



HAL
open science

Adverse outcome in follicular lymphoma are associated with MYC rearrangements but not MYC extra-copies

Lucile Emilie Anne Bussot

► **To cite this version:**

Lucile Emilie Anne Bussot. Adverse outcome in follicular lymphoma are associated with MYC rearrangements but not MYC extra-copies. Human health and pathology. 2021. dumas-03253187

HAL Id: dumas-03253187

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03253187>

Submitted on 30 Jun 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.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter la page de DUMAS présentant le document. Si l'auteur l'a autorisé, son adresse mail apparaîtra lorsque vous cliquerez sur le bouton « Détails » (à droite du nom).

Dans le cas contraire, vous pouvez consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine
Pharmacie de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

Année : 2020-2021

**IMPACT DES ALTERATIONS GENIQUES DE MYC DANS LES
LYMPHOMES FOLLICULAIRES AU DIAGNOSTIC**

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

DIPLÔME D'ÉTAT

Lucile, Emilie, Anne BUSSOT

[Données à caractère personnel]

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE
GRENOBLE

Le : 25 Mai 2021

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Président du jury :

Mme. PARK Sophie, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Membres :

Mme. VALMARY-DEGANO Séverine, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Mme. HUET Sarah, Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

M. GRESSIN Rémy, Praticien Hospitalier

Mme. LEFEBVRE Christine, Praticien Hospitalier

M. CARRAS Sylvain, Directeur de Thèse, Assistant Hospitalo-Universitaire

L'UFR de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR DE MEDECINE DE L'UNIVERSITE GRENOBLE ALPES



Doyen de la Faculté : Pr. Patrice MORAND

Année 2020-2021

ENSEIGNANTS DE L'UFR DE MEDECINE

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	ALBALADEJO Pierre	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
PU-PH	APTEL Florent	Ophthalmologie
PU-PH	ARVIEUX-BARTHELEMY Catherine	Chirurgie viscérale et digestive
PU-PH	BAILLET Athan	Rhumatologie
PU-PH	BARONE-ROCHETTE Gilles	Cardiologie
PU-PH	BAYAT Sam	Physiologie
MCF Ass.MG	BENDAMENE Farouk	Médecine Générale
PU-PH	BENHAMOU Pierre-Yves	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BERGER François	Biologie cellulaire
MCU-PH	BIDART-COUTTON Marie	Biologie cellulaire
PU-PH	BLAISE Sophie	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire
PR Ass. Méd.	BOILLOT Bernard	
MCU-PH	BOISSET Sandrine	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	BONAZ Bruno	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PU-PH	BONNETERRE Vincent	Médecine et santé au travail
PU-PH	BOREL Anne-Laure	Nutrition
PU-PH	BOSSON Jean-Luc	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	BOTTARI Serge	Biologie cellulaire
PR Ass.MG	BOUCHAUD Jacques	Médecine Générale
PU-PH	BOUGEROL Thierry	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	BOUILLET Laurence	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
MCU-PH	BOUSSAT Bastien	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	BOUZAT Pierre	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
PU-PH émérite	BRAMBILLA Christian	Pneumologie
PU-PH émérite	BRAMBILLA Elisabeth	Anatomie et cytologie pathologiques
MCU-PH	BRENIER-PINCHART Marie Pierre	Parasitologie et mycologie
PU-PH	BRICAULT Ivan	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	BRICHON Pierre-Yves	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
MCU-PH	BRIOT Raphaël	Thérapeutique-médecine de la douleur ; Addictologie
PU-PH émérite	CAHN Jean-Yves	Hématologie
PU-PH émérite	CARPENTIER Patrick	Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire
PR Ass.MG	CARRILLO Yannick	Médecine Générale
PU-PH	CESBRON Jean-Yves	Immunologie
PU-PH	CHABARDES Stephan	Neurochirurgie
PU-PH	CHABRE Olivier	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	CHAFFANJON Philippe	Anatomie
MCF Ass.MG	CHAMBOREDON Benoît	Médecine Générale
PU-PH	CHARLES Julie	Dermato-vénérologie
MCF Ass.MG	CHAUVET Marion	Médecine Générale
PU-PH	CHAVANON Olivier	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	CHIQUET Christophe	Ophthalmologie
PU-PH	CHIRICA Mircea	Chirurgie viscérale et digestive
PU-PH	CINQUIN Philippe	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	CLAVARINO Giovanna	Immunologie
PU-PH	COHEN Olivier	Histologie, embryologie et cytogénétique
PU-PH	COURVOISIER Aurélien	Chirurgie infantile
PU-PH	COUTTON Charles	Génétique
PU-PH	COUTURIER Pascal	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
PU-PH	CRACOWSKI Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
PU-PH	DEBATY Guillaume	Médecine d'Urgence
PU-PH	DEBILLON Thierry	Pédiatrie
PU-PH	DECAENS Thomas	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PR Ass. Méd.	DEFAYE Pascal	Cardiologie
PU-PH	DEGANO Bruno	Pneumologie ; addictologie
PU-PH	DEMATTEIS Maurice	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
PU-PH émérite	DEMONGEOT Jacques	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	DERANSART Colin	Physiologie
PU-PH	DESCOTES Jean-Luc	Urologie
PU-PH	DETANTE Olivier	Neurologie
MCU-PH	DIETERICH Klaus	Génétique
MCU-PH	DOUTRELEAU Stéphane	Physiologie
MCU-PH	DUMESTRE-PERARD Chantal	Immunologie
PU-PH	EPAULARD Olivier	Maladies infectieuses ; Maladies tropicales
PU-PH	ESTEVE François	Biophysique et médecine nucléaire
MCU-PH	EYSSERIC Hélène	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	FAUCHERON Jean-Luc	Chirurgie viscérale et digestive
MCU-PH	FAURE Julien	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	FERRETTI Gilbert	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	FEUERSTEIN Claude	Physiologie
PU-PH	FONTAINE Éric	Nutrition
PU-PH	FRANCOIS Patrice	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-MG	GABOREAU Yoann	Médecine Générale
PU-PH	GARBAN Frédéric	Hématologie ; Transfusion
PU-PH	GAUDIN Philippe	Rhumatologie
PU-PH	GAVAZZI Gaétan	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
PU-PH	GAY Emmanuel	Neurochirurgie
MCU-PH	GILLOIS Pierre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	GIOT Jean-Philippe	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; Brûlologie
MCU-PH	GRAND Sylvie	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH émérite	GRIFFET Jacques	Chirurgie infantile
MCU-PH	GUZUN Rita	Nutrition
PU-PH	HAINAUT Pierre	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH émérite	HALIMI Serge	Nutrition
PU-PH	HENNEBICQ Sylviane	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PU-PH	HOFFMANN Pascale	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
PU-PH émérite	HOMMEL Marc	Neurologie
PU-MG	IMBERT Patrick	Médecine Générale

CORPS	NOM-PRENUM	Discipline universitaire
PU-PH émérite	JOUK Pierre-Simon	Génétique
PU-PH	KAHANE Philippe	Physiologie
MCU-PH	KASTLER Adrian	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	KRAINIK Alexandre	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	LABARERE José	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-PH	LABLANCHE Sandrine	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
MCU-PH	LANDELLE Caroline	Bactériologie – virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	LANTUEJOL Sylvie	Anatomie et cytologie pathologiques
PR Ass. Méd.	LARAMAS Mathieu	Cancérologie ; radiothérapie
MCU-PH	LARDY Bernard	Biochimie et biologie moléculaire
MCU - PH	LE GOUELLEC LE PISSART Audrey	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	LECCIA Marie-Thérèse	Dermato-vénérologie
MCF Ass.MG	LEDOUX Jean-Nicolas	Médecine Générale
PU-PH émérite	LETOUBLON Christian	Chirurgie viscérale et digestive
PU-PH	LEVY Patrick	Physiologie
PU-PH	LONG Jean-Alexandre	Urologie
MCU-PH	LUPO Julien	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	MAIGNAN Maxime	Médecine d'urgence
PU-PH	MAITRE Anne	Médecine et santé au travail
MCU-PH	MALLARET Marie-Reine	Bactériologie – virologie ; Hygiène hospitalière
MCU-PH	MARLU Raphaël	Hématologie ; Transfusion
PR Ass. Méd.	MATHIEU Nicolas	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
MCU-PH	MAUBON Danièle	Parasitologie et mycologie
PU-PH	MAURIN Max	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
MCU-PH	MC LEER Anne	Histologie, embryologie et cytogénétique
MCU-PH	MONDET Julie	Histologie, embryologie et cytogénétique
PU-PH	MORAND Patrice	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	MOREAU-GAUDRY Alexandre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	MORO Elena	Neurologie
PU-PH	MORO-SIBILOT Denis	Pneumologie ; addictologie
MCU-PH	MORTAMET Guillaume	Pédiatrie
PU-PH	MOUSSEAU Mireille	Cancérologie ; radiothérapie
PU-PH émérite	MOUTET François	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie
MCF Ass.MG	ODDOU Christel	Médecine Générale
PR Ass. Méd.	ORMEZANO Olivier	Cardiologie
MCU-PH	PACLET Marie-Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	PAILHE Régis	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	PALOMBI Olivier	Anatomie
PU-PH	PARK Sophie	Hématologie ; Transfusion
PU-PH	PASSAGGIA Jean-Guy	Anatomie
PR Ass.MG	PAUMIER-DESBRIERES Françoise	Médecine Générale
PU-PH	PAYEN DE LA GARANDERIE Jean-François	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
MCU-PH	PAYSANT François	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	PELLETIER Laurent	Biologie cellulaire
PU-PH	PELLOUX Hervé	Parasitologie et mycologie
PU-PH	PEPIN Jean-Louis	Physiologie
PU-PH	PERENNOU Dominique	Médecine physique et de réadaptation

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	PERNOD Gilles	Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
PU-PH	PIOLAT Christian	Chirurgie infantile
PU-PH	PISON Christophe	Pneumologie ; Addictologie
PU-PH	PLANTAZ Dominique	Pédiatrie
PU-PH	POIGNARD Pascal	Bactériologie-virologie ; Hygiène hospitalière
PU-PH	POLACK Benoît	Hématologie ; Transfusion
PU-PH	POLOSAN Mircea	Psychiatrie d'adultes ; Addictologie
PU-PH	RAMBEAUD Jean-Jacques	Urologie
PU-PH	RAY Pierre	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PR Ass. Méd.	RECHE Fabian	Chirurgie viscérale et digestive
MCU-PH	RENDU John	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH émérite	RIALLE Vincent	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	RIETHMULLER Didier	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
PU-PH	RIGHINI Christian	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH émérite	ROMANET Jean Paul	Ophthalmologie
PU-PH	ROSTAIN Lionel	Néphrologie
PU-PH	ROUSTIT Matthieu	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
MCU-PH	ROUX-BUISSON Nathalie	Biochimie et biologie moléculaire
PR Ass.MG	ROYER DE VERICOURT Guillaume	Médecine Générale
PU-PH émérite	SARAGAGLIA Dominique	Chirurgie orthopédique et traumatologie
MCU-PH	SATRE Véronique	Génétique
PU-PH	SAUDOU Frédéric	Biologie cellulaire
PU-PH	SCHIMBERBER Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	SCHWEBEL Carole	Médecine intensive-réanimation
PU-PH	SCOLAN Virginie	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	SEIGNEURIN Arnaud	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH émérite	STAHL Jean-Paul	Maladies infectieuses ; Maladies tropicales
PU-PH	STANKE Françoise	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
MCU-PH	STASIA Marie-José	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	STURM Nathalie	Anatomie et cytologie pathologiques
PU-PH	TAMISIER Renaud	Physiologie
PU-PH	TERZI Nicolas	Médecine intensive-réanimation
PU-PH	THEVENON Julien	Génétique
MCU-PH	TOFFART Anne-Claire	Pneumologie ; Addictologie
PU-PH	TONETTI Jérôme	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	TOUSSAINT Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	VALMARY-DEGANO Séverine	Anatomie et cytologie pathologiques
PU-PH	VANZETTO Gérard	Cardiologie
PU-PH	VUILLEZ Jean-Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	WEIL Georges	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	ZAQUI Philippe	Néphrologie
PU-PH émérite	ZARSKI Jean-Pierre	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie

PU-PH : Professeur des Universités - Praticiens Hospitaliers
 MCU-PH : Maître de Conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers
 PU-MG : Professeur des Universités de Médecine Générale
 MCU-MG : Maître de Conférences des Universités de Médecine Générale
 PR Ass. Méd. : Professeur des Universités Associé de Médecine
 PR Ass.MG : Professeur des Universités Associé de Médecine Générale
 MCF Ass.MG : Maître de Conférences Associé de Médecine Générale

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury,

A Madame le Professeur Sophie PARK, merci d'avoir accepté de juger ce travail et merci de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse.

A Madame le Professeur Séverine VALMARY-DEGANO, merci d'avoir accepté de participer au jury de thèse. Merci encore de votre aide, votre patience tout le long de ce travail et surtout du temps passé à faire (et refaire) des marquages c-Myc si précieux.

A Madame le Docteur Sarah HUET, merci de me faire l'honneur de participer à ce jury de thèse. Je vous suis très reconnaissante pour tout le temps consacré à ce travail et à corriger cet article.

A Monsieur le Docteur Rémy GRESSIN, merci de m'avoir prise sous votre aile dès le début de mon internat et de m'avoir donné le goût du lymphoïde. Je suis honorée de vous avoir dans mon jury de thèse et de pouvoir continuer à apprendre en s'amusant à vos côtés. Les rémy/i(s) ça vous gagne !

A Madame le Docteur Christine LEFEBVRE, merci pour cette année et demi passée au laboratoire. J'ai adoré mon passage en cytogénétique où j'y ai tant appris. Merci de tout le temps que tu as consacré à ce travail et notamment à m'expliquer et me réexpliquer la cytogénétique. J'arrive enfin à te tutoyer et je peux enfin te dire ce que je ne cesse de répéter depuis mon semestre au laboratoire « quand je serais grande, je veux être comme Christine ! ».

A Sylvain, merci de m'avoir fait confiance en me proposant ce sujet de thèse alors que l'on ne se connaissait si peu. Tu as du avoir peur en découvrant mon âge mental équivalent à celui de ton fils... Je ne saurais te remercier assez de ta patience, de ta pédagogie et du temps que tu m'as consacré aussi bien dans ce travail que pendant mon M2. Malgré, mes blagues critiquables sur ton âge j'ai trouvé en toi le mentor brillant et faluché dont je rêvais. Merci pour tes conseils et ton oreille attentive quand j'en ai eu besoin. Je ne sais comment te remercier de tout ce que tu m'as apporté pendant ces 2 dernières années. Signé le shetland.

Aux équipes qui m'ont accompagnée,

A l'hématologie clinique du CHU de Besançon, merci au Dr CHAUCHET de m'avoir incitée à poursuivre ma carrière en hématologie. Merci à Alexandra, Guigui et Prupru le meilleur trio d'internes sans qui je ne serais pas devenue hématologue.

A l'hématologie du CH d'Annecy Genevois, merci pour ce tout premier semestre que j'ai adoré. Merci à Frédérique, Nicolas, Stéphanie, Caroline, Anne et toute l'équipe pour votre bienveillance, votre bonne humeur et pour les RCP repas.

Au 5^e C, merci de m'avoir accueillie pour mon premier semestre Grenoblois. Je n'aurais pas pu rêver être plus coconnée que je l'ai été ce semestre. Merci à toute l'équipe infirmières et aides-soignantes de rendre ce stage si drôle et chaleureux, c'est toujours un plaisir de revenir papoter en garde. Merci à Claude Eric pour la chasse aux loups et les tartes aux citrons, à Martin pour la visite en anglais et les jeux de mots, à Anne pour m'avoir appris l'humilité, la rigueur clinique et d'être un modèle d'empathie et de bienveillance. Merci à Loulou, mon co-interne en or, sans qui le semestre aurait été bien triste.

A l'HDJ, merci à toute l'équipe infirmière, aide-soignante, secrétaire. J'ai passé un semestre extraordinaire avec vous, encore merci. Merci à Brigitte pour ton expérience et ta générosité, je suis heureuse d'avoir eu la chance d'être ton interne. Merci à Clara pour les gouters, les jeux de mots, les topos randos et de m'avoir appris à m'organiser au travail. Enfin, merci à mes 2 copines de l'HDJ, Marie et Lucie, pour tous les bons moments et pour tous les prochains weekends copines à venir.

A la cytaphérèse, dernier stage d'une longue liste. Merci aux filles pour la bonne ambiance, les fous rires et mes 30 ans confinés ! Merci à Mathieu, alias Mobilizator, d'avoir toujours été présent lorsque j'en ai eu besoin et d'être un si bon CCA. Merci à Caro, la CCA qui abat le travail de 3 personnes à elle toute seule, pour les fous rires, ta présence, les coups de gueule et ton soutien à toute épreuve. Enfin, merci à Philippe, alias père castor, je suis honorée d'avoir eu la chance d'être votre interne avant votre départ à la retraite. J'ai été ravie de pouvoir profiter de votre expérience clinique, zoologique et de vos conseils de vie toujours judicieux. La petite peste vous remercie !

Aux Arcs et aux secrétaires, grâce à qui j'ai passé de si bons semestres. Merci d'avoir été là pour mes coups de blues, mes coups de ronchonades et pour les fous rires.

Au 5^e B, merci à toute l'équipe du service que j'appelle ma maison. Merci à toute l'équipe ASH, AS et IDE pour toute cette bonne humeur, cette solidarité hors du commun et de me faire sentir ici comme chez moi. Je suis ravie d'avoir été acceptée chez vous et de pouvoir faire encore un bout de chemin avec vous. Petite dédicace spéciale à Ugo, mon super copain, qui fait que toutes les journées et nuits ensemble se passeront « bien ». J'ai trouvé un ami et un collègue à toute épreuve ! Merci à Nico mon co interne avec qui on s'est tant marré, je recommence les yeux fermés. Merci à Stéphane, mon mentor, merci pour les visites si drôles et pour les discussions gouters. Et surtout, je vous admire beaucoup ! Merci à Lysiane, même si tu as refusé de m'adopter, sache que je te suis mille fois reconnaissante de tout ce que tu as pu m'apprendre. Tu

es toujours là pour moi et es un modèle de bonne humeur et de positivité. L'odeur de Lysiane de bon matin est toujours synonyme de bonne journée.

Au 3^e C, merci à toute l'équipe paramédicale pour ce semestre si agréable et si formateur, notamment Jupette et Fanny. Merci à Annick de m'avoir appris à devenir médecin. Merci à Micki et Aurélie, les meilleurs co-internes dont je pouvais rêver. Vivement notre prochaine soirée les 3. Merci à mes supers externes qui ont rendu ce semestre plus simple (JB, Thibault, Nathan, Maiténa).

A l'IHOP, merci à toute l'équipe pour m'avoir appris la pédiatrie dans la bonne humeur. Merci à tous mes petits patients qui m'ont tant appris. Merci à tous les PH et surtout merci à Lauriane et Claire pour avoir formé ce trio si chouette qui perdure.

A la Réa méd, merci à toute l'équipe paramédicale pour avoir fait de ce stage si dur un tel moment de solidarité, de blague et de bonne humeur. Merci à la RBB pour m'avoir offert le meilleur groupe de copains du monde, Valou et sa bonne humeur malgré retard et fractures, Benoit mon super-héro des temps modernes, JADB la patte de lapin Team building du CHU, Stéphane la faucheuse au grand cœur, PJ au PJettes mais avec le sourire, Arthur et ton sérieux à toute épreuve, Charlie pour ton sens de l'humour incroyable. Ca fait déjà 3 ans, on se serre toujours les coudes et on tient toujours le bar, merci ! Merci à tous les séniors, Pr Schwebel et Pr Terzi de m'avoir tant appris, Anais et Charlotte et surtout LMG et Guigui pour avoir rendu ce stage si chouette, les soirées internat crados jusqu'au dernier tram (ou le premier), le ventriglisse à l'appartement et j'en passe....

A l'hématologie Biologique, pour ce semestre génial où j'ai enfin pu approfondir et comprendre ce qui était si abstrait pour moi jusque-là. Merci à Benedicte, Gauthier et Claire pour les heures de myélogramme à base de café ou de thé et surtout de chocolat. Merci à toute l'équipe de cytogénétique et de BioMol de m'avoir accueillie dans votre famille (maman tanard, Katia et Isa qui se sont occupées de moi comme si j'étais leur fille en m'apprenant cuisine/couture/etc et à mes 2 sœurs un peu barrées Claire et Emilie). A Cheche pour les jeux de mots, le rugby et le cofrac !

