les macrophages activés. Un contrôle négatif est exercé par l' $INF\gamma$ et le TGF β . Le lymphocyte TH2 intervient dans la lutte contre les pathogènes extracellulaires, dans l'allergie et dans l'immunité humorale antiparasitaire.

Le lymphocyte TH17 : le TGF β et l'IL6 se lient à leurs récepteurs respectifs (TGF βR , IL6R) pour activer la voie de SMAD5 et STAT3 et le facteur de transcription *retinoid related orphan receptor* (ROR γT). L'IL23 intervient dans le maintien des lymphocytes TH17. Un contrôle négatif est exercé par l' $INF\gamma$, l'IL4, l'IL25, l'IL2, l'IL27 et le lymphocyte T régulateur (Treg). Le lymphocyte TH17 sécrète alors l'IL17A, l'IL17F, l'IL22, l'IL21 qui agissent sur les polynucléaires neutrophiles, les monocytes et les fibroblastes. Il a un effet pro-inflammatoire et intervient dans les maladies auto-immunes.

Le lymphocyte Treg : le TGF β et l'IL2 se lient à leurs récepteurs respectifs (TGF βR , IL2R) pour activer la voie de SMAD5 et STAT5 et le facteur de transcription *forkhead box p3* (Foxp3). Un contrôle croisé est exercé par le lymphocyte TH17. Le lymphocyte Treg sécrète alors TGF β , IL10 et IL35 et agit sur les cellules dendritiques et les T autoréactifs. Il intervient dans la tolérance aux autoantigènes, dans la protection contre les maladies auto-immunes et l'allergie.

D'après Essakalli et al, 2009 [178]

ANNEXE 2

CLASSIFICATION DES LYMPHOMES PRIMITIFS CUTANES (REVISION OMS 2017)

LYMPHOMES T MATURES ET NK :

- Mycosis Fongoïdes et variants :
 - MF pilotrope,
 - MF chalazodermique (granulomateux),
 - MF pagétoïde de Woringer-Kolopp

- Lymphoproliférations T CD30+ :
 - Papulose lymphomatoïde (6 sous-types : A, B, C, D*, E*, réarrangement DUSP22*)
 - Lymphome anaplasique cutané primitif (avec ou sans réarrangement DUSP22*)

- Lymphomes T leucémiques :
 - Syndrome de Sézary,
 - Leucémie/Lymphome T de l'adulte (HTLV1)

- Lymphome T sous-cutané à type de panniculite (TCR $\alpha\beta$)

- Lymphome NK/T de type nasal cutané

- Lymphomes T cutanés primitifs, entités rares :
 - Lymphoprolifération T CD4+ à petites et moyennes cellules*
 - Lymphome T gamma-delta primitif cutané
 - Lymphome T épidermotrope CD8+ cytotoxique agressif
 - Lymphome T CD8+ primitif cutané acral*

LYMPHOMES B MATURES :

- Lymphome centro-folliculaire cutané primitif
- Lymphome cutané de la zone marginale
- DLBCL primitif cutané de type jambe*
- Lymphome B à grandes cellules intra-vasculaire
- Ulcère muco-cutané EBV+*

*Les entités nouvelles ou révisées par l'OMS 2017 sont marquées d'une *.*

ANNEXE 3

SYSTEME TNM(B) DES LYMPHOMES CUTANES

TNMB ET STADES DES LYMPHOMES CUTANES MF/SS (ISCL/SYSTEME EORTC)

MF et SS : TNMB

Peau

T1 : macules, papules/plaques <10% SC

T1a : macules non infiltrées

T1b : plaques

T2 : macules, papules/plaques ≥10% SC

T2a : macules non infiltrées

T2b : plaques

T3 : tumeur(s) ≥ 1cm

T4 : érythème ≥ 80% SC

Ganglions

N0 : absence d'ADP clinique (pas de biopsie)

N1 : ADP palpables, ganglion dermopathique

N1a : clone T -

N1b : clone T+

N2 : ADP palpables, envahissement débutant sans modification architecturale

N2a : clone T-

N2b : clone T+

N3 : ADP palpables, envahissement partiel ou total avec destruction architecturale

