



HAL
open science

Impact pronostique du CD43 dans le lymphome du manteau

Alexandre Matte

► **To cite this version:**

Alexandre Matte. Impact pronostique du CD43 dans le lymphome du manteau. Sciences pharmaceutiques. 2020. dumas-03103760

HAL Id: dumas-03103760

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03103760>

Submitted on 8 Jan 2021

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.



THESE

(Spécialité DES Biologie Médicale)

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 2019

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

Impact pronostique du CD43 dans le lymphome du manteau

Présentée par
Alexandre MATTE

Soutenue publiquement le 07 Octobre 2020
devant le jury composé de

Mme le Professeur Pascale SCHUMANN-BARD	Professeur des Universités, Université de Caen Normandie	Président du jury
Mme le Docteur Carole GEARA-TESSON	Praticien Hospitalier, Centre hospitalier Aunay-Bayeux	Examineur
M le Professeur Yohann REPESSE	Professeur des Universités – Praticien Hospitalier Laboratoire d'hématologie, CHU Caen	Examineur
M le Docteur Mathieu BELLAL	CCA / IHBN / CHU Caen	Examineur
Mme le Docteur Elsa MAITRE	Assistante Hospitalo-Universitaire, Laboratoire d'hématologie, CHU Caen	Directrice de thèse

Thèse dirigée par le docteur Elsa MAITRE

LISTE DES ENSEIGNANTS-CHERCHEURS

Directeur de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques
Professeur Michel BOULOUARD

Assesseurs
Professeur Pascale SCHUMANN-BARD
Professeur Anne-Sophie VOISIN-CHIRET

Directrice administrative
Madame Sarah CHEMTOB

Directrice administrative adjointe
Madame Emmanuelle BOURDON

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

BOULOUARD Michel	Physiologie, Pharmacologie
BUREAU Ronan	Biophysique, Chémoinformatique
COLLOT Valérie	Pharmacognosie
DALLEMAGNE Patrick	Chimie médicinale
DAUPHIN François	Physiologie, Pharmacologie
DELEPEE Raphaël	Chimie analytique
FABIS Frédéric	Chimie organique
FRERET Thomas	Physiologie, Pharmacologie
GARON David	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
GIARD Jean-Christophe	Bactériologie, Virologie
MALZERT-FREON Aurélie	Pharmacie galénique
ROCHAIS Christophe	Chimie organique
SCHUMANN-BARD Pascale	Physiologie, Pharmacologie
SICHEL François	Toxicologie
SOPKOVA Jana	Biophysique, Drug design
VOISIN-CHIRET Anne-Sophie	Chimie médicinale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

ANDRE Véronique – HDR	Biochimie, Toxicologie
BOUET Valentine – HDR	Physiologie, Pharmacologie
CAILLY Thomas – HDR	Chimie bio-inorganique, Chimie organique
DENOYELLE Christophe – HDR	Biologie cellulaire et moléculaire, Biochimie, Cancérologie
DHALLUIN Anne	Bactériologie, Virologie, Immunologie
ELDIN de PECOULAS Philippe – HDR	Parasitologie, Mycologie médicale
GROO Anne-Claire	Pharmacie galénique
KIEFFER Charline	Chimie médicinale

KRIEGER Sophie (Praticien hospitalier) – HDR	Biologie clinique
LAPORTE-WOJCIK Catherine	Chimie bio-inorganique
LEBAILLY Pierre – HDR	Santé publique
LECHEVREL Mathilde – HDR	Toxicologie
LEGER Marianne	Physiologie, Pharmacologie
LEPAILLEUR Alban – HDR	Modélisation moléculaire
N'DIAYE Monique	Parasitologie, Mycologie médicale, Biochimie clinique
PAIZANIS Eleni	Physiologie, Pharmacologie
PEREIRA-ROSENFELD Maria de Fatima	Chimie organique et thérapeutique
POTTIER Ivannah	Chimie et toxicologie analytiques
PREVOST Virginie – HDR	Chimie analytique, Nutrition, Education thérapeutique du patient
QUINTIN Jérôme	Pharmacognosie
RIOULT Jean-Philippe	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
SINCE Marc	Chimie analytique
VILLEDIEU Marie – HDR	Biologie et thérapies innovantes des cancers

PROFESSEUR AGREGE (PRAG)

PRICOT Sophie	Anglais
----------------------------	---------

PERSONNEL ASSOCIE A TEMPS PARTIEL (PAST)

SAINT-LORANT Guillaume	Pharmacie clinique
SEDILLO Patrick	Pharmacie officinale
RICHARD Estelle	Pharmacie officinale

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

JOURDAN Jean-Pierre

Enseignants titulaires du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Remerciements

A Madame le **Professeur Pascale SCHUMANN-BARD**, de me faire l'honneur de présider ce jury. Merci également pour vos enseignements tout au long de mon cursus de pharmacie et de votre implication auprès de la vie étudiante.

A Madame le **Docteur Carole GEARA-TESSON**, pour les 6 mois passés au laboratoire de l'hôpital de Bayeux, entre travail et rigolade ! Par la transmission de ton savoir, tu as réussi à me confirmer que l'hématologie est vraiment une discipline que j'affectionne tout particulièrement ! Te demander de faire partie de mon jury était une évidence.

A Monsieur le **Professeur Yohann REPESSE**, d'avoir accepté de juger ce travail. Je te remercie également pour tout ce que tu m'as appris durant ces semestres passés au laboratoire, pour ta bonne humeur et ton implication auprès des internes.

A Monsieur le **Docteur Mathieu BELLAL**, d'apporter ta pratique de la clinique afin de juger ce travail et également pour ta disponibilité et ton implication dans les projets clinico-biologiques.

A Madame le **Docteur Elsa Maitre**, pour tout ! D'avoir accepté sans hésitation de diriger cette thèse, d'avoir toujours été présente pour répondre à mes nombreuses questions, pour me rassurer sur mon travail durant ces nombreux mois. Au-delà de ce travail, je tiens à te remercier pour tout ce que tu fais pour les internes au laboratoire, tes enseignements, ta gentillesse et ta rigueur pour nous pousser à donner le meilleur de nous-même.

Merci à ma famille, sans qui tout ça n'aurait pas été possible ! Papa et maman, merci de votre soutien et amour inconditionnels. A la meilleure sœur qu'il soit donné d'avoir, Fanny, merci pour tout ce que tu représentes, tu es un véritable exemple pour moi. Emeric pour ton arrivée dans la famille, merci de l'amour que tu portes à deux des êtres les plus importants pour moi ! A Sam...ma nièce...ma filleule...mon p'tit ange ! Je ne vais pas lire cette thèse pour t'aider à t'endormir le soir, promis ! Je vais

attendre une petite vingtaine d'année avant de te la faire lire en espérant que tu sois fier de Tonton. Je vous aime.

A Mickaël et Lucie, plus que des amis...la famille ! Vous m'avez accompagné à de nombreux moments de ma vie et vous avez toujours été présents pour moi. On est en route pour encore de très nombreuses années (et vacances !) à passer ensemble !

A mes co-internes de toujours ! Julien (Jul !), même si tu « chamboules le respect », je suis heureux que le concours t'ait amené ici ! On se sera bien marré pendant ces années d'internat !! RDV à Pommeville-Sur-Odon <3. A ma binôme...Flora (Flopette !), tu te rends compte...les $\frac{3}{4}$ de l'internat passés ensemble ! Tu es THE rencontre de l'internat ! Merci d'être toujours là pour moi (même pour faire des conneries !).

A mes amies et premières chefs d'hémato Agathe et Marine !!! Vous m'avez connu externe...me voilà presque docteur !!! Vous êtes devenues très vite des amies chères à mes yeux et je suis certain que ça va durer !

Aux biologistes de cytologie ! Pauline, pour ton implication dans ma formation dès mon arrivée en stage ! On fait quand même une belle équipe de râleurs !! Véronique, merci pour vos enseignements et votre bienveillance constante à mon égard. Edouard, merci pour ta pédagogie et pour me faire travailler de plus en plus vite !!!!! Dina, merci pour ta confiance accordée dès mon externat et pour l'enseignement de ta discipline.

A l'équipe d'hémostase et plus particulièrement à Marie, pour m'avoir encadré pendant ces semaines d'hémostase. Tu as toujours été disponible pour mes questions et pour me former, avec gentillesse et rigueur !

A tous les techniciens du laboratoire d'hématologie pour votre bonne humeur et votre gentillesse.

Table des matières

Remerciements	3
Table des matières	5
Liste des abréviations	1
Liste des Figures et Tableaux	4
Liste des annexes	6
Introduction	7
I. Contexte de l'étude	7
II. Physiologie de la lymphopoïèse B	9
1. Différenciation lymphocytaire.....	9
a. Lymphopoïèse B indépendante de l'antigène.....	9
b. Immunopoïèse dépendante de l'antigène.....	10
2. Maturation et différenciation plasmocytaire	13
III. Le lymphome du manteau : un modèle clinique et biologique	15
1. Epidémiologie	15
2. Physiopathologie	19
a. Cycline D1 : une protéine oncogénique au centre de la physiopathologie ..	20
b. Voie du BCR.....	21
c. Voie PI3K/AKT/mTOR	22
d. Voie NF- κ B	22
e. Voie WNT	23
f. Voie Hedgehog.....	24
g. Influence du microenvironnement	25
h. Modulation de l'expression génique : rôle de l'épigénétique	26
3. Anomalies moléculaires.....	27
4. Présentation clinique	28

5. Examens biologiques.....	30
a. Hémogramme et cytologie.....	30
b. Anatomopathologie.....	31
c. Immunophénotypage.....	34
d. Cytogénétique et biologie moléculaire.....	38
6. Données pronostiques.....	40
7. Diagnostics différentiels.....	41
8. Prise en charge thérapeutique.....	42
Matériel et méthode.....	47
I. Cohorte de patients et recueil des données clinico- biologiques	47
II. Immunophénotypage par cytométrie en flux.....	49
III. Analyse de biologie moléculaire par RT-qPCR	52
IV. Analyses statistiques	54
Résultats	55
I. Analyse épidémiologique de la cohorte de patients.....	55
II. Analyse moléculaire de la cohorte	56
III. Analyse phénotypique de la cohorte	58
1. Profil d'expression phénotypique général.....	58
2. Distribution de l'expression du CD43.....	58
a. Cellules lymphoïdes normales.....	58
b. CD43 et LLC.....	59
c. Cohorte totale.....	60
d. Ratio de fluorescence.....	62
e. Patients appariés : sang et ganglion.....	65
3. Seuil de positivité du CD43.....	66
4. Analyse de survie en fonction du CD43.....	67
a. Sang périphérique	67
b. Ganglion	69

c. Caractéristiques globales en fonction du CD43.....	71
5. Analyse de survie en fonction du CD38 et CD43.....	71
a. Sang périphérique	71
b. Ganglion	73
Discussion	77
I. Epidémiologie de l'étude.....	77
II. Standardisation en cytométrie en flux	79
III. MFI : intérêts et limites	81
IV. CD43 dans le lymphome du manteau	84
V. Impact pronostique du CD43 dans le MCL	86
Conclusion et perspectives	89
Bibliographie.....	91
Annexes.....	99

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique
ADNc : ADN complémentaire
ADP : adénopathie(s)
Ag : antigène
ARNm : acide ribonucléique messenger
ATCL : lymphome T angio-immunoblastique
ATM : *ataxia telangiectasia mutated*
BCR : *B-cell receptor*, Récepteur des lymphocytes B
BIRC3 : *baculoviral IAP repeat-containing 3*
BL : lymphome de Burkitt
BTK : *Bruton tyrosine kinase*
CARD11 : *caspase recruitment domain family member 11*
CCND : gène des cyclines
CD : *cluster of differentiation*, groupe de différenciation
CDK : *cyclin dependant kinase*
CHU : centre hospitalo-universitaire
CMF : cytométrie en flux
CPA : cellule présentatrice d'antigène
CXCR : *C-X-C chemokine receptor*
DAZAP1 : *DAZ associated protein 1*
DLBCL : lymphome B diffus à grande cellule
EBV: Epstein-Barr Virus
ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*
ESMO: *European Society for Medical Oncology*
FISH : hybridation *in situ* en fluorescence
FZD : *drosophila frizzled*
GB : globules blancs
GLI : *family zinc finger*, facteur de transcription à doigt de zinc
Hb : hémoglobine
HCL : *hairy cell leukemia*, leucémie à tricholeucocytes

HNRNPH1 : *heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H1*

Ig : Immunoglobuline

IGHV (*immunoglobulin heavy chain variable*) : gène codant pour la région variable de la chaîne lourde des immunoglobulines

IHC : immunohistochimie

JAK : *janus kinase*

KMT2D : *lysine methyltransferase 2D*

LAL : leucémie aiguë lymphoblastique

LDH : lactate déshydrogénase

LF : lymphome folliculaire

LH : lymphome de Hodgkin

LLC : leucémie lymphoïde chronique

LMNH : lymphome malin non hodgkinien

LPL : lymphome à lymphoplasmocytes

LRP : *LDL-Related Protein*

Ly B Nx : lymphocytes B normaux

Ly B : lymphocyte B

Ly T Nx : lymphocytes T normaux

Ly T : lymphocyte T

LYN: *Lyc/Yes Novel tyrosine kinase*

MALT : tissu lymphoïde associé aux muqueuses

MCL : *mantle cell lymphoma*, lymphome à cellule du manteau

MDM2 : *mouse double minute 2 homolog*

MFI : médiane d'intensité de fluorescence

MGG : May-Grünwald Giemsa

MIPI : *mantle cell lymphoma International Prognostic Index*

MLL : *mixed lineage leukemia*

MM : myélome Multiple

MZL : lymphome de la zone marginale

NFS : numération de la formule sanguine

NF-κB : *nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells*

NK : *natural killer*

NOS : sans autre spécificité

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OS : *overall survival*, survie globale

PBL : lymphome plasmablastique
PcG : protéines du groupe Polycomb
PCR : polymerase chain reaction
PFS : *progression free survival*, survie sans progression
PI3K/AKT/mTOR : *phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin*
PLC- γ 2 : *phospholipase C gamma-2*
Plq : plaquettes
PNN : polynucléaires neutrophiles
PRMT : *protein arginine methyltransferase*
PTCH : *protein patched homolog*
PTCL : lymphome T périphérique
RB : rétinoblastome
RNC : rapport nucléo-cytoplasmique
RR : rechute, réfractaire
RT-qPCR : *real-time quantitative polymerase chain reaction*
SDF : *stromal cell-derived factor*
SHH : *sonic hedgehog*
SHP : *silencing of tyrosine phosphatase gene*
SLPCB : syndrome lymphoprolifératif chronique B
SLPCT : syndrome lymphoprolifératif chronique T
SOX11 : *SRY-Box transcription factor 11*
Splg : splénomégalie
STAT : *signal transducers and activators of transcriton*
SYK : *spleen Tyrosine Kinase*
TCL-1 : *T-cell leukemia 1*
TFS : *treatment free survival*, durée sans traitement
TTT : traitement
VIH : virus de l'immunodéficience humaine
WES : *whole exome sequencing*
WGS : *whole genome sequencing*
WHSC1 : *Wolf-Hirschhorn syndrom candidate 1*

Liste des Figures et Tableaux

Figure 1 : représentation du BCR, récepteur pour l'antigène des lymphocytes B d'après <i>Immunologie fondamentale et Immunopathologie</i> , 2ème édition, Elsevier (1).....	9
Figure 2 : recombinaison VDJ, génération de la diversité d'immunoglobulines d'après <i>Immunologie fondamentale et Immunopathologie</i> , 2ème édition, Elsevier (1).....	10
Figure 3 : représentation anatomique de la rate d'après Goldsby et al. <i>Immunology</i> , 2000 (2).....	12
Figure 4 : représentation anatomique d'un ganglion lymphatique d'après <i>Immunologie fondamentale et Immunopathologie</i> , 2ème édition, Elsevier (1).....	12
Figure 5 : processus de recombinaison et hypermutation du BCR.....	14
Figure 6 : classement des LNH par fréquence de nouveaux-cas par rapport aux autres cancers, tous sexes confondus (11).....	16
Figure 7 : prévalence des différents sous-types de LNH, tous âges confondus (2006-2015) d'après (16).....	17
Figure 8 : tendance de l'augmentation globale et par sexe de l'incidence du MCL aux Etats-Unis de 1992 à 2004 (17).....	17
Figure 9 : incidence par âge du MCL en 2012, en France d'après (11).....	18
Figure 10 : lymphomagenèse du lymphome du manteau.....	19
Figure 11 : représentation schématique du cycle cellulaire.....	20
Figure 12 : représentation schématique de la voie de signalisation du BCR.....	21
Figure 13 : représentation schématique de la voie de signalisation du PI3K/AKT/mTOR d'après (31).....	22
Figure 14 : représentation schématique de la voie de signalisation du NF-κB, d'après (35).....	23
Figure 15 : représentation schématique de la voie de signalisation WNT, d'après (38).....	24
Figure 16 : représentation schématique de la voie de signalisation Hedgehog d'après (42).....	25
Figure 17 : représentation des différentes voies cellulaires impliquées dans la physiopathologie du MCL (57).....	27
Figure 18 : mutations récurrentes retrouvées dans le lymphome du manteau.....	28
Figure 19 : illustration des différents stades de la classification d'Ann Arbor d'après (63).....	29
Figure 20 : cytologie de lymphome du manteau.....	31
Figure 21 : infiltration lymphocytaire diffuse, constituée de cellules de taille petite à moyenne chez un patient atteint d'un MCL au CHU de Caen (65).....	32
Figure 23 : immunohistochimie positive pour A) CD5 (membranaire), B) CD20 (membranaire) et C) cycline D1 (nucléaire) (x 1000) chez un patient atteint d'un MCL forme classique au CHU de Caen (la coloration brune des cellules marque la positivité pour un marqueur).....	33
Figure 24 : immunophénotypage d'un cas de lymphome du manteau classique au CHU de Caen.....	35
Figure 25 : représentation schématique des deux glycoformes du CD43.....	37
Figure 26 : illustration de la t(11;14)(q13;q32) selon Kauh J et al. (81).....	38
Figure 27 : mise en évidence de la t(11;14)(q13;q32) par FISH d'après (82).....	39
Figure 28 : illustration des différentes cibles moléculaires des thérapies ciblées dans le MCL (57)....	44
Figure 29 : stratégie de criblage des cellules du manteau pour les patients inclus dans l'étude.....	51

Figure 30 : OS et PFS selon le profil mutationnel de la CCND1 et SOX11 des patients de l'étude	56
Figure 31 : expression du CD43 parmi les lymphocytes B et T normaux dans A) le sang périphérique (n=20) et B) le ganglion (n=10) (représentation logarithmique)	59
Figure 32 : expression du CD43 parmi A) les Ly B Nx (n=20) et les Ly B de la LLC (n=30) et B) les Ly B des LLC CD38+ et CD38- (respectivement n=7 et 23) dans le sang périphérique (représentation logarithmique).....	59
Figure 33 : comparaison d'expression du CD43 des cellules B du manteau et A) les Ly B sanguins, B) les Ly B ganglionnaires. C) comparaison d'expression du CD43 des cellules B du manteau entre le sang (n=27) et le ganglion (n=15) (représentation logarithmique).....	60
Figure 34 : expression du CD43 parmi les différentes populations cellulaires étudiées dans le sang périphérique (représentation logarithmique)	61
Figure 35 : expression du CD43 parmi les différentes populations cellulaires étudiées dans le ganglion (représentation logarithmique).....	62
Figure 36 : expression du CD43 parmi les lymphocytes B MCL dans le sang périphérique et le ganglion (représentation logarithmique).....	63
Figure 37 : expression du CD43 parmi les lymphocytes T A) normaux et réactionnels dans le sang périphérique, B) normaux et chez les patients MCL et C) chez des patients MCL dans le sang périphérique et le ganglion (représentation logarithmique).....	64
Figure 38 : QQ-plot, l'expression du CD43 suit une loi normale parmi les patients MCL dans le sang et le ganglion	64
Figure 39 : différence d'expression du CD43 dans le sang et le ganglion chez des patients appariés via A) les MFI et B) les RFI	65
Figure 40 : OS et PFS selon la positivité du CD43 dans le sang périphérique (MFI)	68
Figure 41 : OS et PFS selon la positivité du CD43 dans le sang périphérique (RFI)	68
Figure 42 : OS et PFS selon la positivité du CD43 dans le ganglion (MFI)	69
Figure 43 : OS et PFS selon la positivité du CD43 dans le ganglion (RFI).....	70
Figure 44 : analyse de survie du CD38 et du CD43 dans le sang périphérique	72
Figure 45 : analyse de survie du CD38 et du CD43 dans le ganglion	74
Figure 46 : intérêt d'une approche quantitative en CMF.....	80
Figure 47 : positionnement du seuil de positivité selon les méthodes A) contrôle isotypique, B) marquage FMO et C) criblage conventionnel adapté d'après (109).	83
Figure 48 : résumé de l'activation de la voie NF- κ B et des niveaux d'expression de Bcl2 à différents stades d'activation des lymphocytes B, selon (116)	87

Tableau 1 : classification d'Ann-Arbor modifiée selon Costwolds (d'après le site de la Haute Autorité de Santé)	30
Tableau 2 : fréquence des variations immunophénotypiques dans le MCL selon Gao et al. (67).....	35
Tableau 3 : score simplifié MIPI et évaluation du risque selon le score, d'après Hoster et al. (89).....	41
Tableau 4 : immunophénotypage des différents lymphomes à petites cellules.....	42
Tableau 5 : panel d'anticorps et de fluorochrome utilisé lors de notre étude.....	49
Tableau 6 : préparation des « mix » RT-qPCR pour la détection de la surexpression de CCND1, CCND2 et SOX11	52

<i>Tableau 7 : couples d'amorces utilisées pour l'analyse en RT-qPCR</i>	<i>52</i>
<i>Tableau 8 : programme d'amplification sur le thermocycleur.....</i>	<i>53</i>
<i>Tableau 9 : profil mutationnel des patients MCL dans le sang périphérique (n=20).....</i>	<i>56</i>
<i>Tableau 10 : profils d'expression phénotypique dans le sang périphérique (n=27) et dans le</i>	<i>58</i>
<i>Tableau 11 : détermination d'un cut-off optimal de positivité du CD43 dans le sang périphérique</i>	<i>66</i>
<i>Tableau 12 : détermination d'un cut-off optimal de positivité du CD43 dans le ganglion</i>	<i>67</i>
<i>Tableau 13 : analyse épidémiologique de la cohorte de patients étudiés en fonction du CD43</i>	<i>71</i>
<i>Tableau 14 : analyses univariées et multivariées sur la survie globale</i>	<i>75</i>
<i>Tableau 15 : expression du CD23 et du CD38 en fonction du profil mutationnel de SOX11</i>	<i>78</i>

Liste des annexes

<i>Annexe 1 : liste des anomalies cytogénétiques les plus fréquemment retrouvés dans le MCL</i>	<i>99</i>
<i>Annexe 2 : recommandations thérapeutiques selon l'ESMO (98)</i>	<i>100</i>
<i>Annexe 3 : caractéristiques de la cohorte de patients étudiée.....</i>	<i>103</i>
<i>Annexe 4 : seuil décisionnel de positivité du CD43 dans le sang périphérique.....</i>	<i>104</i>
<i>Annexe 5 : seuil décisionnel de positivité du CD43 dans le ganglion</i>	<i>105</i>

Introduction

I. Contexte de l'étude

Les lymphomes sont des hémopathies se développant au dépend des lymphocytes. Ce terme regroupe le lymphome de Hodgkin (LH) et les lymphomes malins non hodgkiniens (LMNH). Le lymphome à cellules du manteau (MCL) représente 3 à 10% des LMNH.

Le MCL est défini par une prolifération anormale de lymphocytes B matures, clonaux, ayant des critères cytologiques, anatomopathologiques, cytogénétiques et phénotypiques bien définis. Ainsi, dès les années 1990, de nombreuses études ont mis en évidence la translocation $t(11;14)(q13;32)$ retrouvée dans plus de 95% des MCL. Cette anomalie cytogénétique est responsable d'une surexpression de la cycline D1, kinase indispensable à la progression de la division cellulaire.

Au cours des années, la classification s'est complexifiée. L'actualisation de la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) 2016 tend à distinguer le MCL en 2 grandes catégories, à savoir : une forme classique, dite « nodale », et une forme indolente, dite « non-nodale », conditionnant véritablement la prise en charge thérapeutique. Actuellement, en plus de la forme classique, l'OMS décrit quatre variants cytologiques : la forme à petites cellules, la forme « marginal zone-like », le variant pléomorphe et blastoïde.

L'immunophénotypage par cytométrie en flux (CMF) s'est révélé indispensable pour le diagnostic du MCL, mettant en évidence le clone tumoral et le distinguant des autres lymphomes à petites cellules. De plus, l'avènement de la cytométrie en flux multiparamétrique (8 à 12 couleurs) permet de caractériser plus finement les marqueurs phénotypiques de cette pathologie pouvant avoir un impact diagnostique et/ou pronostique.

C'est dans ce contexte que nous avons souhaité étudier le cluster de différenciation 43 (CD43) dans le MCL et mettre en évidence un éventuel impact pronostique. Cette étude a été réalisée sur une cohorte de patients suivis au Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Caen présentant un lymphome du manteau (ont été prises en considération, toutes les formes cytologiques du MCL). Afin de garantir une approche standardisée entre les différents laboratoires d'hématologie biologique, nous avons voulu proposer un « ratio de fluorescence » du CD43, directement corrélé au pronostic de la maladie.

II. Physiologie de la lymphopoïèse B

1. Différenciation lymphocytaire

a. *Lymphopoïèse B indépendante de l'antigène*

Elle constitue la première phase de différenciation et de maturation des lymphocytes B. Elle se déroule dans la moelle osseuse et aboutit à la formation de lymphocytes B matures naïfs exprimant une immunoglobuline de surface capable de reconnaître un antigène.

i. Récepteur des cellules B (BCR)

La reconnaissance spécifique de l'antigène est la caractéristique majeure de la réponse immunitaire adaptative. Le récepteur des cellules B (BCR) est la principale molécule impliquée et est indispensable à l'activation lymphocytaire B.

Le BCR est une molécule transmembranaire hétérodimérique composée de chaînes lourdes et de chaînes légères d'immunoglobulines en partie extramembranaire et de chaînes α et β (CD79a et CD79b) intramembranaire permettant la transduction du signal [Figure 1].

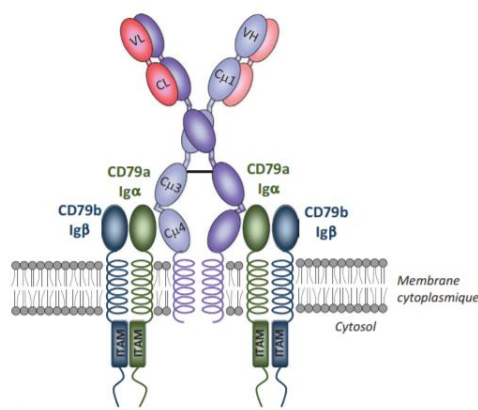


Figure 1 : représentation du BCR, récepteur pour l'antigène des lymphocytes B d'après Immunologie fondamentale et Immunopathologie, 2ème édition, Elsevier (1)

ii. Recombinaison VDJ

Les régions variables des chaînes lourdes des immunoglobulines du BCR sont codées par le gène *IGHV* (*immunoglobulin heavy chain variable*) situé sur le chromosome 14 et sont impliquées dans la reconnaissance de l'antigène. La diversité du répertoire du BCR est médiée par la multiplicité de recombinaisons de segments : V_H (variable), D_H (diversité) et J_H (jonction) [Figure 2].

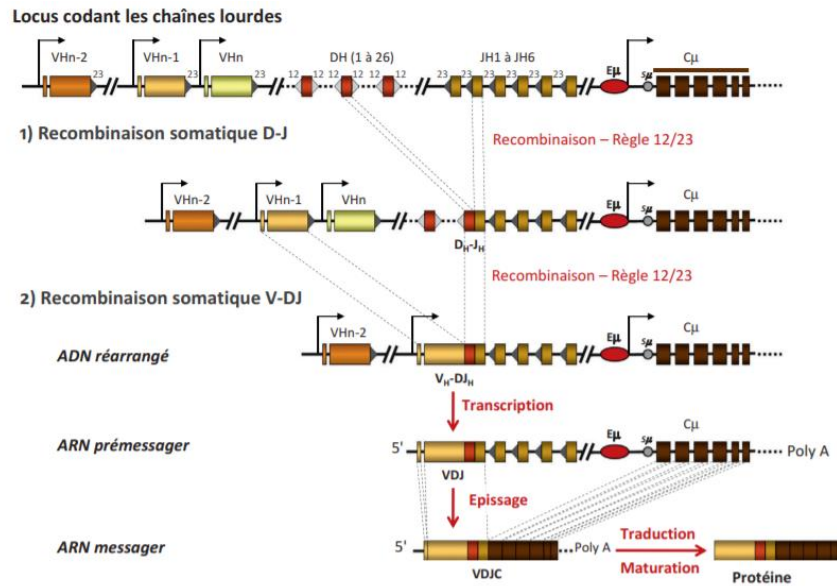


Figure 2 : recombinaison VDJ, génération de la diversité d'immunoglobulines d'après *Immunologie fondamentale et Immunopathologie, 2ème édition, Elsevier (1)*

b. Immunopoïèse dépendante de l'antigène

À la suite de la rencontre avec un antigène, une partie des lymphocytes B va migrer dans un follicule primaire pour y former un centre germinatif caractérisant le follicule lymphoïde secondaire, lieu d'expansion oligoclonale de cellules B spécifiques et site d'hypermutations somatiques et de commutation de classe.

i. Organes lymphoïdes secondaires

Les organes lymphoïdes secondaires (également appelés périphériques), se répartissent en deux grands sous-ensembles :

- un compartiment systémique : rate et ganglion lymphatique
- un compartiment muqueux : tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT), glandes mammaires

Ces éléments constituent un système très organisé afin d'assurer une optimisation des interactions entre les lymphocytes, les antigènes et les cellules présentatrices d'antigène (CPA). L'organisation anatomique des organes lymphoïdes secondaires permettra aux CPA de concentrer les antigènes dans ces organes et aux lymphocytes de localiser et d'assurer une réponse vis-à-vis de ces antigènes.

La rate [Figure 3] est l'organe lymphoïde secondaire le plus volumineux, jouant un rôle très important dans la réponse immunitaire dirigée contre les antigènes transportés par voie hématogène. Anatomiquement, on distingue une pulpe rouge constituant la zone de senescence des globules rouges, une pulpe blanche représentant le tissu lymphoïde et une zone marginale assurant la séparation de la pulpe rouge et blanche.

Les ganglions [Figure 4] sont de petits organes capsulés, réniformes, au nombre de 500 à 1000 chez l'homme. Ils sont situés le long des voies lymphatiques traversant l'organisme, drainant la lymphe et jouant un rôle de filtre permettant la concentration des antigènes. Ils sont constitués de 3 grandes régions : une zone corticale contenant des follicules lymphoïdes, riches en lymphocytes B, une zone paracorticale riche en lymphocytes T et une zone médullaire constituant une zone mixte comprenant des lymphocytes B, T, des plasmocytes et des macrophages.

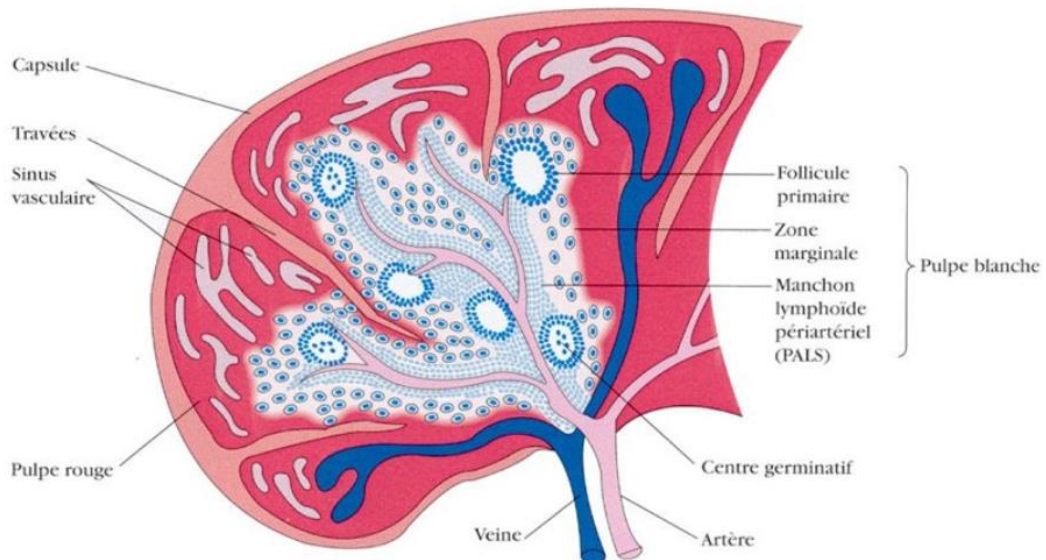


Figure 3 : représentation anatomique de la rate d'après Goldsby et al. *Immunology*, 2000 (2)

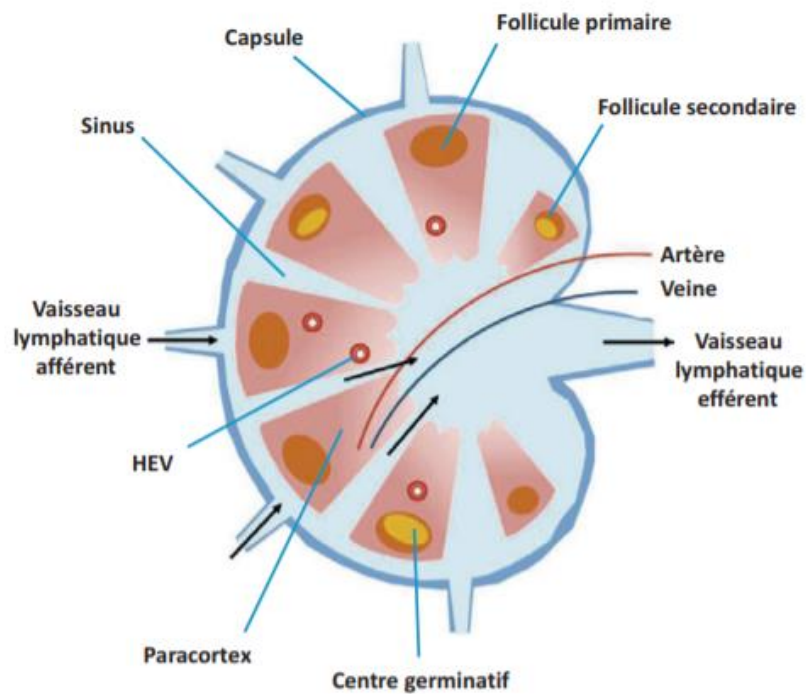


Figure 4 : représentation anatomique d'un ganglion lymphatique d'après *Immunologie fondamentale et Immunopathologie*, 2ème édition, Elsevier (1)

Le MALT regroupe des entités organiques nombreuses et variées représentant 80% de la masse du tissu lymphoïde présent dans l'organisme. Il assure la protection des épithéliums muqueux (respiratoires, digestifs, urogénitaux, ...) contre les antigènes qui y pénètrent.

ii. Hypermutations somatiques

Les hypermutations somatiques surviennent au sein de la zone sombre du centre germinatif, à un stade où le lymphocyte B est appelé « centroblaste ». Elles sont induites à la suite d'une stimulation antigénique. Les cellules B possèdent des mécanismes intrinsèques induisant des mutations afin de modifier le site de liaison d'un anticorps et de renforcer son affinité face à un antigène [Figure 5].

iii. Commutation de classe

Les centroblastes mutés quittent la zone sombre et migrent au sein de la zone claire adjacente, où ils ne proliféreront plus et seront enchevêtrés dans un large réseau de cellules folliculaires dendritiques. Ces lymphocytes sont alors appelés « centrocytes ». C'est à ce niveau qu'auront lieu la sélection des lymphocytes B de forte affinité et la commutation de classe isotypique.