A l'oncologie, même si je n'ai pas pu passer dans votre service vous êtes toujours disponibles, prêts à rigoler, debriefer et à discuter. Une pensée toute particulière pour Natacha, ma copine de l'AIMG et des anniversaires bourrés pendant l'enterrement des assistants, j'espère qu'un jour on l'aura notre bureau !

A tous les co internes d'hématologie, qui ont été là tout au long de mon internat et l'on rendu plus agréable : Christina, Paul, Clémence, Natacha, Eleonore, Doan, Lauren, Fabien, Eve, Victoria et surtout Claire pour avoir toujours été là quand j'étais « au bout de ma vie », Alexia pour ton caractère bien trempé derrière ce petit corps plein de douceur et Chach ma grande copine qui est la seule à ne pas savoir à quel point elle est exceptionnelle.

A tous les patients, notamment certains auxquels je me suis tant attachée, qui m'ont vu et fait grandir et que j'ai pu accompagner.

A mes amis,

A mes amis de Bezak, pour avoir été là pendant l'externat et pour toutes les soirées, baptêmes, WEI, WED, Férium, DT et DHIVER ! Merci à la team bricolo, Justin, Chooogne et Valentin de Pointurier, mes meilleurs copains, qui me connaissent par cœur, savent quand je vais chouiner, m'emmènent à la citadelle en pleine nuit pour me consoler, me font croire n'importe quoi et sans que les festivals berlinois ne seraient pas. Vous me manquez. Merci au groupe de la petite table de D4 pour cette année si nulle mais si chouette. Marion tu as toujours été là pour moi et malgré la distance et ta vie de famille tu l'es toujours, j'ai hâte de revenir faire du shooping avec toi car « mais cette robe, si tu comptes en nombre de gardes, ça fait combien ? ». Bib'r merci pour tous les semestres scandaleusement indemnes de rattrapages ayant permis nos excursions de l'intelligence à Clermont et de m'avoir si souvent recueillie chez toi pour des « pattes de chat ». Mathias, pour ta gentillesse et ta générosité à toute épreuve, des mecs comme toi on en fait plus. A Luc, mon super parrain qui a trouvé tous mes surnoms les plus improbables et s'est si souvent occupé de moi. A Grazou, ma marraine en or, pour les randonnées, les dimanches, les repas, les bêtises, les soirées, les extés, tout. A Micra, pour les films nuls au cinéma, les minions, les footings et ton amitié. A Serpi, pour tous nos restaurants et nos soirées confidences, merci d'être un si bon ami même si on ne se voit plus assez. A Elsa, Alice et Youyou, qui m'ont accompagné à Grenoble, mon internat aurait été bien triste sans vous, je suis ravie de pouvoir toujours vous compter parmi mes amis et être mon pilier au milieu de cette vie grenobloise. Youyou, qui aurait dit il y a 10 ans qu'après les footings, les confs et l'internat, nous en serions là aujourd'hui ? Je suis fière que tu participes à cette partie de ma vie et de pouvoir accompagner Aissa, la plus belle des filleules, dans la sienne. Enfin merci à tous les copains qui ont marqué ces 6 années, Douillet, Furet, les Mariolles et les belotes, Mouby, Polak, Pasteur, Clara, Lapin, Croton, Deub,....

Aux Grenoblois qui ont ouvert l'autoroute Grenoble-Bezak, et surtout à Ju que j'ai rencontré à la sortie de la salle de bain du donjon et qui au fur et à mesure des années et devenue ma confidente et mon amie. Merci de toujours répondre immédiatement présente afin d'apaiser mes coups de blues et de colère.

Aux Niçois, Dianou, Celia et Poubie, merci pour tous nos week-ends retrouvailles qui sont tellement chouettes et si importants pour moi. Vivement les vacances à la Réunion ou au Maroc ? Merci Benja, monsieur papatissier, d'être là depuis maintenant 8 ans et de répondre toujours présent. Ton amitié compte tant et j'espère qu'elle perdurera.

A Roubaix et la Fraternité des Petits Cons et tous les bébés Roubaix nés et à venir, merci de m'avoir appris à poser mon cerveau, tenir le bar et m'en fichier de ce qu'on pouvait penser de moi. A mon papa chat Rex pour les gratouilles, DeeJay qui cache tant de douceur derrière ton air de skinhead, Alexis pour la propreté selon Créteil, Godi pour m'avoir adoptée nantaise sous le doux nom de Bussolini, Pedro pour ta gentillesse à tout épreuve et si bien t'occuper de Bertille, Ju pour l'apprentissage de la vie Clermontoise, Dorifle notre mère à tous, LaGueuz pour son goût de la bière, Mr Rond pour être resté, envers et malgré tout, un de mes amis les plus précieux, Marien pour tes robes, les couvertures de survie et ton amitié, Zozo pour tes cocktails, Mad et les chemins de chips, Cedro, Nolween et Jugie pour votre couple modèle, Cougui, Lucie, Loulou, Camtar, Basile, les pas si petits clermontois Touille et PocPoc.

Aux copains d'internat des tous premiers semestres, merci d'avoir et d'être encore mes amis les plus proches. Justine pour ta sensibilité et tes si bons conseils, Nico avec ta rigueur allemande

et tes discussions, Estelle et Quentin pour votre bonne humeur et votre couple si lumineux, Manu pour ton humour et ta disponibilité, Gaulin pour toutes les bonnes bouffes et les pauses en garde, Ludo pour ton sens de la répartie, Benedicte, Adrien, Thotho, Anne et Flo, Pierre Pascal et tous les autres... A Nemoz, l'homme qui traite les femmes comme des princesses et pour le dilemme robe-orthodontie, je suis honorée d'être ta boussole.

A l'AIMG et l'internat, merci à Marie Angèle, Louise, Luc, Denis, Kader et Eric qui m'ont offert un foyer où je suis toujours la bienvenue.

Aux copains du Farouk Fan club, Gégé et Coco pour tous les footings, les confidences, les psychanalyses. Vous formez un couple superbe, tu en as du courage Coco pour supporter un Gégé aussi psychorigide que moi. A Laura, super petit bras, la fille la plus douce et optimiste que je connaisse. Ne change jamais et ne prend jamais la nationalité Dijonnaise malgré tout ce que pourra te dire Antoine pour te convaincre !

A ma deuxième famille, Madou pour ta bonne humeur solaire et communicative, tu as su rendre la vie si simple pendant 3 ans et m'apprendre à être plus zen. A Flo, pour les réparations de vélos et j'en passe, j'ai trouvé en toi le frère toulousain insupportable et hyperactif qu'il manquait dans ma vie. On ne manque jamais de te charrier mais on t'aime, ne change pas. A Rodg, pour la piscine, les sequins, Roxy, derrière ton air de camionneur se cache une fille extraordinaire qui a tort de manquer de confiance en elle. A Floflo, merci pour ce semestre d'été si parfait, ton calme et ton humour incroyable me manquent. Tu rends Rodg tellement heureuse et j'espère que cela continuera encore longtemps. Il faut vraiment qu'on regarde les annonces de Villas dans la vallée du Gresivaudan... Pendant ces 6 années, vous avez été mon refuge, mes Noëls, mes vacances, mes dimanches soirs, bref ma famille. Je ne saurais jamais comment vous remercier de tout ce que vous m'avez apporté, promettez-moi que l'on sera toujours là les uns pour les autres, vous comptez trop pour moi pour que l'on se perde.

A l'intercoloc et les colocs de passage, Truffe pour ta logistique à toute épreuve, Gwendal et Alexandra pour votre couple de sportifs, Pierrick pour les sorties sociales, Hugo pour ta classe et les bons petits plats, Elias pour le mystère de la baignoire, Hugo mon double masculin, et enfin Audrey ma confidente qui me ressemble tant, à qui je peux tout dire et qui est la seule à connaître autant sur moi. On a bien fait de devenir amies finalement, non ?

A tous ceux que je ne cite pas et qui ont marqué ces années d'externat et d'internat et ont fait de ces années les meilleures possibles.

A ma famille,

A Papa, Saint parfait, Saint modeste, gros blaireau,... Merci pour tous les sacrifices que tu as fait pour nous. Tu es un modèle de travail et de rigueur. Merci pour ton éducation grâce à laquelle je suis devenue la personne que je suis. Tu oublies si souvent de penser à toi pour nous faire passer avant. Merci pour m'avoir appris à être empathique et à aimer les gens pour devenir un bon médecin. Merci pour m'avoir inculqué la simplicité d'une vie campagnarde. Merci pour les taches de champignons (que tu ne cesses de me voler), les coins à jonquilles/narcisses et les chamois. Merci de m'avoir transmis notre héritage familial et toutes ces valeurs qui font que je ne supporte plus d'être ailleurs qu'en Franche Comté. Merci pour le temps que tu as su me consacrer dès que tu avais 1min où tu ne travaillais pas, d'avoir su déplacer les montagnes et rattraper des trains pour moi. Plus je me grandis et plus je comprends t'être si semblable en caractère et j'en suis fière. Merci mon papa pour ton amour immense, sache que je le partage, même si on ne se le dit qu'à demi-mots.

A Maman, Toutoune, Tounday, pour m'avoir toujours aimé inconditionnellement et me chouchouter. Je t'avais promis de toujours continuer à te faire des câlins même quand je serais grande et je persiste. Tu as toujours tout fait pour nous et je ne t'en serais jamais assez reconnaissante. Merci pour les vacances en Normandie si vitales pour moi. Je n'oublierais jamais l'odeur de Villers à Pâques. Tu m'as transmis le goût de la famille et des balades sous les embruns. Merci pour le cidre le dimanche, les bulles de savon, les chansons lapins coquins, nos semaines « on fait ce qu'on a envie », les massages des pieds, les soirées couettes/films et j'en passe. Tu m'as appris la tolérance, la douceur et à ne pas (trop) m'énerver pour rien. Nos discussions à cœur ouvert m'ont permis de devenir plus sage et de m'ouvrir aux autres, même si je reste au fond une petite huitre. Enfin merci de m'avoir protégée envers et contre tout. Merci d'être ma maman.

A Caro, ma grande sœur, malgré nos années de différences, notre relation si particulière et si fragile est chère à mon cœur. Je serais toujours ton petit gnou puant.

A Papi Bob, tu étais et resteras un modèle de bonté et d'abnégation pour moi. Tu m'as appris l'amour du Pastis, les concours de rots et à escalader le mur du cimetière. Tu as toujours fait passer les autres avant toi, tu as fait de ton mieux et mission réussie. Tu me manques.

A Nous,

A toi, On aura mis le temps mais on aura fini par se trouver. Merci pour ton humour, ton côté rêveur et enfantin dont j'ai tant besoin. Tu es l'homme le plus gentil que je connaisse et ne laisse jamais personne te changer. Merci de me supporter même quand je me transforme en cocotte-minute prête à exploser et de continuer à me pardonner malgré tout. Merci de m'aimer un peu plus chaque jour et de m'offrir un avenir dont je rêve.

A Ritux, le chien dont je rêve depuis mes 4 ans. Tu as fait de nous une famille. Je ne pourrais plus imaginer notre vie sans toi.

TABLE DES MATIERES

-	ABBREVIATIONS.....	14
-	RESUME.....	15
-	ABSTRACT.....	17
-	INTRODUCTION.....	19
	○ Le lymphome folliculaire.....	19
	▪ <i>Définition et épidémiologie.....</i>	<i>19</i>
	▪ <i>Biologie et pathogénèse.....</i>	<i>19</i>
	▪ <i>Présentation clinique.....</i>	<i>22</i>
	▪ <i>Thérapeutiques.....</i>	<i>25</i>
	▪ <i>Facteurs pronostiques.....</i>	<i>28</i>
	○ <i>C-MYC.....</i>	<i>32</i>
	▪ <i>Rôle de MYC.....</i>	<i>32</i>
	▪ <i>Mécanisme de dérégulation.....</i>	<i>33</i>
	▪ <i>MYC en Cancérologie.....</i>	<i>34</i>
	▪ <i>MYC en Hématologie.....</i>	<i>34</i>
	○ Objectif de l'étude.....	37
-	MATERIEL ET METHODES.....	38
	○ Patients.....	38
	○ Cytogenetic analyses and Fluorescence in situ hybridization (FISH).....	39
	○ Validation cohort: PRIMA cohort.....	39
	○ Statistical Analysis.....	40
-	RESULTATS.....	41
	○ Clinical characteristics of the retrospective population.....	41
	○ Cytogenetic characteristics of the retrospective population.....	42
	○ Impact of numerical and structural aberrations of <i>MYC</i> on histopathological MYC expression.....	48
	○ Prognostic impact of cytogenetic alterations on patients treated with immuno- chemotherapy.....	49
	○ Validation Cohort.....	52
-	DISCUSSION.....	54
-	CONCLUSION.....	58
-	BIBLIOGRAPHIE.....	59
-	SERMENT HIPPOCRATE.....	68
-	ANNEXE 1.....	69
-	ANNEXE 2.....	89

ABBREVIATIONS

B2m : beta-2-microglobuline

CG : centre germinatif

ctDNA : ADN circulant tumoral

DH : double hit

FLIPI : *follicular lymphoma international pronostic index*

Ga101 : Obinutuzumab

GELF : Groupe d'étude des lymphomes folliculaires

IGH : chaines lourdes

IGL/K : chaines légères

LBDGC : lymphome B diffus à grandes cellules

LBHG : lymphome B de haut grade avec réarrangement de *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6*

LDH : lactate deshydrogénase

LF : lymphome folliculaire

LNH : lymphome non hodgkinien

LNH-T : lymphome non hodgkinien T

LNH-B : lymphome non hodgkinien B

OS : survie globale

PET Scanner : tomographie à émission de positrons

PFS : survie sans progression

R : Rituximab

SOS : survie spécifique

TFS : survie sans transformation

TMTV : volume métabolique tumoral total

TH : triple hit

RESUME

Lucile BUSSOT

IMPACT DES ALTERATIONS GENIQUES DE MYC DANS LES LYMPHOMES FOLLICULAIRES AU DIAGNOSTIC

CONTEXTE :

Le lymphome folliculaire (LF) est le second lymphome non hodgkinien le plus fréquent en Europe et Amérique du Nord. C'est une pathologie le plus souvent indolente. Les LF avec un réarrangement ou un gain de l'oncogène *MYC* en cytogénétiques sont rares et leur impact pronostique est controversé.

OBJECTIF :

Premièrement, nous avons exploré les altérations de *MYC* dans les LF *de novo* et leurs impacts cliniques chez les patients traités par immunochimiothérapie. Secondairement, nous avons validé les résultats obtenus dans notre cohorte à propos des gains de *MYC* en les confrontant à l'étude d'un sous-groupe de patients issus de l'essai clinique PRIMA.

MATERIEL ET METHODES :

Nous avons réalisé une étude multicentrique rétrospective incluant les patients ayant reçu un diagnostic de LF *de novo* avec des données de cytogénétiques entre Janvier 2001 et Janvier 2020. Nous avons récolté les informations de l'ensemble des cas et avons comparé leur survie en fonction des altérations de *MYC*.

RESULTATS:

Nous avons inclus 321 LF au diagnostic. Deux cent cinquante-neuf (81%) patients n'avaient pas d'altération du chromosome 8q24. Soixante-deux patient (19%) avaient une altération du chromosome 8q24 et ont été inclus dans le groupe 8qAlt. La technique de FISH, a permis de classer 45 patients dans le groupe *MYC*-EC et 6 dans le groupe *MYC*-R. En ne prenant en compte que les patients traités par immunochimiothérapie, les patients *MYC*-R étaient significativement plus âgés ($p=0.008$), avaient des stades FLIPI plus élevés ($p=0.05$) et un taux de $\beta 2m$ sérique augmenté ($p=0.05$). Les analyses univariées objectivent l'absence de différence significative en terme de « *Progression Free Survival* » (PFS) (HR : 1.3 ; 95% IC [0.4-1.6]) et « *Specific Overal Survival* » (SOS) (HR : 1.6 ; 95% IC [0.4-5.7]) entre le groupe *MYC*-EC et *MYC*-NL. Ces résultats ont été comparés à ceux issus d'un sous-groupe de patients de l'essai clinique PRIMA. Ces données confirment que *MYC*-EC n'a pas d'impact en termes de PFS ($p=0.86$) ou SOS ($p=0.9$). En revanche, *MYC*-R semble être associé à un plus mauvais pronostic en termes de PFS (HR : 6.1 ; 95% IC [2.2-17.1] ; $p=0.00026$), de survie spécifique (SOS HR : 13.6 ; 95% IC [2.9-65] ; $p=0.00014$) et de risque de transformation (TFS HR : 82.7 ; 95% IC [14.8-463.4] ; $p<0.0001$).

CONCLUSION :

En conclusion, le gain de *MYC* n'a pas d'impact pronostique dans les lymphomes folliculaires mais les réarrangements de *MYC* semblent associés à un risque augmenté de transformation et à un pronostic péjoratif.

MOTS CLÉS : Lymphome Folliculaire - c-MYC - Pronostic

SPECIALITE : HEMATOLOGIE

ABSTRACT

Lucile BUSSOT

ADVERSE OUTCOME IN FOLLICULAR LYMPHOMA ARE ASSOCIATED WITH MYC REARRANGEMENTS BUT NOT MYC EXTRA-COPIES

CONTEXT:

Follicular lymphoma (FL) with *MYC*-Rearrangements (*MYC*-R) and *MYC*-Extra Copies (*MYC*-EC) are rare and their prognosis impact are uncertain.

OBJECTIVE:

We investigated *MYC* alterations in *de novo* FL and their clinical impact on patients treated with immuno-chemotherapy. Secondly, we addressed the question of the impact of *MYC*-EC in a subgroup of patients from the PRIMA trial in order to validate our results in an independent cohort.

MATERIEL AND METHODS:

We conducted a retrospective multicentric study including patients with diagnosis of *de novo* FL with available conventional cytogenetic data from January 2001 and January 2020. We reviewed all cases to compare the outcome according to the presence of *MYC* alterations.

RESULTS:

We included 321 FL, 259 (81%) patients had no 8q24 alterations and 62 (19%) were assigned to 8qAlt. Forty-five cases were classified as *MYC*-EC and 6 as *MYC*-R. *MYC*-R patients were significantly older ($p=0.008$), had higher FLIPI stage ($p=0.05$) and $\beta 2m$ ($p=0.05$). Considering patients treated with immuno-chemotherapy, 4 presented a *MYC*-R and 25 a

MYC-EC. Univariate analysis showed the absence of significant difference between *MYC*-EC and *MYC*-NL regarding PFS (HR : 1.3 ; 95% CI [0.4-1.6]) and SOS (HR : 1,6 ; 95% CI [0,4-5,7]). Those results were confronted to data from the PRIMA trial. It confirmed that *MYC*-EC had no impact on PFS (p=0.86) or SOS (p=0.9). Conversely, *MYC*-R was associated with a trend to poorer outcome regarding PFS (HR : 6.1 ; 95% CI [2.2-17.1] ; p=0.00026), death from lymphoma (SOS HR : 13.6 ; 95% CI [2,9-65] ; p=0.00014) and risk of transformation (TFS HR : 82.7 ; 95% CI [14.8-463.4] ; p<0.0001).

CONCLUSION:

In conclusion, *MYC*-EC has no prognosis impact in FL but *MYC*-R FL tended to be associated with an increased risk of transformation and poorer outcome.

MOTS CLÉS : Follicular Lymphoma - c-MYC - Prognosis

SPECIALITY : HEMATOLOGY

INTRODUCTION

Le lymphome folliculaire

○ *Définition et épidémiologie*

Les Lymphomes malins sont divisés en lymphomes Hodgkiniens et lymphomes non Hodgkiniens (LNH). Les LNH regroupent les Lymphomes à cellules T (LNH-T) et les Lymphomes à cellules B (LNH-B). Les LNH-B comprennent plus de 30 entités différentes dont le Lymphome folliculaire (LF) qui est le 2nd plus fréquent sous-type en Europe de l'Ouest et Amérique du Nord. Le LF est une lymphoprolifération B d'évolution indolente. Il représente un tiers des cas de LNH chez l'adulte. L'âge médian de diagnostic est de 59 ans avec un ratio homme/femme de 1,7 :1¹.