Nx : ADP palpables, sans histologie contributive

Atteinte viscérale

M0 : absente

M1 : histologiquement confirmée

Sang

B0 : ≤ 5% cellules de Sézary circulantes

B0a : clone T-

B0b : clone T+

B1 : >5% cellules de Sézary circulantes

B1a : clone T-

B1b : clone T+

B2 : ≥1000/μL cellules de Sézary circulantes avec clone T

SC : surface cutanée

ADP : adénopathies

Stade	TNMB				Survie à 5ans
IA	T1	N0	M0	B0-1	98%
IB	T2	N0	M0	B0-1	89%
IIA	T1-2	N0-2	M0	B0-1	89%
IIB	T3	N0-2	M0	B0-1	56%
IIIA	T4	N0-2	M0	B0	54%
IIIB	T4	N0-2	M0	B1	48%
IVA1	T1-4	N0-2	M0	B2	41%
IVA2	T1-4	N3	M0	B0-2	23%
IVB	T1-4	N0-3	M1	B0-2	18%

D'après Trautinger et al et Agar et al [110,179]

TNM DES LYMHOMES CUTANES AUTRES QUE MF et SS (ISCL/SYSTEME EORTC)

Lymphomes cutanés non MF/SS : TNM

T

T1 : atteinte cutanée isolée

T1a : lésion unique <5cm

T1B : lésion unique >5cm

T2 : extension cutanée régionale : multiples lésions limitées à 1 ou 2 régions contiguës

T2a : région atteinte <15cm

T2b : région atteinte 15-30cm

T2c : région atteinte >30cm

T3 : atteinte cutanée généralisée

T3a : atteinte de 2 régions non contiguës

T3b : atteinte de ≥ 3 régions

N

N0 : absence d'ADP clinique

N1 : envahissement d'1 ganglion régional de l'aire de drainage d'une atteinte cutanée actuelle/antérieure

N2 : envahissement ≥ 2 ganglions régionaux

ou d'un ganglion en dehors de l'aire de drainage d'une atteinte cutanée actuelle/antérieure