Lorsque le lymphocyte B a été stimulé par un antigène au niveau de son BCR, il y a ensuite un réarrangement du domaine C (domaine constant) du gène des immunoglobulines, remplaçant alors C μ (IgM) par C γ (IgG), C α (IgA) ou C ϵ (IgE) [Figure 5].

2. Maturation et différenciation plasmocytaire

Lorsque les lymphocytes expriment à leur surface des immunoglobulines (Ig) de forte affinité pour un antigène, ils se différencient en plasmocytes à longue durée de vie et en cellules B mémoires. Ils migrent alors du centre germinatif vers la moelle

osseuse. Les plasmocytes constituent le stade ultime de différenciation des lymphocytes B et produisent des Ig de classe IgG, IgA et IgE.

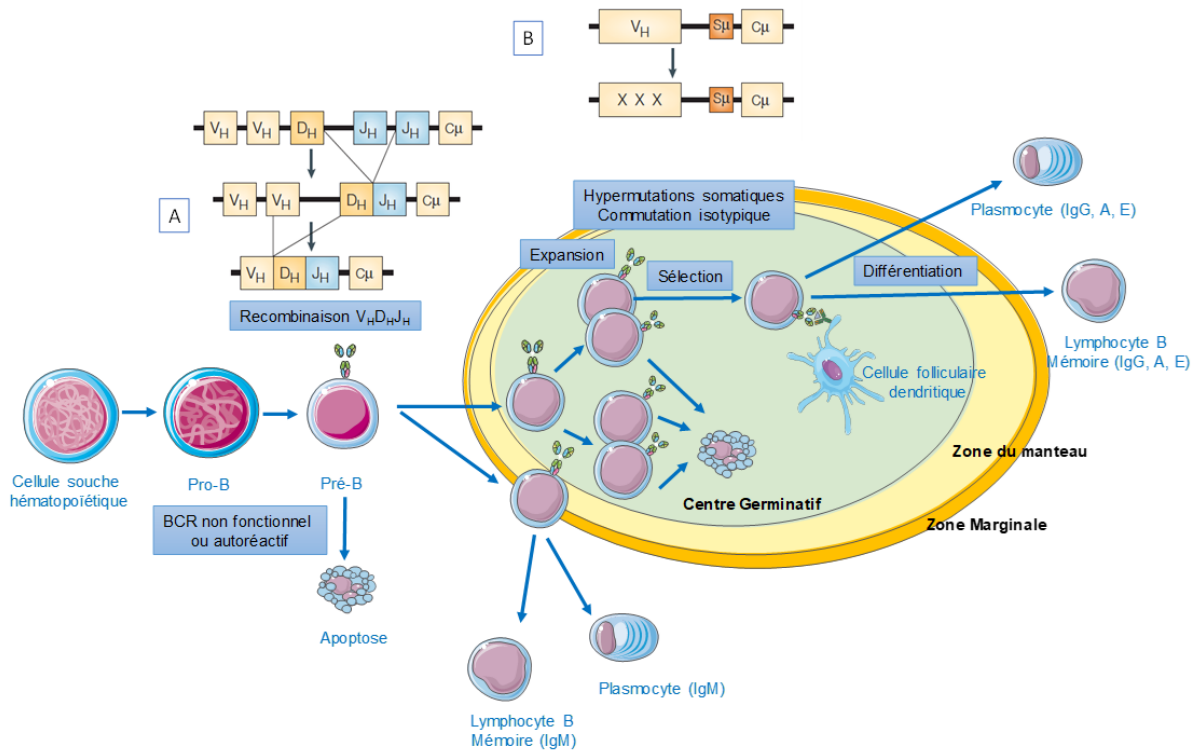


Figure 5 : processus de recombinaison et hypermutation du BCR

A) La recombinaison est initiée par le réarrangement des segments D_H et J_H du BCR. Puis un réarrangement $V_H D_H J_H$ dit « complet » du BCR permet au lymphocyte B de poursuivre sa maturation.

B) Le lymphocyte B va migrer dans le ganglion où une expansion va se produire puis une étape d'hypermutation des IGHV va permettre la sélection du clone le plus affiné pour l'antigène (X représente les mutations dans le segment V_H). Réalisé d'après (3,4)

III. Le lymphome du manteau : un modèle clinique et biologique

1. Epidémiologie

Les LMNH sont classés à la 10ème et 12ème place des cancers les plus fréquents dans le monde, respectivement chez l'homme et chez la femme [Figure 6]. Chaque année, on estime environ 510 000 nouveaux cas et 249 000 décès provoqués par ces hémopathies (5).

Malgré une épidémiologie variable selon les sous-types de LNH, des études mettent en évidence un âge médian au diagnostic estimé à 75 ans (5). La médiane de survie est influencée directement par le sous-type de LMNH mais également par des données démographiques. En effet, la survie est nettement plus faible dans les pays à revenu faible et intermédiaire tandis que la survie à 5 ans est de 80% dans les pays à revenu élevé (6).

Il est difficile, devant l'hétérogénéité des différents sous-types de LMNH, de mettre en évidence des facteurs de risque relatifs. Néanmoins, des déterminants génétiques, y compris des antécédents familiaux de LMNH (7), ont été mis en cause tout comme certains facteurs liés au mode de vie et à l'environnement (5).

Dans la littérature, la notion de lymphome du manteau est abordée depuis des décennies. Cependant, avant d'être individualisé comme l'entité distincte que nous connaissons actuellement, le MCL fut reconnu sous différentes appellations, à savoir : lymphome à cellules centrocytiques en 1972 (8), lymphome lymphocytaire à différenciation intermédiaire en 1974 (9) et également lymphome de la zone du manteau en 1982 (10).

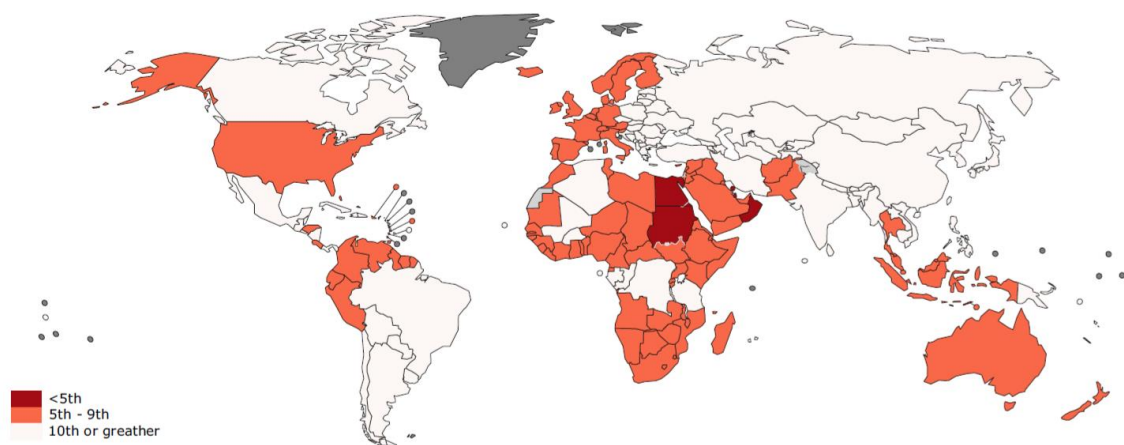


Figure 6 : classement des LNH par fréquence de nouveaux-cas par rapport aux autres cancers, tous sexes confondus (11)

Ainsi, le MCL était inclus dans plusieurs sous-groupes de la *Working Formulation*, classification désormais obsolète proposée en 1982, sous les termes de : lymphome malin à petits lymphocytes, lymphome malin diffus à petites cellules clivées, lymphome malin diffus à grandes cellules clivées ou encore lymphome folliculaire avec prédominance de petites cellules clivées (12). Il aura fallu attendre l'année 1999 pour que l'entité de « lymphome du manteau » soit véritablement individualisée dans les classifications internationales des hémopathies lymphoïdes malignes, sur la base de critères diagnostiques morphologiques, immunophénotypiques et cytogénétiques (13). Actuellement, la classification OMS est le système le plus largement répandu dans le monde. Sa révision en 2016 décrit plus de 50 sous-types de LMNH, incluant un faible nombre d'entités provisoires. Elle divise les LMNH selon le sous-type cellulaire dont ils sont issus, à savoir les lymphocytes B, T ou encore NK, mais également en se basant sur des critères histologiques, morphologiques, immunophénotypiques, génétiques et cliniques.

Le MCL représente environ 3 à 10% des LMNH [Figure 7]. Comme dans la majorité de ces hémopathies, le MCL a un *sex-ratio* en défaveur des hommes, estimé à 2,3/1 (14). Cette différence entre les deux sexes est la plus prononcée parmi les LMNH, dépassée principalement par la leucémie à tricholeucocytes (HCL) (4/1) et le lymphome de Burkitt (BL) (3/1) tandis que le lymphome folliculaire (lymphome à petites cellules le plus fréquent) survient à une fréquence presque identique chez les deux sexes (1/1,7) (14,15).

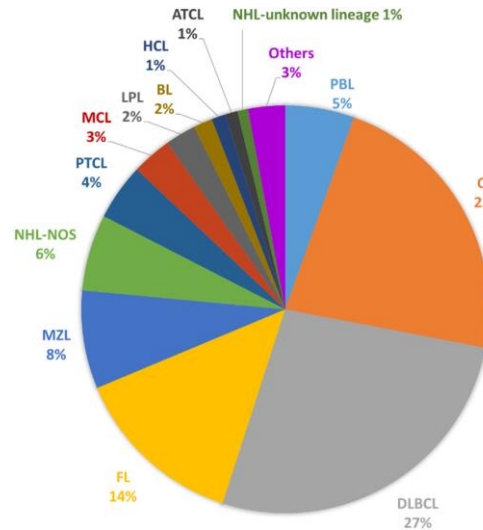


Figure 7 : prévalence des différents sous-types de LNH, tous âges confondus (2006-2015) d'après (16)

Abréviations : FL : lymphome folliculaire ; MZL : lymphome de la zone marginale ; NHL-NOS : lymphome non hodgkinien de signification indéterminée ; PTCL : lymphome T périphérique ; MCL : lymphome à cellules du manteau ; LPL : lymphome à lymphoplasmocytes ; BL : lymphome de Burkitt ; HCL : leucémie à tricholeucocytes ; ATCL : lymphome T angio-immunoblastique ; PBL : lymphome plasmablastique ; CLL : leucémie lymphoïde chronique ; DLBCL : lymphome B diffus à grandes cellules.

Les données sur de potentielles variations temporelles de l'incidence du MCL sont rares. Toutefois, une étude rétrospective américaine de 2008 s'est intéressée sur cette évolution depuis 1992 jusqu'à 2004 (6,17). Il a été mis en évidence une augmentation constante avec toutefois, un accroissement durant la 1ère partie de l'étude et a été principalement observé chez les hommes blancs, de 60 ans ou plus [Figure 8]. Cela peut être le reflet d'un changement dans la démarche diagnostique, avec l'introduction de la cytogénétique et de la biologie moléculaire (15).

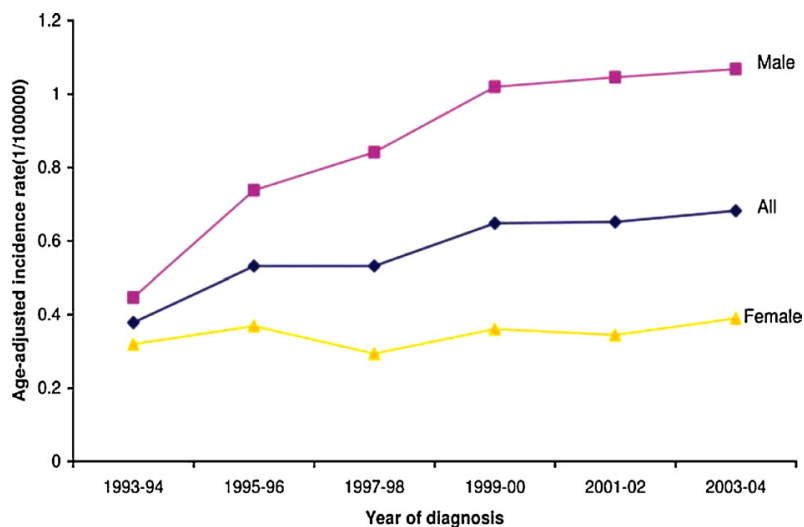


Figure 8 : tendance de l'augmentation globale et par sexe de l'incidence du MCL aux Etats-Unis de 1992 à 2004 (17)

A partir des registres des cancers du réseau Francim traitant des hémopathies malignes, des données d'incidence en France en 2012 ont été établies. Ainsi, le nombre de nouveaux cas de MCL est estimé à 659 par années (18). Le *sex-ratio*, conformément aux données internationales, est en défaveur des hommes avec un ratio à 3/1. L'incidence standardisée sur la population mondiale est de 0,8 et 0.2 pour 100 000 personnes-années respectivement chez l'homme et la femme. L'âge médian au diagnostic des patients est de 74 ans, tout sexe confondu. Environ la moitié des cas est constatée chez des patients de plus de 75 ans quel que soit le sexe (47% et 48% respectivement chez l'homme et chez la femme). L'incidence du MCL augmente avec l'âge, passant chez l'homme de 0,1 pour 100 000 entre 40-44 ans à 11,6 pour 100 000 entre 85-89 ans (0,1 à 2,1 pour 100 000 chez la femme respectivement) [Figure 9] (18).

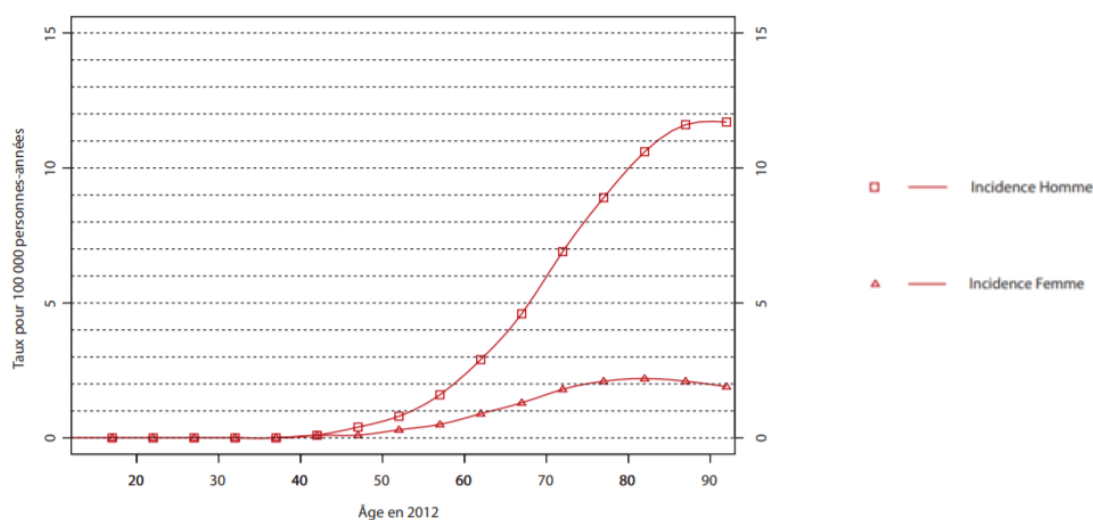


Figure 9 : incidence par âge du MCL en 2012, en France d'après (11)

Les étiologies relatives à la plupart des sous-types de LNH n'ont pas été établies pour le moment. Toutefois, certains facteurs de risques ont été fortement reliés à certains modèles de lymphomes. En effet, il a été montré que des patients avec des déficits immunitaires constitutionnels ou acquis (patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV), greffés, ...) sont à risque de développer des lymphomes B diffus à grandes cellules (DLBCL) et des lymphomes de Burkitt induits par des infections à l'Epstein-Barr virus (EBV) (19,20). Le lymphome gastrique du MALT, le plus fréquent des lymphomes de la zone marginale, est étroitement relié aux patients atteints d'un syndrome de Sjögren (21) ou d'infection chronique à *Helicobacter pylori* (22). Contrairement à ces exemples, il n'a pas été établi d'étiologie particulière

concernant le développement du MCL. Cependant, une équipe américaine a mis en évidence une atteinte importante du tractus gastro-intestinal chez les patients présentant un MCL, laissant sous-entendre que des agents infectieux altérant le tractus gastro-intestinal ou qu'une variation de cette flore microbienne pourraient représenter des potentiels facteurs de risque (23). En effet, dans cette étude prospective, sur 71 patients inclus, 84% présentaient une altération de la flore gastrointestinale malgré une observation macroscopique normale chez 45% d'entre eux.

2. Physiopathologie

Le lymphome du manteau a pour cellule d'origine une cellule post centro-germinative de la zone du manteau du ganglion [Figure 10]. De nombreuses voies de signalisation moléculaire sont impliquées dans sa physiopathologie.

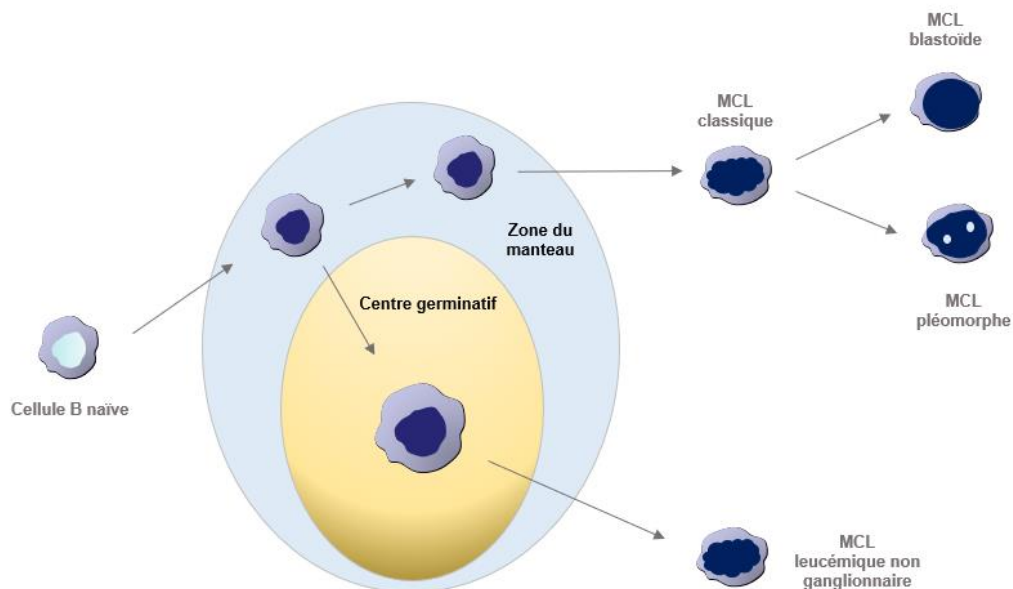


Figure 10 : lymphomagenèse du lymphome du manteau

a. Cycline D1 : une protéine oncogénique au centre de la physiopathologie

La translocation t(11;14) modifie la régulation du gène de la cycline D1 (*CCND1*) par la juxtaposition du gène codant pour cette protéine avec la séquence régulatrice codant pour la chaîne lourde des immunoglobulines (IgH). Il en résulte une surexpression de la cycline D1. Cette anomalie cytogénétique survient de manière très précoce dans le processus de lymphomagenèse, au stade de lymphocytes pré-B médullaires. Bien qu'il soit impossible d'affirmer que la surexpression de la cycline D1 est l'évènement initiateur de cette hémopathie, il demeure incontestable qu'elle se place au cœur de sa physiopathologie.

La cycline D1 régule le cycle cellulaire en conditionnant le passage de la phase G1 à la phase S. Elle se lie aux protéines de la famille des *Cyclin-Dependant Kinase* : CDK4 et CDK6 pour former un complexe capable de phosphoryler le rétinoblastome RB (protéine suppresseur de tumeur) permettant ainsi la progression du cycle cellulaire [Figure 11].

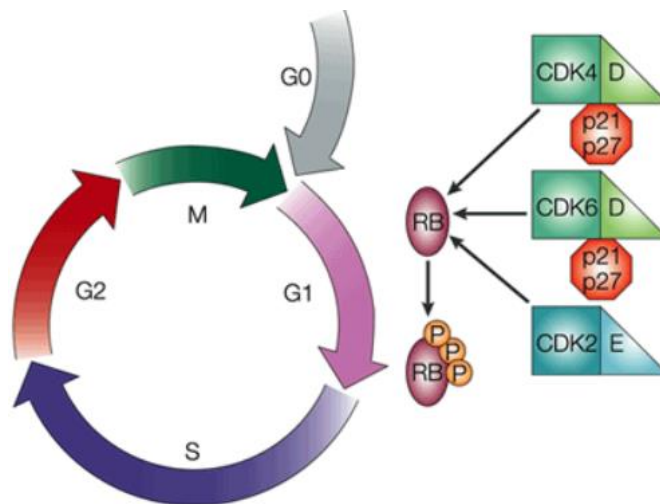


Figure 11 : représentation schématique du cycle cellulaire

L'initiation du cycle cellulaire est réalisée par les cyclines (D1 et E) conditionnant le passage de la phase G1 à S : la cycline D1 séquestre la protéine p27 et libère la cycline E de son inhibiteur. Les cyclines phosphorylent le rétinoblastome (RB). La perte de l'activité des protéines p27 ou p53 entraîne un emballement du cycle cellulaire avec, pour conséquence directe, une prolifération cellulaire, d'après (24).

b. Voie du BCR

Le récepteur des lymphocytes B (BCR) est une protéine transmembranaire présente à la surface des lymphocytes B, indispensable à leur activation. La région intracellulaire du BCR est reliée à des protéines kinases notamment la *Bruton Tyrosine Kinase* (BTK), la *Lyc/Yes Novel tyrosine kinase* (LYN) et la *Spleen Tyrosine Kinase* (SYK). Physiologiquement, la liaison d'un antigène au BCR provoque la phosphorylation de ces protéines kinases, exerçant ainsi un rôle sur la prolifération et la survie cellulaire en impliquant d'autres voies de signalisation moléculaire, notamment NF- κ B (*Nuclear Factor of Kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells*) et PI3k/Akt/mTOR (*phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin*) [Figure 12].

De façon pathologique, dans le MCL notamment, l'activation constitutive de la voie du BCR amplifie la phosphorylation de SYK, activant la phospholipase C-gamma 2 (PLC- γ 2) (25). Celle-ci a pour conséquence directe une prolifération cellulaire importante et une résistance vis-à-vis de l'apoptose (26,27).

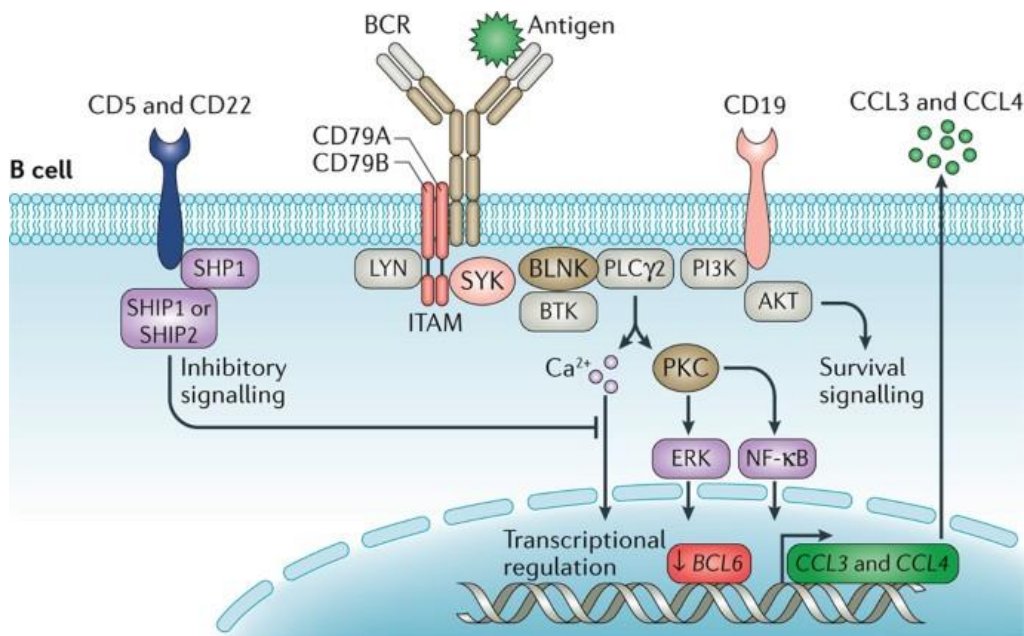


Figure 12 : représentation schématique de la voie de signalisation du BCR

La fixation d'un antigène sur le BCR est nécessaire à la transduction du signal à travers la région intracellulaire du récepteur reliée aux protéines kinases SYK/LYN/BTK. Ces dernières exercent un rôle pléiotrope sur la prolifération et la survie cellulaire, d'après (28).

c. Voie PI3K/AKT/mTOR

Physiologiquement, dans les lymphocytes B normaux, la voie PI3K/AKT/mTOR assure la traduction du signal induit par le BCR pour réguler la prolifération, la différenciation ainsi que la survie cellulaire.

Différents gènes de cette voie de signalisation sont activés et surexprimés dans le MCL (29). *Rudelius et al.* montrent une activation constitutive d'AKT dans 100% des formes agressives et blastoïdes (n=12/12) et dans 31% des formes classiques (n=5/16) (30). L'activation de la voie induit une hyperphosphorylation des protéines MDM2 (*mouse double minute 2 homolog*), Bad et p27. Cela donne un avantage de survie et de prolifération aux cellules malignes (30) [Figure 13].

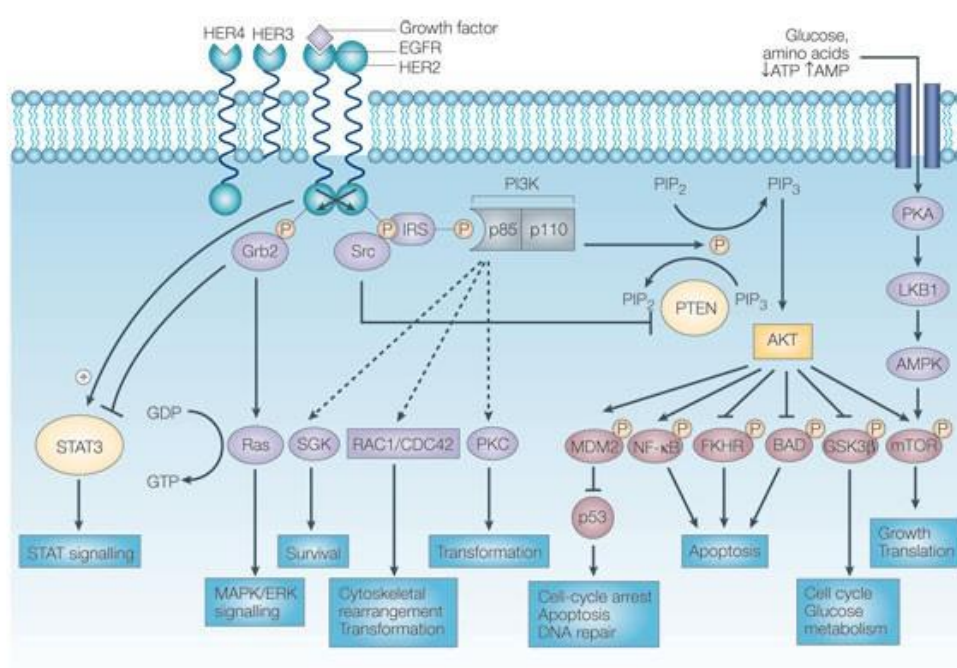


Figure 13 : représentation schématique de la voie de signalisation du PI3K/AKT/mTOR d'après (31)

d. Voie NF-κB

La voie de signalisation NF-κB joue un rôle majeur dans diverses réponses immunes, inflammatoires ainsi que dans des processus de cancérogénèse (32).

Deux voies d'activation de NF- κ B sont décrites : la voie canonique et la voie alterne (ou non canonique). Dans le MCL, ces deux voies sont impliquées, aboutissant à la libération des protéines p65, p50, p52, c-REL et RELB. Ces dernières vont transloquer vers le noyau cellulaire afin de réguler les gènes cibles de la voie NF- κ B (codant notamment BCL-2, BCL-X1, XIAP et cFLIP) (33) et, *in fine*, induire une inhibition de l'apoptose et une prolifération cellulaire (34) [Figure 14].

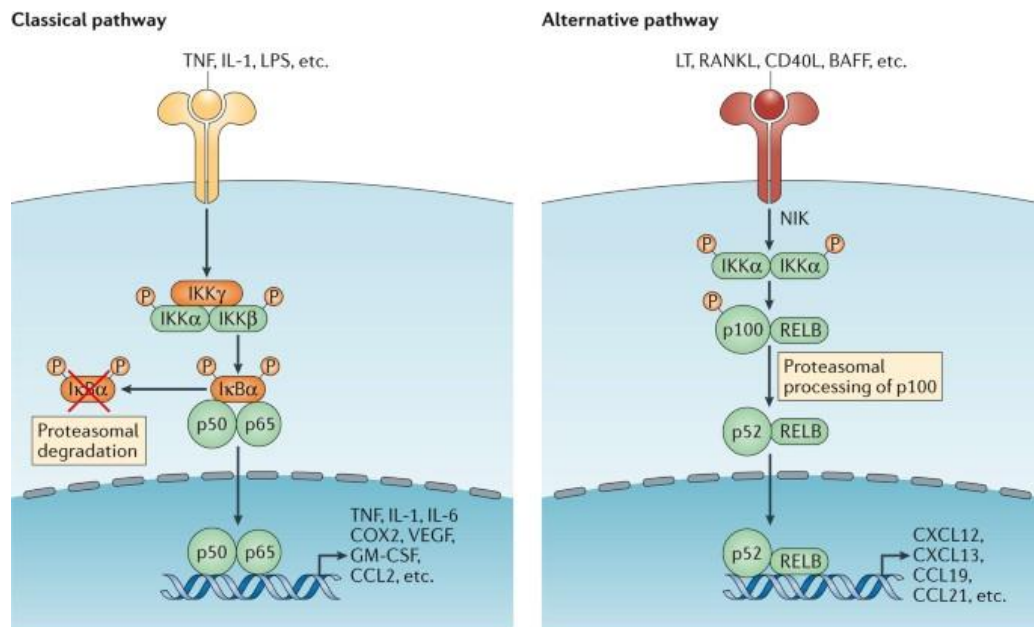


Figure 14 : représentation schématique de la voie de signalisation du NF- κ B, d'après (35)

e. Voie WNT

Physiologiquement, la voie WNT intervient à différents stades du développement embryonnaire en participant aux processus de différenciation cellulaire et d'organogénèse. Elle se divise en deux voies, dépendante ou non de la β -caténine respectivement appelées canonique ou non canonique.

Il semble que la voie canonique soit celle principalement impliquée dans la cancérogénèse. Dans ce processus, des ligands de la voie WNT se lient au récepteur *Frizzled* (FZD) et au corécepteur *LDL-Related Protein* (LRP) aboutissant à l'accumulation de la β -caténine dans le cytoplasme et à sa translocation dans le noyau. *In fine*, une prolifération cellulaire accrue et une inhibition de l'apoptose en sont les

conséquences. Dans le MCL, on retrouve une surexpression des ligands de la voie WNT (36). D'autres études ont montré l'activation constitutive d'une sérine-threonine kinase CK2, phosphorylant la β -caténine ce qui entrave sa dégradation par le protéosome (37) [Figure 15].

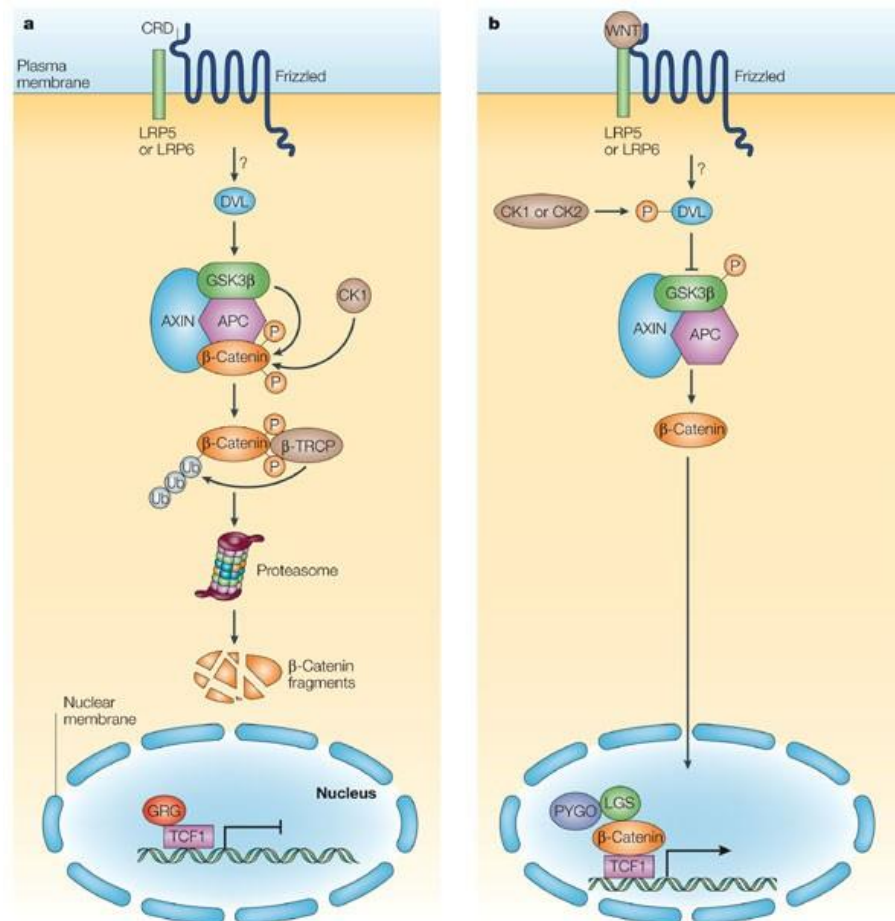


Figure 15 : représentation schématique de la voie de signalisation WNT, d'après (38)
Avec a) la voie canonique et b) la voie non canonique.

f. Voie Hedgehog

Des études ont démontré que les protéines de la voie Hedgehog jouaient un rôle dans la prolifération des cellules souches hématopoïétiques, des cellules lymphoïdes et également dans la lymphomagenèse (39).