○ *Biologie et pathogénèse*

La cellule d'origine dérive du centre germinatif (CG). Elle exprime un phénotype et des caractéristiques fonctionnelles semblables aux cellules B du CG comme BCL6 et sur-exprime la protéine BCL2. Cette surexpression est le résultat de la translocation t(14 ;18)(q32 ;q21), décrite comme caractéristique du LF. Cette translocation a pour conséquence de placer le gène *BCL2* sous le contrôle transcriptionnel de régions régulatrices de la chaîne lourde des Immunoglobulines (*IGH*). Cette translocation est retrouvée dans 80-90% des LF et est considérée comme l'événement oncogénique initial dans la pathogénèse du LF. Cependant, la translocation t(14 ;18) n'est pas suffisante pour expliquer l'apparition du LF. Il a été démontré que chez des individus sains, une population lymphoïde B t(14 ;18) peut être retrouvée sans qu'elle soit associée de façon systématique à l'apparition ultérieure d'un lymphome folliculaire². Il a aussi été démontré dans des modèles murins *bcl2* transgéniques que la surexpression de BCL2 n'est pas suffisante pour déclencher le développement

immédiat d'un LF³⁻⁵. En effet, cette translocation permet l'émergence du clone lymphoïde mais c'est la coopération de cette anomalie avec des altérations secondaires qui va permettre le développement du LF.

Cette translocation a lieu à un stade précoce de l'ontogénèse lymphocytaire dans la moelle osseuse, le stade pré-B^{6,7}. La protéine BCL2 confère un avantage de survie par le biais de son activité anti-apoptotique. Lors de la lymphomagenèse physiologique, au décours du processus d'hypermutation somatique et de sélection, l'expression de la protéine BCL2 est normalement réprimée dans la zone claire du centre germinatif afin de permettre l'apoptose des centrocytes non assez affins pour leur antigène. La présence de la t(14 ;18) entraîne la surexpression de BCL2 qui confère aux cellules lymphomateuses un avantage sélectif en n'étant pas sensible aux signaux d'apoptose du CG. Elles pourront alors réaliser de multiples cycles de réentrée qui vont permettre l'accumulation d'altérations secondaires conduisant à la sélection et la prolifération d'un clone lymphocytaire tumoral^{5,8} (Figure 1). Ces cellules clonales de LF sont alors bloquées au stade centrocyte/centroblaste et expriment les marqueurs du CG tels que CD10+ et BCL6+. Au total, cette translocation est un évènement important mais non suffisant seul pour expliquer la lymphomagenèse du LF.

Il est important de noter que tous les LF ne présentent pas de t(14 ;18) ou de translocations équivalentes telles que t(2 ;18) ou t(18 ;22). Les LF non t(14 ;18) représentent environ 15% des cas de LF^{9,10}. La physiopathologie de ces cas peut s'expliquer soit par des anomalies cryptiques *IGH/BCL2*, des anomalies cytogénétiques tels que des gains 18q menant à la surexpression en immunohistochimie de *BCL2*. D'autres anomalies peuvent s'observer : anomalies du 3q27 par translocation t(3 ;14) avec réarrangement du gène *BCL6*, délétion 1p36, gain 1q, délétion 6q, leur signification physiopathologique restant difficile à établir.

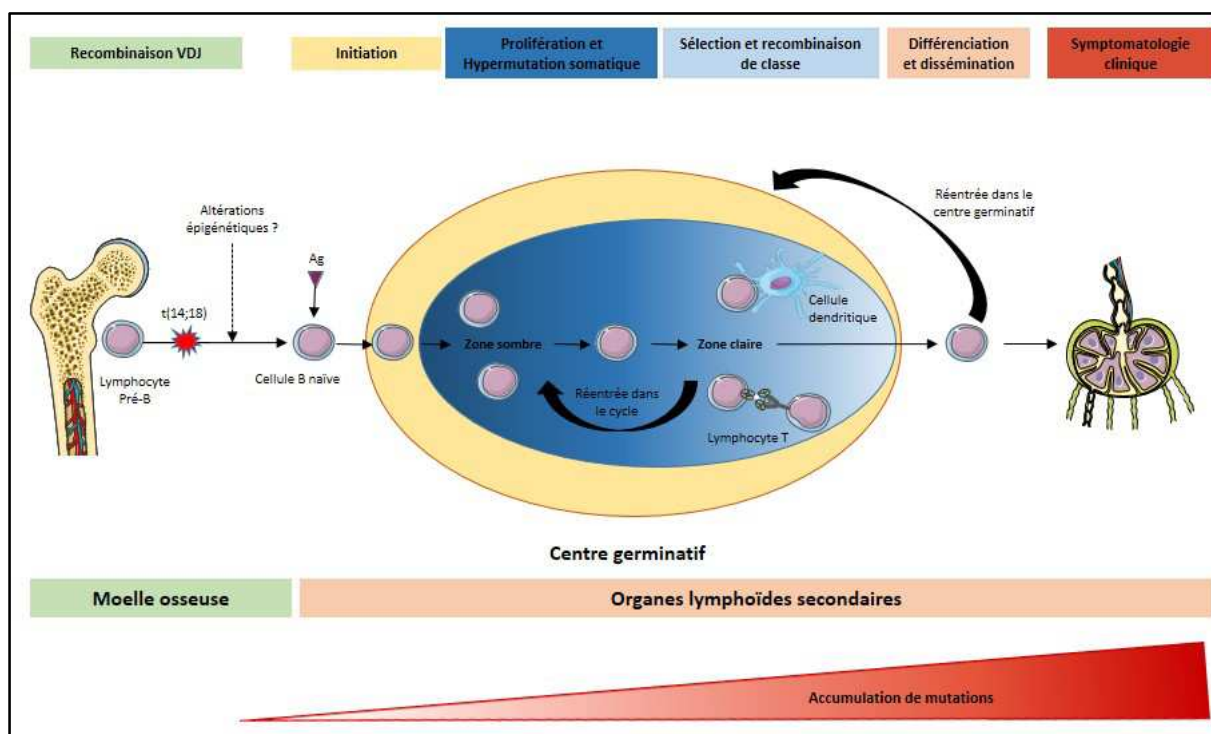


FIGURE 1. LYMPHOMAGENESE DU LYMPHOME FOLLICULAIRE

La translocation $t(14;18)(q32;21)$ survient lors du réarrangement des gènes Ig dans la moelle osseuse au stade de lymphocyte pré-B. D'autres anomalies, notamment épigénétiques (*KMT2D*, *CREBBP*), peuvent survenir. Puis, au niveau des organes lymphoïdes secondaires, lorsqu'un lymphocyte B naïf rencontre son antigène correspondant, un centre germinatif (CG) se forme. Dans le CG, les cellules surexprimant la protéine anti-apoptotique *BCL2* ont un avantage de survie. Elles réalisent des cycles dans le CG d'hypermutation somatique, sélection et prolifération. Ces cycles entre la zone claire et la zone sombre permettent l'acquisition d'altérations secondaires. Après être sorties du CG elles peuvent également être capables de faire des réentrées dans les CG. L'accumulation de ces altérations génétiques secondaires permettra le développement du lymphome folliculaire. D'après Huet et al⁶ et Carbone et al⁸.

Les mutations de régulateurs épigénétiques sont fréquentes dans le LF. Les gènes les plus fréquemment touchés sont *KMT2D*, *EZH2*, *EP300* ou *CREBBP*. Ces mutations surviennent à un stade précoce et entraînent la perturbation de la régulation épigénétique. Les mutations inactivatrices du gène *KMT2D*, *CREBBP* et *EP300* entraînent une diminution de leur activité méthyltransférase et acétyltransférase alors que les mutations gain de fonction d'*EZH2* induisent l'augmentation de son activité méthyltransférase. L'ensemble de ces anomalies participent à une modification du programme transcriptionnel des cellules B et participent aux étapes précoces de lymphomagenèse en bloquant, entre autres, la différenciation des LB au sein du centre germinatif. Ces mutations peuvent également perturber la régulation de l'expression de *BCL6*, un facteur clé du CG, et permettre sa

surexpression participant au développement du LF⁶⁻⁸. De plus, les mutations inactivatrices de *CREBBP* et *EP300* jouent un rôle dans l'échappement immunitaire des LF⁶.

Comme nous l'avons précédemment évoqué de nombreuses altérations secondaires vont permettre le développement du LF. Dans un tiers des LF, il est mis en évidence des altérations de la voie *BCR-NFKB*, notamment par le biais des gènes codant pour *BTK* et *CARD11*, ce qui confère un avantage de survie et de prolifération aux cellules tumorales. Les anomalies de la voie *JAK-STAT* et *NOTCH* ont également été fréquemment décrites et participent à la prolifération et la survie cellulaire. Dans 30% des cas, il est décrit des mutations de *TNFRSF14* ayant un rôle dans l'échappement tumoral en induisant des signaux aux cellules du micro-environnement.^{6,8}.

Enfin, le micro-environnement tumoral joue un rôle majeur dans la lymphomagénèse du LF. Les interactions complexes des cellules néoplasiques avec celles du micro-environnement peuvent favoriser la survie, la prolifération et l'échappement au système immunitaire.

○ *Présentation clinique*

La présentation clinique du LF au diagnostic est le plus souvent peu symptomatique avec peu ou pas de signes généraux (asthénie, amaigrissement ou sueurs nocturnes). Elle se caractérise principalement par un syndrome tumoral étendu avec la présence d'adénomégalies indolores superficielles et profondes disséminées, une splénomégalie ou une hépatomégalie. La plupart des patients ont un stade Ann Arbor III/IV au diagnostic. L'infiltration médullaire est retrouvée dans 2/3 des cas. Un clone sanguin est mis en évidence dans 5-10% des cas par l'identification de lymphocytes atypiques de petite taille, au rapport nucléo-cytoplasmique proche de 1, avec peu ou pas de cytoplasme visible, un noyau à chromatine dense, mature, souvent fendu d'un sillon donnant un aspect en « grain de café » en cytologie. Des atteintes

extra ganglionnaires peuvent également être retrouvées tels que des épanchements des séreuses ou des envahissements gastro-intestinaux.

Le diagnostic de LF repose sur l'analyse histologique et immunohistochimique d'une biopsie/exérèse ganglionnaire. Cette tumeur présente une prolifération folliculaire qui remplace l'architecture nodulaire par des pseudos follicules néoplasiques présentant des centres germinatifs atypiques. Ces volumineux follicules sont entourés par une couronne de cellules du manteau souvent effacée. Une composante diffuse est parfois présente mais est le plus souvent minoritaire. Cette population tumorale est composée de centrocytes et centroblastes. Les centrocytes sont de petits lymphocytes, au rapport nucléo cytoplasmique élevé, au noyau clivé et sans nucléole apparent. Les centroblastes sont de grande taille, avec un noyau volumineux, une chromatine vésiculeuse et plusieurs nucléoles visibles.

La classification anatomopathologique (WHO 2016)¹¹ sépare les LF en différents grades en fonction du nombre de centroblastes par champ au fort grossissement (x40), sur au moins 10 champs, dans différents follicules néoplasiques :

- Grade 1-2 : majorité de centrocytes avec quelques centroblastes (<15/champ)
- Grade 3 : nombreux centroblastes (>15/champ)
 - o Grade 3a : persistance de centrocytes
 - o Grade 3b : entièrement composé de centroblastes

Les LF grade 3b conservent donc une architecture folliculaire mais leur présentation clinique, leur évolution, leur pronostic et leur caractéristiques immunohistochimiques et cytogénétiques les rendent plus proches des lymphomes B diffus à grandes cellules (LBDGC) que des LF. De ce fait, dans la suite de notre travail nous nous concentrerons sur les FL grade 1-3a.

L'immunohistochimie et l'immunophénotypage contribuent au diagnostic différentiel avec d'autres LNH à petites cellules. Ce sont des lymphocytes B qui sont porteurs des antigènes de surface de cette lignée CD19+ CD20+ CD22+ CD79a+. Elles expriment

également les marqueurs de différenciation du CG comme CD10+ et BCL6+ mais n'expriment pas CD5, Cycline D1, MUM1 ou CD43-. L'expression de BCL2 est la traduction phénotypique de la translocation t(14;18). Le réseau de cellules dendritiques CD21+ est conservé.

Le LF est une maladie incurable d'évolution variable, décrit comme faisant partie des lymphomes anciennement dits « indolents ». Son histoire naturelle est le plus souvent lente, s'étalant sur plusieurs années, avec une bonne réponse initiale aux thérapeutiques conventionnelles induisant une médiane de survie au diagnostic supérieure à 10 ans depuis l'ère du Rituximab.

Pour autant, le pronostic des LF reste hétérogène. Cette pathologie peut rechuter, nécessitant plusieurs lignes thérapeutiques, ayant pour conséquence des intervalles de survie sans traitement de plus en plus courts. Certains patients vont présenter des rechutes ou des progressions précoces^{12,13}, c'est-à-dire dans les 24 mois suivant le diagnostic ou l'initiation d'un traitement, définissant la POD24. Ils constituent un groupe associé à un pronostic péjoratif en termes de survie. Au cours de l'évolution, 25-35% des patients présenteront une transformation en lymphomes de haut grade¹⁴, habituellement en LBDGC mais aussi parfois en lymphome Lymphoblastique « *like* »¹⁵. Le risque continu de transformation est d'environ 3% par an¹⁶ mais son incidence semble en diminution depuis l'ère du Rituximab. Elle se manifeste par une altération de l'état général avec apparition de symptômes B (asthénie, amaigrissement, sueurs nocturnes, fièvre), l'augmentation de volume d'une ou plusieurs des adénomégalies, l'apparition d'atteintes extra ganglionnaires et l'élévation des LDH. Cette transformation est l'événement pivot dans l'évolution du LF car il est associé à des pathologies agressives, chimio-résistantes, de très mauvais pronostic avec une survie moyenne de moins de 2 ans^{13,14}.

○ *Thérapeutiques*

Il y a de nombreuses options thérapeutiques dans le LF allant de l'abstention thérapeutique à l'immunochimiothérapie. La décision thérapeutique repose sur le score FLIPI et sur les critères définis par le Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires (GELF) : forte masse tumorale (masse tumorale ganglionnaire ou extra ganglionnaire >7cm ou 3 sites tumoraux > 3cm), splénomégalie symptomatique, syndrome compressif (intestin, uretère, orbite,...), épanchement pleural ou péritonéal, cytopénie, élévation des LDH et de la β 2m ou présence de symptômes B¹⁷. Les grades histologiques 3B, tout comme les transformations devront être traités comme des LBDGC.

Une simple surveillance dite « *watch and wait* » est recommandée en l'absence de critères du GELF pour les patients avec une faible masse tumorale et non évolutifs (Figure 2). Pour les stades Ann Arbor I, si l'exérèse chirurgicale est complète il n'est pas nécessaire de réaliser de traitement complémentaire. Si l'exérèse est incomplète et/ou que la masse tumorale est supérieure à 5 cm il peut être proposé une radiothérapie. Un traitement par immunothérapie hebdomadaire seule (Rituximab) peut être proposé en cas de stade Ann Arbor II à IV sans critères du GELF (Figure 2).

Les patients avec critères du GELF sont traités par une immunochimiothérapie composée par l'association d'une immunothérapie anti-CD20 (Rituximab ou Obinutuzumab (Ga101)) avec une chimiothérapie conventionnelle (Figure 2). Depuis l'essai GALLIUM, l'anticorps anti-CD20 de choix est le Ga101. Dans cet essai, il a été mis en évidence une amélioration de la survie sans progression (PFS) dans le bras Ga101, quel que soit la chimiothérapie en association, malgré une augmentation d'effets indésirables notamment allergiques^{18,19}. Néanmoins, ce traitement ne permettant qu'une amélioration de la PFS, de nombreux centres continuent d'utiliser le Rituximab. Plusieurs régimes de chimiothérapie

peuvent être proposés en association. Le « *gold standard* » reste une chimiothérapie CHOP (Cyclophosphamide, hydroxydaunorubicine, vincristine et prednisone), délivrée tous les 21 jours pendant 6 cures, mais la Bendamustine est une alternative en première ligne thérapeutique. Plusieurs études ont démontré la non-infériorité de cette chimiothérapie et sa meilleure tolérance par rapport au CHOP, notamment sur le plan de la toxicité hématologique^{20,21}. Les LF avec mutations d'EZH2 sont associés à un pronostic favorable. Pour autant, une étude récente, non encore publiée, a mis en évidence un impact défavorable de ces mutations en terme de PFS dans les LF traités en première ligne par Bendamustine alors que les non mutés bénéficient de ce régime de chimiothérapie en terme de PFS²². Ces observations sont opposées lors de l'utilisation d'une chimiothérapie de type CHOP. Ces données suggèreraient que les LF bénéficiant d'une chimiothérapie par Bendamustine sont biologiquement distincts de ceux bénéficiant d'une association de type CHOP et ouvre la porte à des stratégies adaptées. Par contre, l'essai GALLIUM a objectivé que l'association Ga101-Bendamustine doit être choisie avec précaution car elle est associée à des toxicités augmentées (infections sévères et de néoplasies secondaires)¹⁹. Enfin, des adaptations thérapeutiques pourront être proposées en fonction de l'âge et de l'état cardiologique de type R-miniCHOP, R-CVP ou R-chloraminophène. D'autres protocoles dits « *chemo-free* » utilisant le Lenalidomide (Revlimid) ont été proposés. Même s'ils ont prouvé leur non infériorité mais n'ont pour l'instant par l'AMM en première ligne thérapeutique^{23,24}.

Depuis l'étude PRIMA il est recommandé de clôturer le traitement d'induction par un entretien de 2 ans constitué par l'anticorps anti-CD20 tous les 2 mois. En effet, l'étude PRIMA a démontré que le traitement d'entretien par rituximab confère un avantage en termes de PFS²⁵. De même, l'essai GALLIUM a objectivé qu'un entretien par Ga101 confère un avantage en terme de PFS¹⁸.

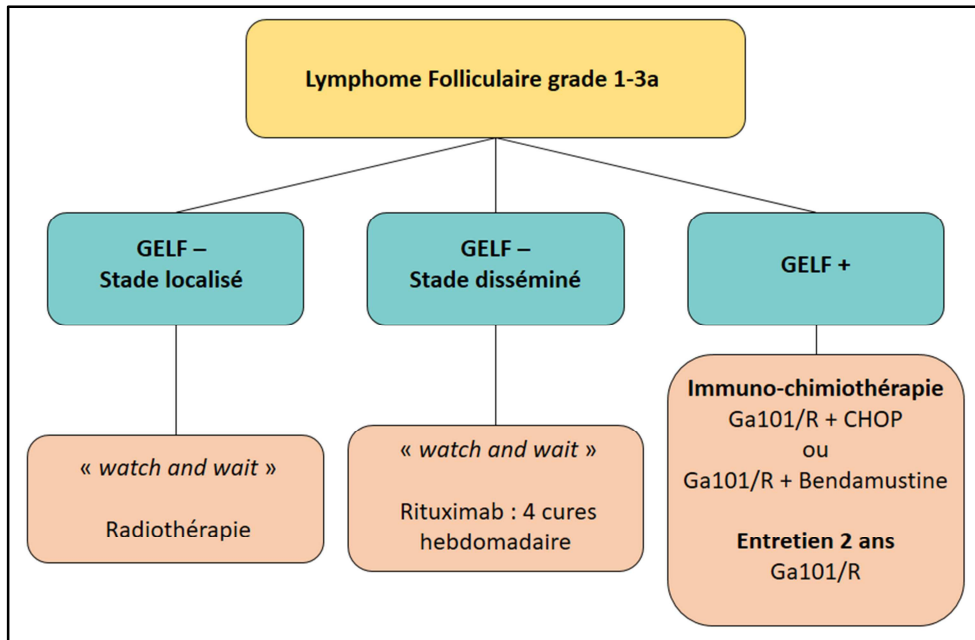


FIGURE 2. ALGORITHME DECISIONNEL DE PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DES LYMPHOMES FOLLICULAIRES AU DIAGNOSTIC

En cas de rechute et particulièrement en cas d'évolution agressive, il est conseillé de réaliser une nouvelle biopsie afin de ne pas ignorer une transformation en lymphome de haut grade. Il est recommandé de ne traiter que les LF avec critères du GELF en rechute. Si la rechute survient moins de 2 ans après la fin de la première ligne thérapeutique il pourra être proposé une association d'immunochimiothérapie non antérieurement utilisée ou une association anti-CD20-Revlimid. Il n'est pas recommandé d'utiliser l'anti-CD20 antérieurement utilisé si LF réfractaire (rechute < 6 mois). Si la rechute survient plus de 2 ans après la fin du traitement d'entretien il peut être proposé de renouveler la première ligne thérapeutique (excluant les anthracyclines) ou encore du Rituximab en monothérapie. Les indications d'autogreffe doivent être réservées aux patients dits « *fit* » présentant une maladie dite « chimio-sensible » en seconde rechute avec un délai de moins de 2 ans. L'indication d'allogreffe doit être réservée aux patients « *fit* » en rechute post autogreffe.