N3 : envahissement de ganglions profonds

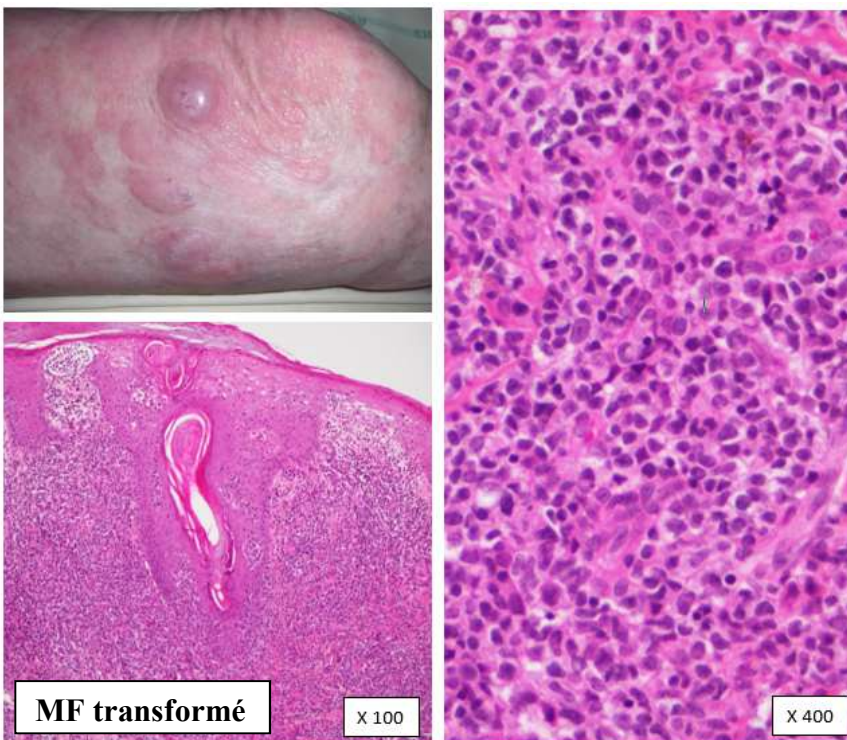
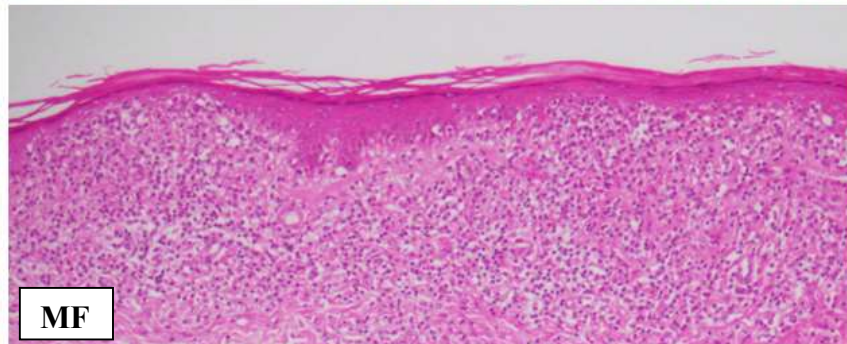
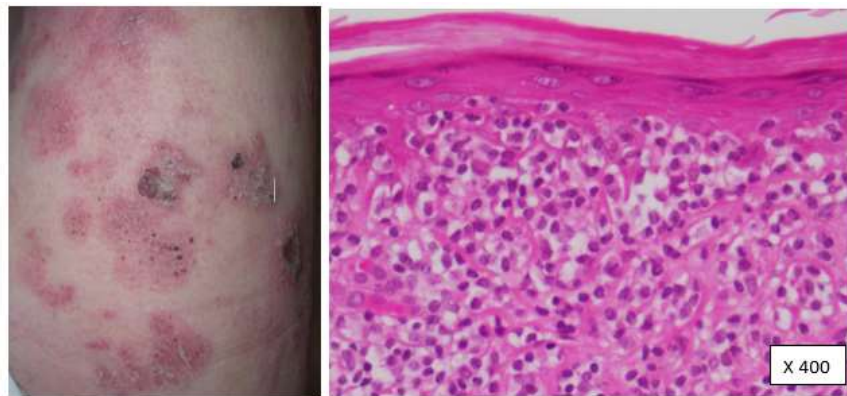
M

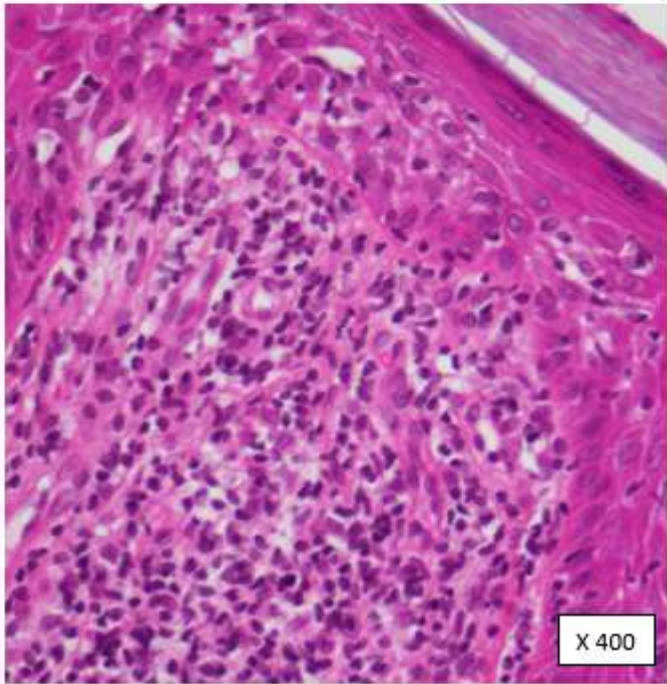
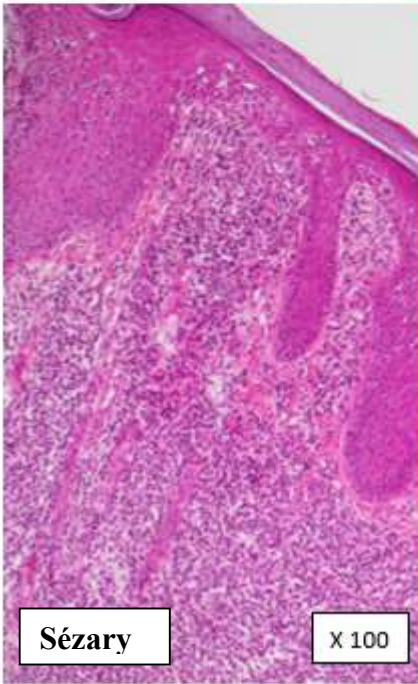
M0 : pas d'atteinte extra-cutanée autre que ganglionnaire