Une des protéines de cette voie de signalisation, *sonic hedgehog* (SHH) et ses transcrits (PTCH, GLI1 et GLI2) sont surexprimés dans le MCL et donnent un avantage

prolifératif aux cellules (27,40). Ainsi, une inhibition de GLI1 (par un oligonucleotide anti-sens) réduit la transcription de la cycline D1 et de BCL-2 et augmente la sensibilité des cellules à sensibilité à la chimiothérapie dans des lignées cellulaires humaines MCL (41) [Figure 16].

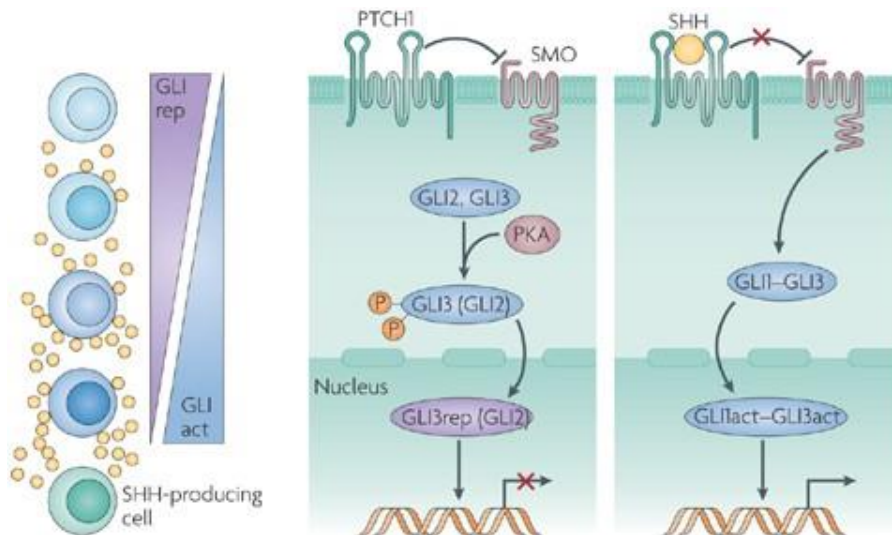


Figure 16 : représentation schématique de la voie de signalisation Hedgehog d'après (42)

g. Influence du microenvironnement

Le microenvironnement a un impact important sur le MCL et son évolution par le biais de signaux de prolifération, de survie et chimiorésistance. Le tropisme des cellules du manteau pour le tractus gastrointestinal suggère que les interactions avec le microenvironnement joue un rôle important dans la localisation du lymphome (23).

Les cellules du manteau expriment fortement des récepteurs aux chimiokines de type *CXC Motif Chemokine Receptor* : CXCR4, CXCR5 et VLA-4 (ou CD49d). Le ligand de CXCR4, CXCL12 ou SDF1 (*stromal cell derived factor 1*) est sécrété par les cellules endothéliales sinusoïdales et réticulaires périvasculaires attirant les cellules du manteau dans la moelle osseuse et la rate. VLA-4 permet une interaction avec la fibronectine et participe à l'adhésion des cellules du MCL dans la moelle osseuse et ces interactions peuvent expliquer en partie la chimiorésistance (43). Cette adhésion aux cellules stromales de la moelle pourrait également diminuer la destruction de p27, protéine inhibitrice du cycle cellulaire. Cette hypoactivité mettrait les cellules dans un

état quiescent, protecteur vis-à-vis des chimiothérapies mais pourrait également après rémission potentielle, expliquer une rechute (44). CXCR5 et son ligand (CXCL13) sont impliqués dans le développement normal du tissu lymphoïde secondaire ainsi que dans la migration des lymphocytes B et T dans les organes lymphoïdes périphériques (45). Sa surexpression participerait également à l'adhésion des cellules du manteau aux cellules stromales de la moelle (43).

h. Modulation de l'expression génique : rôle de l'épigénétique

Dans le lymphome du manteau, des dérégulations de gènes et protéines de la régulation épigénétique ont été décrites (46).

Les protéines du groupe Polycomb (PcG) sont des facteurs épigénétiques répresseurs (47). EZH2, protéine clé des PcG, est associée à une chromatine davantage permissive à la transcription et peut-être surexprimée dans le MCL (48). Cette surexpression augmenterait la prolifération cellulaire et l'auto-renouvellement de cellules (49).

Dans le MCL, la dérégulation de PRMT5 (*Protein arginine methyltransferase 5*) provoque l'hypométhylation d'histones (H3R8 et H4R3) atténuant les voies de régulation du rétinoblastome (50). De plus PRMT5 favorise l'expression constitutive des gènes des voies moléculaire WNT et PI3K/AKT/mTOR, impliquées dans la prolifération cellulaire (51,52).

Des mutations de KMT2D (ou MLL2 : *mixed lineage leukemia*) peuvent être impliquées entraînant la perturbation de l'expression de gènes suppresseurs de tumeurs contrôlant certaines voies d'activation des lymphocytes B (53). En outre, KMT2D peut également jouer un rôle de suppresseur de tumeur. En effet, sa perte peut promouvoir la lymphomagenèse par remodelage du paysage épigénétique dans les cellules cancéreuses (54). Il est intéressant de souligner le fait qu'une étude a mis en évidence des mutations de KMT2D (à partir de prélèvement sanguin et ganglionnaire) seulement dans les cas de MLC SOX11+ (55).

Chim et al. ont mis en évidence une hyperméthylation fréquente de SHP1 (*Silencing of tyrosine phosphatase gene 1*) dans le MCL ayant pour conséquence une activation constitutive de la voie JAK/STAT (*Janus kinase/signal transducers and activators of transcription*) (56).

3. Anomalies moléculaires

Les différentes voies cellulaires impliquées dans le lymphome du manteau sont représentées schématiquement ci-dessous [Figure 17].

La dérégulation de ces différentes voies peut être expliquée car des anomalies moléculaires multiples. En effet en plus de la mutation t(11;14) il a été décrits des mutations récurrents dans de nombreux oncogènes ou gènes suppresseurs de tumeurs.

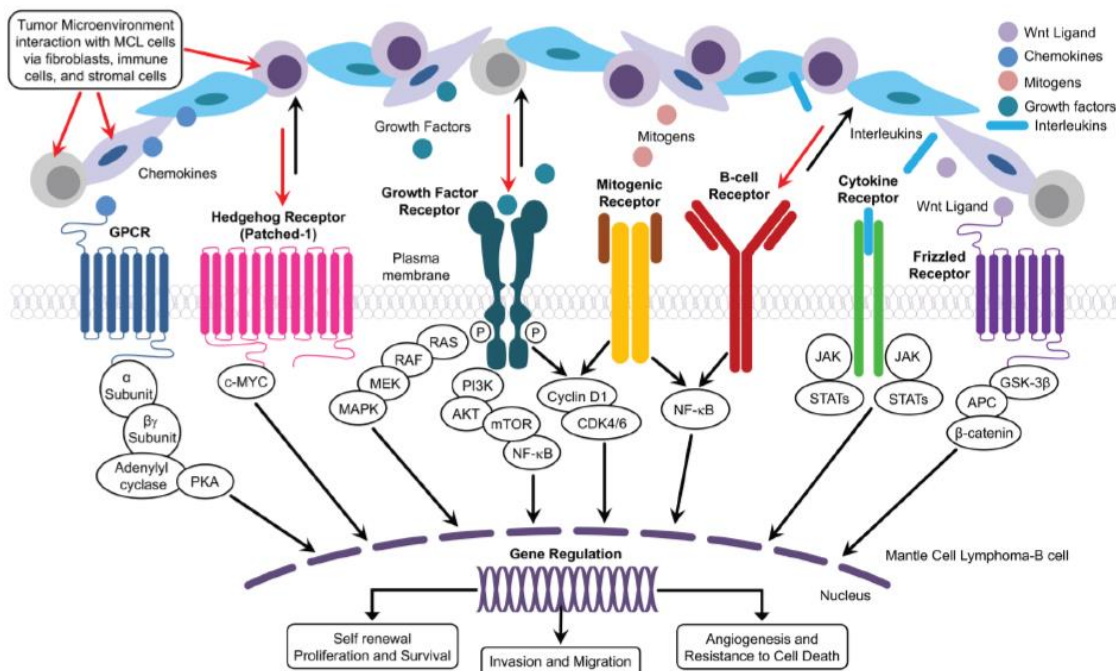


Figure 17 : représentation des différentes voies cellulaires impliquées dans la physiopathologie du MCL (57)

D'après une étude récente et exhaustive d'analyse de génome de 273 cas de MCL (dont 51 par *whole exome sequencing* (WES) et 34 par *whole genome sequencing* (WGS)), il a été décrit des mutations de manière récurrente parmi les oncogènes connus (58), notamment :

- Les gènes impliqués dans la réparation de l'ADN (*ATM*, *TP53*)
- Les gènes de la voie NOTCH (*NOTCH1*, *NOTCH2*)
- Les gènes de la régulation épigénétique (*KMT2D*, *WHSC1*)
- Les gènes de la voie NF-κB (*CARD11*, *BIRC3*, *SYC*)

Il a été proposé d'autres anomalies *driver*, notamment des mutations dans *HNRNPH1* et *DAZAP1*, gènes impliqués dans la maturation des ARNm [Figure 18].

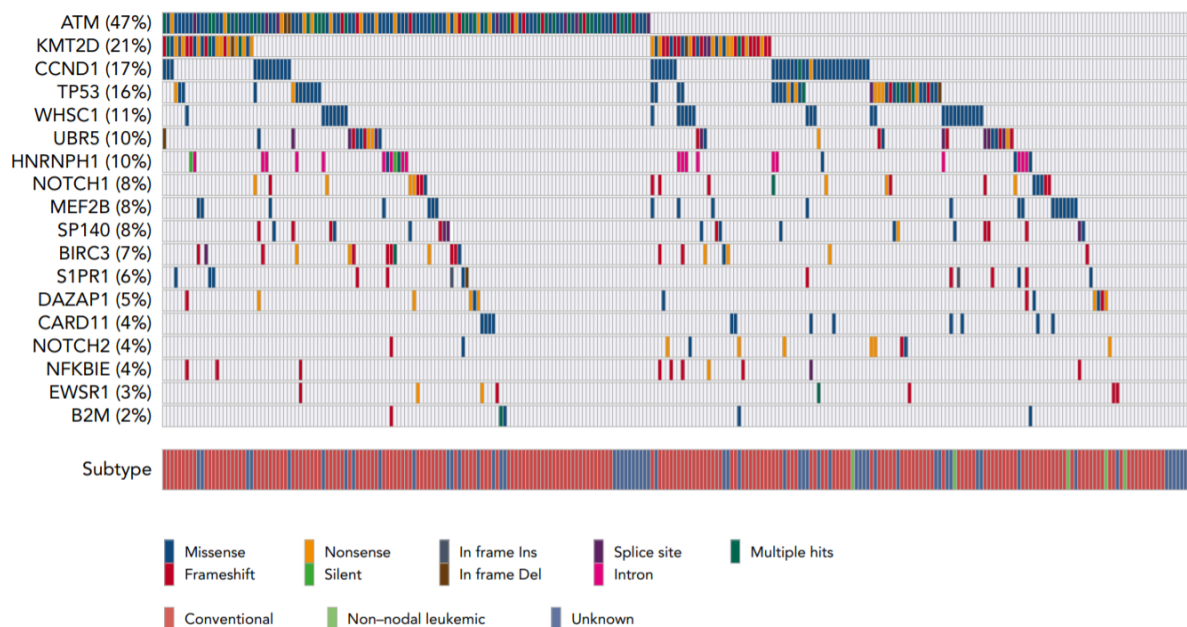


Figure 18 : mutations récurrentes retrouvées dans le lymphome du manteau

Mutations observées sur 273 échantillons MCL chez 18 gènes impliqués dans le lymphome. Les mutations présentées ici sont limitées à des mutations non silencieuses sauf *HNRNPH1*. Pour ce gène, des mutations introniques et silencieuses affectant ou entourant l'exon 4 sont incluses (58).

4. Présentation clinique

Au diagnostic, le bilan d'extension met en évidence un stade III ou IV chez 80 à 90% des patients selon la classification de Ann-Arbor [Tableau 1] (59) témoignant

d'une atteinte extra-ganglionnaire importante [Figure 19] pouvant être médullaire (50-80%), digestive (60%) et splénique (35-75%). En cas de symptomatologie évocatrice, il est discuté de l'intérêt d'une exploration digestive endoscopique systématique : *Romaguera et al.* mettent en évidence une atteinte dans 60% des cas (23). Une fièvre et une altération de l'état général (asthénie, anorexie, amaigrissement) peuvent également être retrouvées, surtout dans les stades avancés de la maladie (60,61). Certains patients ne présentent pas de syndrome tumoral (ou seulement une splénomégalie) mais une dissémination sanguine et une localisation médullaire, témoignant d'une forme plus indolente de la maladie. Des atteintes neurologiques ont été décrites mais restent des événements rares, tardifs et concernent avant tout les patients souffrant d'un MCL classique. Ces atteintes extra-ganglionnaires assombrissent très nettement la médiane de survie de ces hémopathies (18-55 jours) (62).

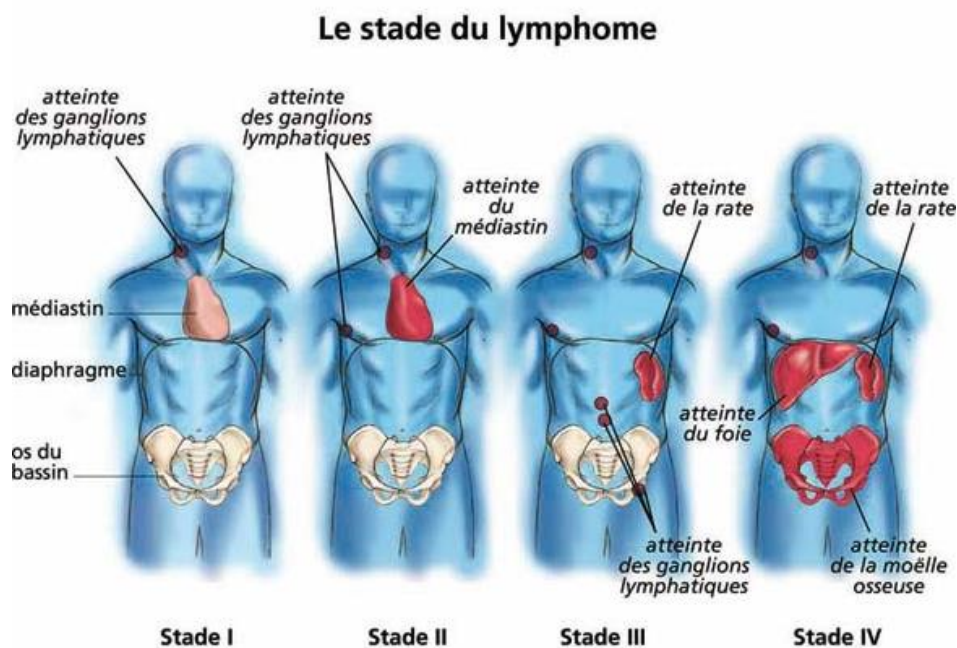


Figure 19 : illustration des différents stades de la classification d'Ann Arbor d'après (63)

Tableau 1 : classification d'Ann-Arbor modifiée selon Costwolds (d'après le site de la Haute Autorité de Santé)

Stade	Description
Stade I	Atteinte d'un seul groupe ganglionnaire ou d'une seule structure lymphoïde (médiastin = 1 ; cervical gauche = 1 ; rate = 1 ; anneau de Waldeyer = 1)
Stade II	Atteinte de deux ou plusieurs groupes ganglionnaires d'un seul côté du diaphragme (le médiastin représente un seul territoire, les deux hiles sont considérés indépendamment du médiastin comme des « régions » ganglionnaires). Le nombre de territoires ganglionnaires est indiqué en indice (II _n)
Stade III	Atteinte ganglionnaire des deux côtés du diaphragme
III1	Atteinte sous-diaphragmatique limitée à la rate, aux ganglions du hile splénique, aux ganglions coeliaques ou du tronc porte
III2	Atteinte des ganglions latéro-aortiques, iliaques, mésentériques s'associant ou non à l'atteinte détaillée dans le stade III1
Stade IV	Atteinte extra-ganglionnaire distincte d'une localisation viscérale contiguë, ou atteinte du foie ou de la moelle osseuse
A	Absence de signes généraux
B	Présence de fièvre, sueurs, ou amaigrissement
X	Importante masse tumorale : <ul style="list-style-type: none"> • masse médiastinale de diamètre égal ou supérieur au tiers du diamètre transverse thoracique au niveau du disque intervertébral T5-T6 (sur un cliché thoracique de face) • masse ganglionnaire égale ou supérieure à 10 cm dans son diamètre maximum
E	Atteinte d'un seul viscère contigu ou à proximité d'un territoire ganglionnaire atteint

5. Examens biologiques

a. *Hémogramme et cytologie*

Lors du diagnostic de MCL, la numération de la formule sanguine (NFS) met en fréquemment en évidence une anémie et/ou une thrombopénie modérées. Une hyperlymphocytose est décrite dans un tiers des cas, constituée de cellules lymphocytaires atypiques pouvant présenter différents aspects cytologiques. Les formes classique et blastoïde sont les plus reconnaissables en cytologie [Figure 20].

La description morphologique de l'ensemble des variants sera abordée dans la partie traitant du diagnostic anatomopathologique.

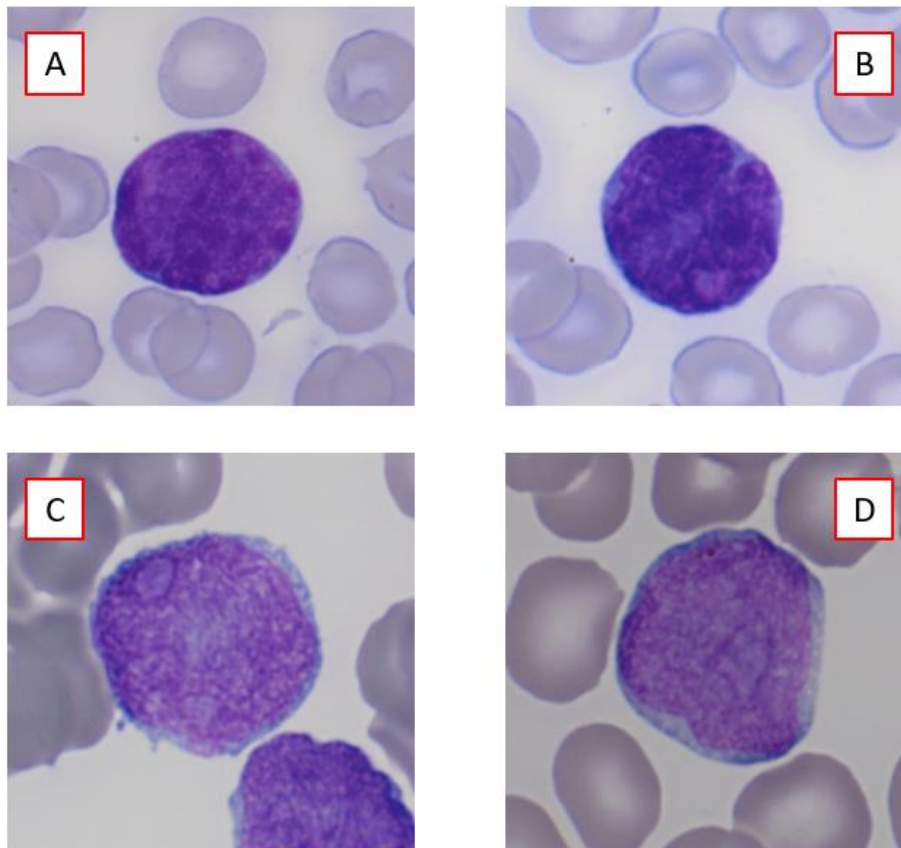


Figure 20 : cytologie de lymphome du manteau

A et B : Lymphome du manteau dans sa forme classique, taille moyenne, au rapport nucléocytoplasmique (RNC) proche de 1, au noyau irrégulier. *C et D* : Lymphome du manteau dans sa forme blastoïde, taille moyenne à grande, RNC élevé, noyau irrégulier, chromatine fine et nucléolée, cytoplasme basophile. Coloration au May Grünwald Giemsa (MGG) x 1000 (CHU de Caen).

b. Anatomopathologie

Les examens anatomopathologiques sont indispensables dans le diagnostic des syndromes lymphoprolifératifs chroniques B (SLPCB) principalement lors de la mise en évidence d'un syndrome tumoral (polyadénopathies, splénomégalie). Une approche pluridisciplinaire est donc justifiée dans le but de diagnostiquer ces hémopathies.

Sur le plan histologique, dans la plupart des cas, une infiltration tumorale lymphoïde d'architecture diffuse [Figure 21] ou nodulaire avec une expansion de la zone du manteau (64) sera observée. La recherche de centres germinatifs résiduels réactionnels parmi la prolifération tumorale constitue un élément important au diagnostic (65). L'analyse histologique détaillée permet de mettre en évidence une

hétérogénéité architecturale et morphologique de ces cellules du manteau avec la présence de 5 variants cytologiques décrits dans la classification OMS (66).

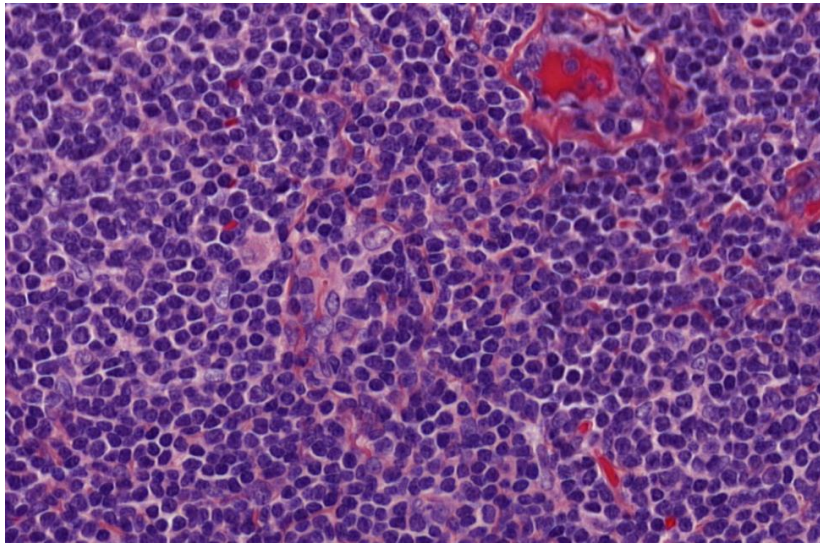


Figure 21 : infiltration lymphocytaire diffuse, constituée de cellules de taille petite à moyenne chez un patient atteint d'un MCL au CHU de Caen (65)

- La forme classique du MCL est caractérisée par la présence d'une population lymphocytaire monomorphe, constitué de lymphocytes de taille petite à moyenne, au RNC proche de 1, au noyau irrégulier, à la chromatine mature, parfois nucléolée.
- Le variant à petites cellules est composé de lymphocytes de petite taille avec un RNC élevé, au noyau irrégulier pouvant faire évoquer une leucémie lymphoïde chronique (LLC).
- Le variant blastoïde (2 à 6% des cas) montre une prolifération tumorale diffuse, constituée de lymphocytes de taille moyenne à grande, au noyau irrégulier avec une chromatine fine et laquée pouvant faire évoquer des lymphoblastes. Ces cellules ont un fort index mitotique (65).
- Le variant pléiomorphe (5-9% des cas) est constitué de lymphocytes, le plus souvent de grande taille, au noyau souvent clivé, avec une chromatine plus dense que le variant blastoïde. Ce variant peut être diagnostiqué à tort comme un DLBCL mais les nucléoles nettement visibles et constants sont assez caractéristiques.

- Le variant « marginal zone-like », comme son nom l'indique, est constitué de lymphocytes morphologiquement proches des lymphocytes du lymphome de la zone marginale (MZL). L'architecture ganglionnaire montre une zone sombre centrale constituée de petits lymphocytes et une zone claire plus périphérique avec des cellules lymphoïdes de taille moyenne, d'allure monocytoïde (65).

L'analyse histologique seule ne permet pas le diagnostic de certitude. En effet, des examens d'histochimie sont indispensables pour mettre en évidence des marqueurs plus ou moins spécifiques de la maladie. Les cellules tumorales expriment le CD20, CD5 [Figure 22 A,B], IgD, BCL2, la cycline D1 et SOX11 et sont habituellement négatives pour le cluster de différenciation 10 (CD10), BCL6 et CD23. L'immunohistochimie (IHC) anti-cycline D1 se révèle positive dans 95% des cas de MCL [Figure 22.C] (65). La négativité de l'analyse ne pouvant exclure un diagnostic de MCL, un marquage anti-SOX11 doit être pratiqué. Ce dernier est positif dans 90% des cas, y compris ceux ne surexprimant pas la cycline D1. L'absence d'expression de la cycline D1 et de SOX11 doit faire remettre en cause le diagnostic de MCL et faire suspecter un autre SLPCB.

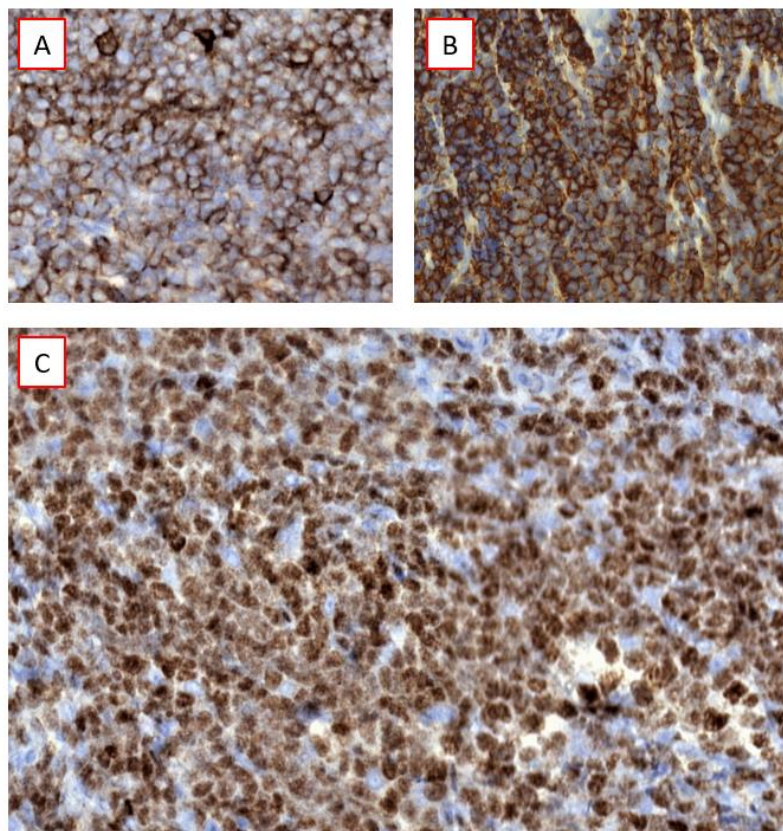


Figure 22 : immunohistochimie positive pour A) CD5 (membranaire), B) CD20 (membranaire) et C) cycline D1 (nucléaire) (x 1000) chez un patient atteint d'un MCL forme classique au CHU de Caen (la coloration brune des cellules marque la positivité pour un marqueur)

c. Immunophénotypage

i. Généralités sur la cytométrie en flux

Depuis environ 30 ans, l'avènement de la cytométrie en flux (CMF) a permis l'obtention de résultats de plus en plus précis sur l'identité des cellules normales et anormales. Grâce à ces nouvelles connaissances, l'immunophénotypage par CMF s'est inscrit au fil des années comme un examen complémentaire indispensable dans la démarche diagnostique et a acquis une importante position dans la classification actuelle des hémopathie maligne (classification OMS 2016).

La CMF est la mesure simultanée des caractéristiques physiques et phénotypiques d'une population cellulaire mise en suspension dans un flux de liquide à partir de divers prélèvements biologiques : sang périphérique, moelle osseuse, liquides biologiques, biopsies tissulaires, ...

Les éléments étudiés vont passer à travers un faisceau lumineux et le cytomètre va détecter la capacité d'une particule à diffracter la lumière incidente et/ou à émettre une fluorescence. Cette lumière diffusée et les fluorescences émises par chaque élément seront captées par des détecteurs et transmises à un ordinateur. Les données alors obtenues seront analysées à partir de logiciels, qui les présentent sous formes d'histogrammes bi-paramétriques à partir desquels sont établies des statistiques. Habituellement, 10 à 12 paramètres peuvent être mesurés simultanément pour chaque cellule dont la taille, la structure et les fluorescences.

ii. Immunophénotypage dans le MCL

Les cellules à lymphome du manteau expriment les marqueurs pan-lymphoïdes B avec une intensité forte : CD19, CD20 et CD22. Elles présentent une immunoglobuline de surface ainsi qu'une restriction d'hétérogénéité des chaînes légères des immunoglobulines kappa ou lambda. Les cellules tumorales n'expriment habituellement ni le CD10 ni le CD23. En revanche, elles présentent un marqueur aberrant de la lignée lymphocytaire T : le CD5 (67) [Figure 23]. Bien que défini comme

étant le phénotype classique du MCL, il existe des variations immunophénotypiques pouvant altérer le diagnostic [Tableau 2] (68). L'équipe de *Zhang et al.* a montré que le CD23 pouvait être parfois exprimé (16%) (69).

Tableau 2 : fréquence des variations immunophénotypiques dans le MCL selon Gao et al. (68)

Antigène	Fréquence (% , n)
CD5-	12% (6/52)
CD10+	8% (4/50)
CD23+	21% (10/48)
FMC7-	11% (4/37)

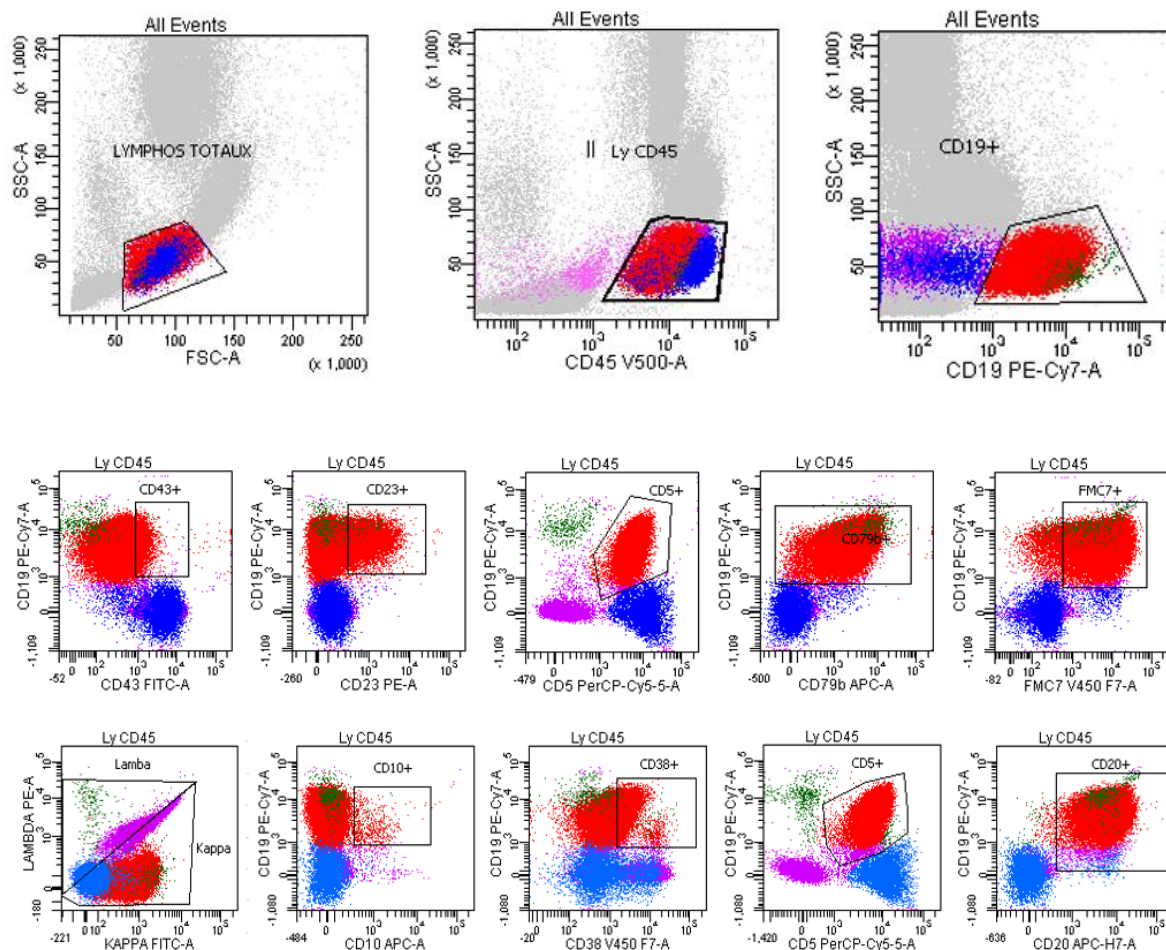


Figure 23 : immunophénotypage d'un cas de lymphome du manteau classique au CHU de Caen

Représentation en cytogrammes bi-paramétriques, de l'immunophénotypage par cytométrie en flux, des lymphocytes d'un patient atteint d'un MCL forme classique. Les cellules du manteau (population rouge), lymphocytes B normaux résiduels (population verte), lymphocytes T normaux (population bleue) et les cellules NK (population mauve) (BD FACS Canto II®, 8 couleurs, laboratoire d'Hématologie, CHU de Caen).

iii. Généralités sur le CD43

La glycosylation de protéines de surface sur les lymphocytes est un processus dynamique affectant une multitude de processus cellulaires, y compris, la reconnaissance des pathogènes par le système immunitaire, la migration des leucocytes et l'immunité tumorale (70).