Les perspectives dans la prise en charge thérapeutique des LF sont nombreuses²⁶. Les anticorps anti-CD20 peuvent être associés à des molécules immuno-modulatrices, tels que le

Revlimid, afin de permettre une action synergique^{23,24}. Ces thérapeutiques sont utilisées en secondes lignes thérapeutiques. Plusieurs propositions thérapeutiques ont vu le jour grâce à l'identification de mutations épigénétiques notamment de la voie *BCR-NFKB* ou de la voie *mTOR*. On peut évoquer le TEMSIROLIMUS²⁷, un inhibiteur de *mTOR* ou l'IDELALISIB²⁸, un inhibiteur de *PI3K* qui ont montré des résultats prometteurs dans le LF en rechute ou réfractaires. Pour autant, le VENETOCLAX, un *BCL2* inhibiteur, a montré des résultats limités dans cette pathologie²⁹. En effet, même si la surexpression de *BCL2* est l'événement oncogénique initial nécessaire à l'émergence du clone tumoral, les évolutions clonales et les altérations secondaires vont permettre de réduire l'indépendance du clone à l'expression de *BCL2*^{30,31}. Enfin, le TAZEMETOSTAT³², un inhibiteur d'*EZH2* a montré de très bons résultats dans les LF en rechute ou réfractaires et est actuellement en cours d'essai thérapeutique en combinaison avec de l'immunochimiothérapie conventionnelle en première ligne thérapeutique. De nombreuses autres pistes thérapeutiques sont en cours d'étude grâce à une compréhension physiopathologique de plus en plus accrue de cette pathologie.

○ *Facteurs pronostiques*

Le stade histologique ne permet pas de prédire la survie et le devenir des patients atteints de LF. A l'heure actuelle prédire, à l'échelle individuelle, le pronostic de patients atteints de LF reste un défi. Au cours des dernières décennies, plusieurs scores ont tenté de classer les LF selon leur pronostic. Les scores pronostiques décrits ont été établis pour les patients avec critères du GELF traités par chimiothérapie type CHOP et immunochimiothérapie conventionnelle depuis l'ère du Rituximab (Tableau 1).

Le score pronostique le plus robuste et le plus ancien est le « *International Prognostic Index for Follicular Lymphoma* » ou FLIPI^{33,34}. Ce score composite, clinico-biologique, comprend : l'âge > 60 ans, le stade Ann Arbor III-IV, le nombre de sites atteints ≥ 4 ,

l'élévation des LDH et l'existence d'une anémie (hémoglobine <120 g/L). Ce score divise les patients en 3 groupes prédictifs de la survie globale. Pour autant, ce score a été établi avant l'ère du Rituximab et ne permet pas de prédire la survie sans progression. Le FLIPI-2 a ensuite été établi chez les patients traités par immuno-chimiothérapie³⁵. Ce score intègre : l'âge > 60 ans, l'élévation de la β 2-microglobuline (β 2m), et l'existence d'une anémie (hémoglobine <120 g/L), l'envahissement médullaire et une masse tumorale de plus de 6 cm. Ce score permet de prédire la survie sans progression selon 3 groupes de risques. Il a également été établi un score plus simple le PRIMA-PI qui prédit la survie sans progression selon 3 groupes de risques en fonction de la β 2m (>3mg/L) et la présence d'un envahissement médullaire³⁶.

Récemment, des facteurs pronostiques composites clinico-biologiques ont vu le jour. Le m7-FLIPI intègre le statut mutationnel de sept gènes fréquemment mutés dans le LF, le FLIPI et le « *performans status* » (ECOG)²². Ce score pronostique est prédictif de la survie sans progression et est particulièrement prometteur. Malheureusement, il est pour l'instant difficilement applicable en routine du fait des ressources technologiques de biologie moléculaire limitées, du besoin d'une quantité de matériel suffisante et conditionnée de manière uniforme pour cette méthode et de son coût.

D'autres scores pronostiques se basant sur la masse tumorale évaluée de façon biologique ou morpho-métabolique ont été mis en place. Sur le plan biologique, une approche se base sur la mesure d'ADN circulant tumoral (ctDNA) codant le locus V(D)J de l'immunoglobuline clonale réarrangé au diagnostic (NGS). Il a été objectivé que l'hétérogénéité clonale et un taux élevé de ctDNA semblent être des bio-marqueurs pronostiques prometteurs³⁸. Sur le plan radiologique, un score scintigraphique a été développé à partir de la tomographie par émission de positrons (PET-Scanner). Le volume métabolique tumoral total (TMTV) calculé au diagnostic semble prédictif de la PFS et de la survie globale

(OS) si le seuil de 510cm³ est dépassé³⁵. Malheureusement, ce score est encore peu appliqué en routine car la réalisation d'un PET-Scanner au diagnostic de LF est recommandée mais n'est pour l'instant pas obligatoire en pratique clinique.

Sur le plan biologique, d'autres facteurs pronostiques ont été identifiés. La réalisation d'analyse cytogénétique n'est certes pas strictement recommandée dans le LF mais est régulièrement réalisée en routine clinique, si disponibilité de matériel tumoral. Certains marqueurs pronostiques ont été mis en évidence notamment la délétion (17p) et la trisomie 12 pour l'OS ou la translocation 8q24 pour le risque de transformation^{39,40}. Pour autant, ces études ont été réalisées avant l'ère du Rituximab et ne sont pas extrapolables depuis son avènement. Le score moléculaire mGEP-23 est un modèle qui identifie le risque pronostic en fonction de l'expression génique de 23 gènes³⁷. Il permet de définir 2 groupes prédictifs de la PFS. Enfin, des travaux sur le micro-environnement tumoral ont montré que celui-ci joue un rôle essentiel dans la physiopathologie du LF. Il a été objectivé plusieurs marqueurs pronostiques tels que le rôle pronostique favorable de l'infiltration tumorale par les macrophages CD68+ ou par les cellules T Reg^{41,42}. D'autres études semblent établir un lien entre la présence de cellules NK circulantes et la réponse aux thérapies ciblées anti-CD20. Pour autant, ces données sont le plus souvent cantonnées au domaine de la recherche et ne sont pour l'instant pas applicables en pratique clinique.

Certains scores pronostiques se basent sur la réponse au traitement. On peut notamment évoquer la POD24 qui définit un groupe de LF de mauvais pronostic défini par la progression de la maladie dans les 2 ans suivants le diagnostic, ou l'initiation du traitement¹². Enfin, l'évaluation scintigraphique de la masse tumorale résiduelle à l'issue du traitement d'induction semble être prédictive de la PFS⁴³.

Enfin, certaines études ont essayé d'identifier des facteurs de risque de transformation en lymphome de haut grade. Certaines caractéristiques ont été identifiées : âge, ECOG>1, anémie, LDH>N, signes B, grade histologique 3a, FLIPI>2, un caryotype avec une translocation 8q24, l'absence de traitement d'entretien par Rituximab ou la réponse partielle à une première ligne d'immunochimiothérapie^{14,40,44-46}. Des données génétiques ont tenté d'identifier des anomalies prédictives de rechutes. Pour autant ces données restent controversées et hétérogènes dans la littérature scientifique^{8,37,38}.

Score Pronostic	Facteurs	Stratification	Survie globale à 5 ans (OS)	Survie sans progression à 5 ans (PFS)	REF
FLIPI	Age > 60 ans LDH > normale Ann Arbor III-IV ≥ 4 sites atteints Hémoglobine <120g/L	Bas risque (0-1) Risque intermédiaire (2) Haut risque (≥3)	90% 77% 52%		33
FLIPI 2	Age > 60 ans Hémoglobine <120g/L β2m > normale Envahissement médullaire Tumeur > 6 cm	Bas risque (0) Risque intermédiaire (1-2) Haut risque (≥3)		80% 51% 19%	35
PRIMA-PI	β2m > 3mg/L Envahissement médullaire	Bas risque (0) Risque intermédiaire (1) Haut risque (2)		69% 55% 37%	36
POD24	Progression dans les 2 ans suivants le diagnostic ou l'initiation d'un traitement	Bas risque Haut risque	90% 50%		12
m7-FLIPI	<i>Performans status >1</i> high risk FLIPI <i>EZH2, ARID1A, MEF2B, EP300, FOXO1, CREBBP et CARD11</i>	Bas risque Haut Risque		77% 38%	22
mGEP-23	<i>GAD45A, FOXO1, DCAF12, CXCR4, AFF3, ORAI2, E2F5, KIAA0040, TAGAP, TCF4, DEMA4B, FCRL2, PRDM15, EML6, USP44, RASSF6, VPREB1, SHISA8, ABCB1, METRNL, VCL, ALDH2, RGS10</i>	Bas risque Haut risque		73% 23%	37

TABLEAU 1. SCORES PRONOSTIQUES DANS LE LYMPHOMES FOLLICULAIRE

C-MYC

○ Définition et rôle de MYC

La découverte de *MYC* débute aux balbutiements de l'onco-génétique dans les années 80. Le premier gène *MYC* identifié était alors un oncogène viral (*v-MYC*) qui induisait la myélocytomatose et des tumeurs aviaires. Depuis les équivalents humains ont été découverts. *C-MYC* fait donc partie d'une famille de 3 proto-oncogène *c-MYC* (*MYC*), *n-MYC* (*MYCN*) et *l-MYC* (*MYCL*). Il est situé sur le chromosome 8 en position q24. C'est un des oncogène le plus fréquemment activé et est impliqué dans au moins 20% des cancers humains^{47,48}.

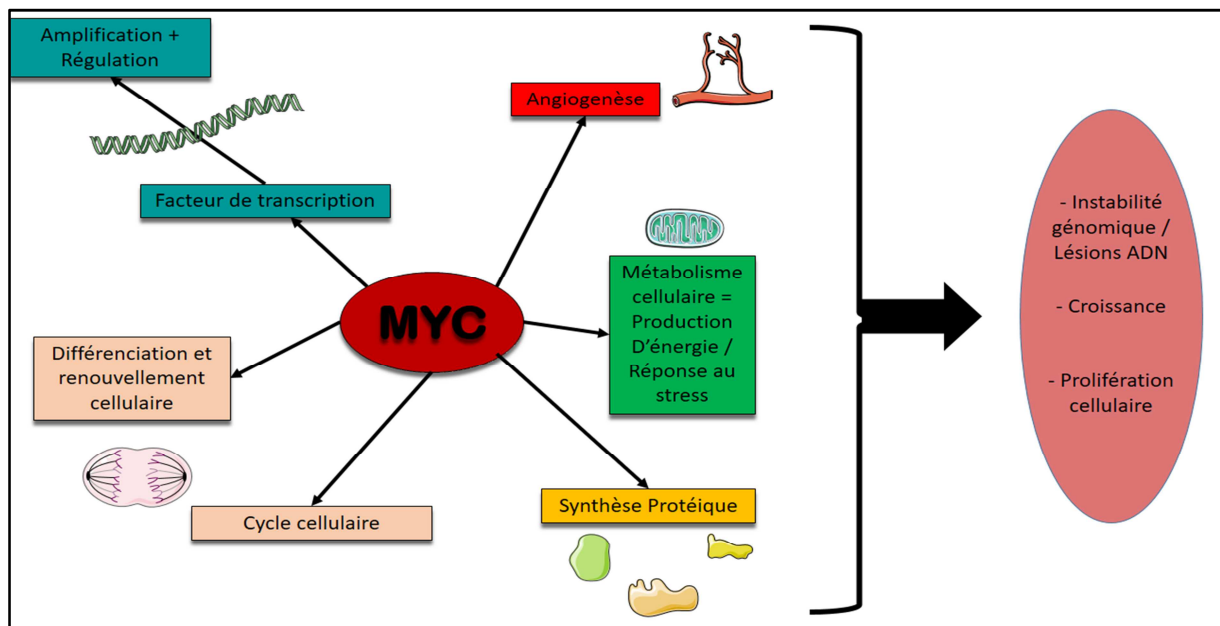


FIGURE 3. ROLES DE MYC.

La totalité de son mode d'action n'est toujours pas entièrement comprise mais il a été prouvé qu'il a une place centrale dans le métabolisme cellulaire et est au carrefour de plusieurs voies de transductions de signaux promoteurs de croissance. C'est une protéine multifonctionnelle et hautement régulée, impliquée dans le métabolisme cellulaire, le cycle cellulaire, l'apoptose, le développement cellulaire, les mécanismes de régulation cellulaire et la biologie des cellules souches. *MYC* est un facteur de transcription régulant 10-15% des gènes et joue aussi un rôle de régulation sur la traduction, la réplication, l'épissage de l'ADN.

Il a été mis en évidence qu'il exerçait de nombreuses fonctions par le biais des ARN codants comme les ARNmessagers (ex = action suppressive de tumeur de TP53, rôle sur le cycle cellulaire des kinases cyclines dépendantes)⁴⁷⁻⁴⁹. De ce fait, les anomalies de *MYC* peuvent non seulement favoriser la prolifération tumorale mais également induire une instabilité génétique participant à l'oncogenèse (Figure 3).

○ *Mécanisme de dérégulation*

Les mécanismes de dérégulation de *MYC* sont divers et induisent son activation oncogénique. Ces mécanismes de dérégulation aboutissent à la modification de l'expression de *MYC* ou de son activité (Figure 4)⁵⁰.

Le premier mécanisme de dérégulation est la mutagenèse insertionnelle. *MYC* a été le premier oncogène cellulaire qui a été démontré comme activé par le biais de l'insertion d'un promoteur rétroviral. Ce mécanisme de transformation néoplasique repose sur l'activation d'un gène non muté par le biais d'un rétrovirus activateur.

Le second mécanisme d'activation de *MYC* est la translocation chromosomique. Le réarrangement chromosomique de *MYC* consiste en la juxtaposition du locus de ce gène avec un autre gène tel que celui des Immunoglobulines (chaîne lourde et chaîne légère). La translocation conduit à la recombinaison entre *MYC* avec un autre gène et au final, en sa surexpression. Ce mécanisme est celui qui est le plus retrouvé en hématologie. Il peut notamment être placé sous le contrôle d'un « *enhancer* » tel que celui des chaînes lourdes et conduire à sa surexpression.

Le troisième mécanisme est le gain et l'amplification de *MYC* (*MYC*-Amp) dont la définition est controversée^{51,52}. En hématologie, elle est le plus souvent définie par au moins 4 copies du gène mais en oncologie le nombre de copie de *MYC* est souvent innombrable. Ce mécanisme consiste en l'acquisition d'anomalies cytogénétiques provoquant l'augmentation

du nombre de copies de la région codante pour *MYC* ayant pour conséquence une surexpression de *MYC* et donc de sa dérégulation.

Enfin, certaines anomalies de voies de signalisation telles que celles de *BCR* et de *NFKB* peuvent provoquer l'augmentation de la transcription de *MYC* malgré l'absence d'altérations de celui-ci⁵³.

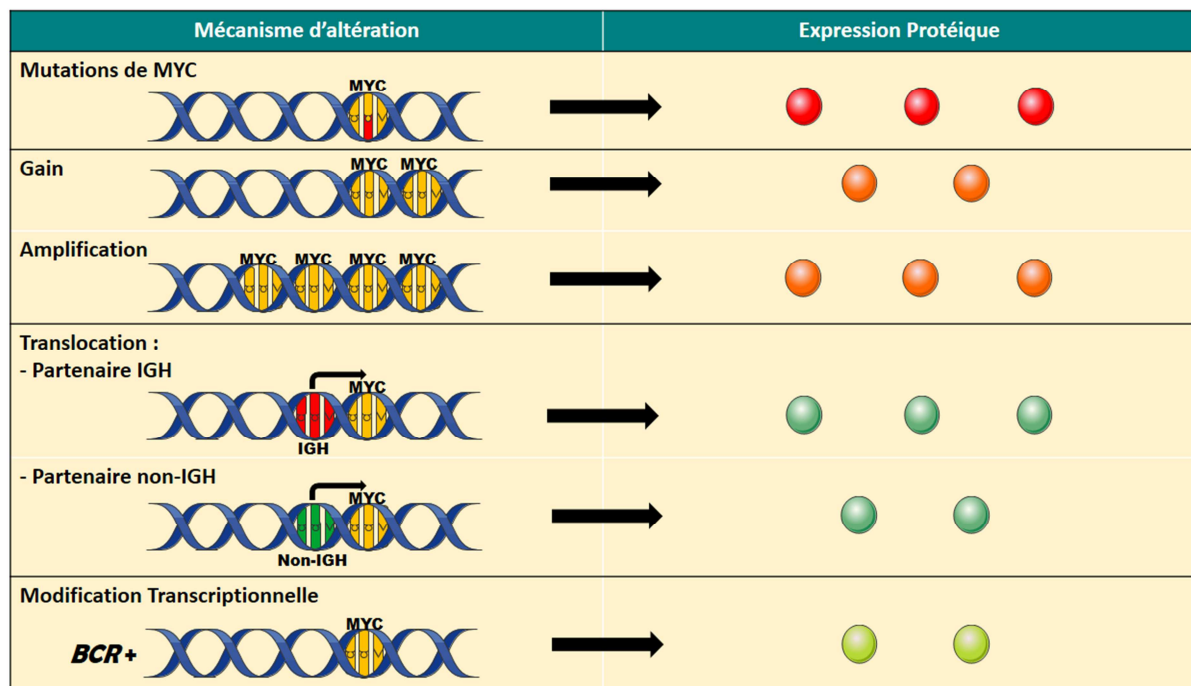


FIGURE 4. MECANISMES D'ALTERATION DE MYC

○ *MYC en Cancérologie*

MYC est largement décrit dans le domaine de la cancérologie. En effet, *MYC*-Amp est l'anomalie la plus fréquemment retrouvée dans les cancers solides. Elle est identifiée dans de nombreux cancers tels que le cancer du sein, de l'ovaire, de l'œsophage, de l'estomac, de la vessie, du poumon,⁵⁴...

○ *MYC en Hématologie*

MYC a définitivement été identifié comme un oncogène prédominant en hématologie grâce à la mise en évidence de son rôle dans le LNH de Burkitt dans les années 80^{55,56}. La

translocation caractéristique de *MYC* sous le contrôle transcriptionnel d'une des régions régulatrices des chaînes lourdes (*IGH*) et légères (*IGL/K*) (t(8 ;14), t(8 ;22) ou t(2 ;8)) est à l'origine de la lymphomagénèse du lymphome de Burkitt.

Dans le LBDGC, la protéine *MYC* est surexprimée en immunohistochimie dans 30-50% des cas. Lorsque *BCL2* est également surexprimée (60%) on parle de LBDGC doubles expresseurs, dont la prévalence est estimée à 30% et dont l'impact pronostique est encore controversé⁵⁰. Cette surexpression n'est pas strictement corrélée aux réarrangements de *MYC* et indique l'existence de divers mécanismes de dérégulation de *MYC* comme les mutations de *MYC*⁵⁷, les gains de *MYC*⁵², ou les altérations de la voie de signalisation du BCR⁵⁸. Par ailleurs, les translocations sont des événements plus rares (5-15%). Seuls les réarrangements de *MYC* (*MYC*-R) ont montré un impact pronostique péjoratif en termes de PFS, d'OS et d'envahissement méningé dans les LBDGC traités par immunochimiothérapie^{59,60}. Dans la classification OMS 2016, les « lymphomes B de haut grade (LBHG) avec réarrangement de *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6* »¹¹ sont reconnus comme une entité à part entière de très mauvais pronostic et ne répondant pas aux thérapeutiques conventionnelles. Ils sont usuellement appelés lymphome double et triple-hit (DH et TH). Contrairement aux réarrangements, l'impact du gain de *MYC* reste débattu dans les LBDGC^{50,61-63} mais il a été montré dans une étude récente l'impact péjoratif de *MYC*-Amp⁶⁴. Des études prospectives de plus large ampleur semblent nécessaires pour confirmer cette tendance.

Dans le LNH du manteau, une étude récente du MD Anderson a permis de mettre en évidence l'impact péjoratif de *MYC*-R et de l'absence de valeur pronostique des gains et des amplifications de *MYC*⁶⁵. Dans la LLC, les gains de 8q24 ont été identifiés comme un facteur pronostique péjoratif en termes de PFS et d'OS⁶⁶. Dans le myélome multiple, *MYC* est également fréquemment transloqué mais son impact pronostique n'est pas clairement défini^{67,68}.