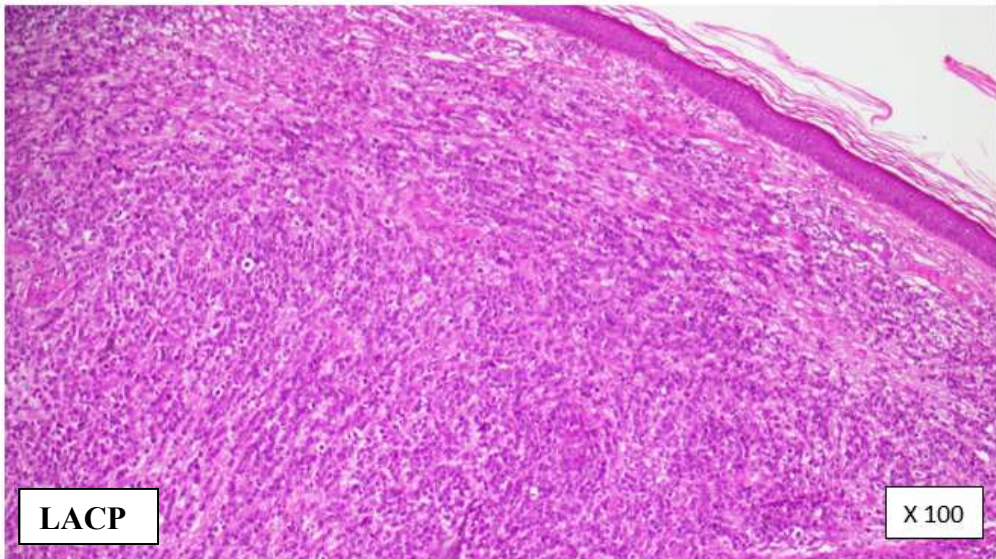
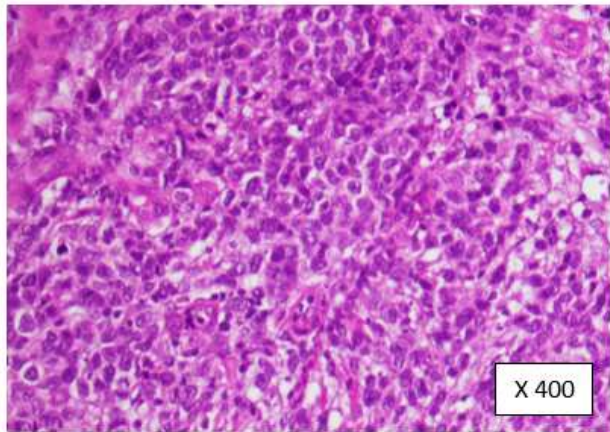
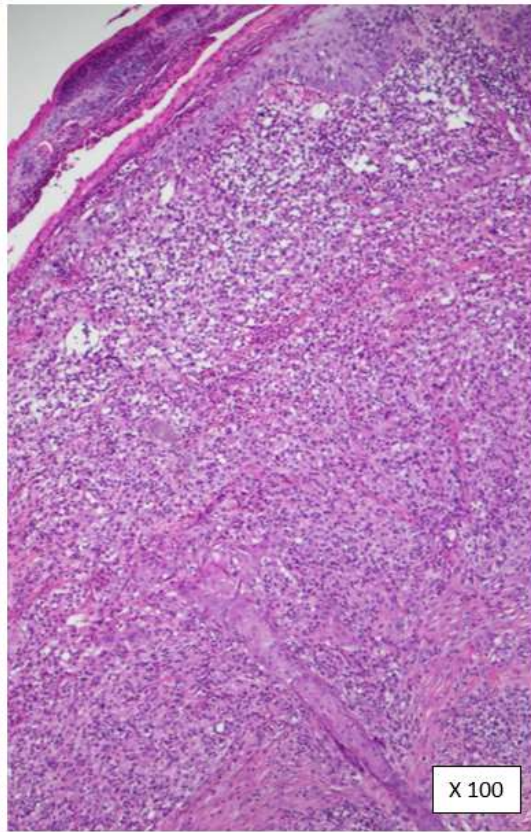
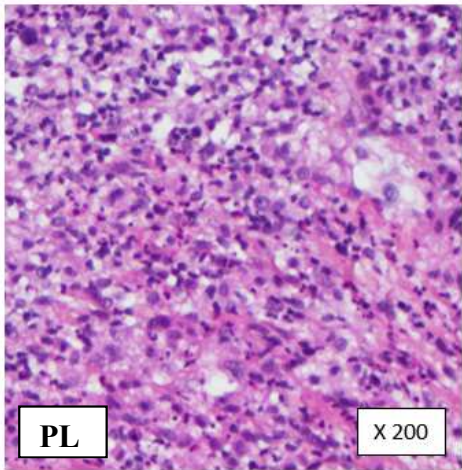
M1 : atteinte extra-cutanée autre que ganglionnaire