Le CD43 [Figure 24] est également appelé leucosialine, sialophorine, leucocyte sialoglycoprotéine ou encore gpL115. C'est une glycoprotéine transmembranaire de type mucine appartenant à la famille des sialomucine, dont le poids moléculaire se situe entre 115 à 135 kDa en fonction de leur composition d'O-glycanes. Il possède un long domaine extracellulaire, fortement glycosylé avec des O-oligo-saccharides. Le core protéique contient 5 séquences répétitives de 18 acides aminés parmi les 239 qui le composent (71). Le domaine intracytoplasmique de CD43 est phosphorylé de façon constitutive. Il existe deux isoformes de CD43, l'une avec des O-tetra-saccharides, l'autre avec des O-hexasaccharides branchés (72).

Le CD43 est exprimé par la plupart des leucocytes sanguins ainsi que par les cellules dendritiques, les cellules de Langerhans, les histiocytes. En revanche, les lymphocytes B au repos, les cellules dendritiques folliculaires et les histiocytes sinusaux des nœuds lymphatiques sont négatifs pour le CD43. Il est le plus souvent considéré comme un marqueur pan-lymphocytaire T car il est exprimé dans 95% des cas, à tous les stades de la lymphopoïèse T : du thymocyte au lymphocyte T mémoire (73). Avec le CD45 (marqueur panleucocytaire), c'est une des glycoprotéines transmembranaires les plus abondantes, jouant un rôle essentiel sur le développement, l'activation et la survie du lymphocytes T (74,75).

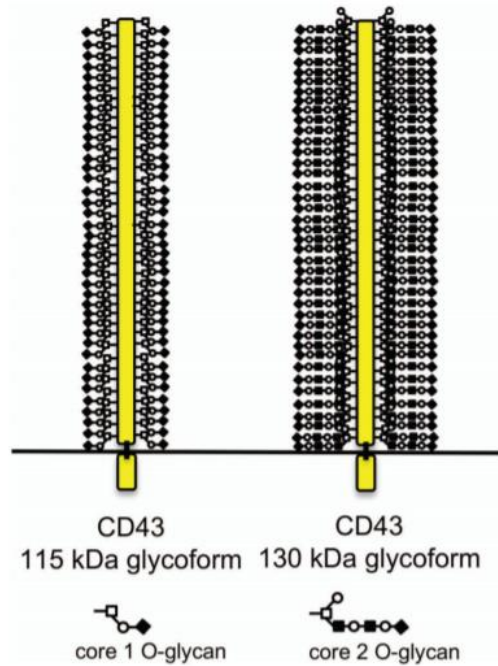


Figure 24 : représentation schématique des deux glycoformes du CD43

Les thymocytes et les cellules T expriment deux glycoformes du CD43. Son squelette polypeptidique s'étend à environ 45 nm de la surface des cellules T et est composé par environ 80 O-glycanes. Il possède également un site N-glycane, qui n'est pas représenté dans ce schéma, car la signification de ce glycane n'a pas été déterminé. Le CD43 peut être constitué d'un noyau sialylé par un O-glycane ou par 2 O-glycanes, générant les glycoformes 115 kDa et 130 kDa du CD43. Le glycoforme 115 kDa du CD43 est le glycoforme primaire exprimé par les thymocytes doubles négatifs immatures, les thymocytes simples positifs pour le CD4 ou CD8 et par les cellules T périphériques naïves. Le glycoforme 130 kDa du CD43 est exprimé majoritairement par des thymocytes doubles positifs et par les lymphocytes T périphériques activés (75).

iv. CD43 et hémopathies

Dans les tissus, les lymphocytes B n'expriment pas le CD43. Cependant, dans le sang périphérique, il existe une fraction minime de lymphocytes B circulants positifs pour le CD43 (13-23%) (76).

L'expression du CD43 constitue une aide au diagnostic et à la prédiction de la survie dans les syndromes lymphoprolifératifs B. Dans certaines hémopathies comme dans le DLBCL, l'expression du CD43 serait corrélée à un pronostic péjoratif et associée à un DLBCL de type centro-germinatif (77). Selon *Salem et al.*, dans la leucémie à tricholeucocytes (HCL), le CD43 serait davantage exprimé dans la forme variante (HCLv) que dans la forme classique. En effet, dans leur cohorte de 59 patients, 93%

des HCLv sont positifs pour le CD43 tandis que son expression est plutôt variable dans la forme classique (78). Dans la LLC, le CD43 est constamment exprimé et est utile pour distinguer les LLC atypiques des autres LMNH B qui ont un score de Matutes à 3 (79). Dans le lymphome folliculaire, l'expression du CD43 est généralement négative mais augmente modérément lors d'une transformation du lymphome en lymphome à grandes cellules (79).

d. Cytogénétique et biologie moléculaire

La translocation $t(11;14)(q13;q32)$ est une anomalie cytogénétique caractéristique du MCL. Elle juxtapose la séquence régulatrice du gène codant pour la chaîne lourde des immunoglobulines (*IGHV*) présente sur le chromosome 14 avec le gène *CCND1* présent sur le chromosome 11 [Figure 25]. La conséquence de cette évènement génétique est d'induire une surexpression de la cycline D1. Cette dernière est un oncogène ayant un rôle dans le prolifération cellulaire (Cf chapitre 2.a). Cette translocation est présente dans plus de 95% des cas (34) et survient au stade pré-lymphocytaire B d'origine médullaire. Elle constituerait l'évènement génétique initiateur de cette hémopathie. Toutefois, il est important de noter que cette translocation n'est pas spécifique du MCL : en effet, 5% des myélomes multiples (MM) peuvent présenter le même évènement cytogénétique (80).

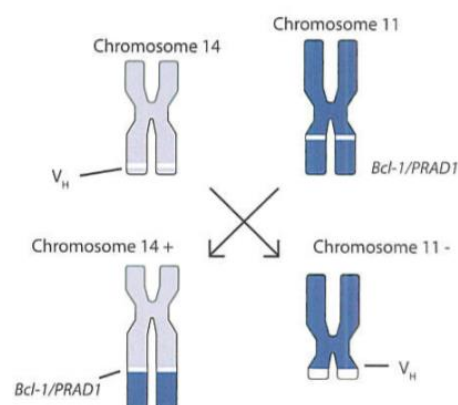


Figure 25 : illustration de la $t(11;14)(q13;q32)$ selon Kauh J et al. (81)

La mise en évidence de cette translocation en cytogénétique est recommandée par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) [Figure 26].

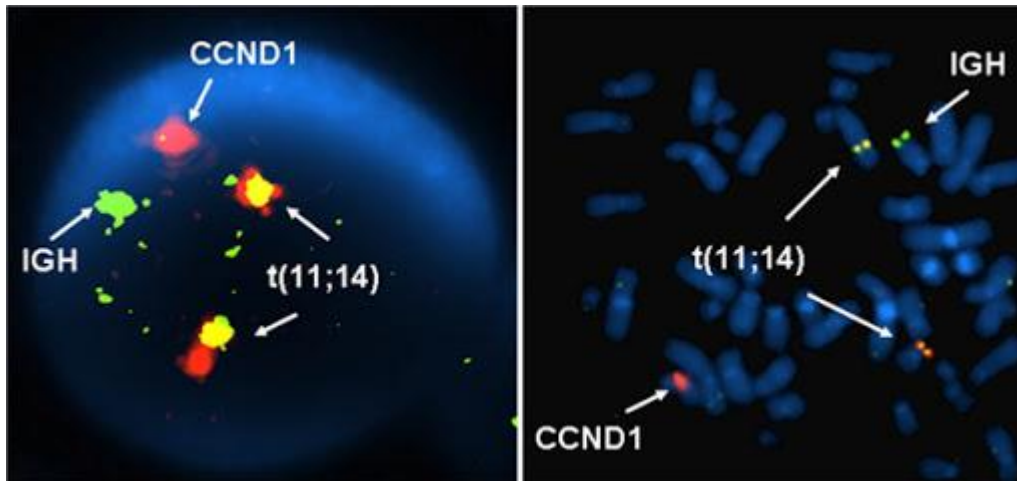


Figure 26 : mise en évidence de la $t(11;14)(q13;q32)$ par FISH d'après (82)

Dans le cadre du diagnostic de MCL, la mise en évidence d'une surexpression de la cycline D1 est essentielle. Elle est également présente dans plus de 95% des cas. Toutefois, elle peut être indétectable (en IHC) à cause d'une mutation de la région C-terminale ou d'une isoforme affectant l'exon 5 du gène *CCND1*. Il est important de savoir que la cycline D1 peut également être surexprimée dans d'autres SLPCB. En effet, elle est présente dans 25% des MM même en l'absence de la $t(11;14)(q13;q32)$ (39) et dans la leucémie à tricholeucocytes (83,84). L'équipe de *Hsiao et al.* a montré également qu'1% des DLBCL présentait une surexpression de la cycline D1 (85). Cette anomalie affecte également certains syndromes lymphoprolifératifs chroniques T (SLPCT) puisqu'elle est retrouvée dans environ 24% et 7% des lymphomes T anaplasiques respectivement ALK+ et ALK- (86).

La détection la surexpression de la cycline D1 peut être réalisée en immunohistochimie mais également par RT-qPCR (*Real time Quantitative Polymerase Chain Reaction*).

Dans de rares cas, les patients ne présentent ni cette anomalie moléculaire ni la translocation $t(11;14)(q13;q32)$ malgré des aspects cytologique, phénotypique et clinique en faveur d'un lymphome du manteau. Plus récemment, des études se sont intéressées au facteur de transcription SOX11. En effet, il a été démontré que cette protéine codée par le gène du même nom, était surexprimée dans tous les cas de formes nodales de MCL incluant les formes cycline D1 négatives. A l'inverse, elle ne serait pas surexprimée dans les MCL indolents, non nodaux (87). Cette anomalie moléculaire peut également être déterminée par IHC ou par RT-qPCR.

Ainsi, l'étude conjointe de la surexpression de la cycline D1 et de SOX11 est essentielle dans la prise en charge du patient. Elle permet la discrimination entre les formes indolentes et les formes classiques.

De plus, en l'absence d'une surexpression de la cycline D1, d'autres réarrangements ont été mis en évidence impliquant les gènes *CCND2/CCND3* et les gènes régulant l'expression des chaînes légères kappa et lambda. Ces translocations induisent une surexpression des cyclines D2 et D3 (88).

Des anomalies cytogénétiques additionnelles peuvent être mises en évidence dans plus de 90% des MCL et sont principalement retrouvées dans les formes nodales, plus agressives. La plupart semblent être impliquée dans la régulation du cycle cellulaire, dans les mécanismes de réparation de l'ADN (acide désoxyribonucléique) et également dans la survie cellulaire. Un tableau a été proposé par l'OMS afin de résumer les anomalies génétiques secondaires dans le MCL [[Annexe 1](#)] (66).

6. Données pronostiques

Comme évoqué précédemment, la majorité des patients est diagnostiqué à un stade avancé de la maladie (stade III voire IV de la classification d'Ann-Arbor) (59), pour cause, une présentation initiale fruste et peu spécifique. Ainsi, seulement 10 à 15% des patients sont diagnostiqués à des stades précoces (stade I ou II) (57). De nombreuses études se sont intéressées à des données pronostiques se basant sur des critères cliniques, des paramètres biologiques et pathologiques afin de prédire l'évolution de l'hémopathie. Suite à ces travaux, le *Mantle cell lymphoma International Prognostic Index* (MIPI) a été créé (89).

Ce score intègre l'âge du patient, son taux de leucocytes, le dosage de la lactate déshydrogénase sérique (LDH) et également de son indice de performance, déterminé selon l'*Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG). Le MIPI combiné prend en compte un marqueur de prolifération cellulaire, le Ki67 déterminé IHC. Ces informations, dans leur ensemble, permettent de stratifier les patients en quatre cohortes de pronostic variable [[Tableau 3](#)] (90).

La formule du MIPI corrigé est la suivante :

$$0.03535 \times \text{age (années)} + 0.6978 \text{ (si ECOG > 1)} + 1.367 \times \log_{10}(\text{LDH}) + 0.9393 \times \log_{10}(\text{GB}) + 0.02142 \times \text{Ki-67 (\%)}$$

Tableau 3 : score simplifié MIPI et évaluation du risque selon le score, d'après Hoster et al. (89)

<5,7	Risque faible
[5,7,6,5[Risque intermédiaire
>6.5	Risque élevé

Des marqueurs supplémentaires ont été étudiés et ont montré un intérêt pronostique. Ainsi, les MCL de cytologie blastoïde et pléomorphe auraient un pronostic plus défavorable que la forme classique (66). Une hyperexpression de Myc, une mutation du gène *TP53* (91), un statut non muté du gène *IGVH*, une diminution d'expression de *TCL1* (*T-cell leukemia 1*), un taux augmenté de β 2-microglobuline sérique, la détection d'une composante monoclonale à l'électrophorèse des protéines sériques seraient corrélés à un mauvais pronostic (57).

Concernant l'immunosurveillance, l'équipe de *Raffeld et al.* a décrit que la persistance de lymphocytes T CD3+, CD8+ et particulièrement T CD4+ seraient caractéristiques d'une forme indolente de MCL. Un ratio CD4/CD8 augmenté serait indépendamment corrélé à une survie globale plus importante (92).

7. Diagnosics différentiels

La distinction entre le lymphome du manteau et les autres lymphomes à petites cellules B non hodgkiniens peut se révéler difficile mais est indispensable compte-tenu du caractère agressif du MCL. Les diagnostics différentiels de cette hémopathie sont principalement [Tableau 4] (27) :

- la leucémie lymphoïde chronique (LLC)
- le lymphome de la zone marginale (MZL)
- le lymphome folliculaire (FL)
- la leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) pour le variant blastoïde

Tableau 4 : immunophénotypage des différents lymphomes à petites cellules

	CD5	CD10	Bcl6	CD23	FMC7
LLC	+	-	-	+	-
HCL	-	-	-	-	+
MZL	-	-	-	-	+/-
LF	-	+	+	-	+/-
MCL	+	-	-	-	+
LNH du MALT	-	-	-	±	-

8. Prise en charge thérapeutique

En 2014, une étude menée par l'équipe de *Murthy et al.* a montré que la radiothérapie améliorerait significativement la survie globale des patients diagnostiqués aux stades précoces de la maladie (93). Cependant, les patients ont souvent tendance à rechuter dans l'année qui suit la prise en charge (94). A condition qu'une surveillance rapprochée soit réalisée, les patients peuvent ne pas être traités de façon immédiate s'ils réunissent les conditions suivantes (95,96) :

- index MIPI bas
- index de prolifération Ki-67 < 30%
- diamètre tumoral maximal < 3 cm²
- taux de LDH et de β 2-microglobuline normaux
- absence de symptômes B
- absence de variant blastoïde ou pléomorphe

Les stades III et IV, plus agressifs, concernent la grande majorité des patients au diagnostic. Le traitement doit être entrepris le plus rapidement possible, indépendamment de la clinique des malades, qu'ils soient symptomatiques ou non. Celui-ci est adapté en fonction de (97) :

- l'âge du patient et ses comorbidités
- du stade de la maladie
- la masse tumorale
- la présence ou non de facteurs pronostiques péjoratifs

Ainsi, les patients les plus jeunes (moins de 65 ans) seront traités par immunochimiothérapie avec autogreffe de cellules souches hématopoïétiques, puis entretien par Rituximab tandis que les patients les plus âgés recevront des traitements moins agressifs, adaptés à leurs caractéristiques individuelles (57).

Le MCL développe des résistances à la plupart des chimiothérapies. En 2017, l'ESMO (*European Society for Medical Oncology*) a proposé de nouveaux schémas thérapeutiques associés à des thérapies ciblées afin d'obtenir une amélioration de la survie des malades [Annexe 2] (98).

Dorénavant, de nombreuses recherches sont effectuées afin de cibler davantage les voies moléculaires impliquées dans la physiopathologie du lymphome du manteau. Ces thérapies ciblées sont détaillées ci-dessous, selon *Inamdar et al.* [Figure 27] (57).

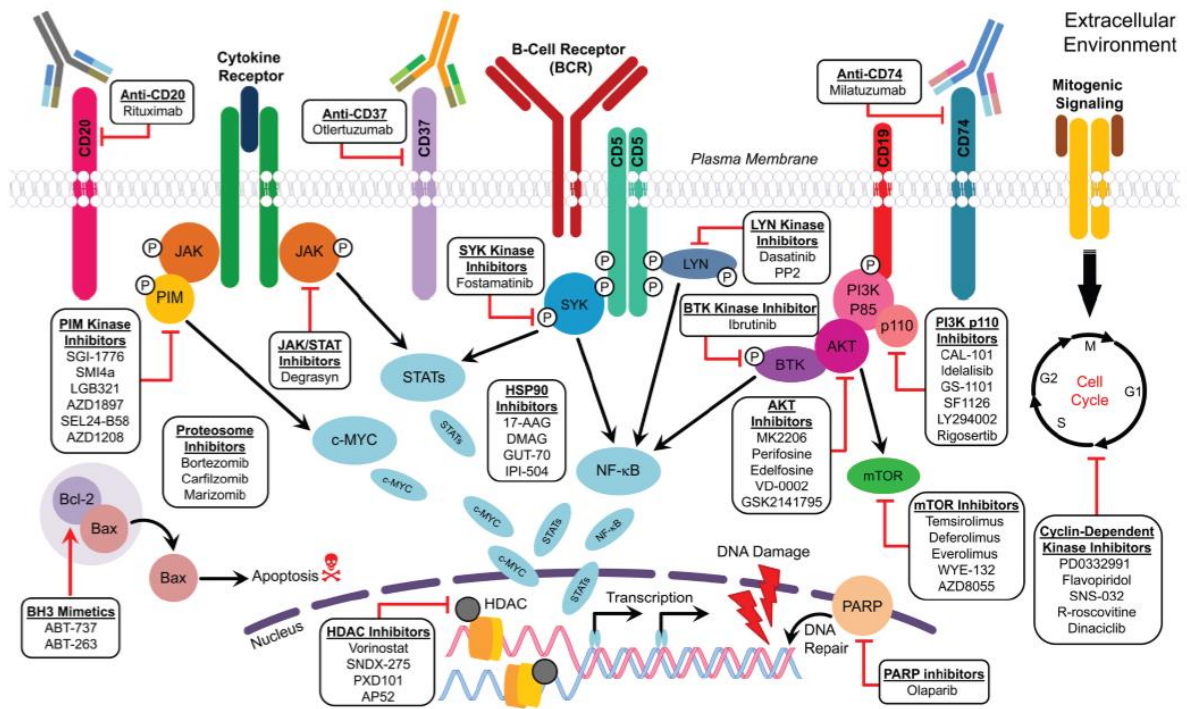


Figure 27 : illustration des différentes cibles moléculaires des thérapies ciblées dans le MCL (57)

Parmi les thérapies ciblées prometteuses dans le lymphome du manteau, nous pouvons évoquer l'Ibrutinib (IMBRUVICA). C'est une molécule inhibitrice de la *tyrosine kinase de Bruton* (BTK). Cette molécule forme une liaison covalente avec un résidu cystéine (Cys-481) au niveau du site actif de la BTK inhibant de manière prolongée son activité enzymatique. La BTK, membre de la famille des Tec kinases, est une molécule primordiale de la signalisation du récepteur antigénique des cellules B (BCR) et du récepteur des cytokines.

Les études précliniques ont montré que l'Ibrutinib inhibe efficacement la prolifération et la survie *in vivo* des cellules B malignes ainsi que la migration cellulaire et l'adhésion au substrat *in vitro*.

Cette molécule a obtenu l'AMM dans plusieurs hémopathies, à savoir :

- en monothérapie, pour le traitement des patients adultes atteints d'une LLC non précédemment traités, en cas d'anomalies de p53.

- en monothérapie ou en association à la Bendamustine et au Rituximab, pour le traitement des patients adultes atteints d'une LLC ayant reçu au moins un traitement antérieur.

- en monothérapie, pour le traitement des patients adultes atteints d'une macroglobulinémie de Waldenström ayant reçu au moins un traitement antérieur, ou en traitement de première intention chez les patients pour lesquels une chimio-immunothérapie n'est pas appropriée.

Concernant le MCL, l'Ibrutinib en monothérapie serait une option thérapeutique possible dans la prise en charge des patients en rechute ou réfractaire.

Matériel et méthode

I. Cohorte de patients et recueil des données clinico-biologiques

Nous avons étudié rétrospectivement l'immunophénotypage de prélèvements au diagnostic de patients atteints d'un lymphome du manteau depuis la mise en place d'un panel fixe en huit couleurs au CHU de Caen, soit à partir de janvier 2014 jusqu'à décembre 2019. Au total, 42 patients ont été inclus dans la cohorte : 15 ganglions et 27 prélèvements issus de sang périphérique.

Afin de comparer les patients atteints d'un MCL à la population générale, nous avons également choisi 20 prélèvements sanguins et 10 prélèvements ganglionnaires normaux d'un point de vue cytologique, phénotypique et répondant aux critères suivants :

- Absence de lymphopénie ou d'hyperlymphocytose
- Absence d'antécédent d'hémopathie
- Absence de cellules lymphoïdes B ou T anormales
- Absence de restriction des chaînes légères des immunoglobulines Kappa/Lambda
- Absence de déséquilibre du rapport des cellules lymphoïdes T CD4/CD8

17 patients ont été choisis afin d'étudier l'expression du CD43 au sein d'une population lymphocytaire T réactionnelle et répondant aux critères suivants :

- Absence d'antécédent d'hémopathie
- Absence de cellules lymphoïdes B anormales
- Absence de restriction des chaînes légères des immunoglobulines Kappa/Lambda
- Déséquilibre du rapport des cellules lymphoïdes T CD4/CD8

- Diminution de l'expression de marqueurs pan-lymphocytaires T comme le CD5 ou le CD7

Nous avons comparé la MFI (médiane d'intensité de fluorescence) du CD43 des patients atteints d'un MCL à ceux atteints d'une pathologie pour laquelle la positivité du CD43 est établie. Ainsi nous avons sélectionné 30 prélèvements sanguins mettant en évidence un clone de LLC :

- Plus de 5 G/L de lymphocytes B monoclonaux
- Score de Matutes supérieur ou égal à 4
- CD38 positif (n= 7) ou CD38 négatif (n= 23)

Le diagnostic de MCL a été posé sur l'association de données cytologiques, anatomopathologiques, immunophénotypiques, cytogénétiques, moléculaires et cliniques, en accord avec les critères de la classification actuelle de l'OMS 2016 (référentiel)

Le recueil des données cliniques des patients a été réalisé à partir du logiciel Meva® (Maincare Solution) et celui des données biologiques, à partir du logiciel TDNexLab® (TechniDATA).

II. Immunophénotypage par cytométrie en flux

Pré-analytique : le volume des anticorps utilisé est indiqué dans le [Tableau 5]. Les mix d'anticorps ont soit été préparés extemporanément en panel liquide, soit utilisés déjà mélangés sous forme lyophilisé. Les cellules mononuclées circulantes (PBMC) ont été isolées par gradient de densité (HISTOPLAQUE®). Au mélange d'anticorps, ont été ajoutés 50 µL de suspension cellulaire à la concentration de 10⁶ cellules/mL. Les préparations ont été incubées 15 min à température ambiante en cas de mélange lyophilisé ou 30 min à 4°C en cas de panel « liquide ». L'excès d'anticorps a été lavé sur l'appareil lyse/lavage BD FACS® (Becton-Dickinson) avec un protocole de lyse des globule rouge (DAKO).

Analytique : l'analyse des cellules a été effectuée soit sur le cytomètre en flux BD FACS CANTO II. L'appareil a été standardisé selon les recommandations de FranceFlow (billes de standardisation Rainbow 8 pics, Becton-Dickinson).

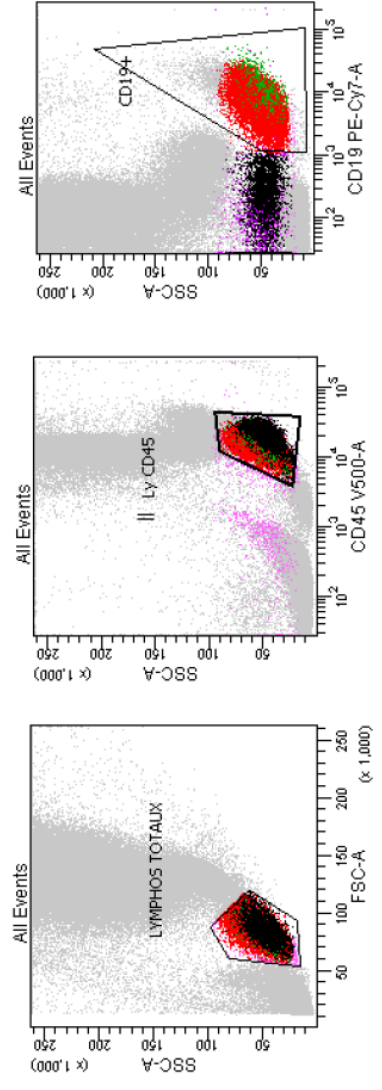
Post-analytique : l'analyse des données a été réalisée sur le logiciel DIVA® (Becton-Dickinson). Le criblage des cellules lymphomateuses d'intérêt a été réalisé à partir du graphe taille/structure (FSC/SSC) et du marqueur pan-leucocytaire, le CD45. Par consensus, un marqueur est positif quand le nombre de cellules positives est supérieur à 20%. L'intensité du marquage est définie par la médiane de fluorescence exprimée en MFI (*Median Fluorescent Intensity*). La stratégie de criblage des cellules d'intérêt est décrite dans les figures ci-dessous [Figure 28].

Tableau 5 : panel d'anticorps et de fluorochrome utilisé lors de notre étude

Fluorochromes	Volume	Tube 1	Tube 2	Tube 3
FITC	10 µL	CD43 (1G10), BD	Kappa, Dako	CD103 (BerACT8), BD
PE	10 µL	CD23 (EBVC5,5), BD	Lambda, Dako	CD123 (9F5), BD
PECy7	10 µL	CD19 (5J25C1), BD	CD19 (5J25C1), BD	CD19 (5J25C1), BD
PerCpCy5,5	10 µL	CD5 (L17F12), BD	CD5 (L17F12), BD	CD27 (L128), BD
APC-H7	2,5 µL	X	CD20 (L27), BD	X
V421	2,5 µL	X	X	CD11c (Bly6), BD
APC	2,5 µL	CD79b (SN8), BD	CD10 (Hi10), BD	CD25 (2A3), BD
V450	2,5 µL	FMC7 (P3NS1), BD	CD38 (HB7), BD	X
V500	2,5 µL	CD45 (Hi30), BD	CD45 (Hi30), BD	CD45 (Hi30), BD

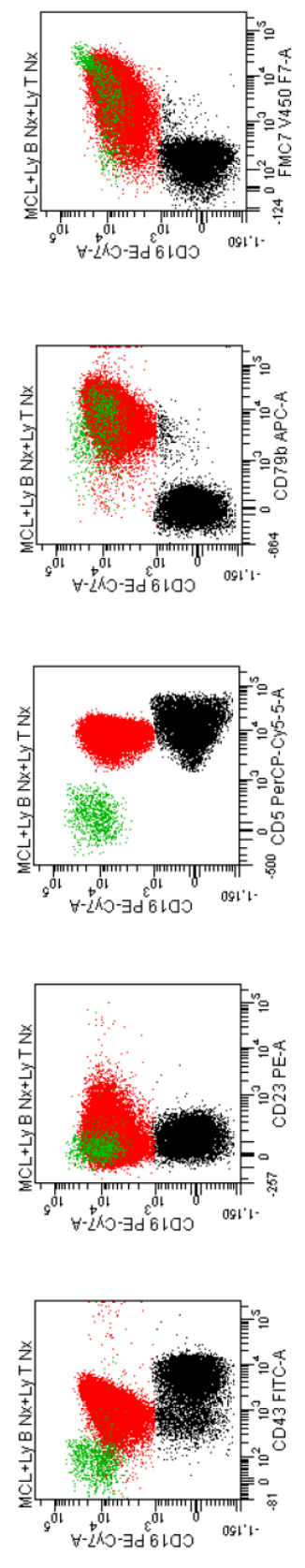
BD FACSDiva 8.5

Specimen Name: Panel SLP_001
 Tube Name: Tube_001
43 23 5 19 79b X FMC7 45



Tube: Tube_001

Population	#Events	%Parent	%Total
All Events	411,480	###	100.0
LYMPHOS TOTALUX	58,967	14.3	14.3
Ly CD45	57,563	97.6	14.0
CD19+	43,515	75.6	10.6
MCL	42,576	74.0	10.3
19+43+ MCL	41,197	96.8	10.0
19+23+ MCL	3,129	7.3	0.8
19+5+ MCL	42,576	100.0	10.3
FMC7+ MCL	42,498	99.8	10.3
19+79b+ MCL	42,425	99.6	10.3
Ly B Nk	881	1.5	0.2
19+43+ Ly B Nk	342	38.8	0.1
19+23+ Ly B Nk	5	0.6	0.0
19+5+ Ly B Nk	35	4.0	0.0
FMC7+ Ly B Nk	865	98.2	0.2
19+79b+ Ly B Nk	857	97.3	0.2
Ly T Nk	9,466	16.4	2.3
19+43+ Ly T Nk	367	3.9	0.1
19+23+ Ly T Nk	2	0.0	0.0
19+5+ Ly T Nk	0	0.0	0.0
FMC7+ Ly T Nk	119	1.3	0.0
19+79b+ Ly T Nk	147	1.6	0.0



Population	FSC-A Median	SSC-A Median	CD43 FITC-A Median	CD23 PE-A Median	CD5 PerCP-Cy5-5-A Median	CD19 PE-Cy7-A Median	CD79b APC-A Median	FMC7 V450 F7-A Median
MCL	80,991	49,022	1,216	102	8,789	7,446	8,711	4,922
Ly B Nk	80,352	46,788	74	35	148	11,944	4,708	4,770
Ly T Nk	82,904	45,531	4,978	127	12,421	89	-28	168

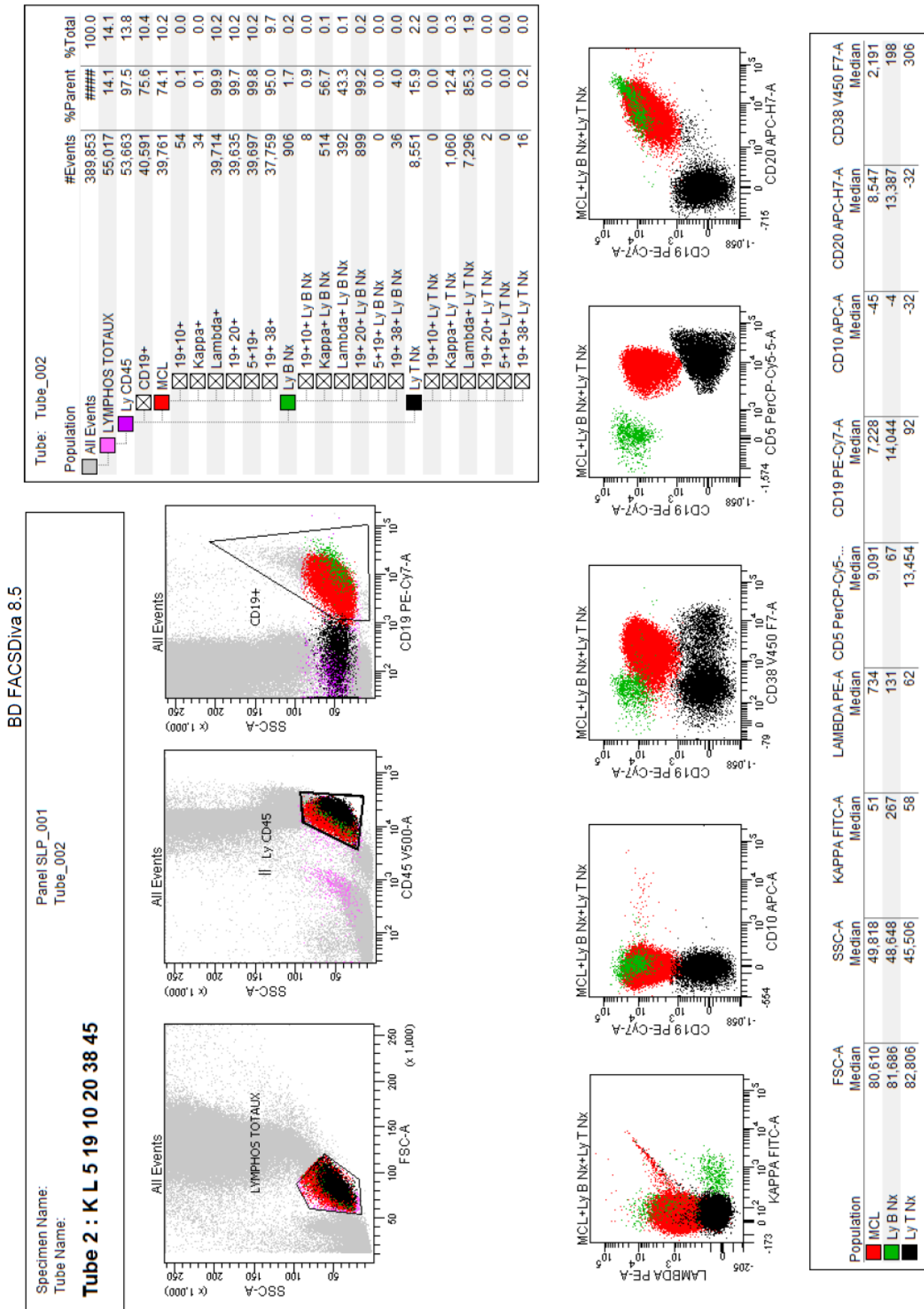


Figure 28 : stratégie de criblage des cellules du manteau pour les patients inclus dans l'étude

Légende : rouge : cellules du manteau ; vert : lymphocytes B normaux ; noir : lymphocytes T normaux

III. Analyse de biologie moléculaire par RT-qPCR

La real-time quantitative PCR (RT-qPCR) est une méthode particulière permettant de faire une PCR quantitative à partir d'un échantillon d'ARN pour travailler sur de l'ADN complémentaire (ADNc) obtenu par *reverse transcription*. Elle mesure le nombre de copies en continu durant le processus d'amplification. Cette technique a été utilisée pour rechercher une anomalie génétique du gène de la cycline D1, D2 et SOX11 et la quantifier par rapport à un gène de référence ubiquitaire, celui de la β 2-microglobuline. Cette technique a été adaptée selon *Hamborg et al.* (99).