Dans le LF, les anomalies de *MYC* sont rares^{69,70} et leur impact pronostique est débattu. Les LF *MYC*-R ont été décrits dans plusieurs « *case reports* » ou méta-analyses⁷⁰⁻⁷⁴. L'ensemble des cas décrits dans la littérature scientifique émettent l'hypothèse que ces cas correspondent à des formes de LF plus agressives, associées à un moins bon pronostic, notamment en raison d'une moins bonne réponse aux thérapeutiques conventionnelles^{70-72,74}. Certains auteurs suggèrent que les LF *MYC*-R conservent un comportement indolent ce qui est débattu⁷³. Pourtant, il n'existe à ce jour pas d'étude comparant la survie des LF *MYC*-R à celle des LF non *MYC*-R. De plus, les réarrangements de *MYC* sont fréquemment retrouvés dans les cas de LF transformés, suggérant un potentiel impact de *MYC* dans le risque de transformation en LBDGC^{69,75} ou en lymphome lymphoblastique^{15,76}. Par ailleurs, le rôle du gain et de l'amplification de *MYC* est incertain dans cette pathologie³⁹.

Enfin, de récentes publications^{57,77} suggèrent que l'histoire naturelle des LBHG n'est pas encore complètement comprise. Ainsi, il a été objectivé que les LBDGC DH *BCL2/IG-MYC* « *de novo* » présentent un paysage mutationnel similaire aux LF avec des mutations *BCL2*, *KMT2D*, *CREBBP*, *TNFRSF14* et *EZH2* au contraire des autres LBDGC DH⁵⁷. Ces données suggèrent donc que ces lymphomes agressifs pourraient avoir comme origine des lésions de LF passées inaperçues ce qui est corroboré par une autre étude récente. En effet, Vogelsberg et al⁷⁷ ont récemment rapporté une relation clonale entre LF « *in situ* » et HGBL dans plusieurs cas de HGBL. Ces relations ont été établies à partir de leur clonalité B, des réarrangements de *BCL2* ou de mutations somatiques partagées. Ces données suggèrent que les LBHG, DH (*BCL2/IG-MYC*) et TH, dérivent, le plus souvent, d'une évolution clonale branchée à partir d'un LF ou linéaire à partir d'un LF « *in situ* » et donc d'un progéniteur commun.

L'ensemble de ces données nous amène à penser que les LF *MYC*-R pourraient être une étape du continuum évolutif entre LF classique et LBDGC DH *BCL2/IG-MYC* et constituent potentiellement un sous-groupe de LF de plus mauvais pronostic.

Objectif de l'étude

Le gène *MYC* a été largement étudié dans les LNH. Les données sur *MYC* dans le LBDGC, le Lymphome du manteau et le LF nous amènent à penser que les altérations de *MYC*, réarrangements et gains, pourraient avoir un impact pronostic péjoratif dans le LF. De plus, la littérature scientifique dans ce domaine est quasi exclusivement constituée de « *case report* », de petites séries ou méta-analyses. Pour autant, ces articles semblent proposer une même tendance avec un pronostic défavorable.

Le but de cette thèse est de caractériser les altérations de *MYC* dans les LF au diagnostic et leurs impacts pronostiques en termes d'OS, de PFS et de survie sans transformation (TFS). Pour la première partie de notre travail nous avons étudié l'impact des anomalies cytogénétiques du locus 8q24. Puis nous avons exploré l'impact du gain et du réarrangement de *MYC* chez les patients avec des critères du GELF, au diagnostic et traités par immunochimiothérapie. Enfin, nous avons validé nos résultats obtenus sur l'impact du gain de *MYC* dans une cohorte issue de l'étude PRIMA^{17,25}.

METHODS:

Patients

We conducted a retrospective study of patients with diagnosis of *de novo* FL with available conventional cytogenetic data from January 2001 and January 2020 in the following hospitals: Grenoble Alpes University Hospital, Lyon Hospices Civils and University, Annecy Genevois Hospital, Bourg-en-Bresse Hospital, Daniel Hollard Institute and Léon Berard Center. Institutional multidisciplinary meetings dedicated to lymphoma diagnosis (biologist, clinician, pathologist) reviewed all the cases.

Inclusion criteria were age over 18 years, availability of cytogenetic data; diagnosis of *de novo* grade 1/2 or 3a FL confirmed by an expert center (LYMPHOPATH network)⁷⁸. Exclusion criteria were absence of clinical and biological data at diagnosis, stage 3b or histological transformation and immunodeficiency-associated lymphoma.

The GELF criteria were defined as previously published² by the presence of bulky disease (one lesion ≤ 7 cm or three nodes ≤ 3 cm), symptomatic splenic enlargement; organ compression, pleural or peritoneal effusion; raised serum concentrations of lactate dehydrogenase (LDH) or $\beta 2$ -microglobulin ($\beta 2m$); or B symptoms¹⁷. For survival analysis, we focused on GELF+ patients at diagnosis and treated with immuno-chemotherapy.

Cytogenetic analyses and Fluorescence *in situ* hybridization (FISH):

Conventional chromosomal analysis was performed on R- or G-banded metaphase cells prepared from cell suspension from tissue biopsy specimen (n=314), blood (n=2), bone marrow (n=2), spleen (n=1), pleural liquid (n=1) or ascitis liquid (n=1). Karyotypes were classified according to the International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2016).

FISH analyses were performed in case of suspicion of 8q alterations affecting the *MYC* locus on cytogenetic pellet using standard *in situ* hybridization protocols with the following probes: LSI *MYC* break apart, LSI *IGH/MYC/CEP 8* Tri color dual fusion, LSI *IGH/BCL2* dual fusion and LSI *BCL6* break apart (Vysis, Abbott laboratories Ltd, UK). All the cases were studied on metaphase and interphase nuclei with at least 10 metaphases and 200 nuclei, respectively. The cut-off for positive values were 2% for *MYC* probe, 1% for *IGH/MYC/CEP8* probe, 3% for *BCL6* probe and 1% for *IGH/BCL2* probe.

We defined 8qAlt group, constituted with cases with 8q24 alteration, and No8qAlt group, defined as all cases without any 8q24 alteration. Based on FISH results, 8qAlt group was divided into 2 subgroups *MYC-EC* and *MYC-R*. Cases with missing FISH results were excluded from subgroup analysis. Control group was constituted from No8qAlt group and defined as *MYC-NL* in this analysis.

Validation cohort: PRIMA cohort:

Fresh-Frozen tissue tumor (FFT) biopsies were obtained from FL patients at diagnosis participating in the phase III randomized PRIMA trial (NCT00140582). In this cohort, cytogenetic data have not been collected but Affymetrix Cytoscan HD DNA Arrays analyses allowing study of *MYC-EC* were performed.

Cytoscan DNA analysis was performed using extracted DNAs from FFT tumor biopsies. Those data were processed with rawcopy V1.0⁷⁹ to produce B-allele Frequency (BAF) and

Log R ratio (LRR) values from individual probes. The LRR and BAF profiles were then analyzed using ASCAT (v. 2.4)⁸⁰ for joint segmentation and ploidy and purity estimation. Absolute copy number calls for each segment were then derived using the estimated purity and ploidy and the LRR signal. The "neutral" copy number for a given tumor was defined as the most frequent one across the genome, and gains and deletions were defined as deviations from this neutral state. The *MYC* gene was considered as altered (gain or amplification) if 75% or more of the probes mapping to the *MYC* locus were assigned an extra-copy status.

Statistical analysis:

Patients' characteristics of the whole cohort were compared across the No8qAlt, 8qAlt, *MYC*-NL, *MYC*-EC and *MYC*-R using Fisher's exact test, whereas t test was used for continuous parameters.

Survival analysis were performed in the GELF+ group treated with immuno-chemotherapy using the Kaplan-Meier method and compared by log rank test. Progression Free Survival (PFS) and Overall Survival (OS) were defined according to IWG⁸¹. Specific-overall Survival (SOS) was defined considering only lymphoma related deaths and Transformation Free Survival (TFS) from time of diagnosis to proven transformation. Multivariate analyses were conducted using Cox model. Statistical analyses were performed using the RStudio software, version 3.6.1. A p-value <0.05 was considered significant.

RESULTS:

Clinical characteristics of the retrospective population:

We collected data from all consecutive patients meeting the inclusion criteria (n=321). Number of patients and reasons for withdrawal and exclusion criteria are presented in the flow chart (Figure 5). Clinical characteristics (Table 2) and outcome (Figure 9) were similar to published data^{33,35}. One hundred and seventeen patients (36%) were GELF- and benefited from “watch and wait” strategy, radiotherapy or immunotherapy. Two hundred and four patients (64%) presented GELF+ criteria and 132 (41%) received immuno-chemotherapy.

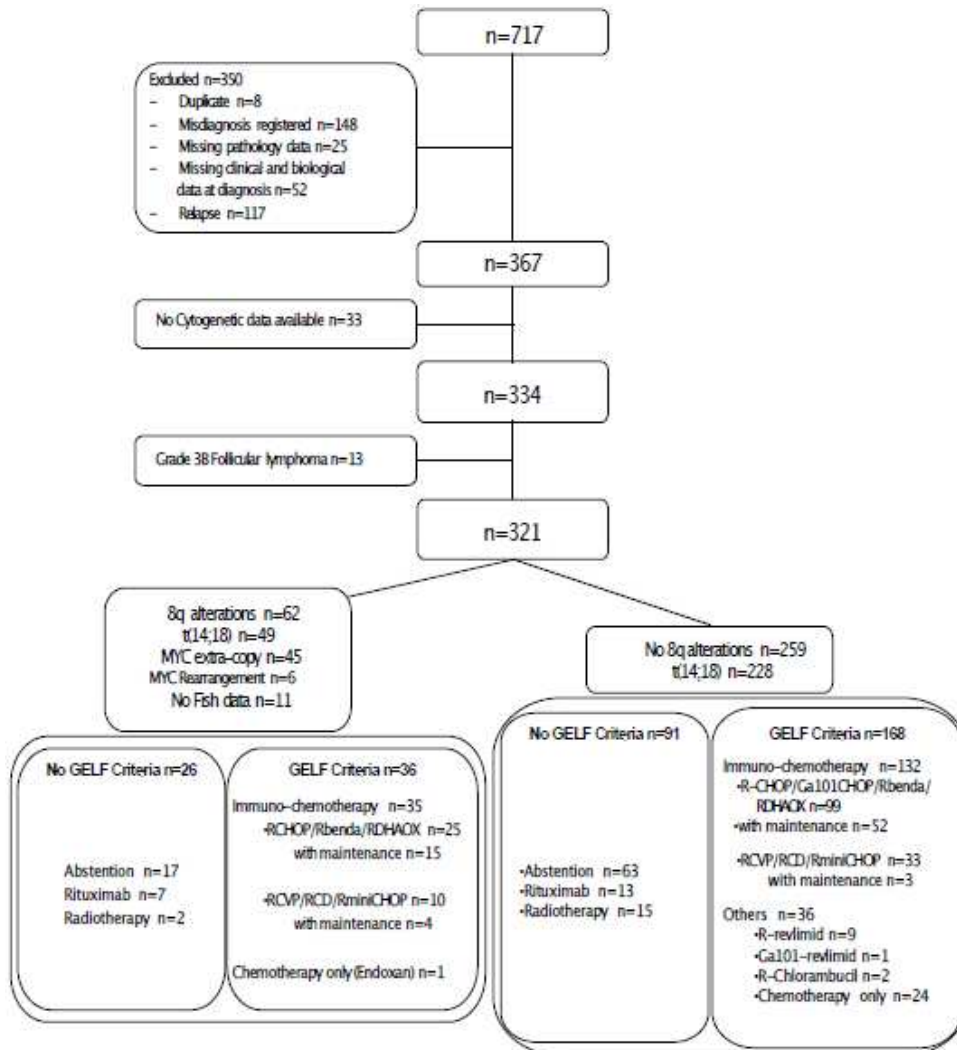


FIGURE 5. FLOW CHART OF THE STUDY COHORT, FISH RESULTS AND THERAPEUTIC STRATEGIES. Abbreviations: R: rituximab; CHOP: cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone; Benda: bendamustine; DHAOX: dexamethasone cytarabine oxaliplatin; CVP: cyclophosphamide, vincristine, prednisone; CD: cyclophosphamide dexamethasone.

Cytogenetic characteristics of the retrospective population:

Of those 321 patients, 86% presented a t(14;18). According to conventional karyotype results, 62 (19%) were assigned to 8qAlt and 259 (81%) to No8qAlt. The 8qAlt group presented significantly more complex karyotype with a median of 8 cytogenetic alterations versus 4 in No8qAlt ($p<0.001$). Other patients' characteristics were not significantly different including incidence of t(14;18) (Table 2). Considering only GELF+ patients treated with immuno-chemotherapy, the 8qAlt group also presented more complex karyotype but others cohort characteristics were balanced in both groups (Table 3).

	No8qAlt n=259 n(%)	8qAlt n=62 n(%)	P-value	MYC-EC n=45 n(%)	MYC-R n=6 n(%)	P-value
Ratio H/F	1.2	1.4	0.75	1.2	5.0	0.20
Median age, years (range)	59 (29-95)	60 (24-90)	0.73	58 (24-85)	76 (65-88)	<0.001
ECOG			0,25			0,026
ECOG 0-2	245 (95)	57 (92)		42 (93)	4 (67)	
ECOG 3-4	2 (1)	2 (3)		0 (0)	2 (33)	
NA	12 (4)	3 (5)		3 (7)	0	
Cytogenetic						
t(14;18)	228 (88)	49 (79)	0.09	34 (75)	5 (83)	1.0
Median number of karyotype alterations, number (range)	6 (0-21)	8 (3-20)	<0.001	8 (4-20)	8 (4-10)	0.67
Therapeutic strategy			0.09			1.0
GELF + group	168 (65)	36 (58)		25 (56)	4 (67)	
Immuno-chemotherapy regimen	132 (51)	35 (57)		25 (56)	4 (67)	
- maintenance	54 (21)	19 (31)	0.11	12 (27)	2 (33)	1.0
Others	36 (14)	1 (2)				
GELF - group	91 (35)	26 (42)		20 (44)	2 (33)	
Abstention	63 (24)	17 (24)		13 (29)	2 (33)	
Radiotherapy	15 (6)	2 (3)		1 (2)	0	
Rituximab only	13 (5)	7 (11)		6 (13)	0	

TABLE 2. SUMMARY OF CLINICAL AND CYTOGENETICS CHARACTERISTICS OF THE PATIENTS WITH AND WITHOUT 8qAlt AND SUBGROUPS.

Thirty-five patients (56%) in 8qAlt and 132 patients (51%) in No8qAlt (p=0.09) were treated by immuno-chemotherapy as frontline strategy (Table 2).

	Characteristics of GELF+ Follicular lymphoma treated with Immuno-Chemotherapy					
	No8qAlt n=132 n(%)	8qAlt n=35 n(%)	P-value	MYC-EC n=25 n(%)	MYC-R n=4 n(%)	P-value
Ratio H/F	1.1	0.6	0.5	1.5	3.0	1.0
Median age, years (range)	59 (29-86)	61 (43-90)	0.6	61 (44-77)	74 (65-80)	0.008
ECOG			0.5			0.1
ECOG 0-2	130 (98)	34 (97)		25 (100)	3 (75)	
ECOG 3-4	2 (2)	1 (3)		0 (0)	1 (25)	
Cytogenetic						
t(14 ;18)	123 (93)	32 (91)	0.7	22 (88)	4 (100)	1.0
Median number of karyotype alterations, number (range)	4 (0-20)	8 (3-17)	0.006	8 (3-17)	8 (4-10)	1.0
Therapeutic strategy			0.7			1.0
RCHOP like regimen	99 (75)	25 (71)		19 (76)	3 (75)	
RminiCHOP like regimen	33 (25)	10 (29)		6 (24)	1 (25)	
FLIPI			0.1			0.05
FLIPI 0-1	17 (13)	2 (6)		2 (8)	0 (0)	
FLIPI 2-3	95 (72)	23 (66)		19 (76)	1 (25)	
FLIPI 4-5	20 (15)	10 (29)		4 (16)	3 (75)	
Ann Arbor staging			1.0			1.0
I-II	13 (10)	3 (9)		3 (12)	0 (0)	
III-IV	119 (90)	32 (91)		22 (88)	4 (100)	
Hb<120g/L	23 (17)	8 (23)	0.5	3 (12)	2 (50)	0.1
LDH>N	40 (30)	16 (46)	0.2	10 (40)	3 (75)	0.3
Number of adenopathies ≥ 4	86 (65)	27 (77)	0.2	17 (68)	4 (100)	0.5
Bulky	33 (25)	12 (34)	0.3	9 (36)	1 (25)	1
Beta 2 microglobulin	52 (39)	17 (49)	0.5	8 (32)	4 (100)	0.05
POD24						
Progression/relapse within the first 24 months after first-line treatment initiation	32 (24)	9 (26)	0.8	5(20)	2(50)	0.2

TABLE 3. SUMMARY OF CLINICAL AND CYTOGENETICS CHARACTERISTICS OF THE PATIENTS WITH GELF CRITERIA TREATED WITH IMMUNO-CHEMOTHERAPY. RCHOP like regimen included RCHOP, Rbenda, RDHAOX and others. RminiCHOP like regimen included RminiCHOP, RCVP, RCD. Abbreviations: MYC-EC: MYC extra-copy; MYC-R: MYC rearrangement; GELF-: patients without GELF criteria; R: Rituximab; CHOP: cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone; benda: Bendamustine; DHAOX: cytarabine, dexamethasone, oxaliplatin; CVP: cyclophosphamide, vincristine, prednisone; CD: Cyclophosphamide, dexamethasone; Hb: hemoglobin; LDH: Lactate dehydrogenase; NA: not available.

Of the 62 8qAlt patients, 51 (82%) patients had available FISH data and 45 cases (72%) exhibited *MYC*-EC (Figures 6A and 6B) versus 6 (10%) *MYC*-R (Figures 7A, 7B, 7C and 7D). Patients' characteristics are summarized Table 2. *MYC*-R patients were significantly older with a median age of 76 versus 58years for *MYC*-EC patients ($p < 0.001$) and 2 patients (33%) presented an ECOG \geq 2 versus 0% in *MYC*-EC group ($p = 0.026$). Considering patients treated with immuno-chemotherapy, *MYC*-R patients were significantly older with a median age of 74 versus 61years for *MYC*-EC patients ($p = 0.008$), had higher FLIPI stage with 3/4 (75%) patients stage 4-5 versus 4/25 (16%) for *MYC*-EC patients ($p = 0.05$) and elevated β 2m in all cases (100%) versus 35% in *MYC*-EC patients ($p = 0.05$) (Table 3). Other clinical and biological factors were balanced between each group.

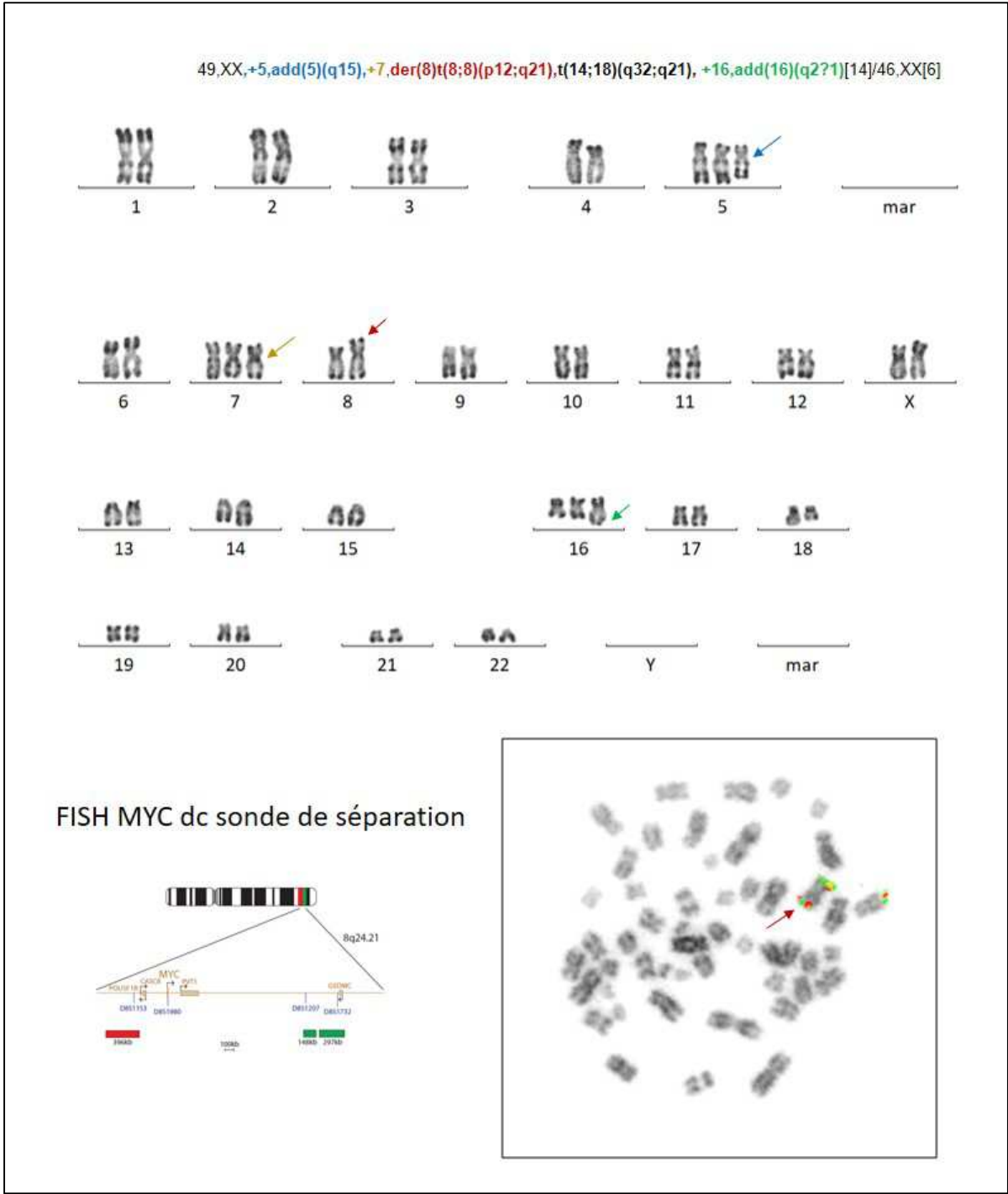


FIGURE 6A. EXEMPLES D'ALTERATIONS CYTOGENETIQUES IDENTIFIEES PAR CARYOTYPE ET FISH AU SEIN DE CAS MYC-EC.