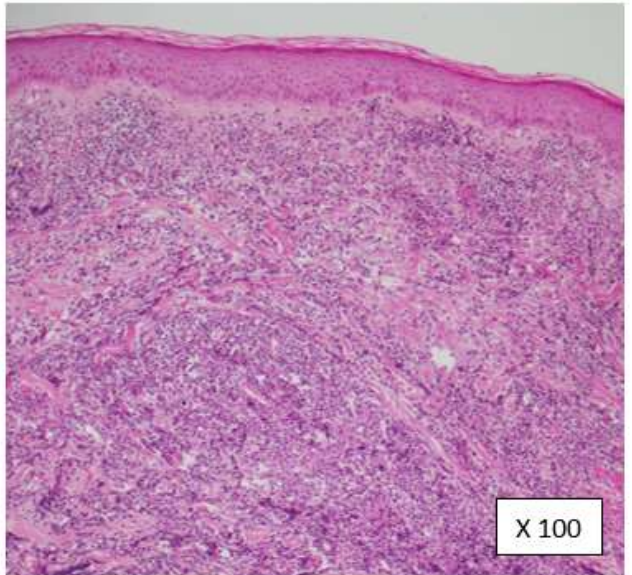
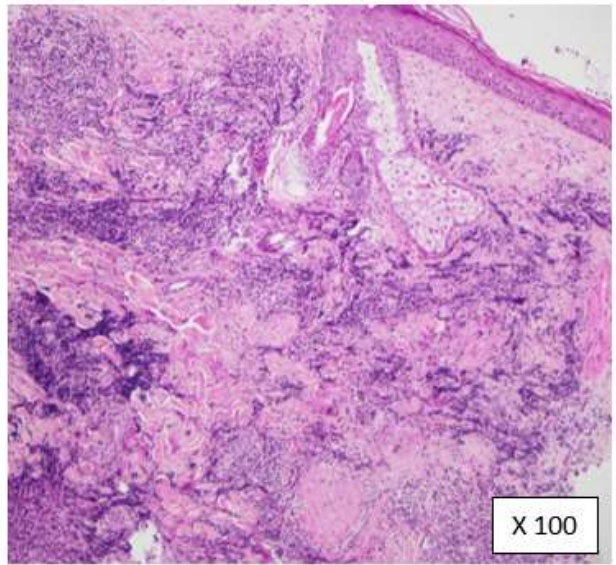
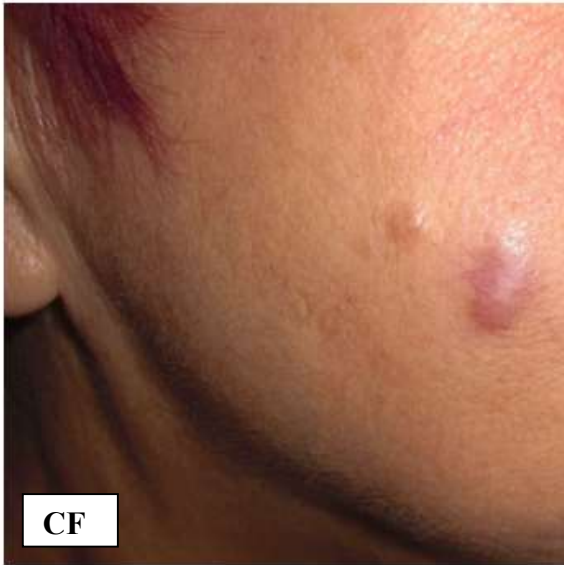
ANNEXE 4