Pré-analytique : les extractions d'ARN ont été réalisées sur l'automate MAXWELL®. La réaction d'amplification a été permise suite à la préparation de mix selon le protocole suivant [Tableau 6], les amorces utilisées sont résumées dans le [Tableau 7].

Tableau 6 : préparation des « mix » RT-qPCR pour la détection de la surexpression de CCND1, CCND2 et SOX11

Réactifs	Concentration	Volume
MASTER MIX Probes Master	2X	10 μ L
Amorce Forward	60 μ M	0,1 μ L
Amorce Reverse	60 μ M	0,1 μ L
Sondes	5 μ M	0,8 μ L
ADNc	-	2 μ L
Eau	-	Qsp 20 μ L

Tableau 7 : couples d'amorces utilisées pour l'analyse en RT-qPCR

	CCND1	CCND2	SOX11
Amorce sens	5'-CTG-GCC-ATG-AAC-TAC-CTG-GA-3'		5'-ACT-CCA-ATG-TCT-CTT-TTG-C-3'
Amorce anti-sens	5'-GTC-ACA-CTT-GAT-CAC-TCT-GG-3'	5'-CAT-GGC-AAA-CTT-AAA-GTC-GG-3'	5'-TAG-AAG-TTT-TTT-TTT-TTT-TTT-TTC-AGG-CAA-G-3'

Analytique : la réaction d'amplification a été réalisée sur le Light Cycler® 480 Instrument II de Roche selon le programme suivant [Tableau 8].

Tableau 8 : programme d'amplification sur le thermocycleur

Etape	Température	Durée
Dénaturation	94°C	3 min
Dénaturation Hybridation Elongation	94°C 51°C 72°C	30 sec 45 sec 1 min
Elongation	72°C	7 min

| 35 cycles

Post-analytique : l'analyse des données a été effectuée sur le logiciel Light Cycler® 480 SW 1.5.1 et la validation technique des RT-qPCR est basée sur la méthode de quantification relative « delta-delta-Ct ».

IV. Analyses statistiques

Les représentations statistiques du test de Kaplan-Meier sur la survie sans progression (PFS) et la survie globale (OS) ont été réalisées sur le logiciel GraphPad Prism® version 8 et les *p-values* ont été calculées avec le Log-rank test. La TFS a été calculée à partir de la date du diagnostic jusqu'à la date du premier traitement (ou du dernier jour de suivi). L'OS a été calculée à partir de la date du diagnostic jusqu'à la date du décès (ou du dernier jour de suivi). La PFS a été calculée à partir de la date du diagnostic jusqu'à la date de progression de la maladie, de rechute ou de décès (ou du dernier jour de suivi). Les tests statistiques de Mann-Whitney ainsi que les analyses univariées et multivariées ont également été réalisés sur le logiciel GraphPad Prism® version 8. Des *p-values* <0,05 ont été considérées comme significatives.

Résultats

I. Analyse épidémiologique de la cohorte de patients

A partir d'une cohorte rétrospective de 42 patients [Annexe 3], nous retrouvons un âge moyen au diagnostic de 73 ans, avec une médiane à 75 ans [46-93 ans]. La population d'étude est majoritairement masculine (n=31) avec un *sex-ratio* H/F à 2.8/1. La médiane de suivi des patients était de 33.3 mois [0-56.4 mois] soit 2.3 années.

Concernant les données biologiques, sur l'hémogramme, étaient retrouvées une anémie et une thrombopénie dans 54.5% (12/22) des cas, une neutropénie dans 18.2% des cas (4/22) et une hyperlymphocytose dans 63% des cas (17/27). Une augmentation des LDH se manifeste chez 61% des patients (14/23).

Cliniquement, des adénopathies et une splénomégalie ont été retrouvées respectivement dans 81% (30/37) et 58% (21/36) des patients. Ainsi, 9% (2/23) des patients ont été classés en stade I/II selon la classification de Ann-Arbor et 91% (21/23) en stade III/IV.

Sur l'ensemble de la cohorte, nous avons rassemblé la notion de traitement chez 38 patients. Ils ont été traités dans 89% (34/38) des cas, avec une médiane de durée sans traitement (TFS) de 41 jours [1-602 jours]. Parmi les patients traités, 85% (29/34) ont reçu un traitement à partir d'immunochimiothérapie.

Sur l'ensemble de la cohorte, 6 patients ont rechuté et 67% (4/6) d'entre eux ont bénéficié de thérapies ciblées à partir d'Ibrutinib.

II. Analyse moléculaire de la cohorte

La surexpression de *CCND1*, *CCND2* et *SOX11* a été recherchée à partir de prélèvements sanguins. Ainsi, des données concernant 20 patients de la cohorte ont pu être exploitées [Tableau 9].

Quatre-vingt-quinze pourcent (19/20) des patients présentaient, au diagnostic, une surexpression de la cycline D1, 10% (2/20), une surexpression de la cycline D2 et enfin 75% (15/20) une surexpression de *SOX11*.

Tableau 9 : profil mutationnel des patients MCL dans le sang périphérique (n=20)

	<i>CCND1</i>	<i>CCND2</i>	<i>SOX11</i>	<i>CCND1+</i> / <i>SOX11-</i>	<i>CCND1+</i> / <i>SOX11+</i>	<i>CCND1-</i> / <i>SOX11+</i>
% (effectif n=20)	95% (19)	10% (2)	75% (15)	25% (5)	70% (14)	5% (1)

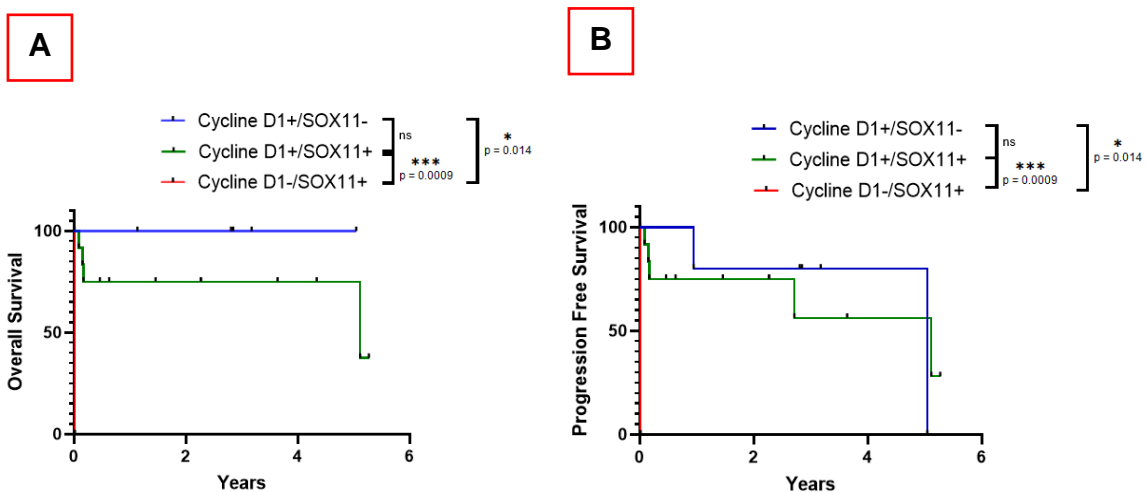


Figure 29 : OS et PFS selon le profil mutationnel de la *CCND1* et *SOX11* des patients de l'étude

Représentation de Kaplan-Meier de A) la survie globale (OS) et B) de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un MCL en fonction de la surexpression de la cycline D1, de la cycline D2 et de *SOX11*.

Les médianes de survie pour l'OS et la PFS sont [Figure 29] :

- pour les patients cycline D1+/SOX11+ : 5.11 années [0,00 ; 5.27].
- pour le patient cycline D1-/SOX11+ : 0.0137 années.
- pour les patients cycline D1+/SOX11-, la médiane de survie pour l'OS n'a pas été atteinte, tandis que pour la PFS, elle est estimée à 5.05 années [0.95 ; 5.05].

III. Analyse phénotypique de la cohorte

1. Profil d'expression phénotypique général

Un immunophénotypage au diagnostic a été réalisé pour tous les patients inclus dans l'étude (n=42) [Tableau 10]. Il a été mis en évidence que 100% (n=42) des cellules de MCL sont CD5, CD19 et CD79b positifs. Cependant, il a été mis en évidence, au sein de notre étude, de variants phénotypiques avec 2.4% (n=1) CD10 positif, 7.1% (n=3) FMC7 négatif et 12% CD23 positif (n=5).

Tableau 10 : profils d'expression phénotypique dans le sang périphérique (n=27) et dans le ganglion (n=15)

	CD19+	CD5+	CD23+	CD79b+	FMC7+	CD20+	CD10+	CD38+	Chaines des Ig	
	+	+	+	+	+	+	+	+	κ	λ
Sang										
% (effectif)	100% (27)	100% (27)	19% (5)	100% (27)	93% (25)	93% (25)	4% (1)	52% (14)	70% (19)	30% (8)
Ganglion										
% (effectif)	100% (15)	100% (15)	0%	100% (15)	93% (14)	100% (15)	0%	93% (14)	73% (11)	27% (4)

a. Cellules lymphoïdes normales

Sur les 20 prélèvements sanguins phénotypiquement normaux (Sg Nx), nous observons que la MFI du CD43 était significativement plus élevée au sein des lymphocytes T [Figure 30.A] (moyenne de la MFI parmi les lymphocytes B et T à 25.4 et 3701 respectivement, $p < 0.0001$).

Parmi les 10 prélèvements ganglionnaires normaux (Gg Nx), l'expression du CD43 était plus élevée dans les Ly T comparativement aux Ly B (67 vs 1672, $p < 0.0001$) [Figure 30.B].

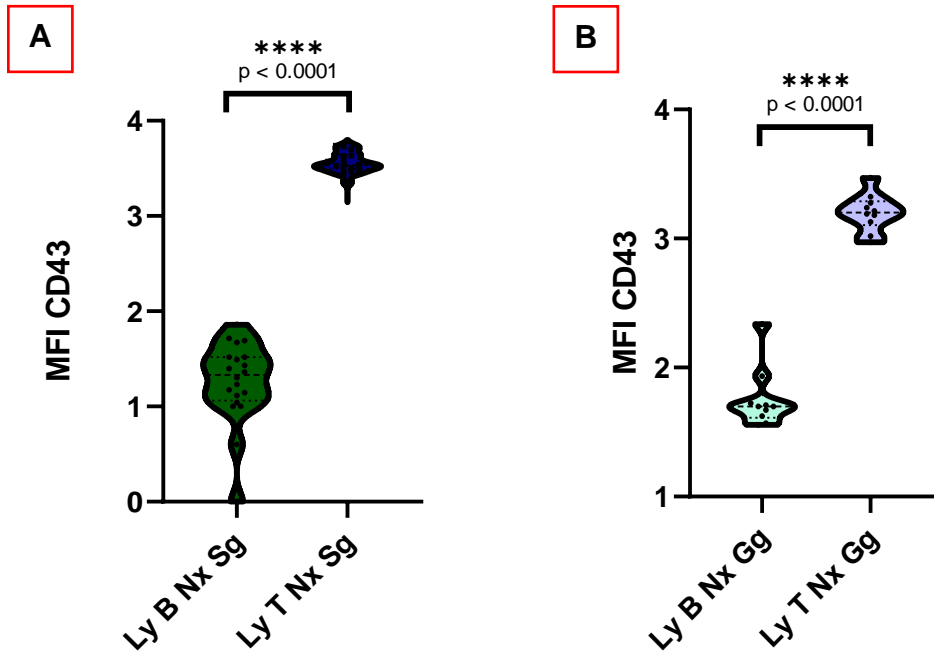


Figure 30 : expression du CD43 parmi les lymphocytes B et T normaux dans A) le sang périphérique (n=20) et B) le ganglion (n=10) (représentation logarithmique)

b. CD43 et LLC

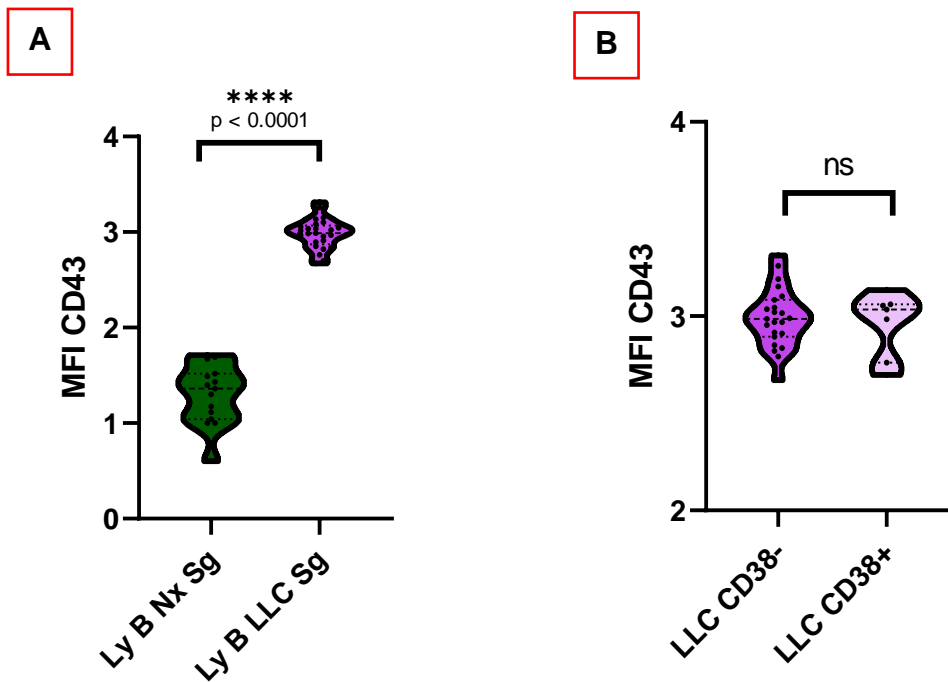


Figure 31 : expression du CD43 parmi A) les Ly B Nx (n=20) et les Ly B de la LLC (n=30) et B) les Ly B des LLC CD38+ et CD38- (respectivement n=7 et 23) dans le sang périphérique (représentation logarithmique)

La comparaison à des échantillons de LLC [Figure 31.A] (pathologie de référence pour laquelle le CD43 est fortement exprimé) mettait en évidence de manière attendu que la moyenne de la MFI du CD43 était significativement plus élevée que chez les Ly B normaux (1022 vs 24.7, $p < 0.0001$).

Cependant, la MFI du CD43 ne diffère pas significativement entre une LLC CD38 positive et une LLC CD38 négative [Figure 31.B].

c. Cohorte totale

Nous avons ensuite étudié la répartition de l'expression du CD43 au sein de notre cohorte de patients.

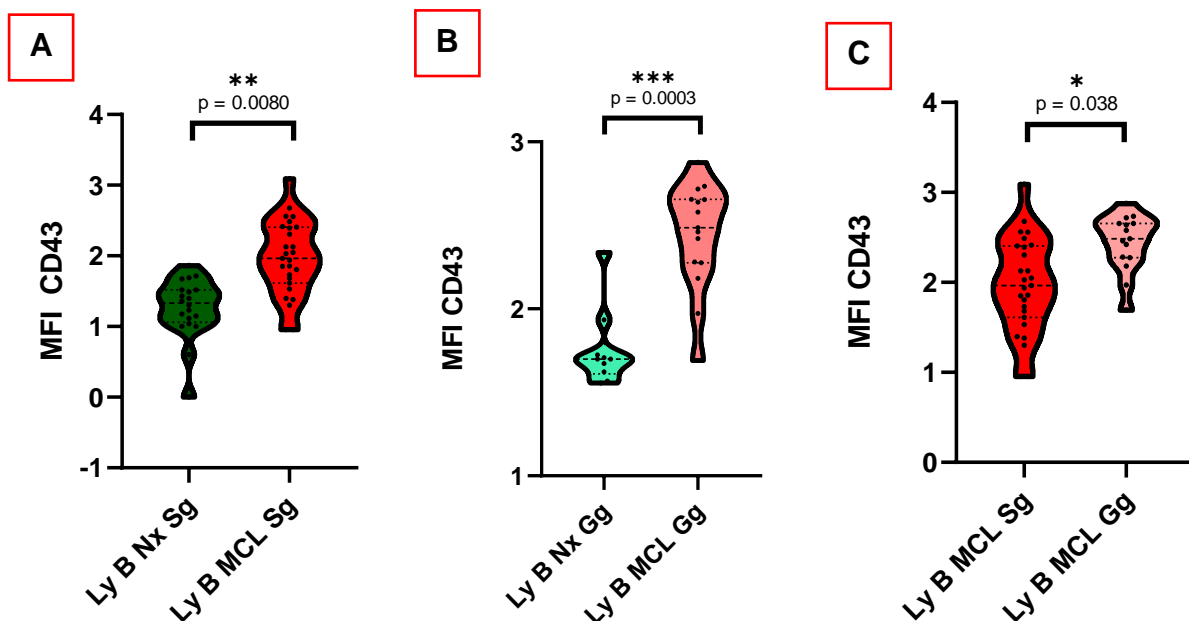


Figure 32 : comparaison d'expression du CD43 des cellules B du manteau et A) les Ly B sanguins, B) les Ly B ganglionnaires. C) comparaison d'expression du CD43 des cellules B du manteau entre le sang ($n=27$) et le ganglion ($n=15$) (représentation logarithmique)

La MFI du CD43 dans les Ly B MCL était significativement plus élevée que chez les Ly B Nx aussi bien dans le sang périphérique que dans le ganglion (moyenne à 179.4 vs 25.4 $p=0.008$ et 351.5 vs 67 $p=0.003$ respectivement) [Figure 32.A.B].

De plus, l'expression du CD43 était significativement plus importante dans les échantillons ganglionnaires par rapport aux échantillons sanguins [Figure 32.C] (174.3 et 371.7 respectivement, $p=0.038$).

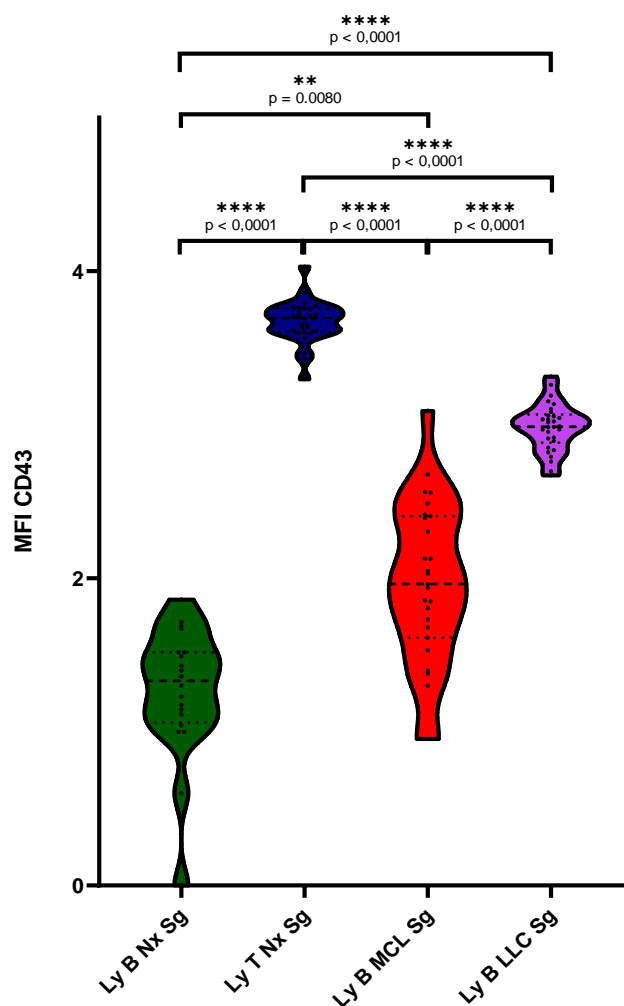


Figure 33 : expression du CD43 parmi les différentes populations cellulaires étudiées dans le sang périphérique (représentation logarithmique)

Finalement, l'expression du CD43 est quasi nulle pour les lymphocytes B normaux tandis qu'elle est importante pour les lymphocytes T. Les cellules du manteau, qui sont des lymphocytes B malins, expriment le CD43, davantage que les Ly B Nx mais moins fortement que ceux dans la LLC. L'expression du CD43 dans les MCL semble bimodale avec une cohorte fortement expresseur et une cohorte négative, proche du taux d'expression des Ly B Nx [Figure 33]. Ce constat est également observable dans le ganglion [Figure 34].

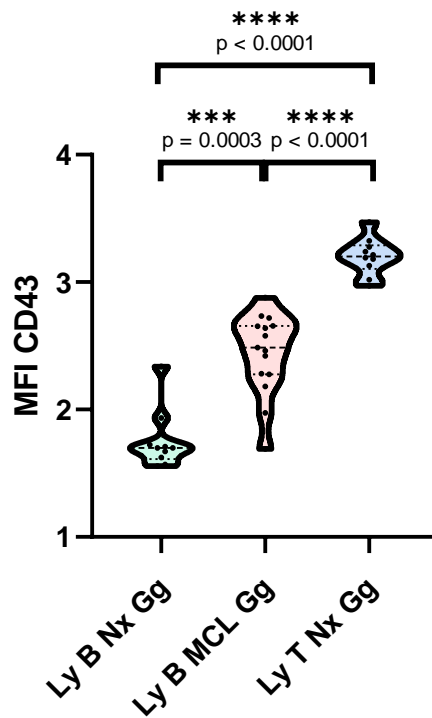


Figure 34 : expression du CD43 parmi les différentes populations cellulaires étudiées dans le ganglion (représentation logarithmique)

d. Ratio de fluorescence

Dans la recherche d'une standardisation inter-laboratoire (la MFI pouvant être délicate d'interprétation), nous avons alors souhaité travailler avec un ratio de médiane d'intensité de fluorescence (RFI) tel que :

$$RFI = \frac{MFI\ CD43\ Ly\ B\ MCL}{MFI\ CD43\ Ly\ T\ MCL}$$

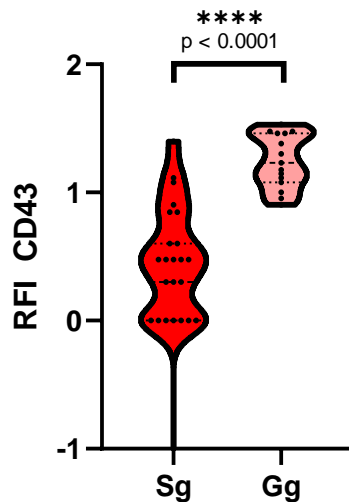


Figure 35 : expression du CD43 parmi les lymphocytes B MCL dans le sang périphérique et le ganglion (représentation logarithmique)

Le RFI était significativement plus élevé dans le ganglion que dans le sang périphérique (moyenne des ratios : 3.9 versus 19.6 respectivement, $p < 0.0001$) [Figure 35].

Pour rechercher si l'augmentation du RFI du CD43 dans le ganglion était expliquée seulement par une augmentation d'expression du CD43 par les Ly B MCL ganglionnaire, nous avons étudié les expressions du CD43 dans les lymphocytes T de différents compartiments (sang et ganglion) et états (normaux et réactionnels).

La différence entre la MFI moyenne du CD43 des Ly T réactionnels (5496) et Ly T des patients MCL (4955) était non significative. En revanche, ces deux populations cellulaires ont une expression plus importante du CD43 par rapport aux Ly T normaux (3701, $p=0,003$) [Figure 36.A].

A l'inverse, l'expression du CD43 dans le ganglion ne diffère pas entre les Ly T normaux et les Ly T chez les patients atteints d'un MCL (1593 vs 1703) [Figure 36.B].

Lorsque que l'on compare l'expression du CD43 des Ly T de patients MCL, la MFI moyenne du CD43 des Ly T dans le sang est bien plus importante que dans le ganglion (4924 versus 2017 $p < 0.0001$) [Figure 36.C].

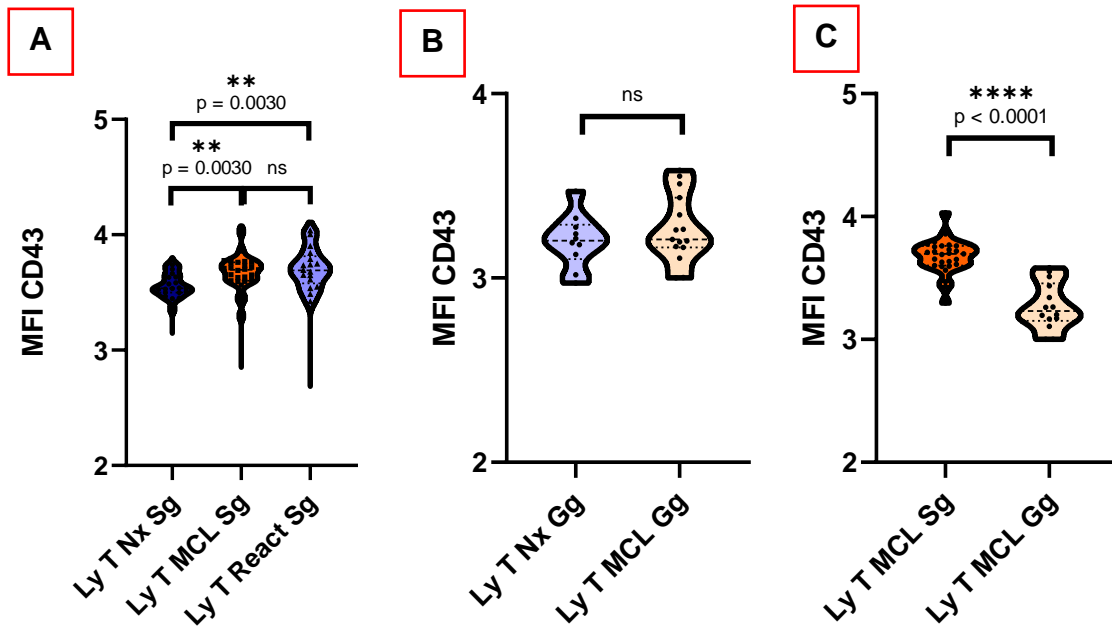


Figure 36 : expression du CD43 parmi les lymphocytes T A) normaux et réactionnels dans le sang périphérique, B) normaux et chez les patients MCL et C) chez des patients MCL dans le sang périphérique et le ganglion (représentation logarithmique)

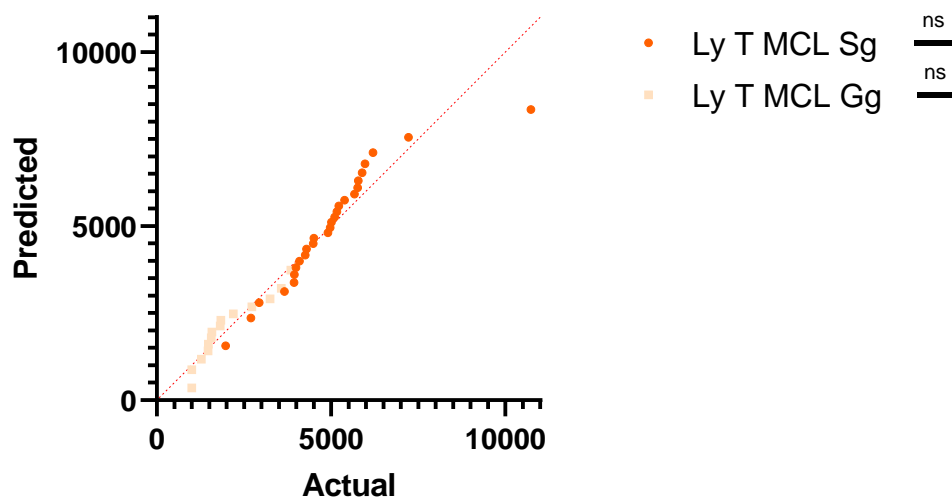


Figure 37 : QQ-plot, l'expression du CD43 suit une loi normale parmi les patients MCL dans le sang et le ganglion

La grande variabilité de l'expression du CD43 des lymphocytes T (normaux et réactionnels) pourrait être un frein à l'utilisation d'un RFI. Afin de s'affranchir de cette limite nous avons étudié la distribution de l'expression du CD43 dans les Ly T des patients MCL. La distribution de l'expression du CD43 parmi les lymphocytes T MCL suit une loi normale. La différence d'expression du CD43 dans le sang périphérique est non significative, tout comme dans le ganglion [Figure 37]. Le ratio de MFI entre les lymphocytes B anormaux et les lymphocytes T des patients atteints de MCL peut donc être utilisé pour étudier l'expression du CD43.

e. Patients appariés : sang et ganglion

Pour donner suite aux observations faites concernant la MFI du CD43 significativement supérieure dans le ganglion que dans le sang, nous avons étudié le profil phénotypique chez 4 patients, pour lesquels, nous avons réalisé un immunophénotypage, au diagnostic, dans le sang et dans le ganglion [Figure 38.A.B] :

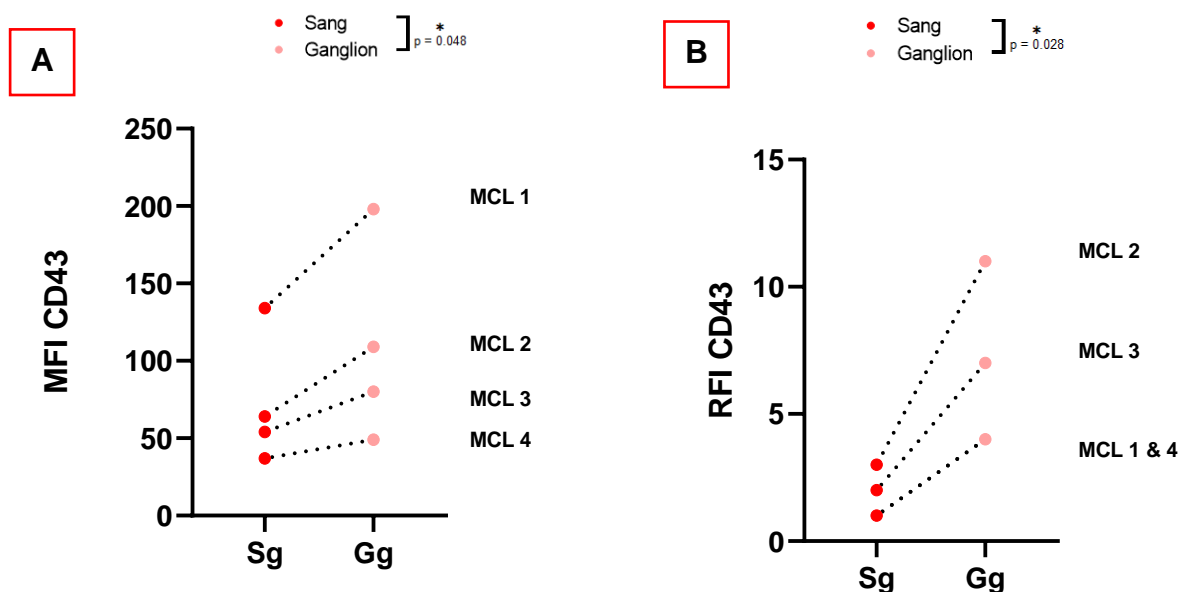


Figure 38 : différence d'expression du CD43 dans le sang et le ganglion chez des patients appariés via A) les MFI et B) les RFI

Comme observé au sein de notre cohorte totale, la MFI et le RFI du CD43 étaient significativement plus élevés dans le ganglion que dans le sang.

3. Seuil de positivité du CD43

L'objectif de ce travail était également de déterminer, à partir de notre cohorte de patient, un seuil de positivité du CD43. En effet, n'ayant pas systématiquement de contrôle interne négatif (lymphocyte B normaux) en cas de lymphome du manteau, la détermination de la positivité du CD43 peut être délicate.

Pour cela, nous avons classé les patients de différentes façons :

- Positivité si 20% de cellules exprimant le CD43 avec un seuil arbitraire d'expression à 10^3 (seuil habituellement admis pour une expression forte)
- Positivité selon l'interprétation biologique de l'immunophénotypage en routine (utilisation des Ly B Nx en contrôle interne négatif ou des Ly T Nx en contrôle interne positif).

Le cut-off d'expression de 10^3 n'étant pas adapté à la pathologie, nous avons défini un seuil arbitraire de positivité du CD43 dans le sang périphérique, à une MFI de 300 et un RFI de 5 d'après les résultats de l'interprétation biologique [Tableau 11].

Tableau 11 : détermination d'un cut-off optimal de positivité du CD43 dans le sang périphérique

	Interprétation biologique		20% à 10^3	
	CD43-	CD43+	CD43-	CD43+
Effectif n	16/27	11/27	25/27	2/27
Médiane MFI [min-max]	50,5 [9-247]	231 [87-1235]	231 [9-365]	855 [475-1235]
Médiane RFI [min-max]	1 [0-4]	5,5 [1-25]	5,5 [0-13]	18,5 [12-25]

De la même façon, dans les prélèvements ganglionnaires, un seuil arbitraire a été fixé dans le ganglion : une MFI à 500 et un cut-off à 15 [Tableau 12]

Tableau 12 : détermination d'un cut-off optimal de positivité du CD43 dans le ganglion

	Interprétation biologique		20% à 10 ³	
	CD43-	CD43+	CD43-	CD43+
Effectif n	5/15	10/15	1/15	14/15
Médiane MFI [min-max]	141,5 [94-380]	405,5 [191-755]	755	141,5 [94-551]
Médiane RFI [min-max]	11 [8-30]	22 [12-34]	20	11 [8-34]

4. Analyse de survie en fonction du CD43

a. Sang périphérique

Dans notre étude, pour une MFI positive fixée à 300, il a été mis en évidence une différence significative sur la survie globale (OS) et la survie sans progression (PFS) chez les patients CD43+ (n=5) par rapport aux patients CD43- (n=22) [Figure 39.A.B]. Les médianes de survie sont de :

- pour les patients CD43- : la médiane de survie de l'OS non atteinte tandis que celle de la PFS est de 4.7 années [0.00-5.27].
- pour les patients CD43+, pour l'OS et la PFS, sont estimées à 0.170 années [0.01-5.12].