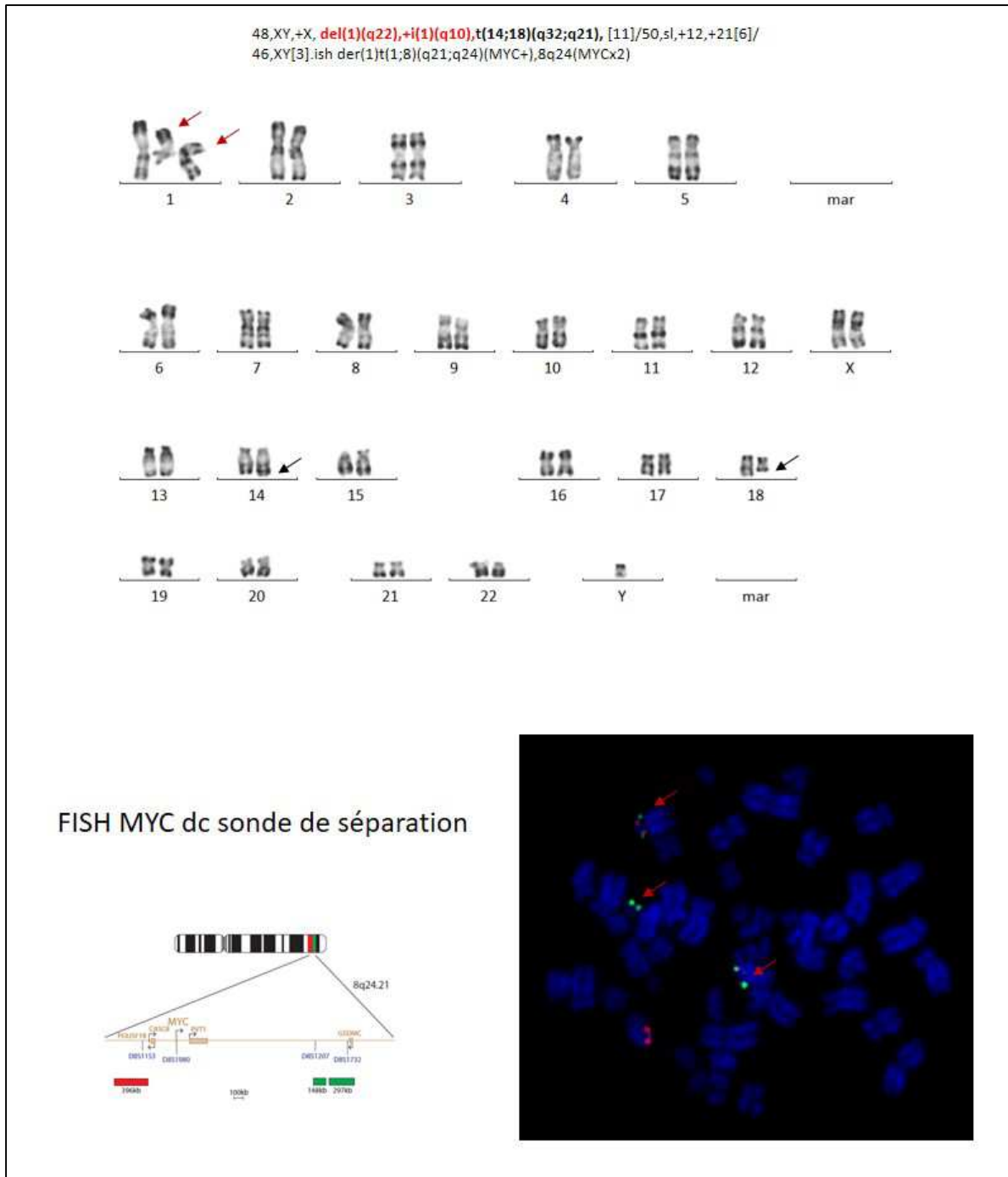


FIGURE 6B. EXEMPLES D'ALTERATIONS CYTOGENETIQUES IDENTIFIEES PAR CARYOTYPE ET FISH AU SEIN DE CAS MYC-EC.

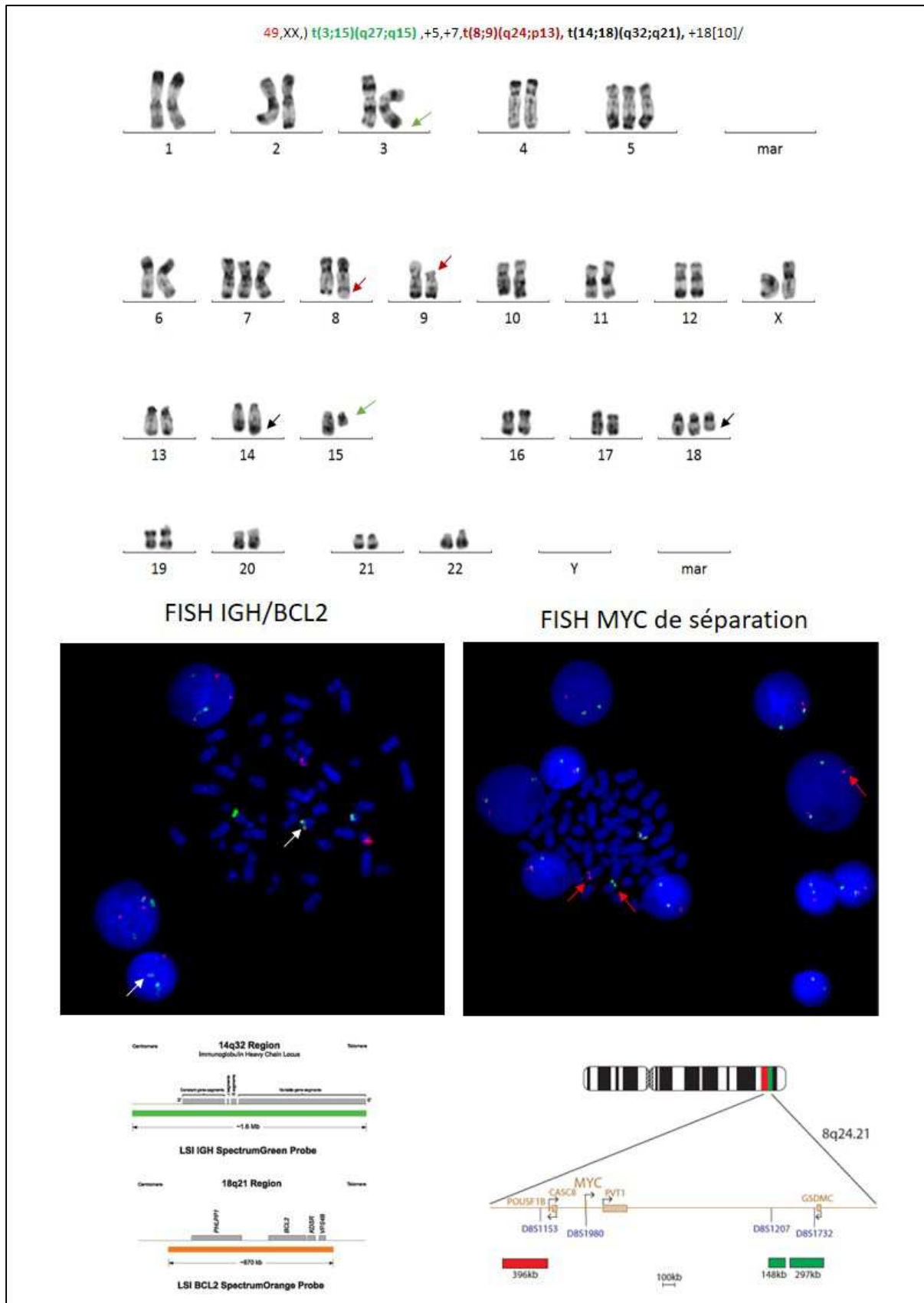
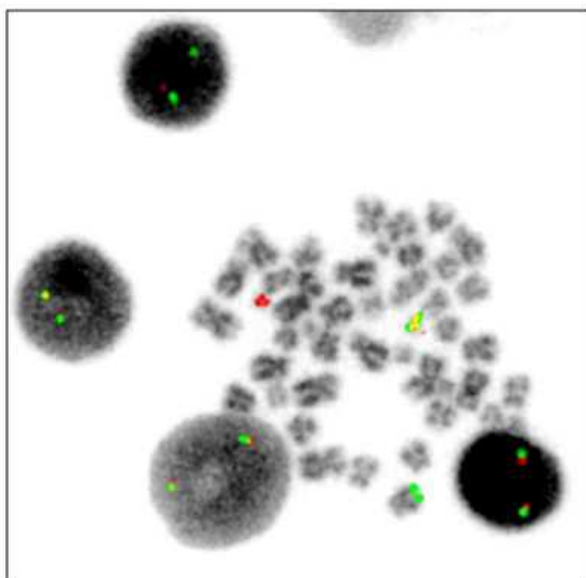
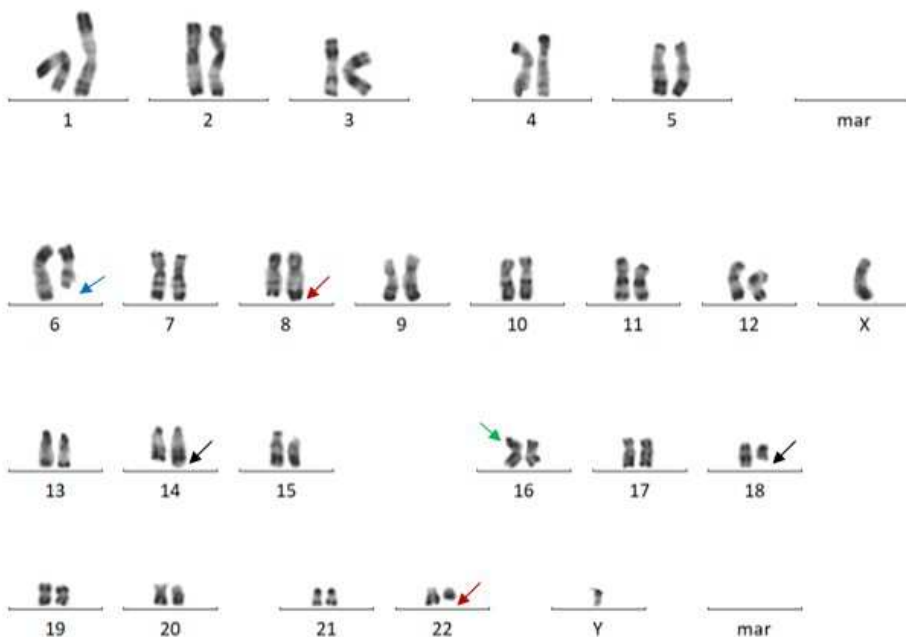
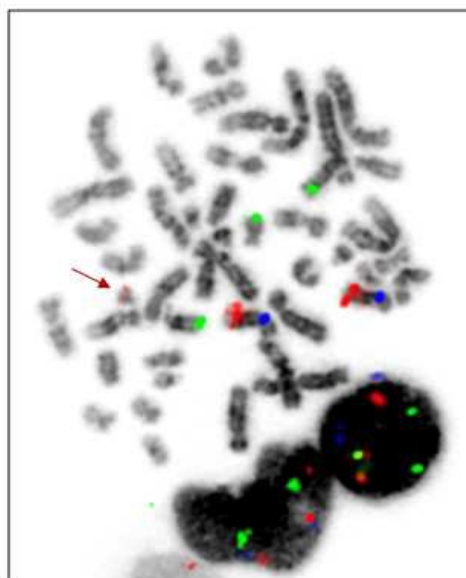
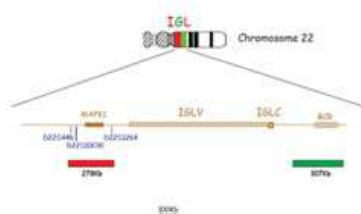


FIGURE 7A. EXEMPLES D'ALTERATIONS CYTOGENETIQUES IDENTIFIEES PAR CARYOTYPE ET FISH AU SEIN DE 4 CAS MYC-R.

46,XY,t(8;22)(q24;q11),t(14;18)(q32;q21),add(16)(p13)[15]/46,sl,del(6)(q15q25)[5]



FISH IGL sonde de séparation



FISH IGH/MYC/CEP8

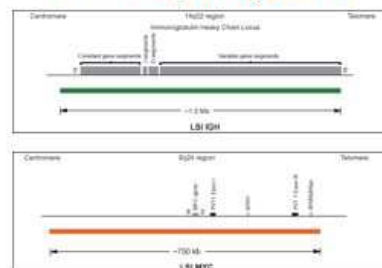
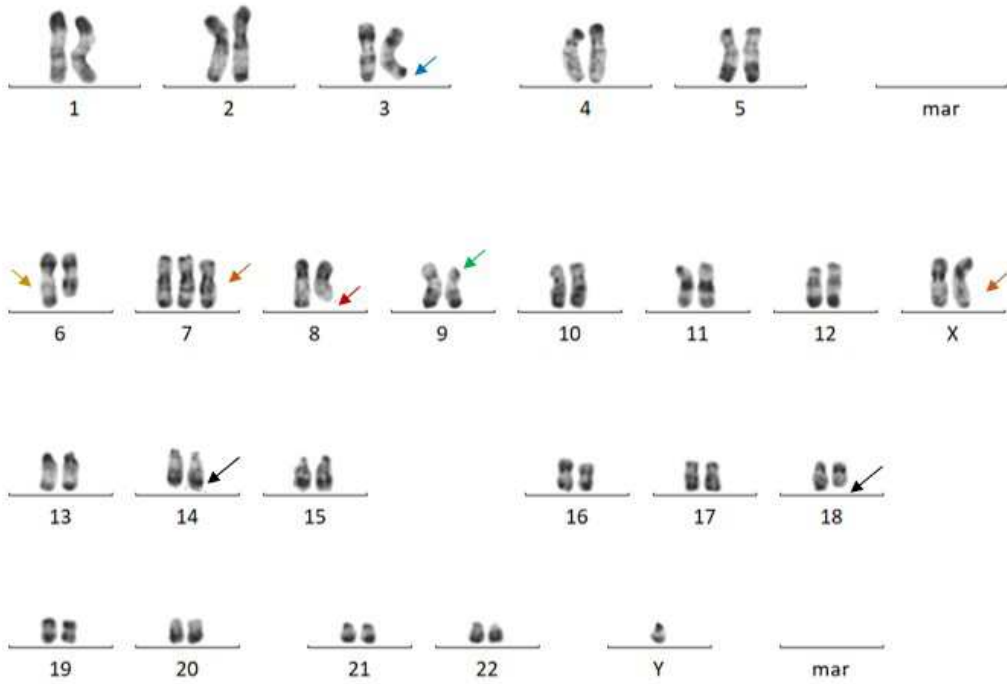


FIGURE 7B. EXEMPLES D'ALTERATIONS CYTOGENETIQUES IDENTIFIEES PAR CARYOTYPE ET FISH AU SEIN DE 4 CAS MYC-R.

48,XY,+X,add(3)(q27),i(6)(p10),+7, add(8)(q24),del(9)(p21p24),t(14;18)(q32;q21),-16,-19,+mar[cp5]



FISH MYC de sonde de séparation

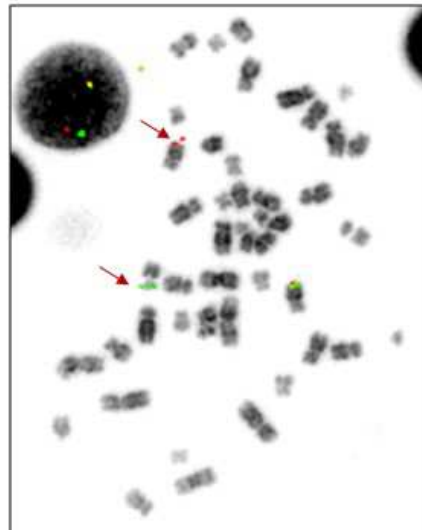
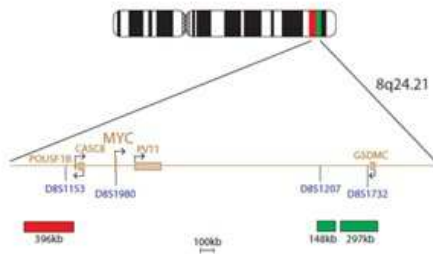


FIGURE 7C. EXEMPLES D'ALTERATIONS CYTOGENETIQUES IDENTIFIEES PAR CARYOTYPE ET FISH AU SEIN DE 4 CAS MYC-R.

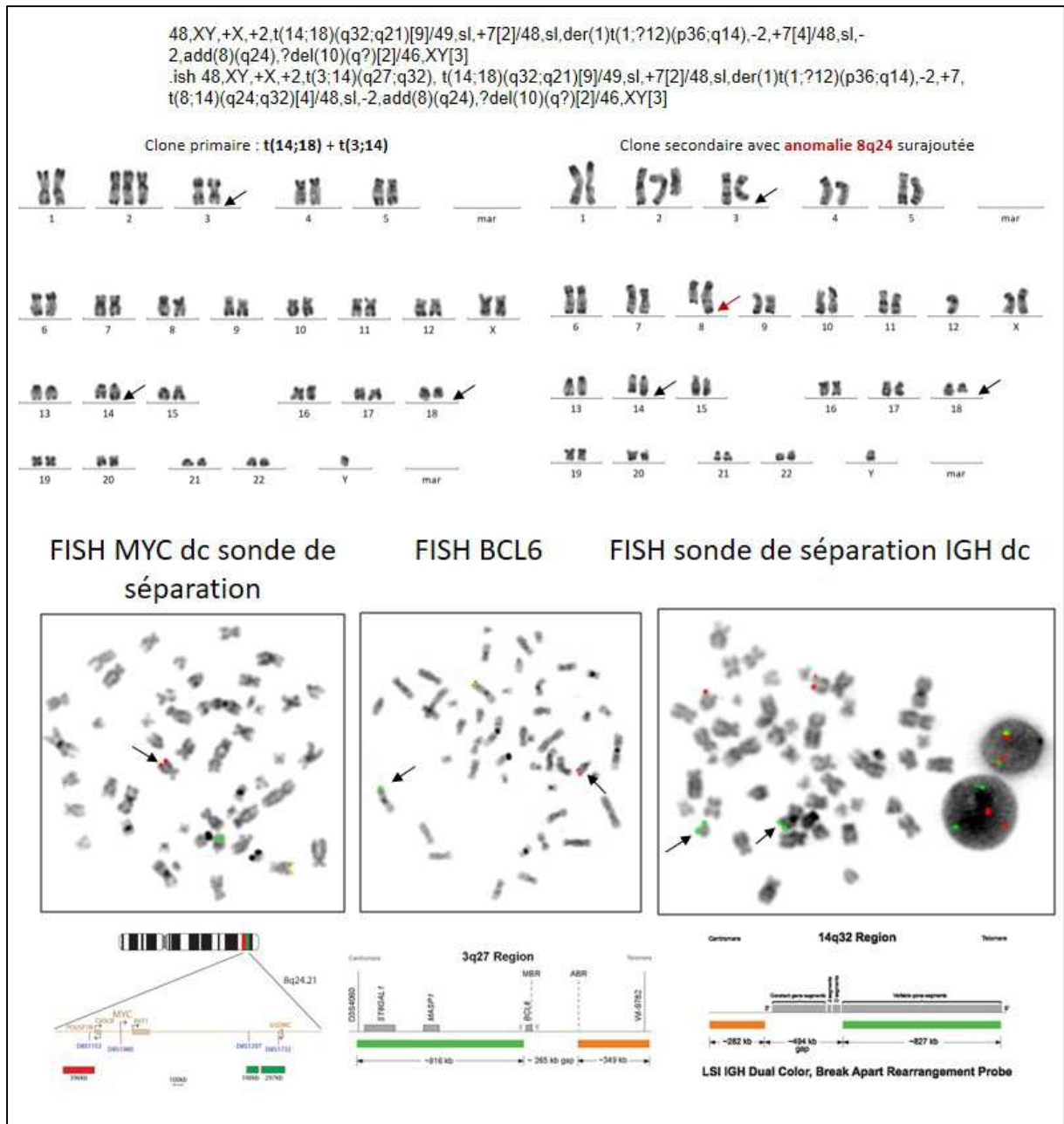


FIGURE 7D. EXEMPLES D'ALTERATIONS CYTOGENETIQUES IDENTIFIEES PAR CARYOTYPE ET FISH AU SEIN DE 4 CAS MYC-R.