ASPECTS CLINIQUES ET HISTOLOGIQUES REPRESENTATIFS DES PRINCIPAUX LYMPHOMES CUTANES









ANNEXE 5

PROTOCOLES IMMUNOHISTOCHIMIQUES ET CLONES UTILISES

- **Marquage simple IL4I1 :**

- Préparation : déparaffiner (3 bains de Xylène pur), réhydrater (3 bains d'éthanol de concentration décroissante), puis rincer à l'eau courante
- Démasquage au bain marie 30min à 98°C (pré-traitement *Unmasker* pH8)
- Blocage des peroxydases endogènes (*Bloxall Vector*®) puis rinçage
- Blocage protéique (*BSA* 3%)
- Incubation de l'Ac primaire IL4I1 (dilution 1/1000) puis rinçage
- Incubation de l'Ac secondaire anti-lapin (*Impress Vector*®) puis rinçage
- Révélation par DAB (*Vector*®) et rinçage
- Contre coloration à l'hématoxyline
- Montage aqueux des lamelles

- **Doubles marquages IL4I1/CD163, IL4I1/PD-1 et IL4I1/CD1a :**

J1

- Déparaffiner, réhydrater, rincer et démasquer
- Blocage des peroxydases endogènes, rinçage puis blocage protéique
- Incubation de l'Ac CD163 (1/100) ou PD-1 (1/50) ou CD1a (1/50)
- Rinçage
- Incubation de l'Ac secondaire anti-souris (*Impress Vector*®)
- Révélation (*Naphtol fast Red*)

J2

- Blocage protéique
- Incubation de l'Ac IL4I1 (1/1000) puis rinçage
- Incubation de l'Ac secondaire anti-lapin puis rinçage (*Impress Vector*®)
- Révélation par DAB et rinçage
- Contre coloration à l'hématoxyline
- Montage aqueux des lamelles

Clones et dilutions utilisés pour l'immunohistochimie manuelle

- **IL4I1** : mis au point par l'équipe INSERM U955, équipe 9 (1/1000)
- **PD-1** : clone NAT105 ABCAM, ref ab52587 (1/50)
- **CD163** : clone 10D6 Leica, ref NCL-L-CD163 (1/100)
- **CD1a** : clone MTB1 Leica, ref NCL-L-CD10-235 (1/50)

Clones et dilutions utilisés pour l'immunohistochimie en automate (Leica Bond III ou Bond-Max)

- **CD8** : clone C8/144B DAKO, M7103 (1/200, pH9)
- **Granzyme B** : clone 11F1 Leica, ref NCL-L-GRAN-B (1/100, pH6)
- **FoxP3** : clone 236A/E7 ABCAM, ref ab20034 (1/100, Ph9)

Titre : Expression de l'enzyme immunosuppressive IL4I1 dans les lymphomes B et T cutanés primitifs : un rôle dans l'échappement tumoral ?