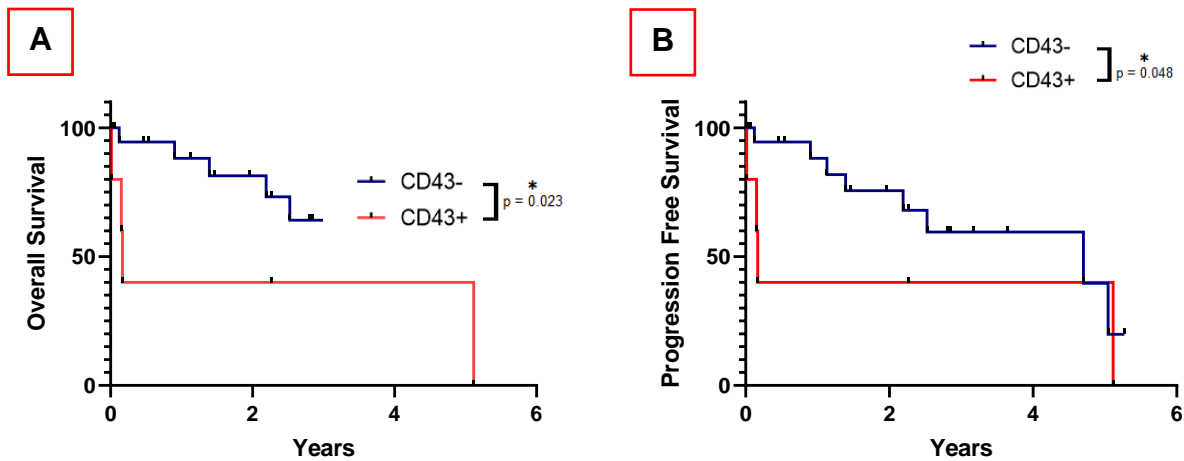


Figure 39 : OS et PFS selon la positivité du CD43 dans le sang périphérique (MFI)
 Représentation de Kaplan-Meier de A) la survie globale (OS) et B) de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un MCL en fonction de la positivité du CD43 avec un cut-off de la MFI fixé à 300
 Effectifs : n (CD43+) = 5 ; n(CD43-) = 22

Pour un RFI défini à 5 dans le sang périphérique, l'OS était significativement moins favorable ($p=0.041$) chez les patients CD43+ (n=3). En revanche, nous n'avions pas observé de différence significative sur la PFS [Figure 40]. Les médianes de survie pour l'OS et la PFS sont respectivement de :

- pour les patients CD43- : 5.11 [0-5.27] et 4.70 années [0-5.27].
- pour les patients CD43+ : 1.35 années pour les deux paramètres [0.01-3.64].

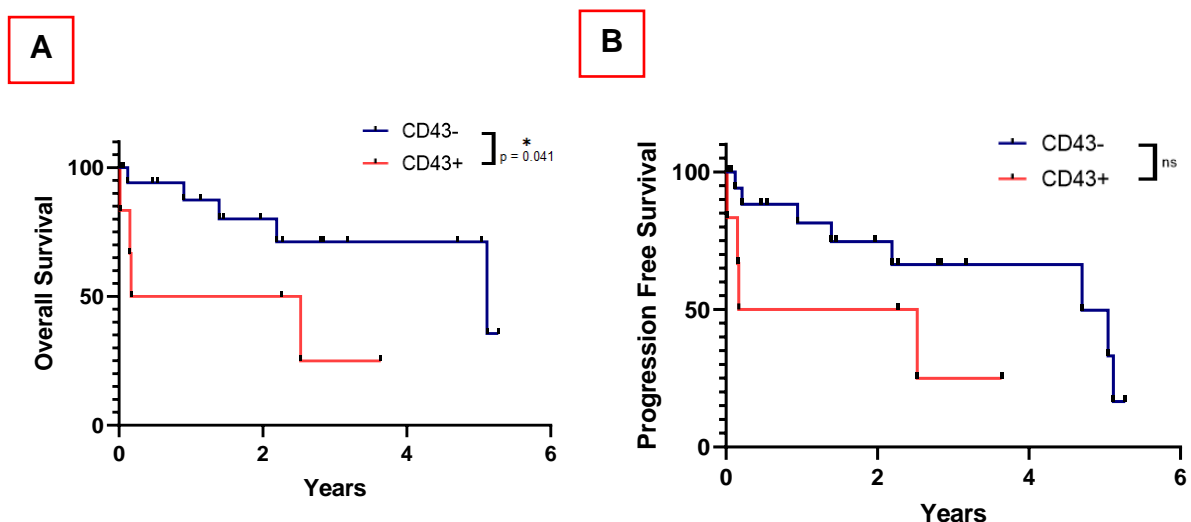


Figure 40 : OS et PFS selon la positivité du CD43 dans le sang périphérique (RFI)
 Représentation de Kaplan-Meier de A) la survie globale (OS) et B) de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un MCL en fonction de la positivité du CD43 avec un cut-off de la RFI fixé à 5.
 Effectifs : n (CD43+) = 5 ; n(CD43-) = 22

b. Ganglion

Dans notre série, pour une MFI positive fixée à 500 dans un ganglion, nous avons une différence significative ($p=0.033$) sur l'OS et la PFS chez les patients CD43+ (n=3) par rapport aux patients CD43- (n=12). En effet, la survie à 2 ans était à 30% chez les patients positifs et à 60% chez les patients négatifs pour ce marqueur [Figure 41]. Les médianes de survie pour l'OS et la PFS sont respectivement de :

- pour les patients CD43- : 2.97 [0.00-4.86] et 2.71 années [0.00-4.86].
- pour les patients CD43+ : 0.534 années [0.17-1.87] pour les deux paramètres.

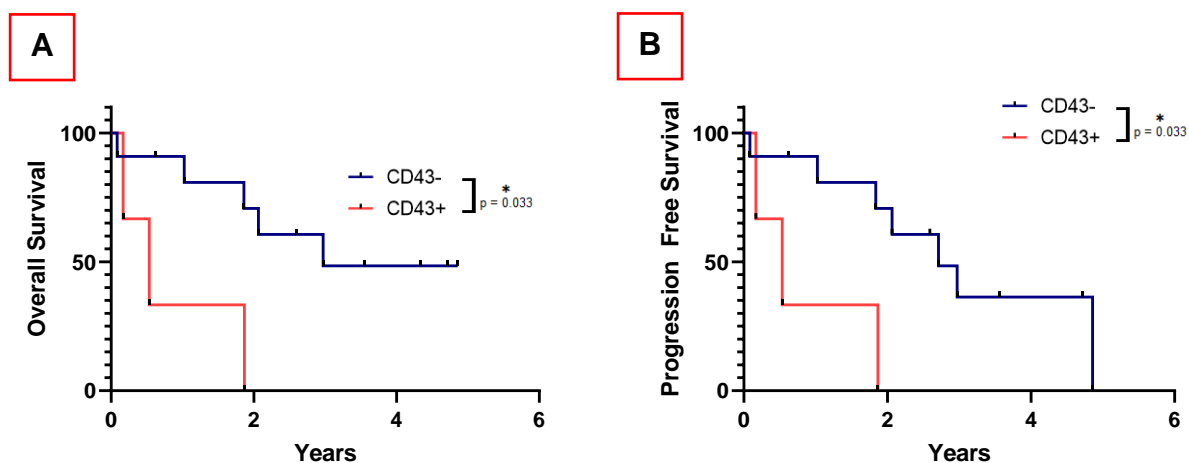


Figure 41 : OS et PFS selon la positivité du CD43 dans le ganglion (MFI)

Représentation de Kaplan-Meier de A) la survie globale (OS) et B) de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un MCL en fonction de la positivité du CD43 avec un cut-off de la MFI fixé à 500. Effectifs : n (CD43+) =3 ; n(CD43-) =12

Pour un RFI défini à 15 dans le ganglion, nous n'avons pas observé de différence significative sur l'OS et la PFS entre les patients CD43 positif ou négatif [Figure 42 A.B]. Les médianes de survie pour l'OS et la PFS sont respectivement de :

- pour les patients CD43- : 2.66 [0.08-4.34] et 2.06 années [0.08-3.56].
- pour les patients CD43+ : 2.97 années [0.17-4.86] pour les deux paramètres.

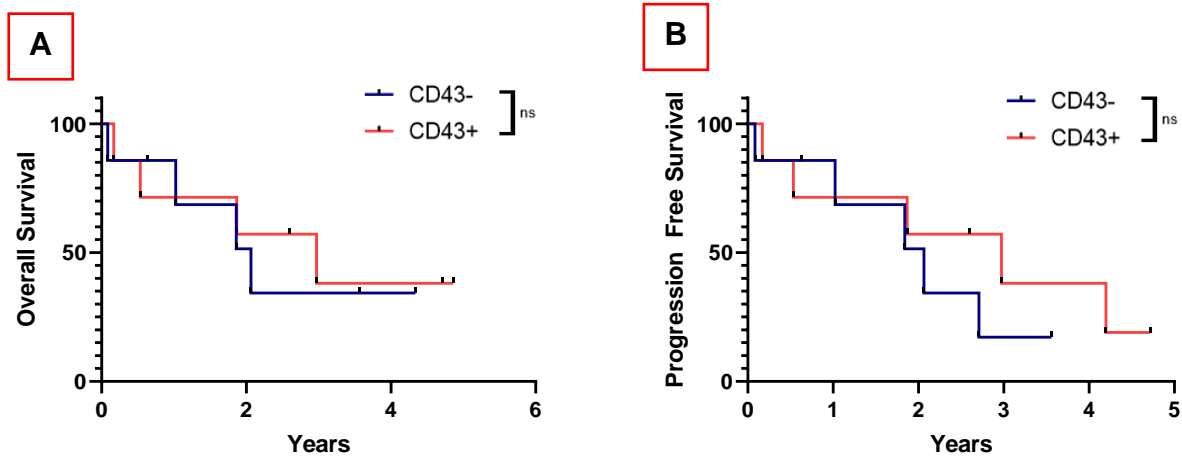


Figure 42 : OS et PFS selon la positivité du CD43 dans le ganglion (RFI)

Représentation de Kaplan-Meier de A) la survie globale (OS) et B) de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un MCL en fonction de la positivité du CD43 avec un cut-off de la RFI fixé à 15.

Effectifs : n (CD43+) =3 ; n(CD43-) =12

D'autres seuils de positivité du CD43 ont été abordés dans le sang périphérique et le ganglion et sont décrits en [Annexe 4] et [Annexe 5] mais n'ont pas semblé être adaptés pour ce marqueur.

c. Caractéristiques globales en fonction du CD43

Tableau 13 : analyse épidémiologique de la cohorte de patients étudiés en fonction du CD43

	CD43- (n=34)	CD43+ (n=8)	TOTAL (n=42)
Age au diagnostic (années) (Médiane [min-max])	76 [46-93]	70,5 [63-90]	75 [46-90]
Ratio H/F	2,8/1	3/1	2,8/1
Anémie (% , n)	58,8% (10/17)	40% (2/5)	54,5% (12/22)
Thrombopénie (% , n)	47,1% (8/17)	40% (2/5)	45,5% (10/22)
Neutropénie (% , n)	23,5% (4/17)	0% (0/5)	18,2% (4/22)
Lymphocytose (% , n)	64,7(11/17)	60% (3/5)	63,6% (14)
Traitement (% , n)	90% (27/30)	87,5% (7/8)	89,5% (34/38)
TFS (mois) (Médiane [min-max])	1,35 [0,03-19,8]	1,12 [0,23-14,7]	1,02 [0,03-19,8]
Rechute (% , n)	21% (7/34)	0% (0/8)	16,7% (7/42)
Décès (% , n)	67,6% (23/34)	87,5% (7/8)	71,4% (30/42)
OS (mois) (Médiane [min-max])	24,1 [0-63,2]	4,23 [0,16-61,4]	27,2 [0-63,2]
PFS (mois) (Médiane [min-max])	24,1 [0-63,2]	4,23 [0,16-61,4]	27,2 [0-63,2]

Définitions : Anémie : taux d'hémoglobine < 120 g/L pour les femmes et < 130 g/L pour les hommes ; Thrombopénie : taux de plaquettes < 150 G/L ; Neutropénie : taux de polynucléaires neutrophiles < 1.5 G/L ; Lymphocytose : lymphocytes > 4 G/L.

Abréviations : OS : survie globale ; PFS : survie sans progression

5. Analyse de survie en fonction du CD38 et CD43

L'expression du CD38 étant décrit comme de mauvais pronostic, nous souhaitons croiser l'expression du CD43 avec celle du CD38 et observer l'impact sur la survie chez les patients atteints d'un MCL.

a. Sang périphérique

La positivité du CD38 (fixé à 20%) s'observait davantage chez les patients exprimant le CD43 (avec un cut-off à 300) [Figure 43.A]. Cependant, le test de

corrélation montre que l'intensité d'expression du CD38 n'est pas corrélée à celle du CD43 [Figure 43.B]. Il n'a pas été mis en évidence une différence significative sur l'OS et la PFS chez les CD38+/CD43+ par rapport aux patients CD38+/CD43- [Figure 43 C, D].

Les médianes de survie pour l'OS et la PFS sont respectivement de :

- pour les patients CD38+/CD43+ : 0.167 années [0.01-5.12] pour les deux paramètres
- pour les patients CD38+/CD43- : 2.36 [0.05-5.27] et 2.52 années [0.05-5.27].
- pour les patients CD38-/CD43- : la médiane de survie n'a pas été atteinte.

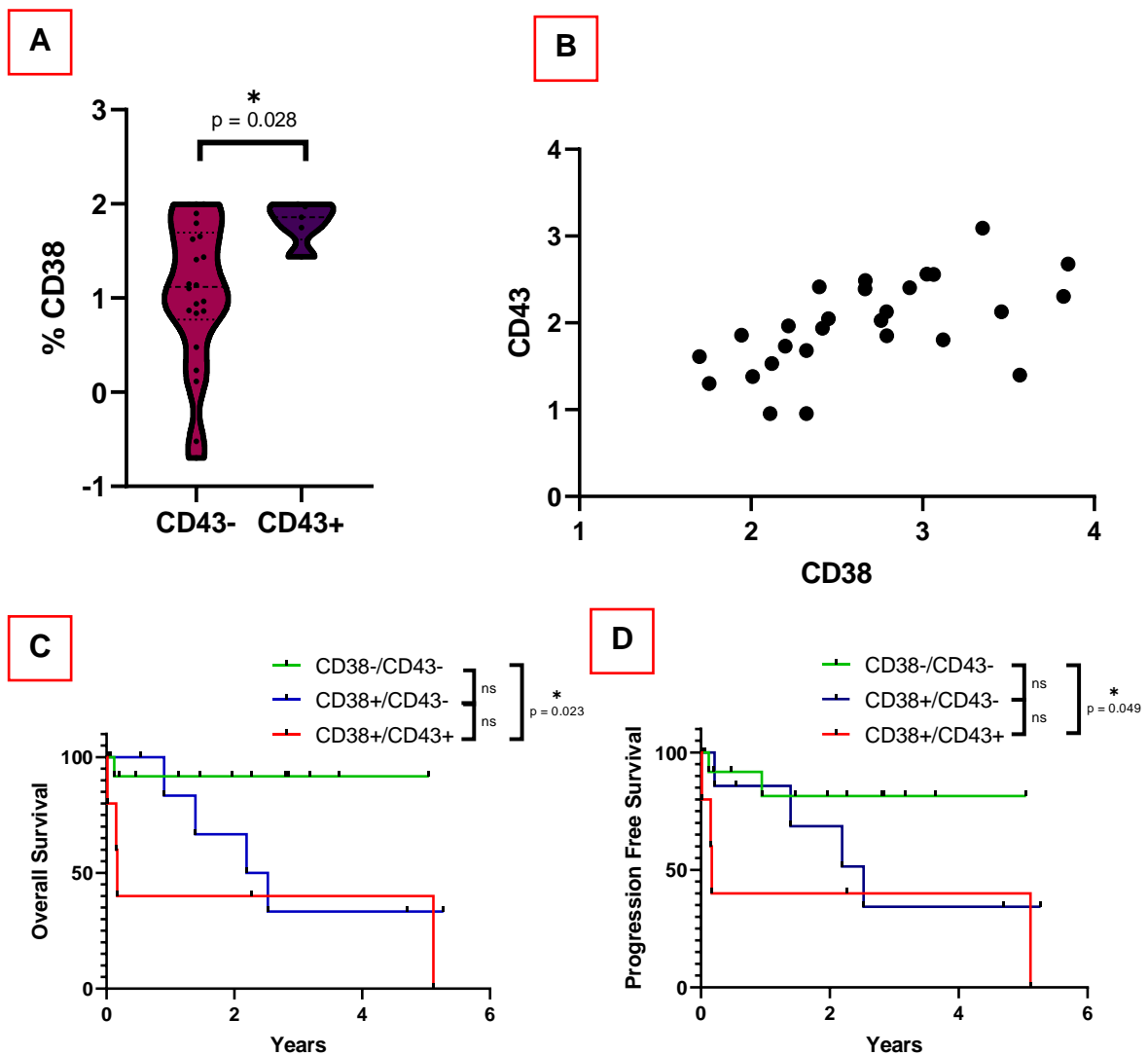


Figure 43 : analyse de survie du CD38 et du CD43 dans le sang périphérique

Représentation de A) l'expression du CD38 en fonction de la positivité du CD43, B) la corrélation entre l'expression du CD38 et du CD43 et C) Kaplan-Meier de la survie globale (OS) en fonction de la positivité du CD38 (20%) et du CD43 (MFI à 300).

b. Ganglion

L'expression du CD38 ne différait pas dans le ganglion selon la positivité du CD43 [Figure 44.A]. De plus, l'expression du CD43 n'était pas corrélée à l'expression du CD38 [Figure 44.B]. Enfin, la double positivité du CD43 et du CD38 impactait significativement l'OS et la PFS des patients par comparaison aux patients CD38 positif seul [Figure 44.C et D].

Les médianes de survie pour l'OS et la PFS sont de :

- pour les patients CD38+/CD43+ : 0.534 années [0.17-1.87] pour les deux paramètres.
- pour les patients CD38+/CD43- : 2.97 années [0.00-4.86] pour les deux paramètres.

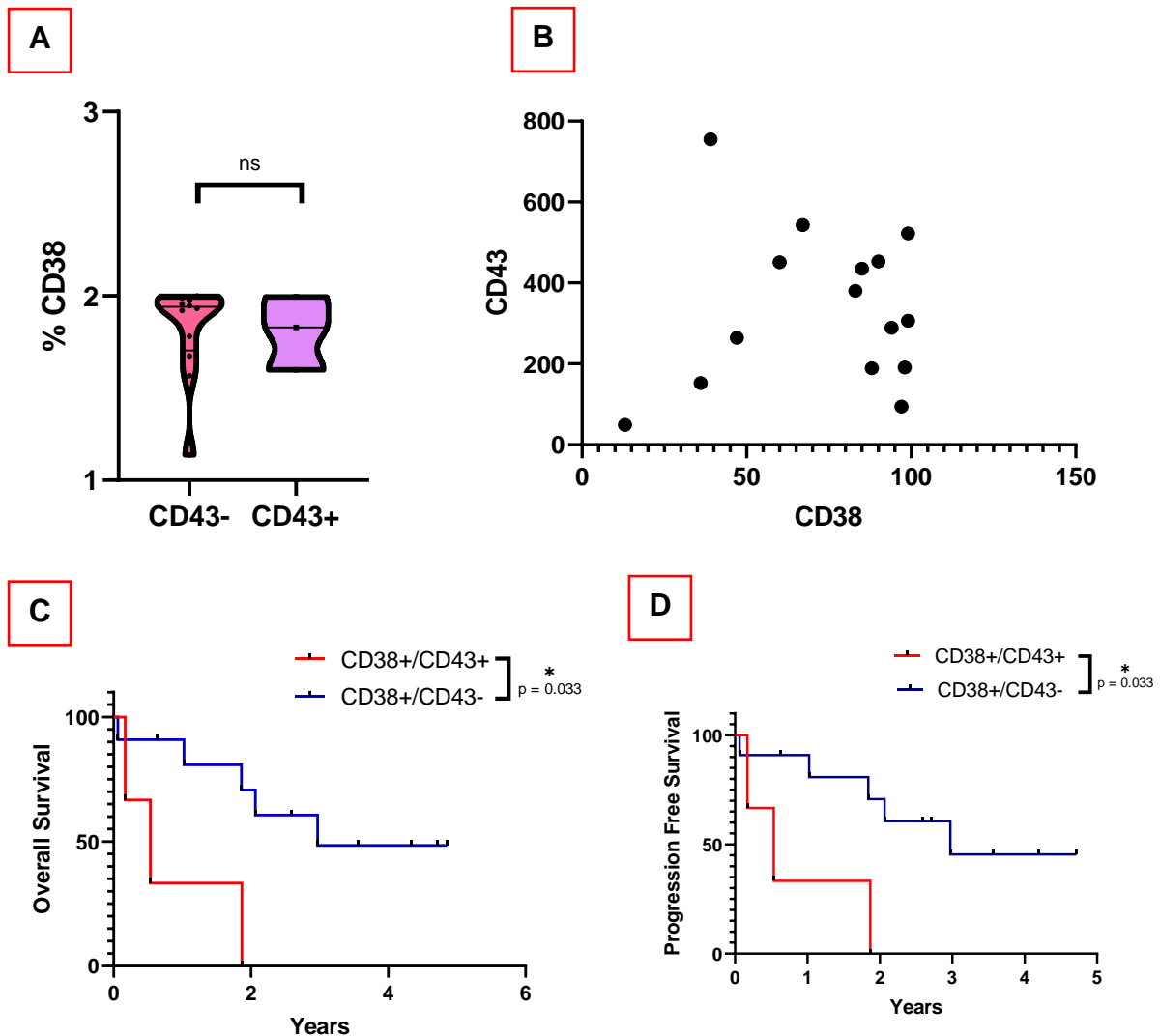


Figure 44 : analyse de survie du CD38 et du CD43 dans le ganglion

Représentation de A) l'expression du CD38 en fonction de la positivité du CD43 ; B) la corrélation entre l'expression du CD38 et du CD43 ; C) et D) Kaplan-Meier de la survie globale (OS) et de la survie sans progression en fonction de la positivité du CD38 (20%) et du CD43 (MFI à 500).

L'analyse univariée sur la survie globale montre que l'intervalle de confiance à 95% (IC95%) des paramètres « Age > 75 ans » et « Sexe : H » inclut la valeur 1. En revanche, l'IC95% des paramètres « CD43+ » et « CD38+ » ne comprend que des valeurs supérieures à 1 avec une ($p < 0.05$).

L'analyse multivariée sur la survie globale montre que l'IC95% inclut également la valeur 1 pour les paramètres « Age > 75 ans » et « Sexe : H ». En revanche, l'IC95% des paramètres « CD43+ » et « CD38+ » ne comprend que des valeurs supérieures à

1. Toutefois, la *p value* pour ces deux derniers paramètres ne sont pas significatifs, bien qu'étant à la limite de la significativité.

Tableau 14 : analyses univariées et multivariées sur la survie globale

	Analyse univariée			Analyse multivariée		
	OR	IC 95%	<i>P value</i>	OR	IC 95%	<i>P value</i>
Age > 75 ans	1,18	0,35-4,08	0,2675	2,68	0,53-16,68	0,2518
Sexe : H	1,44	0,36-6,46	0,6134	2,42	0,38-19,97	0,3687
CD43+	14,6	2,23-291,7	0,0176	9,60	1,31-201,0	0,0541
CD38+	8,0	1,76-58,0	0,0149	5,92	1,11-49,72	0,0572

Abréviations : OR : Odd Ratio (estimation du risque relatif calculé dans les études rétrospectives) et IC95% : intervalle de confiance à 95%

Discussion

I. Epidémiologie de l'étude

La population de cette étude est semblable à celle décrite dans l'épidémiologie du lymphome du manteau, c'est-à-dire une majorité d'hommes d'un âge moyen proche de 75 ans (5). Comme attendu, le syndrome tumoral des patients de notre cohorte était important avec principalement des stades III ou IV au diagnostic d'après la classification de Ann-Arbor (59).

Bien que la cytologie soit parfois très évocatrice d'un MCL (avec la présence de cellules lymphoïdes de taille moyenne, au rapport N/C élevé et au noyau parfois irrégulier et à la chromatine mature), des examens complémentaires sont indispensables devant toute suspicion de lympho-prolifération pour orienter plus finement le diagnostic.

En biologie moléculaire, notre étude montre une surexpression de *CCND1* dans 95% des cas et celle de *SOX11* dans 80% des cas. Une surexpression de *SOX11* est décrite comme étant de mauvais pronostic, permettant de distinguer les MCL classiques des formes indolentes (87). Notre population d'étude met en évidence 3 patients cycline D1 positif et *SOX11* négatif : ces 3 patients sont encore en vie. Des cas de MCL cycline D1 négatifs ont été décrits et seraient de pronostic plus sombre (100). En cas de négativité de la cycline D1, la cycline D2 peut être sur exprimée, via des translocations impliquant les chaînes légères des immunoglobulines (88). Ainsi, nous décrivons un patient cycline D1-/SOX11+. Une surexpression de la cycline D2 a été mise en évidence chez ce patient, qui est décédé en 4 jours d'une insuffisance rénale aiguë causé par un syndrome tumoral important.

L'immunophénotypage sanguin et ganglionnaire met en évidence un profil typique, CD5+/CD20+/CD23- dans la majorité des cas. Il a été décrit que l'expression du CD23 est de meilleur pronostic et associé à une expression du CD200, à un CD38 négatif et à une expression négative pour *SOX11* (101). Bien que la cohorte soit

restreinte, nous montrons, comme précédemment décrit, que les MCL SOX11- (n=5) expriment plus souvent le CD23 (40%, n= 2/5) et moins souvent le CD38 (0%) [Tableau 15].

Tableau 15 : expression du CD23 et du CD38 en fonction du profil mutationnel de SOX11

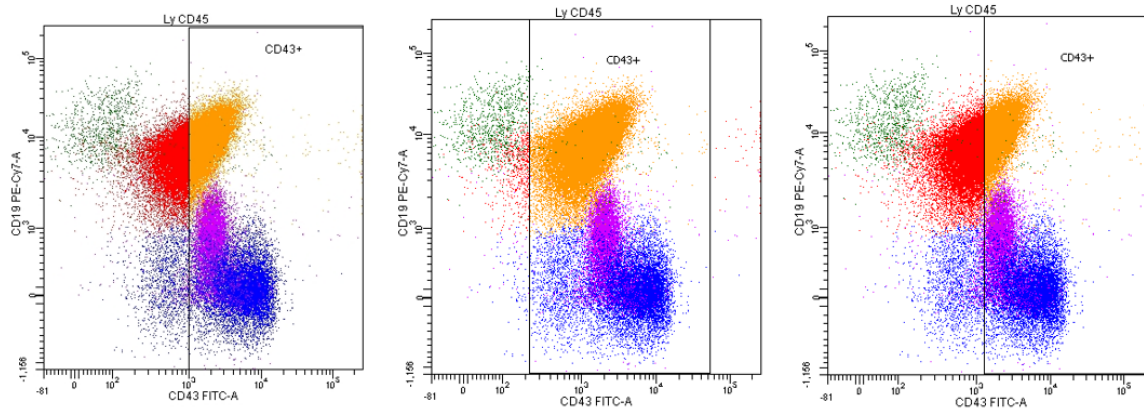
	CD23+	CD38+
SOX11+ (% , n)	13% (2/15)	53% (8/15)
SOX11- (% , n)	40% (2/5)	0%

II. Standardisation en cytométrie en flux

L'utilisation de l'immunophénotypage pour l'identification, la caractérisation et la surveillance des hémopathies myéloïdes et lymphoïdes s'est démocratisé au cours du temps. Toutefois, la principale limite est son manque de standardisation. En effet, des différences majeures peuvent exister entre les centres médicaux en fonction des cytomètres utilisés, des panels d'anticorps (clone, fluorochrome couplé) et de l'interprétation des données (seuil de cut-off). C'est pourquoi, depuis 2006, le groupe EuroFlow (102) a développé des procédures détaillées allant de la programmation des cytomètres à l'analyse des données. Par la suite, en 2010, le groupe Franceflow (103) a été créé afin d'initier la standardisation en France (standardisation des appareils et des panels).

Afin d'assurer une harmonisation et une standardisation inter-laboratoire, les centres adhérant au groupe FranceFlow ont à leur disposition des billes de standardisation Rainbow 8 pics (Becton-Dickinson), de lot de fabricant identique dans le but de calibrer le cytomètre. L'intensité de fluorescence dans chaque canal doit être comprise entre des valeurs seuils, identiques sur chaque site. La reproductibilité inter-centres est évaluée en utilisant des échantillons sanguins normaux et pathologiques constituant des contrôles de qualités externes (EEQ). Ces EEQ sont distribués à partir d'organisme choisi par le biologiste.

Cependant, cette approche repose presque exclusivement sur une évaluation qualitative des différentes lignées cellulaires, en rendant un pourcentage de cellules positive pour un marqueur, sans pour autant prendre en compte le nombre de cibles antigéniques (MFI) (104,105) [Figure 45].



Seuil fixé à 10^3 :

MFI = 1235
% de cellules positives : **66%**

**Seuil avec un contrôle négatif
(Ly B) :**

MFI = 1235
% de cellules positives : **93%**

**Seuil avec un contrôle positif
(Ly T) :**

MFI = 1235
% de cellules positives : **27%**

Figure 45 : intérêt d'une approche quantitative en CMF

Représentation en histogrammes bi-paramétriques, de l'immunophénotypage par cytométrie en flux, des lymphocytes d'un patient atteint d'un MCL forme classique. Les cellules du manteau (population rouge) dont les cellules CD43+ (population orange), lymphocytes B normaux résiduels (population verte), lymphocytes T normaux (population bleue) et les cellules NK (population mauve) (BD FACS Canto II®, 8 couleurs, laboratoire d'Hématologie, CHU de Caen).

III. MFI : intérêts et limites

Bien que moins répandue, une autre méthode d'analyse des données de cytométrie en flux est de quantifier l'intensité de la médiane de fluorescence d'un marqueur (MFI). En d'autres termes, la MFI d'un antigène correspond au nombre d'anticorps qui reconnaissent et se fixent sur l'antigène en question et par conséquent, permet la quantification de l'expression de l'antigène par la cellule (106,107).

L'utilisation de la MFI a pour intérêt majeur d'établir un seuil décisionnel de positivité d'un marqueur en évitant le jugement subjectif d'un opérateur sur l'analyse des données et l'interprétation biologique. Cependant, l'analyse de la MFI nécessite une standardisation aussi stricte que pour une analyse qualitative.

Cependant, l'analyse de la MFI ne permet pas de s'affranchir des nombreuses limites de l'utilisation standardisée de la CMF. En effet, de nombreuses études ont montré qu'il pouvait y avoir des variations de la MFI entre différents laboratoires malgré l'utilisation de même test et celles-ci peuvent-être dues :

- Au traitement de l'échantillon et du réactif : en effet, il faut accorder une importance au titrage d'un anticorps car l'utilisation d'une concentration non-optimale d'anticorps entraînera par conséquent une positivité inexacte du marqueur en question (102,108). Cette limite est maîtrisée dans notre laboratoire, via l'utilisation de tubes lyophilisés (lyotube), garantissant une standardisation des anticorps utilisés.
- Le cytomètre en lui-même : la standardisation et la normalisation du cytomètre est indispensable et est assurée par des contrôles de qualités externes (équivalent de 1 par an) et des contrôles avec des billes de standardisation Rainbow 8 pics (Becton-Dickinson) journaliers permettant de calibrer le cytomètre.

Finalement, ces limites sont communes à toute analyse de cytométrie en flux, qu'elle soit qualitative ou quantitative. Toutefois, la MFI apporte davantage de standardisation des résultats en s'affranchissant de la variabilité inter-opérateur lors

de l'analyse des données des échantillons biologiques en considérant la population cellulaire d'intérêt dans sa globalité.

L'utilisation de données reproductibles constitue un enjeu majeur de cette étude. Ainsi, nous avons limité les inclusions aux patients ayant eu un immunophénotypage lymphocytaire, dans les conditions actuelles d'utilisation. Incluant le type d'appareil (FACSCANTO II acquis en Février 2007 et standardisé selon FranceFlow) et le panel d'anticorps (clone et fluorochrome identiques, mis en place en 2014). L'utilisation des profils phénotypiques antérieurs à cette date aurait biaisé l'étude avec des résultats non comparables entre eux, notamment par le fait de fluorochromes différents.

De plus, pour s'affranchir d'autant plus des variabilité inter ou intra laboratoire, nous avons souhaité tester l'utilisation de la RFI (ratio de fluorescence) entre un contrôle interne positif (lymphocytes T) et la population d'intérêt. L'utilisation de ce ratio bien que plus robuste ne semble pas, dans notre étude et sur cette cohorte, être assez sensible. En effet, l'expression du CD43 par les lymphocytes T ne semble pas constante en fonction des états physiologiques et pathologiques.

Afin de s'affranchir de l'absence de contrôle interne négatif, et plutôt que d'utiliser les MFI, une autre solution possible serait d'utiliser un isotype contrôle [Figure 46.A]. Cette technique consiste à marquer les cellules avec un anticorps de même isotype (chaines lourde et légère identique), conjugué au même fluorochrome et utilisé à la même concentration que l'anticorps d'intérêt. Cette association permet d'identifier la liaison aspécifique de l'isotype sur l'antigène et la fluorescence induite par cette liaison pourra être exclue. Il serait nécessaire pour cette technique de réaliser un tube supplémentaire constituant la principale limite de cette analyse en routine.

Une autre technique pourrait être envisagée : la *Fluorescence Minus One* (FMO) [Figure 46.B]. Cette méthode permet d'identifier l'impact du chevauchement spectral. Il se réalise en marquant les cellules d'intérêt avec tous les fluorochromes du panel hormis celui qui est mesuré, cela permettant d'observer toute fuite liée à ce fluorochrome dans le canal d'intérêt et l'auto-fluorescence de la cellule vis-à-vis d'un antigène.

	Contrôle isotype	Contrôle FMO	Marquage
FITC	Ig	-	CD43
PE	-	CD23	CD23
PerCpCy5,5	-	CD5	CD5
PECy7	-	CD19	CD19

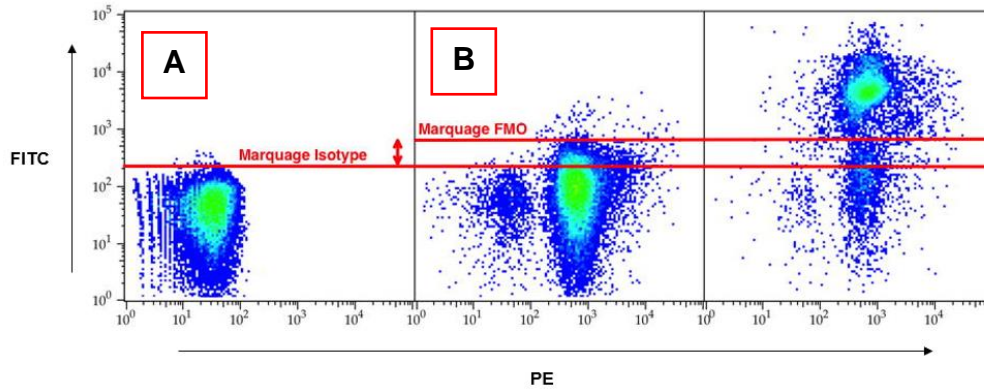


Figure 46 : positionnement du seuil de positivité selon les méthodes A) contrôle isotypique, B) marquage FMO et C) criblage conventionnel adapté d'après (109).