Considering *MYC*-R cases, translocation partner of *MYC* consists in *IGH/IGL* in 2 cases and non-IG partners in others cases (Table 4). Most of the cases were GELF+ (5/6) but only 4/6 received R-CHOP like regimens, as one case received palliative care because of several comorbidities and another patient had a favorable outcome relative to an indolent presentation. He benefited from “watch and wait” strategy and presented treatment criteria 19 months later and benefited from R-CHOP regimen with maintenance with the obtention of a persistent CR at 92 months. One patient presented a transformation into acute lymphoblastic leukemia like (ALL-like) 2 months after treatment initiation and was refractory to therapeutic strategies, resulting in death few months later. Two cases presented transformations into DLBCL but benefited from adapted treatment and achieved complete remission with a follow up of respectively 17 and 80 months. The last case relapsed 39 months after diagnosis. A transformation was suspected but histological confirmation was not performed because of his advanced age (80-year-old) and the presence of several comorbidities. He received supportive care and died few weeks later

Case	Age	Gender	Histopathological Grade	Ki67	Serum lactate dehydrogenase	Ann Arbor Stage	Hemoglobin (g/dL)	FLIPI	PS	B2in	Karyotype	FISH	BCL6 rearrangement	c-Myc Partner	Therapy	Response	OS	Outcome	Bsymptoms
1	79	M	G3A	20	N	1	144	1	0	+	48,XY,+X,+2,t(14;18)(q32;q21)[9]/49,sl,+7[2]/48,sl,der(1)t(1;?12)(p36;q14),-2,+7[4]/48,sl,-2,add(8)(q24),?del(10)(q?) [2]/46,XY[3].ish 48,XY,+X,+2,t(3;14)(q27;q32),t(14;18)(q32;q21)[9]/49,sl,+7[2]/48,sl,der(1)t(1;?12)(p36;q14),-2,+7,t(8;14)(q24;q32)[4]/48,sl,-2,add(8)(q24),?del(10)(q?) [2]/46,XY[3]	.ish t(3;14)(5'IGH+,3'BCL6+;3'IGH+,5'BCL6+),t(14;18)(3'IGH+,5'BCL2+;3'BCL2+,5'IGH+)[10]/t(8;14)(5'MYC+,5'IGH+;3'IGH+,3'MYC+)[5]	yes	IGH	abstention	RC	93	alive	no
2	65	M	G3A	25	+	4	115	4	1	+	46,XY,t(8;22)(q24;q11),t(14;18)(q32;q21),add(16)(p13)[15]/46,sl,del(6)(q15q25)[5]	.ish t(8;22)(MYC+,5'TGL+;3'TGL+,5'IGL-MYC+),t(14;18)(IGH+;IGH+)	no	IGL	RCHOP	PD	11	death	no
3	65	M	G1/2	30	+	4	146	4	2	+	90,XXYY,del(8)(q24)x2,-11,der(14)t(14;18)(q32;q21)x2,-15,-18,-21,+2mars[3]/46,XY[37]	.ish t(6;8)(q27;q24)(3'MYC+,5'MYC+),11q13(CCND1x4),der(14)t(14;18)(IGH+;BCL2+)x2	no	6q27	RCHOP + R maintenance	RC	80	alive	yes
4	80	M	G1/2	25	+	4	94	5	3	+	48,XY,+X,add(3)(q27),i(6)(p10),+7,add(8)(q24),del(9)(p21p24),t(14;18)(q32;q21),-16,?19,+mar[cp5]	.ish t(8;9)(q24;p13)(5'MYC+;3'MYC+)	no	9p13	COP + RminiCHOP	RP	39	death	no
5	88	M	G1/2	NA	NA	NA	NA	NR	3	NA	46,XY,dup(1)(q11;q22),add(3)(p22),?7,add(8)(p23),add(8)(q24),add(14)(q32),-15,-18,+21,+mar[4]/46,XY[16]	.ish t(8;15)(q24;q23)(5'MYC+;3'MYC+),t(14;18)(IGH+,BCL2+;BCL2+;IGH+)	no	15q23	abstention (palliative)	PD	1	death	yes
6	74	F	G3A	50	N	4	129	3	0	+	49,XX,t(3;15)(q27;q15),+5,+7,t(8;9)(q24;p13),t(14;18)(q32;q21);+18[10]/51,idem,+12,+21[2]/46,XX[2]	.ish t(8;9)(5'MYC+;3'MYC+),t(14;18)(IGH+,BCL2+;BCL2+;IGH+),+18(BCL2+).nuc ish(BCL6x1)[75/100]	no	9p13	RCHOP + R maintenance	RP	17	alive	no

TABLE 4. CLINICAL FEATURES OF DOUBLE HIT FOLLICULAR LYMPHOMA. ABBREVIATIONS: R : RITUXIMAB ; CHOP : CYCLOPHOSPHAMIDE, DOXORUBICIN, VINCRISTINE, PREDNISONE ; COP: CYCLOPHOSPHAMIDE, DOXORUBICIN, PREDNISONE; HB : HEMOGLOBIN ; LDH : LACTATE DEHYDROGENASE ; NA : NOT AVAILABLE.

Impact of numerical and structural aberrations of MYC on histopathological MYC expression

Morphological and immunochemistry were reviewed for all 48 available biopsies in our center. Twenty-three were interpretable for c-MYC immunostaining. Of those, 14 had no 8q alterations (Figure 8) and 9 had 8q alteration: 3 had no FISH datas available, 5 *MYC*-EC and 1

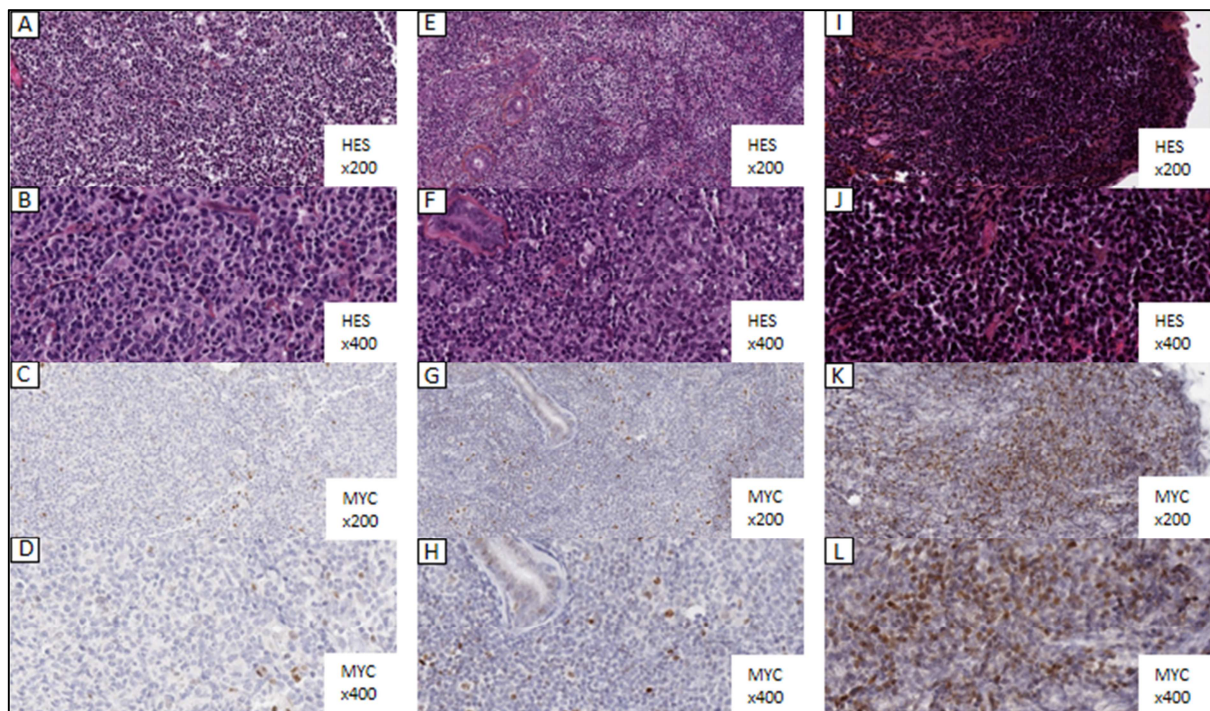


FIGURE 8. REPRESENTATIVE HISTOLOGY AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY OF FOLLICULAR LYMPHOMA. FL patient with *MYC*-NL (A-D), FL patient with *MYC*-EC (E-F) and FL patient with *MYC*-R (I-L).

MYC-R (Table 5).

The median *MYC* IHC-scores were not significantly different for 8qAlt and No8qAlt ($p=0.0802$). No8qAlt group did not express c-*MYC* in immunohistochemistry with median expression of 2 %. Considering 8qAlt group, the cases without available FISH datas and *MYC*-EC also didn't express *MYC* in immunochemistry with a median expression of 5%. However, we analyzed one *MYC*-R case of whom 50% of FL cells were positives for *MYC* immunostaining. Interestingly, *MYC*-R in this case involved a non-*IG* partner (9p13). It is surprising because the quantity of *MYC* mRNA and protein is usually described lower than

IG-partner. As we had no available biopsies for others *MYC*-R, those data cannot be confirmed (Table 5).

	8qAlt			No8qAlt n=14
	no FISH datas n=3	<i>MYC</i> -EC n=5	<i>MYC</i> -R n=1	
Median <i>MYC</i> Expression IHC (%)	5	5	50	2

TABLE 5. *MYC* EXPRESSION WITH IMMUNOHISTOCHEMISTRY. Morphological and immunochemistry were reviewed for all available biopsies in our center. At least 48 biopsy SPECIMENS were reviewed. 23 biopsies were interpretable for *c-MYC* immunostaining. 14 had no 8q alteration and 9 had a 8q alteration: 3 had no FISH datas available, 5 had *MYC* gain and 1 had *MYC* rearrangement. Biopsy specimens were immunostained with antibodies directed against *c-MYC* (Clone Y69, Roche). A cut off > 30% was used for positive *MYC* expression by immunohistochemistry. Abbreviations: IHC: immunohistochemistry

Prognostic impact of cytogenetic alterations on patients treated with immuno-chemotherapy:

Median follow up was 7.2 years. Five-years (5y) PFS, OS, SOS and TFS of the whole GELF+ group were respectively 63% (95% CI [55%; 71%]), 85% (95% CI [80%; 91%]),

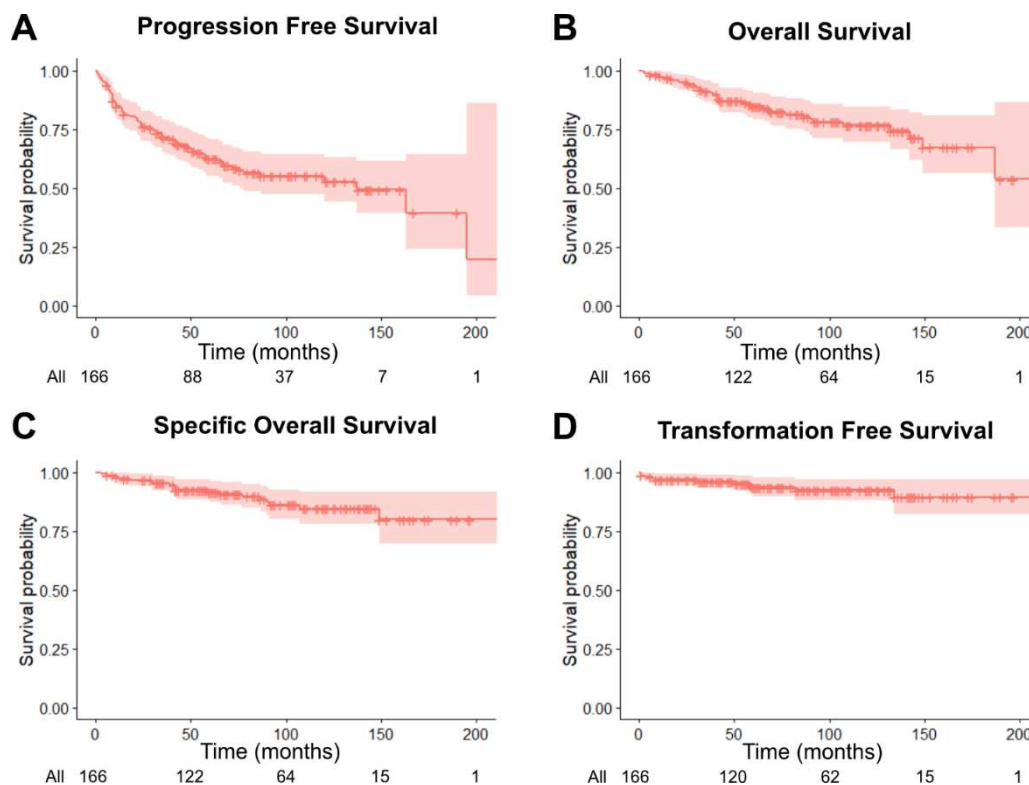


FIGURE 9. KAPLAN-MEIER CURVES OF THE WHOLE MEIER CURVES OF THE WHOLE COHORT. PROGRESSION FREE SURVIVAL (A), OS (B), SOS (C) AND TFS (D).

92% (95% CI [88%; 96%]) and 94% (95% CI [90%; 98%]) (Figure 9).

Univariate analysis showed significant differences between 8qAlt and No8qAlt regarding long-term SOS survival ($p=0.018$), (HR 3.0 ; 95% CI [1.2-7.7], Figure 10C). The 5ySOS was respectively of 79 % (95% CI [64%; 96%]) and 95% (95% CI [91%; 99%]). We did not observe any significant differences regarding PFS ($p=0.98$) with a 5yPFS of 64% (95% CI [56%; 73%]) and 56 % (95% CI [40%; 78%]) respectively (Figure 10A) but 8qAlt experienced more transformations than No8qAlt ($p=0.0015$) (Figure 10E).

We then focused on the impact of *MYC*-EC and *MYC*-R prognostic impact. Univariate analysis revealed differences in outcome between *MYC*-EC, *MYC*-R and *MYC*-NL regarding long-term PFS ($p=0.00026$), SOS ($p=0.00014$) and TFS ($p<0.0001$) (Figure 10B, D, F). These differences were related to *MYC*-R with an increased risk of relapse compared to *MYC*-NL (PFS HR : 6.1 ; 95% CI [2.2-17.1]), lymphoma-related death (SOS HR : 13.6 ; 95% CI [2,9-65]) and transformation (TFS HR : 82.7 ; 95% CI [14.8-463.4]). Conversely, we did not observed any impact of *MYC*-EC compared to *MYC*-NL (PFS HR : 1.3 ; 95% CI [0.4-1.6]; SOS HR : 1,6 ; 95% CI [0,4-5,7]; TFS HR : 3.8 ; 95% CI [0.9-16.1]).

This trend suggesting an unfavorable impact of *MYC*-R was illustrated by 2yPFS and 2ySOS of respectively 50% (95% CI [18%; 100%]) and 75% (95% CI [43%; 100%]) compared to 83% (95% CI [70; 99%]) and 100% (95% CI [100-100]) for *MYC*-EC and 76% (95% CI [69%; 84%]) and 97% (95% IC [94; 99]) for *MYC*-NL. In the *MYC*-R group, all deaths were related to lymphoma compared to 40% in *MYC*-EC and *MYC*-NL. Our results also suggested an increased risk of transformation in *MYC*-R. Indeed, we observed a lower 2yTFS for *MYC*-R than *MYC*-NL and *MYC*-EC with respectively 50% (95% CI [19%; 100%]) and 98% (95% CI [95%; 100%]).

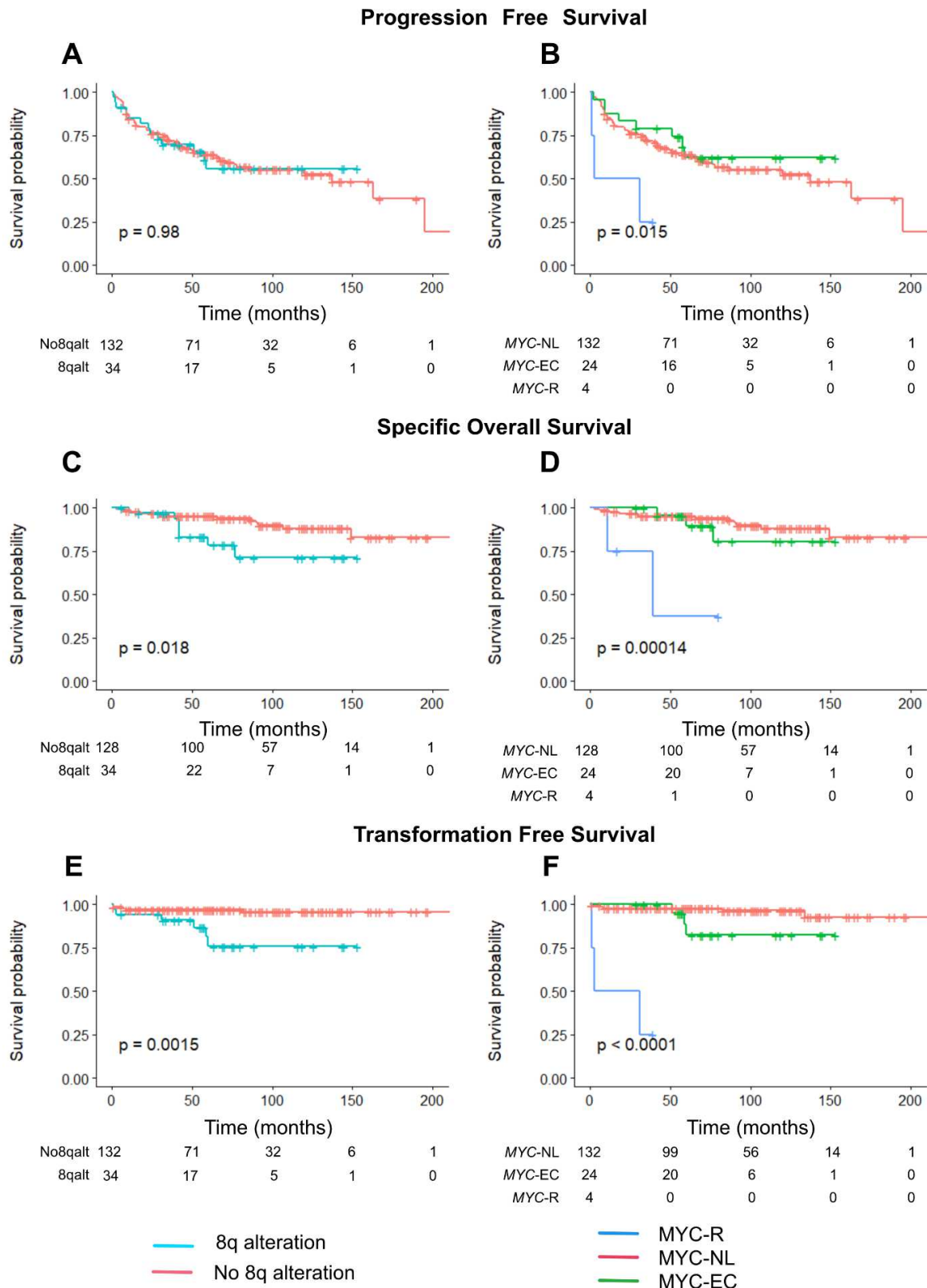


FIGURE 10. KAPLAN-MEIER CURVES STRATIFIED BY KARYOTYPE GROUP AND FISH GROUP. Comparison of PFS (A), SOS (B) and TFS (C) in 8qAlt and No8qAlt groups (blue and red curves respectively) and comparison of PFS (D), SOS (E) and TFS (F) in the 3 FISH groups; MYC-EC (green), MYC-R (blue) and MYC-NL (red) groups.