Résumé : Des enzymes immunosuppressives sont impliquées dans l'échappement immunitaire de certains cancers et peuvent faire l'objet de thérapies ciblées. Leur expression et leur rôle potentiel n'ont jamais été étudiés dans les lymphomes cutanés (LC).

Dans une étude descriptive rétrospective monocentrique, nous avons évalué l'expression *in situ* par immunohistochimie de l'enzyme immunosuppressive IL4I1 dans une série de 67 LC, incluant des LC B et T, indolents et agressifs. IL4I1 était exprimée dans tous les cas par des macrophages M2 (CD163+) du micro-environnement tumoral (MET). Une plus forte proportion de cellules IL4I1+ était trouvée dans les LC agressifs ($p=0,38$), significativement dans les mycosis fongoïdes (MF) transformés et Sézary *versus* MF débutants ($p=0,018$) et les LC anaplasiques *versus* papuloses lymphomatoïdes ($p=0,0012$). Dans ces deux modèles l'étude du MET montrait une augmentation des lymphocytes T (LT) effecteurs CD8+, granzyme B+ et une diminution des LT régulateurs FoxP3+. Ces résultats, opposés à ceux trouvés dans les cancers solides suggèrent un rôle plus complexe du MET et des effecteurs immunorégulateurs dans les LC, où les cellules tumorales sont elles-mêmes des cellules immunes, potentiellement sensibles aux immunomodulateurs. Nos résultats incitent donc à la prudence quant à l'utilisation de thérapeutique immunosuppressive dans ce contexte. Il s'agit de la première étude portant sur l'expression d'une enzyme immunosuppressive dans les LC. L'implication d'IL4I1 dans l'agressivité des LC, ainsi que le rôle d'autres enzymes immunosuppressives (iNOS, IDO, Arginase), restent à démontrer par des études plus larges et idéalement par des approches fonctionnelles.

Title: IL4I1 expression in cutaneous lymphomas: a role in the immune escape of tumor cells?

Abstract: Immunosuppressive enzymes are involved in the immune escape of cancers, and can be therapeutic targets. Their expression have never been studied in cutaneous lymphoma (CL). In a retrospective, single-center and descriptive study, we analysed using immunohistochemistry the expression of the IL4I1 immunosuppressive enzyme in a series of 67 B and T-cell, indolent and aggressive CL. IL4I1 was expressed in all cases by M2 macrophages (CD163+) of the tumor micro-environment (TME). A higher proportion of IL4I1+ cells was found in aggressive CL ($p=0.38$), with significative differences in transformed mycosis fungoides (TMF) and Sézary *versus* early MF ($p=0.018$), and in anaplastic CL *versus* lymphomatoid papulosis ($p=0.0012$). In these two models of CL, characterization of the TEM showed an increase in CD8+, granzyme B+ effector T lymphocytes (TL), and a reduced proportion of FoxP3+ regulatory TL. These results, contrasting with those obtained in solid cancers, suggest that TEM and immunoregulatory effectors have a more complex function in CL, where neoplastic cells are immune cells by themselves, thus potentially targeted by immunomodulators. Immunotherapy should thus be used with caution in this context. This is the first study focusing on an immunosuppressive enzyme in LC. The involvement of IL4I1 in promoting the aggressiveness of LC, as well as the potential role of other immunosuppressive enzymes (iNOS, IDO, Arginase), remains to demonstrate by studying larger series of cases and through functional approaches.

Mots clés : lymphomes cutanés, environnement, immunosuppression, enzymes, IL4I1.

Keywords: cutaneous lymphomas, environment, immunosuppression, enzymes, IL4I1.

Université Paris Descartes,
Faculté de Médecine Paris Descartes
15, rue de l'École de Médecine, 75270 Paris cedex 06