IV. CD43 dans le lymphome du manteau

Physiologiquement, le CD43 est exprimé par la majorité des leucocytes. Toutefois, sa distribution est variable au sein des différentes populations lymphocytaires (73). C'est cette hétérogénéité d'expression de cet antigène qui nous a encouragés à déterminer son implication dans la maturation de ces lignées cellulaires.

Des études ont étudié l'expression de marqueurs à différents stades de maturation des lymphocytes B et ont montré que le CD43 apparaît très tardivement et jouerait un rôle important dans les différentes étapes d'activation et de différenciation cellulaire (110). Il est également exprimé par les plasmocytes, stade ultime de maturation des lymphocytes B (111). *Jimi et al.* ont mis en relation l'expression du CD43 avec la voie de signalisation NF- κ B : le pic d'activité transcriptionnelle de cette voie était retrouvé parmi les pro-lymphocytes B CD43 positif (112). Leur analyse a montré que, la voie de signalisation NF- κ B semble fournir un signal nécessaire à la progression des pro-lymphocytes B CD43+ en pré-lymphocytes B CD43- (112).

Le CD43 est considéré comme un marqueur pan-lymphocytaire T, représenté à tous les stades de maturation (70). Les lymphocytes T peuvent migrer vers les sites inflammatoires pour générer une réponse immunitaire. L'E-selectine est une adhésine exprimée par les cellules endothéliales activées permettant le recrutement des cellules T vers les sites inflammés (113). L'antigène CD43 a été identifié comme un corécepteur endogène pour l'E-selectine (113). Ainsi, en cas d'inflammation, les lymphocytes T vont surexprimer le CD43 qui se liera à la E-selectine pour générer une réponse immunitaire locale. Dans notre étude, nous mettons également en évidence une surexpression du CD43 par les lymphocytes T activés et les lymphocytes T des patients MCL (70).

Bien que les implications physiologiques et pathologiques du CD43 soient mal définis, en plus de l'adhésion, il semblerait supporter la prolifération des lymphocytes B (110). Ainsi, en lien avec le site prolifératif nodal, nous retrouvons une MFI du CD43 plus important dans les prélèvements ganglionnaires que dans les prélèvements sanguins.

Chez les patients atteints d'un MCL, il a été décrit dans la littérature, une expression variable du CD43 (114). Dans notre cohorte nous confirmons que l'expression du CD43 différait significativement des cellules B normales, avec une répartition bimodale. Cependant l'intensité d'expression du CD43 dans le MCL est plus faible que dans la LLC.

Dans l'intérêt d'une standardisation inter-laboratoire, nous avons également exprimé la MFI du CD43 en ratio de fluorescence en considérant les cellules B du manteau et les lymphocytes T de ces patients. Le ratio est significativement beaucoup plus important dans le ganglion que dans le sang ((moyenne des ratios : 3.9 versus 19.6 respectivement, $p < 0.0001$). Cela peut s'expliquer par le fait que la MFI du CD43 dans les Ly B des patients MCL est plus importante dans le ganglion que dans le sang périphérique mais également par le fait que la MFI du CD43 dans les Ly T MCL est moindre dans le ganglion par rapport au sang périphérique.

V. Impact pronostique du CD43 dans le MCL

Afin d'évaluer un éventuel impact pronostique du CD43 dans le lymphome du manteau, il a été nécessaire d'établir un seuil de positivité du CD43 aussi bien dans le sang que dans le ganglion. Par consensus, nous avons l'habitude de classer un marqueur positif dès lors où au moins 20% d'une population cellulaire d'intérêt expriment ce marqueur. Dans notre étude, cette façon d'analyser l'expression du CD43 s'est révélée difficile, car contrairement aux autres marqueurs utilisés (CD19, CD20, CD23, CD5, CD10...), il n'existe pas toujours de population cellulaire négative servant de contrôle interne. Il est ainsi délicat de placer un *cut-off* de manière optimale. Afin d'être reproductibles nous avons choisi de mettre un *cut-off* de positivité à une intensité de 10^3 . Après analyse, cette limite de 10^3 (habituellement admise) était beaucoup trop élevée et ne permettait pas de discriminer les populations avec une expression positive. Une approche basée sur l'interprétation biologique semblait être une piste beaucoup plus intéressante afin de classer les patients de l'étude. A partir de ces *cut-off* de MFI définis arbitrairement dans le sang périphérique et dans le ganglion, nous avons reclassé les patients de notre cohorte selon leur profil phénotypique CD43+/CD43- et analysé l'impact sur la survie.

Dans le sang périphérique, nous avons déterminé un seuil décisionnel à 300 pour la MFI et à 5 pour le RFI. Nous trouvons qu'une MFI positive du CD43 a un impact significativement péjoratif sur l'OS et la PFS des patients. Un RFI positif a un impact sur l'OS malgré une PFS non significativement différente.

Dans le ganglion, nous avons fixé un seuil décisionnel à 500 pour la MFI et à 15 pour le RFI. Ces seuils révèlent qu'une MFI positive a un impact significativement péjoratif sur l'OS et la PFS. Cependant un RFI positif ne semble pas impacter l'OS et la PFS. Bien que nous ayons montré une distribution normale de l'expression du CD43 par les lymphocytes T, l'importante variation en fonction de l'état d'activation et de l'origine du prélèvement, limite probablement l'utilisation du RFI.

Le caractère plus agressif des MCL CD43+ pourrait s'expliquer par l'activation constitutive de la voie NF- κ B et induire une inhibition de l'apoptose et une hyperprolifération cellulaire (112). En effet, les cellules pro-lymphocytaires B CD43+

expriment des niveaux élevés de Bcl-2, agent anti-apoptotique, contrairement aux cellules pré-lymphocytaires B CD43- [Figure 47]. De plus, un modèle murin avec une expression conditionnelle du CD43 sur lymphocytes B a montré une splénomégalie sur les souris CD43+ avec une infiltration par des lymphocytes B et une diminution de l'apoptose (115).

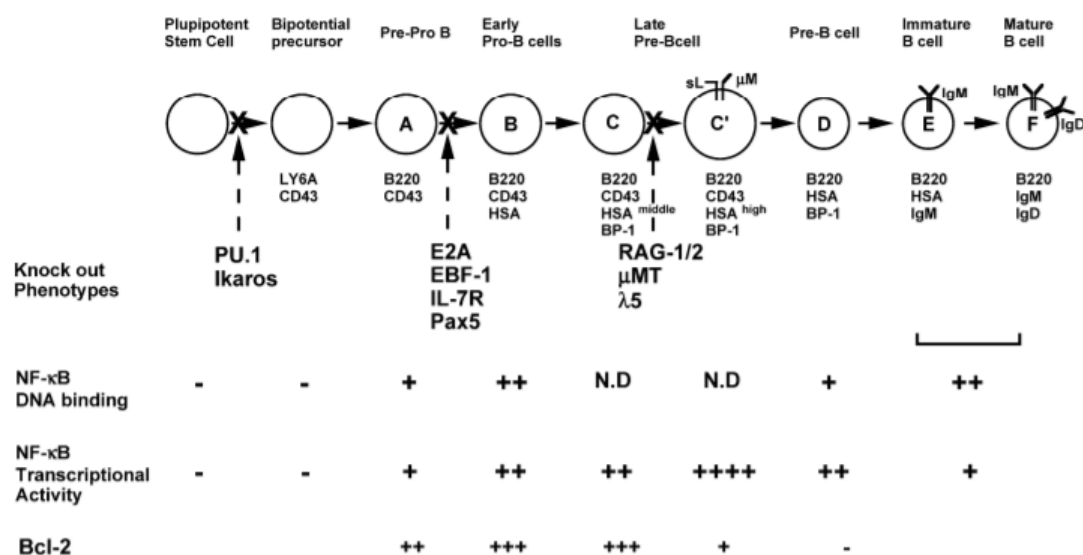


Figure 47 : résumé de l'activation de la voie NF-κB et des niveaux d'expression de Bcl2 à différents stades d'activation des lymphocytes B, selon (116)

Cependant, compte tenu de la proportion plus importante de MCL CD38+ dans la cohorte CD43+, nous avons souhaité exclure un éventuel facteur confondant du CD43. Quarante-vingt-dix pourcents des MCL expriment le CD38 +. Son expression est corrélée à une forme ganglionnaire agressive et à un mauvais pronostic (117,118). Il est établi que le CD38 est positif si 20% des cellules expriment ce marqueur.

Dans le sang périphérique et dans le ganglion, l'intensité d'expression du CD43 n'est pas corrélée à l'expression du CD38. De plus, les patients CD43+/CD38+ ont tendance à avoir une survie moindre, bien que l'OS et la PFS ne sont pas significativement différente. En revanche, dans le ganglion, nous avons observé que la co-expression du CD38 et du CD43 était corrélée à une survie significativement diminuée par rapport aux patients CD38+/CD43-. Le CD43 pourrait alors être un marqueur de mauvais pronostic à part entière, qui de plus, surajouté au CD38, témoignerait d'une survie moindre.

L'analyse univariée de notre étude montre que la positivité du CD38 et du CD43 constituent des marqueurs de mauvais pronostic sur la survie. L'analyse multivariée, malgré une tendance à démontrer le même constat, ne permet pas d'obtenir des résultats significatifs. La limite principale étant le faible effectif de notre étude.

Conclusion et perspectives

Le lymphome du manteau est un LMNH B à petites cellules, agressif, rendant le diagnostic précoce primordial pour la prise en charge des patients. Des arguments anatomopathologiques (variant blastoïde) ou encore moléculaires (surexpression de SOX11) sont déjà définis comme étant des facteurs de mauvais pronostic.

L'objectif principal de cette étude était d'analyser les variations d'expression du CD43 dans le lymphome du manteau au diagnostic, tous variants confondus, à partir de prélèvements sanguins et ganglionnaires et d'observer si ce marqueur représentait un éventuel impact pronostique au sein de ce lymphome. La difficulté principale était d'établir un seuil reproductible de positivité basé sur l'intensité d'expression, compte tenu de l'absence de population cellulaire servant de contrôle interne négatif.

A partir d'une méthode de cytométrie en flux quantitative, cette étude a mis en évidence une expression variable du CD43 parmi les différentes populations lymphocytaires. Nous avons montré que les lymphocytes B du manteau expriment davantage le CD43 que les lymphocytes B normaux. De plus, cet antigène est plus exprimé dans le ganglion que dans le sang.

Cette étude a permis de constater que l'expression du CD43 dans le sang périphérique et dans le ganglion entraînait un impact péjoratif sur l'OS et la PFS. De plus, associée au CD38, l'expression du CD43 pourrait représenter un impact pronostique encore plus défavorable.

Cette étude constitue à ce jour, à notre connaissance, la seule évaluation du CD43 en tant que marqueur de survie dans le lymphome du manteau. Cependant, étant donné le faible effectif de notre cohorte de 15 ganglions et la variabilité d'expression du CD43 par les lymphocytes T servant de dénominateur, il n'a pas été permis de mettre en évidence un RFI robuste dans le sang et le ganglion. Un élargissement de la cohorte doit être entrepris et une étude multicentrique doit être envisagée afin de confirmer et solidifier nos résultats.

Bibliographie

1. Chevallier A, Fournel S, Gubler B, Lelièvre J-D, Seillès E, Vitte J, et al. Immunologie fondamentale et immunopathologie: enseignements thématique et intégré : tissu lymphoïde et sanguin, immunopathologie et immuno-intervention. 2018.
2. (PDF) Kuby Immunology (4th ed)/Goldsby et.al. | Kanchan Kamila - Academia.edu [Internet]. [cité 12 sept 2020], Consulté le 12.01.20. Disponible sur: https://www.academia.edu/31490404/Kuby_Immunology_4th_ed_Goldsby_et_al
3. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis | Nature Reviews Cancer [Internet]. [cité 12 sept 2020], consulté le 12.01.20. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/nrc1589>
4. Maitre E. Apport du séquençage haut débit de gènes ciblés dans la leucémie à tricholeucocytes: mise en évidence d'un nouveau gène altéré, KDM6A, dans la forme variante de la maladie. :128.
5. Miranda-Filho A, Piñeros M, Znaor A, Marcos-Gragera R, Steliarova-Foucher E, Bray F. Global patterns and trends in the incidence of non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Causes Control*. mai 2019;30(5):489-99.
6. Smedby KE, Hjalgrim H. Epidemiology and etiology of mantle cell lymphoma and other non-Hodgkin lymphoma subtypes. *Semin Cancer Biol*. nov 2011;21(5):293-8.
7. Cerhan JR, Slager SL. Familial predisposition and genetic risk factors for lymphoma. *Blood*. 12 nov 2015;126(20):2265-73.
8. Stein H, Lennert K, Parwaresch MR. MALIGNANT LYMPHOMAS OF B-CELL TYPE. *The Lancet*. oct 1972;300(7782):855-7.
9. Anderson T, Chabner BA, Young RC, Berard CW, Garvin AJ, Simon RM, et al. Malignant lymphoma I. The histology and staging of 473 patients at the national cancer institute. *Cancer*. 1982;50(12):2699-707.
10. Weisenburger DD, Kim H, Rappaport H. Mantle-zone lymphoma: A follicular variant of intermediate lymphocytic lymphoma. *Cancer*. 1982;49(7):1429-38.
11. Cancer today [Internet]. [cité 12 sept 2020], consulté le 25.01.20. Disponible sur: <http://gco.iarc.fr/today/home>
12. ROSENBERG SA. The non-Hodgkin's Lymphoma Pathologic Classification Project. National Cancer Institute sponsored study of classification of non-Hodgkin's lymphomas. Summary and description of a working formulation for clinical usage. *Cancer*. 1982;49(10):2112-35.
13. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, et al. The World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues. *Ann Oncol*. déc 1999;10(12):1419-32.
14. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood*. 11 nov 2010;116(19):3724-34.

15. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood*. 1 janv 2006;107(1):265-76.
16. Pratap S, Scordino TS. Molecular and cellular genetics of non-Hodgkin lymphoma: Diagnostic and prognostic implications. *Exp Mol Pathol*. févr 2019;106:44-51.
17. Zhou Y, Wang H, Fang W, Romaguer JE, Zhang Y, Delasalle KB, et al. Incidence trends of mantle cell lymphoma in the United States between 1992 and 2004. *Cancer*. 15 août 2008;113(4):791-8.
18. Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012: étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2013.
19. Grogg KL, Miller RF, Dogan A. HIV infection and lymphoma. *J Clin Pathol*. déc 2007;60(12):1365-72.
20. Quinlan SC, Pfeiffer RM, Morton LM, Engels EA. Risk factors for early-onset and late-onset post-transplant lymphoproliferative disorder in kidney recipients in the United States. *Am J Hematol*. févr 2011;86(2):206-9.
21. Royer B, Cazals-Hatem D, Sibilia J, Agbalika F, Cayuela J-M, Soussi T. Lymphomas in Patients With Sjögren's Syndrome Are Marginal Zone B-Cell Neoplasms, Arise in Diverse Extranodal and Nodal Sites, and Are Not Associated With Viruses. :10.
22. Wotherspoon A. Helicobacter pylori-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *The Lancet*. nov 1991;338(8776):1175-6.
23. Romaguera JE, Medeiros LJ, Hagemester FB, Fayad LE, Rodriguez MA, Pro B, et al. Frequency of gastrointestinal involvement and its clinical significance in mantle cell lymphoma. *Cancer*. 2003;97(3):586-91.
24. Coleman ML, Marshall CJ, Olson MF. RAS and RHO GTPases in G1-phase cell-cycle regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol*. mai 2004;5(5):355-66.
25. Boyd RS, Jukes-Jones R, Walewska R, Brown D, Dyer MJS, Cain K. Protein Profiling of Plasma Membranes Defines Aberrant Signaling Pathways in Mantle Cell Lymphoma. *Mol Cell Proteomics MCP*. juill 2009;8(7):1501-15.
26. Rinaldi A, Kwee I, Taborelli M, Largo C, Uccella S, Martin V, et al. Genomic and expression profiling identifies the B-cell associated tyrosine kinase Syk as a possible therapeutic target in mantle cell lymphoma. *Br J Haematol*. févr 2006;132(3):303-16.
27. Pérez-Galán P, Dreyling M, Wiestner A. Mantle cell lymphoma: biology, pathogenesis, and the molecular basis of treatment in the genomic era. *Blood*. 6 janv 2011;117(1):26-38.
28. Burger JA, Wiestner A. Targeting B cell receptor signalling in cancer: preclinical and clinical advances. *Nat Rev Cancer*. mars 2018;18(3):148-67.
29. Engelman JA. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations. *Nat Rev Cancer*. août 2009;9(8):550-62.
30. Rudelius M, Pittaluga S, Nishizuka S, Pham TH-T, Fend F, Jaffe ES, et al. Constitutive activation of Akt contributes to the pathogenesis and survival of mantle cell lymphoma. *Blood*. 1 sept 2006;108(5):1668-76.

31. Hennessy BT, Smith DL, Ram PT, Lu Y, Mills GB. Exploiting the PI3K/AKT Pathway for Cancer Drug Discovery. *Nat Rev Drug Discov.* déc 2005;4(12):988-1004.
32. Karin M, Lin A. NF- κ B at the crossroads of life and death. *Nat Immunol.* mars 2002;3(3):221-7.
33. Pham LV, Tamayo AT, Yoshimura LC, Lo P, Ford RJ. Inhibition of constitutive NF-kappa B activation in mantle cell lymphoma B cells leads to induction of cell cycle arrest and apoptosis. *J Immunol.* 2003;171(1):88-95.
34. Roué G, Pérez-Galán P, López-Guerra M, Villamor N, Campo E, Colomer D. Selective Inhibition of I κ B Kinase Sensitizes Mantle Cell Lymphoma B Cells to TRAIL by Decreasing Cellular FLIP Level. *J Immunol.* 1 févr 2007;178(3):1923-30.
35. Taniguchi K, Karin M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol.* mai 2018;18(5):309-24.
36. Agostinelli C, Carloni S, Limarzi F, Righi S, Laginestra MA, Musuraca G, et al. The emerging role of GSK-3 β in the pathobiology of classical Hodgkin lymphoma. *Histopathology.* juill 2017;71(1):72-80.
37. Cecconi D, Zamò A, Bianchi E, Parisi A, Barbi S, Milli A, et al. Signal transduction pathways of mantle cell lymphoma: a phosphoproteome-based study. *Proteomics.* nov 2008;8(21):4495-506.
38. Staal FJT, Clevers HC. WNT signalling and haematopoiesis: a WNT–WNT situation. *Nat Rev Immunol.* janv 2005;5(1):21-30.
39. Dierks C, Grbic J, Zirlik K, Beigi R, Englund NP, Guo G-R, et al. Essential role of stromally induced hedgehog signaling in B-cell malignancies. *Nat Med.* août 2007;13(8):944-51.
40. Sander S, Bullinger L, Leupolt E, Benner A, Kienle D, Katzenberger T, et al. Genomic aberrations in mantle cell lymphoma detected by interphase fluorescence in situ hybridization. Incidence and clinicopathological correlations. *Haematologica.* mai 2008;93(5):680-7.
41. Hegde GV, Munger CM, Emanuel K, Joshi AD, Greiner TC, Weisenburger DD, et al. Targeting of sonic hedgehog-GLI signaling: a potential strategy to improve therapy for mantle cell lymphoma. *Mol Cancer Ther.* 1 juin 2008;7(6):1450-60.
42. Crompton T, Outram SV, Hager-Theodorides AL. Sonic hedgehog signalling in T-cell development and activation. *Nat Rev Immunol.* sept 2007;7(9):726-35.
43. Kurtova AV, Tamayo AT, Ford RJ, Burger JA. Mantle cell lymphoma cells express high levels of CXCR4, CXCR5, and VLA-4 (CD49d): importance for interactions with the stromal microenvironment and specific targeting. *Blood.* 7 mai 2009;113(19):4604-13.
44. Lwin T, Hazlehurst LA, Moscinski LC, Dalton WS, Tao J. Cell Adhesion Induces p27Kip1-Associated Cell-Cycle Arrest through Down-Regulating SCFSkp2 Ubiquitin Ligase Pathway in Mantle Cell and Other Non-Hodgkin's B-Cell Lymphomas. *Blood.* 16 nov 2006;108(11):2048-2048.
45. CXCR5 polymorphisms in non-Hodgkin lymphoma risk and prognosis | SpringerLink [Internet]. [cité 14 sept 2020], consulté le 25.02.20. Disponible sur: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00262-013-1452-4>
46. Zhang J, Jima D, Moffitt AB, Liu Q, Czader M, Hsi ED, et al. The genomic landscape of mantle cell lymphoma is related to the epigenetically determined chromatin state of normal B cells. *Blood.* 8 mai 2014;123(19):2988-96.

47. Koubi M, Chabannon C, Duprez E. Au cœur d'une complexité biologique EZH2, une protéine du groupe Polycomb. *médecine/sciences*. mai 2017;33(5):499-505.
48. Kanduri M, Sander B, Ntoufa S, Papakonstantinou N, Sutton L-A, Stamatopoulos K, et al. A key role for EZH2 in epigenetic silencing of HOX genes in mantle cell lymphoma. *Epigenetics*. déc 2013;8(12):1280-8.
49. Visser HPJ, Gunster MJ, Kluin-Nelemans HC, Manders EMM, Raaphorst FM, Meijer CJLM, et al. The Polycomb group protein EZH2 is upregulated in proliferating, cultured human mantle cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2001;112(4):950-8.
50. Chung JH, Sloan S, Scherle P, Vaddi K, Sif S, Lapalombella R, et al. PRMT5 Is a Key Epigenetic Regulator That Promotes Transcriptional Activation in Mantle Cell Lymphoma By Regulating the Lysine Methyltransferase SETD7 and MLL1 Activity. *Blood*. 13 nov 2019;134(Supplement_1):2777-2777.
51. Pal S, Baiocchi RA, Byrd JC, Grever MR, Jacob ST, Sif S. Low levels of miR-92b/96 induce PRMT5 translation and H3R8/H4R3 methylation in mantle cell lymphoma. *EMBO J*. 8 août 2007;26(15):3558-69.
52. Hutter G, Scheubner M, Zimmermann Y, Kalla J, Katzenberger T, Hübner K, et al. Differential effect of epigenetic alterations and genomic deletions of CDK inhibitors [p16(INK4a), p15(INK4b), p14(ARF)] in mantle cell lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer*. févr 2006;45(2):203-10.
53. Ortega-Molina A, Boss IW, Canela A, Pan H, Jiang Y, Zhao C, et al. The histone lysine methyltransferase KMT2D sustains a gene expression program that represses B cell lymphoma development. *Nat Med*. oct 2015;21(10):1199-208.
54. Zhang J, Dominguez-Sola D, Hussein S, Lee J-E, Holmes AB, Bansal M, et al. Disruption of KMT2D perturbs germinal center B cell development and promotes lymphomagenesis. *Nat Med*. oct 2015;21(10):1190-8.
55. Beà S, Valdés-Mas R, Navarro A, Salaverria I, Martín-García D, Jares P, et al. Landscape of somatic mutations and clonal evolution in mantle cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci*. 5 nov 2013;110(45):18250-5.
56. Chim CS, Wong KY, Loong F, Srivastava G. SOCS1 and SHP1 hypermethylation in mantle cell lymphoma and follicular lymphoma: implications for epigenetic activation of the Jak/STAT pathway. *Leukemia*. févr 2004;18(2):356-8.
57. Inamdar AA, Goy A, Ayoub NM, Attia C, Oton L, Taruvai V, et al. Mantle cell lymphoma in the era of precision medicine-diagnosis, biomarkers and therapeutic agents. *Oncotarget*. 23 avr 2016;7(30):48692-731.
58. Pararajalingam P, Coyle KM, Arthur SE, Thomas N, Alcaide M, Meissner B, et al. Coding and noncoding drivers of mantle cell lymphoma identified through exome and genome sequencing. :13.
59. Decaudin D. Mantle Cell Lymphoma: A Biological and Therapeutic Paradigm. *Leuk Lymphoma*. janv 2002;43(4):773-81.
60. Argatoff LH, Connors JM, Klasa RJ, Horsman DE, Gascoyne RD. Mantle cell lymphoma: a clinicopathologic study of 80 cases. *Blood*. 15 mars 1997;89(6):2067-78.

61. Tiemann M, Schrader C, Klapper W, Dreyling MH, Campo E, Norton A, et al. Histopathology, cell proliferation indices and clinical outcome in 304 patients with mantle cell lymphoma (MCL): a clinicopathological study from the European MCL Network. *Br J Haematol.* oct 2005;131(1):29-38.
62. Oinonen R, Franssila K, Elonen E. Central nervous system involvement in patients with mantle cell lymphoma. *Ann Hematol.* mars 1999;78(3):145-9.
63. Classification des lymphomes hodgkiniens - Le lymphome hodgkinien [Internet]. [cité 13 sept 2020] consulté le 23.03.20. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Le-lymphome-hodgkinien/Classification-des-lymphomes-hodgkiniens>
64. Lai R, Medeiros LJ. Pathologic Diagnosis of Mantle Cell Lymphoma. *Clin Lymphoma.* 1 déc 2000;1(3):197-206.
65. Guenzi E, Canioni D, Bruneau J, Brière J, Jo Molina T. Lymphome à cellules du manteau : une entité très hétérogène sur le plan histopathologique et pronostique. *Rev Francoph Lab.* 1 jan 2019;2019(508):56-63.
66. Veloza LC, Ribera-Cortada I, Campo E. Mantle cell lymphoma pathology update in the 2016 WHO classification. In 2019.
67. Aqil B, Triska G, Frater J, Hassan A, Ruzinova MB, Cashen A, et al. Immunophenotypic Variations in Mantle Cell Lymphoma and Their Impact on Clinical Behavior and Outcome. *Arch Pathol Lab Med.* oct 2018;142(10):1268-74.
68. Gao J, Peterson L, Nelson B, Goolsby C, Chen Y-H. Immunophenotypic Variations in Mantle Cell Lymphoma. *Am J Clin Pathol.* nov 2009;132(5):699-706.
69. Zhang J, Chin D, Anthony A, Bolton H, Phillips C, Hii A, et al. CD5 and CD23 Positive Mantle Cell Lymphoma Detected by Flow Cytometry and Confirmed by FISH Study t(11;14). *Blood.* 16 nov 2004;104(11):4814-4814.
70. Clark MC, Baum LG. T cells modulate glycans on CD43 and CD45 during development and activation, signal regulation, and survival. *Ann N Y Acad Sci.* avr 2012;1253:58-67.
71. de Laurentiis A, Gaspari M, Palmieri C, Falcone C, Iaccino E, Fiume G, et al. Mass spectrometry-based identification of the tumor antigen UN1 as the transmembrane CD43 sialoglycoprotein. *Mol Cell Proteomics MCP.* mai 2011;10(5):M111.007898.
72. Cyster JG, Shotton DM, Williams AF. The dimensions of the T lymphocyte glycoprotein leukosialin and identification of linear protein epitopes that can be modified by glycosylation. *EMBO J.* avr 1991;10(4):893-902.
73. Yang Q, Bell JJ, Bhandoola A. T-Cell Lineage Determination. *Immunol Rev.* nov 2010;238(1):12-22.
74. Perillo NL, Pace KE, Seilhamer JJ, Baum LG. Apoptosis of T cells mediated by galectin-1. *Nature.* 1995;
75. Onami TM, Harrington LE, Williams MA, Galvan M, Larsen CP, Pearson TC, et al. Dynamic Regulation of T Cell Immunity by CD43. *J Immunol.* 15 juin 2002;168(12):6022-31.
76. Sorigue M, Juncà J, Sarrate E, Grau J. Expression of CD43 in chronic lymphoproliferative leukemias. *Cytometry B Clin Cytom.* 2018;94(1):136-42.

77. Cardoso CC, Auat M, Santos-Pirath IM, Rudolf-Oliveira RCM, da Silva JP, Lange BG, et al. The importance of CD39, CD43, CD81, and CD95 expression for differentiating B cell lymphoma by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom.* 2018;94(3):451-8.
78. Salem DA, Scott D, McCoy CS, Liewehr DJ, Venzon DJ, Arons E, et al. Differential Expression of CD43, CD81, and CD200 in Classic Versus Variant Hairy Cell Leukemia. *Cytometry B Clin Cytom.* 2019;96(4):275-82.
79. Jung G, Eisenmann J-C, Thiébault S, Hénon P. Cell surface CD43 determination improves diagnostic precision in late B-cell diseases. *Br J Haematol.* févr 2003;120(3):496-9.
80. de Boer CJ, van Krieken JH, Schuurin E, Kluin PM. Bcl-1/cyclin D1 in malignant lymphoma. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 1997;8 Suppl 2:109-17.
81. Kauh J, Baidas SM, Ozdemirli M, Cheson BD. Mantle cell lymphoma: clinicopathologic features and treatments. *Oncol Williston Park N.* juin 2003;17(6):879-91, 896; discussion 896-898.
82. t(11;14)(q13;q32) IGH/CCND1 [Internet]. [cité 12 sept 2020], consulté le 16.02.20. Disponible sur: <http://atlasgeneticsoncology.org/Anomalies/t1114ID2021.html>
83. Bosch F, Campo E, Jares P, Pittaluga S, Muñoz J, Nayach I, et al. Increased expression of the PRAD-1/CCND1 gene in hairy cell leukaemia. *Br J Haematol.* 1995;91(4):1025-30.
84. de Boer CJ, Kluin-Neleman JC, Dreef E, Kester MGD, Kluin PM, Schuurin E. Involvement of the CCND1 gene in hairy cell leukemia. :5.
85. Hsiao S-C, Cortada IR, Colomo L, Ye H, Liu H, Kuo S-Y, et al. SOX11 is useful in differentiating cyclin D1-positive diffuse large B-cell lymphoma from mantle cell lymphoma. *Histopathology.* 2012;61(4):685-93.
86. Song JY, Song L, Herrera AF, Venkatarman G, Murata-Collins JL, Bedell V, et al. Cyclin D1 Expression in Peripheral T-cell Lymphomas. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc.* nov 2016;29(11):1306-12.
87. Beekman R, Amador V, Campo E. SOX11, a key oncogenic factor in mantle cell lymphoma. *Curr Opin Hematol.* 2018;25(4):299-306.
88. Salaverria I, Royo C, Carvajal-Cuenca A, Clot G, Navarro A, Valera A, et al. CCND2 rearrangements are the most frequent genetic events in cyclin D1- mantle cell lymphoma. *Blood.* 21 févr 2013;121(8):1394-402.
89. Hoster E, Dreyling M, Klapper W, Gisselbrecht C, van Hoof A, Kluin-Nelemans HC, et al. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood.* 15 janv 2008;111(2):558-65.
90. Hoster E, Rosenwald A, Berger F, Bernd H-W, Hartmann S, Loddenkemper C, et al. Prognostic Value of Ki-67 Index, Cytology, and Growth Pattern in Mantle-Cell Lymphoma: Results From Randomized Trials of the European Mantle Cell Lymphoma Network. *J Clin Oncol.* 29 févr 2016;34(12):1386-94.
91. Slotta-Huspenina J, Koch I, de Leval L, Keller G, Klier M, Bink K, et al. The impact of cyclin D1 mRNA isoforms, morphology and p53 in mantle cell lymphoma: p53 alterations and blastoid morphology are strong predictors of a high proliferation index. *Haematologica.* sept 2012;97(9):1422-30.

92. Raffeld M, Jaffe E. bcl-1, t(11;14), and mantle cell-derived lymphomas [editorial]. *Blood*. 15 juill 1991;78(2):259-63.
93. Guru Murthy GS, Venkitachalam R, Mehta P. Effect of radiotherapy on the survival of patients with stage I and stage II mantle cell lymphoma: analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results database. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. sept 2014;14 Suppl:S90-95.
94. Engelhard M, M.D M, Amela-Neuschwander S, Brand H, Brandes A, Buecker R, et al. Follicular lymphoma, Immunocytoma, and Mantle Cell lymphoma: Updated results of the randomized evaluation of curative radiotherapy in limited stage nodal disease. In 2009. p. 25-25.
95. Cheah CY, Seymour JF, Wang ML. Mantle Cell Lymphoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 avr 2016;34(11):1256-69.
96. Vose JM. Mantle cell lymphoma: 2015 update on diagnosis, risk-stratification, and clinical management. *Am J Hematol*. août 2015;90(8):739-45.
97. McKay P, Leach M, Jackson R, Cook G, Rule S. Guidelines for the investigation and management of mantle cell lymphoma. *Br J Haematol*. 2012;159(4):405-26.
98. Dreyling M, Campo E, Hermine O, Jerkeman M, Le Gouill S, Rule S, et al. Newly diagnosed and relapsed mantle cell lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. juill 2017;28:iv62-71.
99. Hamborg KH, Bentzen HHN, Grubach L, Hokland P, Nyvold CG. A highly sensitive and specific qPCR assay for quantification of the biomarker SOX11 in mantle cell lymphoma. *Eur J Haematol*. 2012;89(5):385-94.
100. Meggendorfer M, Kern W, Haferlach C, Haferlach T, Schnittger S. SOX11 overexpression is a specific marker for mantle cell lymphoma and correlates with t(11;14) translocation, CCND1 expression and an adverse prognosis. *Leukemia*. déc 2013;27(12):2388-91.
101. Saksena A, Yin CC, Xu J, Li J, Zhou J, Wang SA, et al. CD23 expression in mantle cell lymphoma is associated with CD200 expression, leukemic non-nodal form, and a better prognosis. *Hum Pathol*. 1 juill 2019;89:71-80.
102. on behalf of the EuroFlow Consortium (EU-FP6, LSHB-CT-2006-018708), Kalina T, Flores-Montero J, van der Velden VHJ, Martin-Ayuso M, Böttcher S, et al. EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia*. sept 2012;26(9):1986-2010.
103. Solly F, Angelot-Delettre F, Tichioni M, Geneviève F, Rambaud H, Baseggio L, et al. Standardization of Flow Cytometric Immunophenotyping for Hematological Malignancies: The FranceFlow Group Experience. *Cytometry A*. 2019;95(9):1008-18.
104. Maecker HT, McCoy JP, Nussenblatt R. Standardizing immunophenotyping for the Human Immunology Project. *Nat Rev Immunol*. 17 févr 2012;12(3):191-200.
105. Mizrahi O, Shalom EI, Baniyash M, Klieger Y. Quantitative Flow Cytometry: Concerns and Recommendations in Clinic and Research. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018;94(2):211-8.
106. Mittag A, Tárnok A. Basics of standardization and calibration in cytometry – a review. *J Biophotonics*. 2009;2(8-9):470-81.

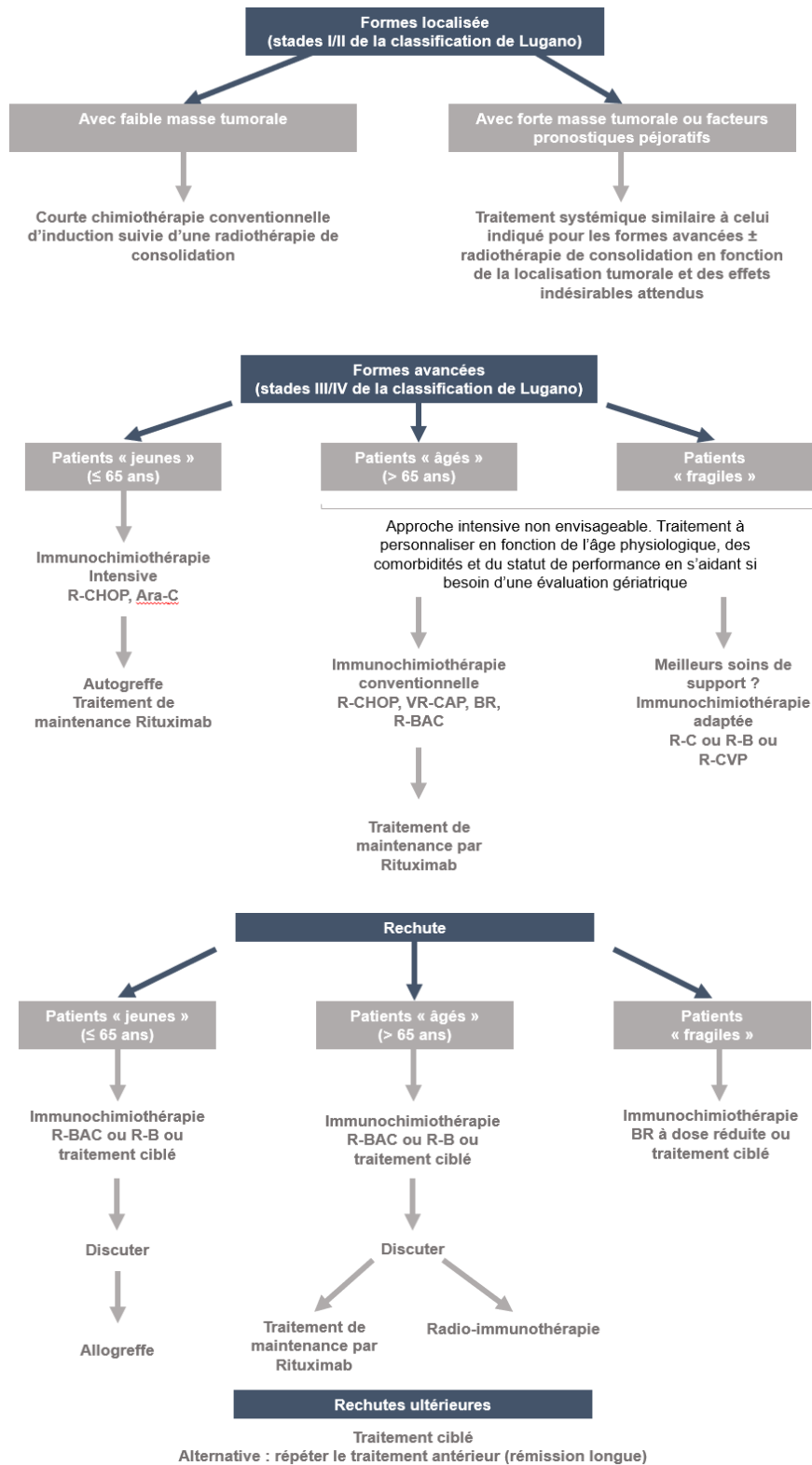
107. Maher KJ, Fletcher MA. Quantitative flow cytometry in the clinical laboratory. *Clin Appl Immunol Rev.* 1 nov 2005;5(6):353-72.
108. Calvelli T, Denny TN, Paxton H, Gelman R, Kagan J. Guideline for flow cytometric immunophenotyping: A report from the national institute of allergy and infectious diseases, division of AIDS. *Cytometry.* 1993;14(7):702-15.
109. Immunofluorescence [Internet]. [cité 14 sept 2020] consulté le 25.05.20. Disponible sur: <http://cytobase.montp.inserm.fr/Cours/Immunofluorescence.html>
110. Björck P, Axelsson B, Paulie S. Expression of CD40 and CD43 during Activation of Human B Lymphocytes. *Scand J Immunol.* 1991;33(2):211-8.
111. Wells SM, Kantor AB, Stall AM. CD43 (S7) expression identifies peripheral B cell subsets. *J Immunol.* 15 déc 1994;153(12):5503-15.
112. Jimi E, Phillips RJ, Rincon M, Voll R, Karasuyama H, Flavell R, et al. Activation of NF- κ B promotes the transition of large, CD43+ pre-B cells to small, CD43- pre-B cells. *Int Immunol.* 1 juin 2005;17(6):815-25.
113. Fuhlbrigge RC, King SL, Sackstein R, Kupper TS. CD43 is a ligand for E-selectin on CLA+ human T cells. *Blood.* 15 févr 2006;107(4):1421-6.
114. Lai R, Weiss LM, Chang KL, Arber DA. Frequency of CD43 Expression in Non-Hodgkin Lymphoma: A Survey of 742 Cases and Further Characterization of Rare CD43 + Follicular Lymphomas. *Am J Clin Pathol.* 1 avr 1999;111(4):488-94.
115. Dragone LL, Barth RK, Sitar KL, Disbrow GL, Frelinger JG. Disregulation of leukosialin (CD43, Ly48, sialophorin) expression in the B-cell lineage of transgenic mice increases splenic B-cell number and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 17 janv 1995;92(2):626-30.
116. Merino R, Ding L, Veis DJ, Korsmeyer SJ, Nuñez G. Developmental regulation of the Bcl-2 protein and susceptibility to cell death in B lymphocytes. *EMBO J.* 1 févr 1994;13(3):683-91.
117. Orchard J, Garand R, Davis Z, Babbage G, Sahota S, Matutes E, et al. A subset of t(11;14) lymphoma with mantle cell features displays mutated IgVH genes and includes patients with good prognosis, nonnodal disease. *Blood.* 15 juin 2003;101(12):4975-81.
118. Camacho FI. Molecular heterogeneity in MCL defined by the use of specific VH genes and the frequency of somatic mutations. *Blood.* 15 mai 2003;101(10):4042-6.

Annexes

Chromosome region*	Frequency (%)	Suggested target genes	Functional process
Gains			
3q26.1-q26.32	28-50		
7p22.1-p22.3	8-31	<i>IGF2BP3 (IMP3)</i>	Insulin-like growth pathway
8q24.21	6-32	<i>MYC</i>	Cell growth, proliferation, apoptosis
10p12.2-p12.31	6-12	<i>BMI1</i>	Cell cycle, DNA damage response
11q13.3-q21	4-14	<i>CCND1</i>	Cell cycle
12q14-q15	3-7	<i>CDK4, MDM2</i>	Cell cycle, DNA damage response, apoptosis
13q31.3	5-11	<i>MIR17HG</i>	Cell cycle, apoptosis
15q23	10-23		
18q21.33	3-17	<i>BCL2</i>	Apoptosis
Losses			
1p32.3-p33	18-52	<i>CDKN2C, FAF1</i>	Cell cycle, apoptosis
2q13	3-17	<i>BCL2L1[†]</i>	Pro-apoptosis
2q37.1	15-33	<i>SP100-SP140</i>	DNA damage response
6q23.3-q25	19-36	<i>TNFAIP3/LATS1</i>	NF-kB inhibitor/cell cycle
8p21-pter	17-34	<i>MCPH1/FBXO25</i>	DNA damage/apoptosis
9p21	10-36	<i>CDKN2A, CDKN2B, MTAP/MOBKL2B</i>	Cell cycle
9q22.2-q22.31	17-31	<i>CDC14B, FANCC, GAS1</i>	
10p14-p13	18-28		
11q22.3	11-57	<i>ATM BIRC3</i>	DNA damage response
13q13.3	25-55	<i>DLEU1, DLEU2, RB1</i>	Cell cycle, apoptosis
13q34	16-54	<i>CUL4A, ING1,</i>	Cell cycle, DNA damage response
17p13	21-45	<i>TP53</i>	Cell cycle, DNA damage response
19p13.3	10-24	<i>MOBKL2A</i>	Hippo signaling pathway
Somatic mutations			
11q22.3	41-61	<i>ATM</i>	DNA repair/genomic integrity
17p13.1	14-31	<i>TP53</i>	Cell cycle, DNA damage
11q13.3	14-34	<i>CCND1</i>	Cell cycle
12q13.12	12-23	<i>KMT2D (MLL2)</i>	Epigenetic modifier
7q36.1	5-16	<i>KMT2C (MLL3)</i>	Epigenetic modifier
4p16.3	10-13	<i>NSD2 (WHSC1, MMSET)</i>	Epigenetic modifier
11q22.2	6-10	<i>BIRC3</i>	NF-kB signaling pathway
6p21.1	5	<i>NFKBIE</i>	NF-kB signaling pathway
9q34.3	7	<i>TRAF2</i>	NF-kB signaling pathway
9q34.3	5-14	<i>NOTCH1</i>	Notch signaling pathway
1p12	5	<i>NOTCH2</i>	Notch signaling pathway
8q22.3	7-18	<i>UBR5</i>	Ubiquitin-proteasome system
7p22.2	3-15	<i>CARD11</i>	B-cell receptor signaling pathway
1p21.2	3-15	<i>S1PR1</i>	Lymphocyte migration
5q14.3	3-7	<i>MEF2B</i>	Transcription factor
4q31.3	7	<i>TLR2</i>	Toll-like receptor

* , minimal altered regions vary slightly among different studies; [†] , homozygous deletions have been identified.

Annexe 1 : liste des anomalies cytogénétiques les plus fréquemment retrouvés dans le MCL



Annexe 2 : recommandations thérapeutiques selon l'ESMO (98)

Epidémiologie					Anatomopathologie				
Patient	Age	Sexe	statut vital	Suivi (jours)	Type de prélèvement	Prélèvement Anatomopathologie	Infiltration	Cycline D1	KI67
1	79	1	1	801	Sang	NA	NA	NA	NA
2	68	1	1	754	Ganglion	Ganglion axillaire gauche	ND	1	ND
3	59	1	1	329	Sang	Ganglion	ND	1	ND
4	46	1	0	1024	Sang	BOM	ND	1	ND
5	66	1	1	61	Sang	BOM	nodulaire	ND	ND
6	72	1	0	1717	Sang	NA	NA	NA	NA
7	85	1	0	1843	Sang	NA	NA	NA	NA
8	56	1	0	1039	Sang	Ganglion inguinal droit	ND	1	ND
9	84	1	1	5	Sang	NA	NA	NA	NA
10	63	1	0	1868	Sang	Polypes coliques	diffuse	1	30%
11	69	1	1	62	Ganglion	Ganglion	diffuse	1	ND
12	83	2	1	197	Sang	Ganglion cervical droit	ND	1	ND
13	83	1	1	230	Ganglion	Ganglion Iliaque	nodulaire	1	20%
14	83	1	0	533	Sang	NA	NA	NA	NA
15	80	2	0	680	Ganglion	Ganglion axillaire droit	diffuse	1	80%
16	71	2	0	828	Sang	NA	NA	NA	NA
17	71	1	0	1584	Ganglion	Ganglion axillaire	ND	1	ND
18	87	2	0	1160	Sang	NA	NA	NA	NA
19	47	1	0	1775	Ganglion	Ganglion cervical droit	ND	1	30%
20	49	1	1	508	Sang	NA	NA	NA	NA
21	93	1	1	44	Sang	NA	NA	NA	NA
22	78	2	0	413	Sang	Carcinose péritonéale	ND	1	ND
23	88	2	1	55	Sang	NA	NA	NA	NA
24	72	1	1	682	Ganglion	NA	NA	NA	NA
25	59	1	0	169	Sang	Ganglion axillaire	nodulaire	1	30%
26	74	1	0	23	Sang	NA	NA	NA	NA
27	80	1	1	20	Sang	NA	NA	NA	NA
28	89	2	0	1	Sang	NA	NA	NA	NA
29	67	1	0	827	Sang	NA	NA	NA	NA
30	75	2	0	1722	Ganglion	ND	ND	0	25%
31	90	2	0	195	Ganglion	Ganglion axillaire	ND	1	70%
32	82	2	0	1300	Ganglion	Ganglion axillaire gauche	diffuse et nodulaire	1	ND
33	53	1	0	1925	Sang	Ganglion inguinal	diffuse	1	30%
34	80	1	0	716	Sang	NA	NA	NA	NA
35	78	1	0	3	Sang	NA	NA	NA	NA
36	80	1	1	922	Sang	NA	NA	NA	NA
37	63	1	0	947	Ganglion	Ganglion	diffuse	1	50%
38	56	1	1	1086	Ganglion	Ganglion spinal droit	diffuse	1	30%
39	77	1	1	1	Ganglion	Ganglion inguinal	ND	ND	ND
40	59	1	1	31	Ganglion	Ganglion Axillaire	diffuse	1	60%
41	86	2	1	374	Ganglion	Ganglion cervical gauche	diffuse et nodulaire	1	50%
42	69	1	0	1329	Sang	Ganglion	diffuse	1	40%

Epidémiologie		CMF		chaîne		CD5		CD23		CD43				CD79b		FMC7		CD20		CD10		CD38	
Patient	% Infiltration	Score de Matutes	K/L	MFI	%	MFI	%	MFI	%	MFI	MFI(T)	Ratio (B/T)	%	MFI	%	MFI	%	MFI	%	MFI	%	MFI	
1	40%	1	k	930	99,7	6049	1,4	91	5,7	202	5219	4	99,8	22938	91,6	2835	100	8885	0,6	1	99,9	6621	
2	89%	NA	k	2819	95,7	2338	0,1	29	1,1	189	1467	13	100	11874	14,8	163	54,5	1168	0,1	34	88,7	1473	
3	77%	NA	l	32401	88,4	2401	11,8	113	0,4	64	5762	1	99,9	26855	22,1	340	70,6	1694	0,1	15	79	1316	
4	20%	NA	k	3726	98,8	2750	8	54	0,7	41	4293	1	99,9	25659	80,6	1660	99,9	8367	0,4	35	3	50	
5	43%	2	k	697	99,6	5675	9,4	97	4,5	361	4507	8	97	2205	89,7	5245	98,2	5586	0,8	1	56,2	1159	
6	47%	1	k	3082	92	2464	0,3	36	1,4	107	3666	3	99,3	5394	92,6	2648	98	10720	0,2	58	25,7	572	
7	95%	2	k	7379	99,9	6432	48,3	568	0,6	34	5012	1	99,7	19795	84	2381	99,8	6397	0,2	1	1,7	132	
8	69%	2	k	739	98	1130	8,6	139	0,9	9	3947	0	98,2	3679	99,5	7126	100	12729	2,5	96	1,3	129	
9	98%	2	l	1710	93,1	2465	0,8	51	24,9	475	3990	12	99,5	1466	3,1	189	18,9	562	0,3	57	99,9	7047	
10	72%	2	k	366	89,4	2432	2,7	126	10,8	365	10734	3	95,2	1051	0,1	112	0	76	0	23	72	1058	
11	95%	NA	k	4553	99	2542	0,9	41	16,1	522	3574	15	100	11212	32,8	276	85,3	2357	0,4	75	99,2	2974	
12	84%	1	k	5509	100	4394	0,3	43	2,5	134	5100	3	99,8	14625	98,9	6248	99,9	9472	9,9	40	99,7	2883	
13	84%	NA	k	2652	99,8	3071	0,2	36	3,4	191	1585	12	100	10052	41,7	324	90,4	3016	0,1	46	98,6	2781	
14	81%	2	k	5584	97,5	3018	54,1	877	0,1	20	5888	0	99,9	23205	92	3192	99,7	7604	0,1	23	0,3	57	
15	88%	NA	k	6451	96	2500	1,4	80	5,5	264	3246	8	100	15939	98,6	13732	99,7	17262	0,4	1	47,3	3703	
16	90%	1	k	3563	41,2	981	0,3	59	0,3	24	5162	0	99,9	11304	96	2996	99,7	5958	0,1	16	0,2	102	
17	84%	NA	k	2895	94,8	1846	0,2	42	6,4	306	2199	14	100	5505	65,6	937	96,7	3865	0,1	1	99,8	3864	
18	53%	1	k	2977	99,8	3701	1,1	52	0,8	48	7215	1	100	19731	30,8	406	100	4706	0,4	33	6,9	210	
19	76%	NA	l	9724	87,5	1473	2,8	92	11,5	453	1567	29	99,9	1516	83,3	2050	98,1	4110	2,7	35	90,4	2470	
20	74%	1	k	7461	99,4	3157	1,7	115	0,3	25	5382	0	99,7	10845	87,6	2255	100	9132	0,1	1	98,9	3679	
21	89%	2	k	2741	97,2	6493	86,9	3410	7,1	92	6204	1	99,7	7376	65,5	1166	99	5572	0,1	8	8,7	165	
22	88%	3	k	478	96,5	5191	71,8	1587	0,2	9	5972	0	99	5055	62,9	999	97,6	6170	86,2	1	7,3	210	
23	72%	1	l	754	99,6	8858	2,6	103	68,5	1235	4912	25	99,7	8798	80,8	5011	99,8	8814	0,2	1	93,6	2236	
24	50%	NA	k	2649	44,2	746	0,3	89	19,4	543	1837	30	100	2155	95,4	5037	99,9	14650	4,7	51	67,5	969	
25	77%	1	l	10146	95,2	2347	0,3	52	0,7	54	2701	2	99,9	14935	90	4697	99,8	8882	7	240	7,4	158	
26	79%	1	l	7789	99,9	4413	10,2	73	4,9	71	4261	2	95,3	7390	46,2	7242	99,9	9779	0,2	1	45,3	618	
27	64%	1	k	4916	99,9	4528	0,2	66	0,4	134	4489	3	99,8	8293	99,9	30448	99,9	27097	0,4	1	42,2	616	
28	50%	1	l	52255	47,4	1003	2,4	92	1,9	72	4972	1	96,9	37272	79	2383	99,6	7258	1	82	9,2	88	
29	93%	1	k	3081	99,5	3823	0,2	49	4,6	307	4097	7	99,9	9824	99,5	6598	100	11516	0,1	23	27,5	463	
30	89%	NA	k	6858	99,9	5656	0,3	64	7,7	435	1821	24	100	17746	75,6	1014	96,7	3436	14,2	162	85,6	1260	
31	96%	NA	k	5653	100	5996	2	75	35,3	755	3845	20	100	12939	71,2	1094	96,2	4513	0	1	39,8	549	
32	51%	NA	l	22690	86,1	1432	0,3	64	0,7	152	1481	10	100	11908	69,5	794	98,9	5907	0,1	28	36,9	567	
33	10%	2	k	196	81,3	1713	24	226	9,7	247	5781	4	99,6	9987	86,5	5553	98,1	9980	1,5	9	27,3	462	
34	88%	1	k	6572	68,4	1206	0,9	72	3,2	112	5666	2	100	9139	86,8	1546	99,1	4761	0	1	13,7	282	
35	80%	1	k	1109	99,9	5998	0,3	35	2,5	87	2939	3	99,7	1864	87,4	1910	99,9	9198	0,4	82	12,6	261	
36	96%	1	l	29146	98,9	3003	0,1	63	17,4	254	1978	13	100	36957	23,3	281	99,6	1976	0,1	1	62,2	839	
37	84%	NA	k	3916	99,6	3089	0	15	9,6	380	1279	30	100	6005	32,6	238	83,4	2407	0	11	83,4	1152	
38	87%	NA	l	11129	67,8	1646	0,2	32	9,5	451	2728	17	100	3384	51,9	534	99,6	5048	0,4	10	60,4	831	
39	96%	NA	l	1586	80,2	1302	0,7	35	4,9	289	1005	29	100	3920	90,7	2097	98,8	4347	0,4	29	94,1	2515	
40	92	NA	k	2271	99,9	6965	1,7	76	1,3	49	1262	4	100	6048	93,2	3076	94,8	4544	1,6	124	13,7	278	
41	60%	NA	k	9892	99,8	5600	5	99	4,8	94	1002	9	100	63634	48,8	492	91	3012	0,3	69	97,3	5449	
42	94%	2	l	14099	98	3318	6,5	105	9	260	3934	7	99,8	4241	99,7	10019	99,9	12716	1,4	31	14,1	250	

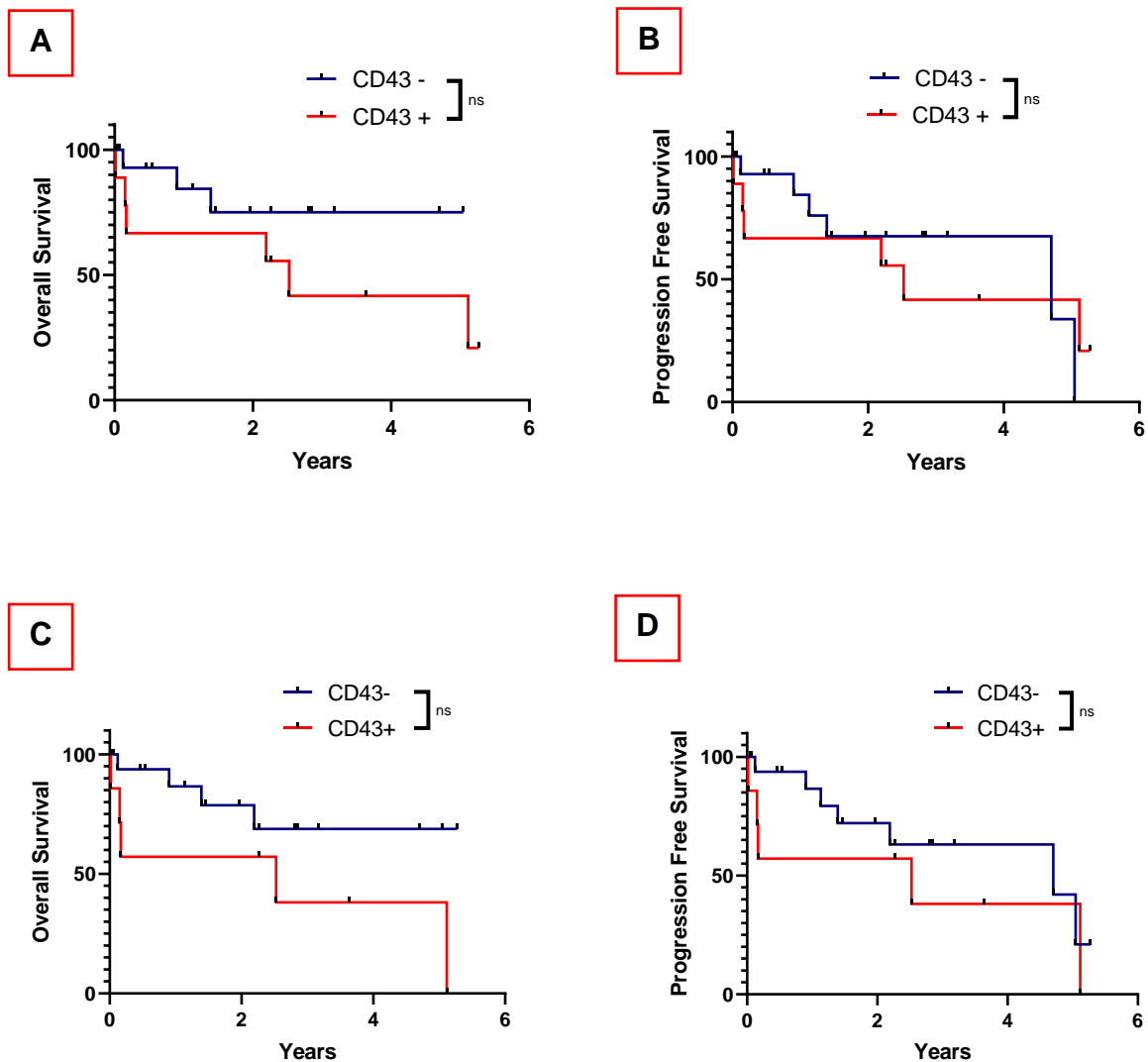
Epidémiologie	NFS					Biochimie			Clinique au diagnostic					Prise en charge		Biologie moléculaire			
	Patient	Hb	Plq	GB	PNN	Ly	B2	LDH	Composé monoclonal	ADP	Splg	stade	MIPI	OMS	ttt	TFS (jours)	RR ?	SOX11	CCND1
1	ND	ND	ND	ND	1,9	ND	ND	ND	1	1	ND	ND	ND	1	590	0	ND	ND	ND
2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	277	0	1	1	4	ND	0	1	55	0	NA	NA	NA
3	11,3	158	13,63	2,59	10,36	5,7	508	0	1	1	4	ND	ND	1	13	1	ND	ND	ND
4	7,9	32	2,35	1,11	1,05	ND	299	0	0	1	ND	ND	ND	0	NA	NA	0	1	0
5	13,3	303	7,9	5,41	1,2	1,02	270	ND	1	ND	4	6,8	2	1	7	0	1	1	0
6	ND	ND	ND	ND	3	ND	ND	ND	1	0	ND	ND	ND	1	444	1	ND	ND	ND
7	14,6	146	40,01	4,6	35,01	ND	191	ND	1	1	ND	7,2	0	1	602	1	0	1	0
8	14,3	134	19,66	7,32	10,56	ND	ND	0	1	1	4	ND	0	1	73	0	0	1	0
9	8,1	103	237,5	9,5	9,5	ND	608	0	ND	ND	ND	ND	ND	0	NA	NA	1	0	1
10	11,8	141	12,72	6,75	5,31	ND	795	ND	1	1	4	7	0	1	18	0	1	1	0
11	13,6	271	7,02	4,65	1,62	2,7	243	1	1	0	3	4	0	1	48	0	NA	NA	NA
12	12,1	278	15,4	6,14	7,63	6,5	215	0	1	0	4	ND	ND	1	70	0	ND	ND	ND
13	13,3	34	7,84	5,41	1,43	ND	ND	ND	1	0	ND	ND	ND	1	210	0	1	1	1
14	11,9	197	69,7	3,7	64,6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7	0	1	106	0	1	1	0
15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	540	ND	1	0	3	ND	1	1	41	1	NA	NA	NA
16	15	162	50,32	5,54	43,78	ND	221	ND	0	0	ND	ND	ND	1	28	0	1	1	0
17	16	205	17,0	3,22	0,9	ND	ND	ND	1	0	3	ND	ND	1	70	1	1	1	0
18	9,7	86	7,8	3,96	3,28	ND	161	ND	0	0	0	6,7	1	0	NA	NA	0	1	0
19	ND	ND	ND	ND	ND	5,8	207	0	1	1	4	5,2	1	1	14	1	NA	NA	NA
20	ND	ND	ND	ND	9,5	ND	ND	ND	1	1	4	ND	ND	1	146	0	ND	ND	ND
21	6,5	185	6,88	0,14	6,74	ND	170	0	0	1	4	ND	1	1	1	0	ND	ND	ND
22	11,9	635	18,9	16,4	1,3	ND	753	0	1	0	4	8,1	ND	1	6	1	0	1	0
23	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1	1	4	ND	4	1	34	0	1	1	0
24	ND	ND	ND	ND	ND	ND	442	ND	1	1	4	3	0	1	447	0	NA	NA	NA
25	7,2	64	7,47	1,42	5,34	16,6	100	0	1	1	ND	ND	ND	1	14	0	1	1	0
26	ND	ND	ND	ND	7,5	ND	ND	ND	ND	1	ND	ND	ND	1	23	0	ND	ND	ND
27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1	1	0
29	13,6	126	18,77	3,94	14,21	ND	ND	ND	1	1	ND	ND	ND	1	83	0	1	1	0
30	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NA	NA	NA
31	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1	0	2	ND	1	1	19	0	NA	NA	NA
32	ND	ND	31	ND	ND	ND	ND	ND	1	0	4	ND	1	1	41	0	NA	NA	NA
33	13,4	106	4,9	2,43	2,0	6,4	178	ND	1	1	2	4	0	1	54	0	1	1	0
34	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0	1	ND	ND	ND	0	NA	NA	ND	ND	ND
35	ND	ND	ND	ND	26,5	ND	ND	ND	0	1	4	ND	ND	1	1	0	1	1	0
36	9,2	338	37,27	4,47	30,56	11,9	393	ND	1	1	4	7,2	1	1	296	0	ND	ND	ND
37	ND	ND	ND	ND	ND	ND	260	ND	1	0	4	ND	1	1	7	0	NA	NA	NA
38	ND	ND	ND	ND	ND	3,1	345	ND	1	0	ND	ND	ND	1	138	0	NA	NA	NA
39	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3	ND	ND	ND	ND	ND	NA	NA	NA
40	11,5	88	12,85	0,77	9,89	ND	860	0	1	0	ND	ND	1	1	8	0	1	1	0
41	ND	ND	ND	ND	ND	3,7	287	0	1	1	ND	ND	ND	1	10	0	NA	NA	NA
42	5,2	22	63,49	6,98	54,6	10,1	ND	1	1	1	4	ND	ND	1	13	0	1	1	0

Annexe 3 : caractéristiques de la cohorte de patients étudiée

Légende : dans la catégorie « Sexe » : 1 = Homme ; 2 = Femme / dans la catégorie « Statut vital » :

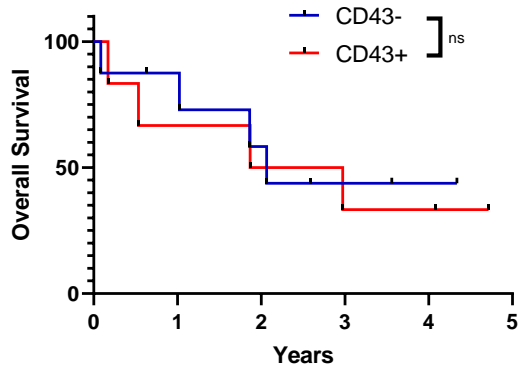
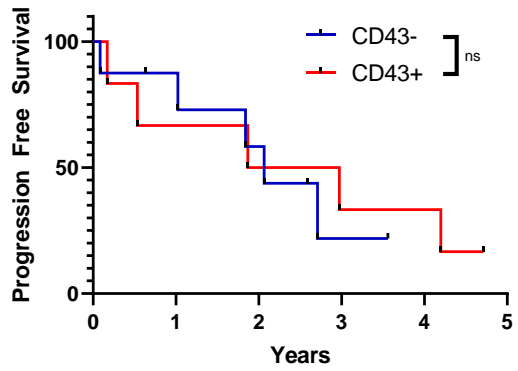
1 = Décès ; 0 = Vivant / pour les autres paramètres : 1 = Présence ; 0 = Absence.

Abréviations : Hb : hémoglobine ; Plq : plaquettes ; GB : globules blancs ; PNN : polynucléaires neutrophiles ; Ly : lymphocytes ; ADP : adénopathie(s) ; Splg : splénomégalie ; ttt : traitement ; RR : rechute, réfractaire.



Annexe 4 : seuil décisionnel de positivité du CD43 dans le sang périphérique

Représentation de Kaplan-Meier de A) la survie globale (OS) et B) de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un MCL en fonction de la positivité du CD43 avec un cut-off de la MFI fixé à 200. De la même façon, représentation de Kaplan-Meier de C) la survie globale (OS) et D) de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un MCL en fonction de la positivité du CD43 avec un cut-off de la MFI fixé à 250.

A**B**

Annexe 5 : seuil décisionnel de positivité du CD43 dans le ganglion

Représentation de Kaplan-Meier de A) la survie globale (OS) et B) de la survie sans progression (PFS) des patients atteints d'un MCL en fonction de la positivité du CD43 avec un cut-off de la MFI fixé à 400.



VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE LA FACULTE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

CAEN, LE

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

TITRE

IMPACT PRONOSTIQUE DU CD43 DANS LE LYMPHOME DU MANTEAU

Résumé

L'expression du CD43 est variable dans le lymphome du manteau. Toutefois, son implication sur la survie n'a pas été exploitée. Une étude rétrospective de 2014 à 2019 a été réalisée sur 42 patients atteints d'un lymphome du manteau (MCL) au centre hospitalo-universitaire de Caen afin d'évaluer l'impact du CD43 sur la survie globale (OS) et la survie sans progression (PFS) dans le MCL.

Cette étude est basée sur la quantification de l'intensité du CD43. Cet antigène est davantage exprimé par les cellules du manteau ganglionnaire plutôt que sanguine (371.7 et 174.3 respectivement, $p=0.038$). La positivité du CD43 a été admise pour une MFI (médiane d'intensité de fluorescence) supérieure à 300 dans le sang périphérique et 500 dans le ganglion. Dans le sang périphérique, malgré une survie moindre des patients CD43+, l'OS et la PFS ne sont pas significativement différentes. Dans le ganglion, la positivité du CD43 serait en lien avec une OS (5.11 vs 1.35) et une PFS (4.70 vs 1.35) moins favorable ($p=0.033$).

Dans cette étude, la positivité du CD43 serait un marqueur de mauvais pronostic. De par le faible effectif de l'étude, ces données doivent être confirmées par une cohorte plus importante.

TITLE

PROGNOSTIC IMPACT OF CD43 IN MANTLE CELL LYMPHOMA

Summary

CD43 expression is inconstant in mantle cell lymphoma (MCL). However, its implication on survival has not been highlighted. A retrospective study from 2014 to 2019 was carried out on 42 patients with MCL at the teaching hospital of Caen in order to perform CD43 impact on overall survival (OS) and progression-free survival (PFS).

This study is based on the quantification of the intensity of CD43. It's more developed in lymph node rather than blood (371.7 and 174.3 respectively, $p=0.038$). CD43 positivity was admitted for an MFI (mean of fluorescence) greater than 300 (peripheral blood) and 500 (lymph node). In peripheral blood, despite reduced survival for patients with CD43+, OS and PFS are not significantly different. In lymph node, the CD43's positivity would be linked to a less favorable OS ((5.11 vs 1.35) and PFS (4.70 vs 1.35), $p=0.033$).

In this study, the positivity of CD43 would be a marker of poor prognosis, confirmed by a multivariate analysis. Due to the small size of this study, these data must be confirmed by a larger cohort.

Mots-clés

Lymphome du manteau, Cluster of différenciation 43, CD43, cytométrie en flux, immunophénotypage, survie, pronostic