Validation Cohort:

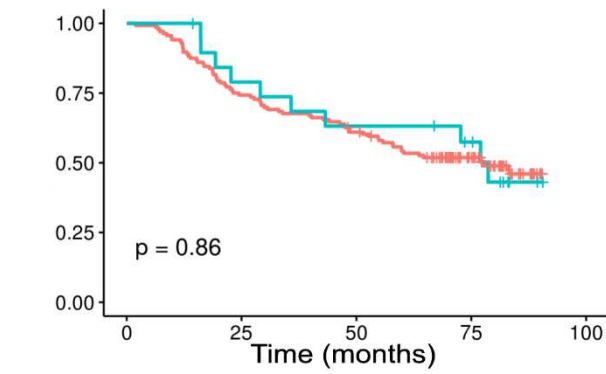
To confirm that presence of *MYC*-EC at diagnosis do not have any impact on PFS or SOS in FL, we confronted those results to an independent prospective cohort of 156 patients from the PRIMA trial. In this study, clinical characteristics were similar to patients from the whole PRIMA study^{17,25}. Median follow-up was 6.6 years and the clinical characteristics were similar between *MYC*-EC and no *MYC*-EC (Table 6). Twenty patients (13%) had *MYC*-EC of whom 8 (5%) were cryptic and 136 (87%) had no *MYC*-EC.

As expected, *MYC*-EC had no impact on PFS ($p=0.86$) or the SOS ($p=0.9$) in the PRIMA cohort (Figure 11). Multivariate analysis confirmed the absence of significant association between *MYC*-EC and *MYC*-NL both in term of PFS (HR: 0.99; 95% CI [0.47, 1.89]; $p=0.9$) and SOS (HR: <0.001 ; 95% CI $[-\infty; +\infty]$; $p>0.9$).

	PRIMA trial : <i>MYC</i> -EC n=20 n (%)	PRIMA trial: no <i>MYC</i> -EC n=136 n (%)
ratio H/F	1.0	1.0
Age (median (years))	59.5 (33-74)	53.5 (27-79)
ECOG		
ECOG 0-2	20 (100)	136 (100)
ECOG 3-4	4	0 (0)
FLIPI		
FLIPI 0-1	2 (10)	24 (18)
FLIPI 2-3	14 (70)	86 (63)
FLIPI 4-5	4 (20)	26 (19)
Ann Arbor staging		
I-II	3 (15)	11 (8)
III-IV	17 (85)	125 (92)
Hb < 120g/dL	4 (20)	32 (24)
Elevated LDH	11 (55)	42* (31)
Beta 2 microglobulin >ULN	13 (65)	81* (62)
Bulky	7 (35)	60* (45)
BM involvement	7* (35)	90* (67)
Induction regimen		
RCHOP	19 (95)	128 (94)
RCVP	1 (5)	8 (6)
Maintenance regimen		
Observation	11 (55)	73 (53)
Rituximab	7 (35)	53 (39)
Not randomized	2 (10)	10 (7)

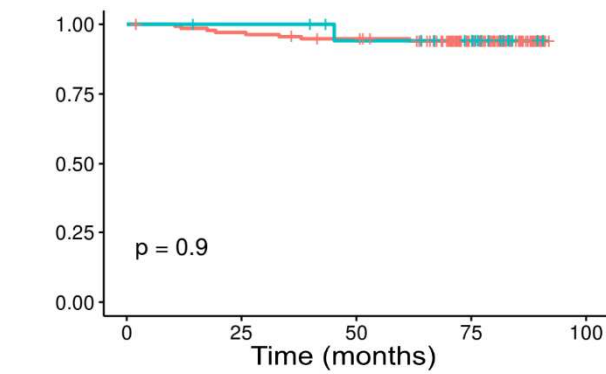
TABLE 6. SUMMARY OF CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE PRIMA COHORT OF PATIENTS.
* MISSING DATA. Abbreviations: *MYC*-EC: *MYC* extra-copy; R: Rituximab; CHOP: cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone; CVP: cyclophosphamide, vincristine, prednisone; Hb: hemoglobin; LDH: Lactate dehydrogenase; BM: Bone marrow; NA: not available.

A Progression Free Survival



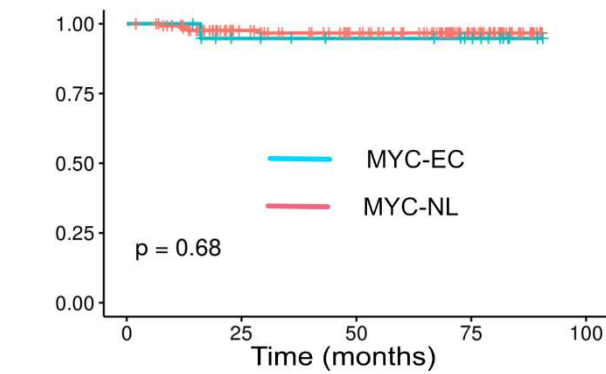
MYC-NL	136	101	82	41	0
MYC-EC	20	15	12	9	0

B Specific Overall Survival



MYC-NL	136	131	126	78	0
MYC-EC	20	19	16	13	0

C Transformation Free Survival



MYC-NL	136	101	82	41	0
MYC-EC	20	15	12	9	0

FIGURE 11. KAPLAN-MEIER ESTIMATES OF PFS (A), SOS (B) AND TFS (C) ON UNIVARIATE ANALYSIS PREDICTED BY MYC-EC AMONG PATIENTS OF THE PRIMA TRIAL WITH AVAILABLE TISSUE SUITABLE FOR CYTOSCAN DNA HD ARRAY ANALYSIS.

DISCUSSION

MYC alterations are well described in DLBCL or BL but their prognostic impact in FL is unclear. In this study, we explore the prognostic impact of 8qAlt and especially *MYC*-EC and *MYC*-R in *de novo* FL patients with GELF criteria treated by immuno-chemotherapy. To our knowledge, this is the largest series studying *MYC* alterations in classical FL.

We first observed that the presence of 8qAlt has a significant impact in SOS but not in PFS. This discrepancy may be explained by an increased risk of transformation, associated with poorer prognosis, as we show that 8qAlt group presented an increased rate of transformation that may be translated into lymphoma related deaths⁸². In FL, *BCL2* rearrangement have been described as an early event but *MYC* alterations, driven by genomic instability might be key events for lymphoma progression or transformation^{8,75,83}. Here, we first confirmed that *MYC* alterations are rare events associated with more complex karyotypes. No other differences between the two groups allowed explanation of this impact on outcome. This observation prompted us to study the specific impact of *MYC*-EC and *MYC*-R.

Disease presentation and prognosis were similar between *MYC*-EC and *MYC*-NL FL in our study. The results obtained from the PRIMA cohort confirmed that *MYC*-EC was neither associated with the presence of unfavorable factors at diagnosis nor survival differences in FL patients. Publications studying *MYC*-EC prognostic impact in B-NHL have shown controversial results. The absence of survival impact of *MYC*-EC was recently reported in a cohort of 88 MCL cases (HR: 2.4; 95% CI [0.632, 8.923]; p=0.2)⁶⁵ and another work showed that *MYC*-Amp, but not *MYC*-EC, is associated with a poorer outcome in DLBCL⁶⁴. In CLL, Chapiro et al.⁶⁶ have shown that 8q24 gain was associated with higher risk of transformation with an increased risk in case of concomitant 17p alteration. Finally, in FL a recent study showed a trend to worse outcome in case of *MYC*-EC but those results must be

discussed carefully as it reported only 12 FL cases including grade 3b FL (5/12)⁸⁴. Our results demonstrate the absence of clinical impact of *MYC*-EC, in accordance with recent published studies about MCL and DLBCL. Nonetheless, we cannot address the question of *MYC*-Amp because of the scarcity of this event in FL (1 case in our cohort).

MYC-R are rare in untransformed FL^{72,85} but these events may be underestimated because of intrapatient tumoral heterogeneity¹⁴. Here we identified 6 patients with *MYC*-R and, in accordance with others publications, we pointed out that *MYC*-R FL patients are older with higher tumor burden. Despite this limited population, our study is the only one comparing *MYC*-R to non *MYC*-R FL patients treated similarly. Previous reports have suggested that *MYC*-R FL are more aggressive diseases than classical FL with a higher risk of transformation^{71,72,84}. Miao *et al*⁷¹, reported a review of literature and a cohort of 7 patients of whom 4 were treated with intensive regimen and suggested that *MYC*-R FL are associated with poor prognosis. In this study, none of the patients treated intensively relapsed, while patients treated with RCHOP failed to reach a complete response. Conversely, despite a limited follow-up time, heterogeneous therapeutic strategies and the absence of comparison to FL cases without *MYC*-R, Miyaoka *et al*⁷³ proposed that *MYC*-R FL are associated with an indolent behaviour. Taken together, these works as well as a recent review of literature⁷⁰ both suggest that there could be an interest in using more intensive regimens such as R-EPOCH for *MYC*-R FL patients. Further studies should focus on establishing the *MYC*-R FL prognostic impact according to treatment strategies to confirm whether they could represent good candidates for intensified or targeted strategies⁸⁶.

Interestingly, we highlighted a trend to a dramatic adverse prognosis of *MYC*-R regardless of *MYC* partner gene. Thus, we observed an increased risk of transformation in the 8qAlt group associated with a lower 5y-SOS, which is no longer observed when focusing in *MYC*-EC group. Conversely, our results suggest that *MYC*-R may have a strong impact on

transformation risk and thus in lymphoma-related deaths due to the adverse outcome associated to transformation⁸². Altogether, these results strongly suggest that *MYC*-R FL are associated with an unfavorable outcome.

It has been described that *MYC*-R but not *MYC*-EC induce *MYC* overexpression at mRNA and proteic levels through *IGH/L* enhancer hijacking^{50,87}. This overexpression has a strong impact in terms of lymphomagenesis and aggressiveness through *MYC* oncogenic activity. Thus, the exclusive prognostic impact in *MYC*-R FL could be explained by the absence of *MYC* overexpression in case of *MYC*-EC. Moreover, Copie-Bergman et al⁵⁹ reported that the unfavorable prognosis impact of *MYC*-R is restricted to translocations involving an immunoglobulin gene partner (*IGH* or *IGL/K*) in DH/TH DLBCL. In FL, the impact of *MYC* partner gene remains an open question and we suggest that this point should be explored by future studies.

Double-hit lymphomas are defined as mature B-NHL with a chromosomal breakpoint affecting the *MYC* locus combined with an oncogene rearrangement⁸⁸ and the last WHO classification recognized an entity as “HGBCL with *MYC* and *BCL2* and/or *BCL6* rearrangements”. HGBCL are aggressive, resistant to conventional chemotherapy, associated with poor prognosis¹¹ and belong mostly to GCB subtype. *MYC*-R FL do not fulfill these criteria, nevertheless, it appears from previous work and our study that *MYC*-R FL may share more similarities with DLBCL than classical FL. Interestingly, Cucco et al⁵⁷ recently showed that HGBCL with *MYC/BCL2* rearrangements share a common mutational pattern with FL. The authors suggest that these results bring evidences that *MYC/BCL2*-R HGBCL probably arise from previously undetected FL lesions. In this work, *MYC/BCL2*-R HGBCL frequently exhibit an aggressive phenotype associated with unfavorable prognosis. Moreover, *MYC* mutations enhancing its stability and transforming capacity were enriched in this subtype.

Thus, *MYC*-R FL may represent an intermediary state between FL and HGBCL and it should be particularly relevant to investigate also *MYC* mutational events in *MYC*-R FL.

Some limitations of the current study should be noted with a limited sample size in the *MYC*-R subgroup and the retrospective nature of this study. Despite these limitations, we think that our observations strengthen the interest for larger studies focusing on *MYC*-R prognostic impact in grade 1-3a FL.

In conclusion, our results reveal that 8qAlt but not *MYC*-EC is a negative prognosis factor in FL patients treated by immuno-chemotherapy. We suggest that *MYC*-R FL tended to be associated with an increased risk of transformation and a dramatically poorer outcome and that conventional cytogenetic may constitute a useful tool to identify a small population of high-risk FL patients.

CONCLUSION

THÈSE SOUTENUE PAR : Lucile, Emilie, Anne BUSSOT

TITRE : IMPACT DES ALTERATIONS GENIQUES DE MYC DANS LES LYMHOMES FOLLICULAIRES AU DIAGNOSTIC

CONCLUSION :

Le lymphome folliculaire (LF) est un lymphome malin fréquent et présente un comportement classiquement indolent. L'évolution clinique reste hétérogène et certains patients présentent des rechutes précoces et des transformations en lymphome de haut grade de très mauvais pronostic. L'un des enjeux de cette pathologie est d'identifier dès le diagnostic des facteurs de risques prédictifs de cette évolution.

De ce fait, nous avons exploré l'impact pronostique des altérations géniques de MYC qui sont rares dans cette pathologie. Notre étude a démontré que les gains de MYC ne sont pas associés à un pronostic défavorable et cette hypothèse a secondairement été validée dans une cohorte prospective indépendante. Enfin, nous avons mis en évidence que les lymphomes folliculaires avec réarrangement de MYC semblent être des pathologies plus agressives avec un pronostic sombre et un risque augmenté de transformation en lymphome de haut grade. Cette étude suggère la mise en évidence d'un sous-groupe de lymphome folliculaire de particulièrement mauvais pronostic clinique et justifie la réalisation d'une étude de plus grande ampleur afin de pouvoir confirmer cette tendance.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le : 23/04/2021

LE DOYEN



Pr. Patrice MORAND

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE



Pr. Sophie PARK

BIBLIOGRAPHIE

1. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 2 – Hémopathies malignes. Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. 169.
2. Limpens, J. *et al.* Lymphoma-associated translocation t(14;18) in blood B cells of normal individuals. *Blood* **85**, 2528–2536 (1995).
3. McDonnell, T. J. & Korsmeyer, S. J. Progression from lymphoid hyperplasia to high-grade malignant lymphoma in mice transgenic for the t(14; 18). *Nature* **349**, 254–256 (1991).
4. Roulland, S. *et al.* t(14;18) Translocation: A Predictive Blood Biomarker for Follicular Lymphoma. *J. Clin. Oncol.* **32**, 1347–1355 (2014).
5. Sungalee, S. *et al.* Germinal center reentries of BCL2-overexpressing B cells drive follicular lymphoma progression. *J. Clin. Invest.* **124**, 5337–5351 (2014).
6. Carbone, A. *et al.* Follicular lymphoma. *Nat. Rev. Dis. Primer* **5**, 83 (2019).
7. Roulland, S. *et al.* Early Steps of Follicular Lymphoma Pathogenesis. in *Advances in Immunology* vol. 111 1–46 (Elsevier, 2011).
8. Huet, S., Sujobert, P. & Salles, G. From genetics to the clinic: a translational perspective on follicular lymphoma. *Nat. Rev. Cancer* **18**, 224–239 (2018).
9. Horsman, D. E. *et al.* Follicular lymphoma lacking the t(14;18)(q32;q21): identification of two disease subtypes. *Br. J. Haematol.* **120**, 424–433 (2003).
10. Horsman, D. E., Gascoyne, R. D., Coupland, R. W., Coldman, A. J. & Adomat, S. A. Comparison of Cytogenetic Analysis, Southern Analysis, and Polymerase Chain Reaction for the Detection of t(14; 18) in Follicular Lymphoma. *Am. J. Clin. Pathol.* **103**, 472–478 (1995).
11. Swerdlow, S. H. *et al.* The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* **127**, 2375–2390 (2016).
12. Casulo, C. *et al.* Validation of POD24 As a Robust Early Clinical Endpoint of Poor Survival in Follicular Lymphoma: Results from the Follicular Lymphoma Analysis of Surrogacy

- Hypothesis (FLASH) Investigation Using Individual Data from 5,453 Patients on 13 Clinical Trials. *Blood* **130**, 412–412 (2017).
13. Sarkozy, C. *et al.* Cause of Death in Follicular Lymphoma in the First Decade of the Rituximab Era: A Pooled Analysis of French and US Cohorts. *J. Clin. Oncol.* **37**, 144–152 (2019).
 14. Montoto, S. & Fitzgibbon, J. Transformation of Indolent B-Cell Lymphomas. *J. Clin. Oncol.* **29**, 1827–1834 (2011).
 15. Young, K. H. *et al.* Transformation of Follicular Lymphoma to Precursor B-Cell Lymphoblastic Lymphoma With *c- myc* Gene Rearrangement as a Critical Event. *Am. J. Clin. Pathol.* **129**, 157–166 (2008).
 16. Al-Tourah, A. J. *et al.* Population-Based Analysis of Incidence and Outcome of Transformed Non-Hodgkin's Lymphoma. *J. Clin. Oncol.* **26**, 5165–5169 (2008).
 17. Salles, G. *et al.* Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. *The Lancet* **377**, 42–51 (2011).
 18. Marcus, R. *et al.* Obinutuzumab for the First-Line Treatment of Follicular Lymphoma. *N. Engl. J. Med.* **377**, 1331–1344 (2017).
 19. Hiddemann, W. *et al.* Immunochemotherapy With Obinutuzumab or Rituximab for Previously Untreated Follicular Lymphoma in the GALLIUM Study: Influence of Chemotherapy on Efficacy and Safety. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **36**, 2395–2404 (2018).
 20. Flinn, I. W. *et al.* First-Line Treatment of Patients With Indolent Non-Hodgkin Lymphoma or Mantle-Cell Lymphoma With Bendamustine Plus Rituximab Versus R-CHOP or R-CVP: Results of the BRIGHT 5-Year Follow-Up Study. *J. Clin. Oncol.* **37**, 984–991 (2019).
 21. Rummel, M. J. *et al.* Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: an open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet Lond. Engl.* **381**, 1203–1210 (2013).

22. Jurinovic, V. *et al.* Evaluation of the m7-FLIPI in Patients with Follicular Lymphoma Treated within the Gallium Trial: EZH2 mutation Status May be a Predictive Marker for Differential Efficacy of Chemotherapy. *Blood* **134**, 122–122 (2019).
23. Morschhauser, F. *et al.* Rituximab plus Lenalidomide in Advanced Untreated Follicular Lymphoma. *N. Engl. J. Med.* **379**, 934–947 (2018).
24. Morschhauser, F. *et al.* Obinutuzumab combined with lenalidomide for relapsed or refractory follicular B-cell lymphoma (GALEN): a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Haematol.* **6**, e429–e437 (2019).
25. Bachy, E. *et al.* Sustained Progression-Free Survival Benefit of Rituximab Maintenance in Patients With Follicular Lymphoma: Long-Term Results of the PRIMA Study. *J. Clin. Oncol.* **37**, 2815–2824 (2019).
26. Salles, G. How do I sequence therapy for follicular lymphoma? *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program* **2020**, 287–294 (2020).
27. Hess, G. *et al.* Final Results of a Phase I/II Trial of the Combination Bendamustine and Rituximab With Temsirolimus (BeRT) in Relapsed Mantle Cell Lymphoma and Follicular Lymphoma. *HemaSphere* **4**, (2020).
28. Salles, G. *et al.* Efficacy and safety of idelalisib in patients with relapsed, rituximab- and alkylating agent-refractory follicular lymphoma: a subgroup analysis of a phase 2 study. *Haematologica* **102**, e156–e159 (2017).
29. Davids, M. S. *et al.* Phase I First-in-Human Study of Venetoclax in Patients With Relapsed or Refractory Non-Hodgkin Lymphoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **35**, 826–833 (2017).
30. Fowler, N. BCL-2 inhibition in follicular lymphoma: can we tip the scales? *Blood* **136**, 2598–2600 (2020).
31. Levenson, J. D. & Cojocari, D. Hematologic Tumor Cell Resistance to the BCL-2 Inhibitor Venetoclax: A Product of Its Microenvironment? *Front. Oncol.* **8**, (2018).

32. Morschhauser, F. *et al.* Tazemetostat for patients with relapsed or refractory follicular lymphoma: an open-label, single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* **21**, 1433–1442 (2020).
33. Solal-Celigny, P. Follicular Lymphoma International Prognostic Index. *Blood* **104**, 1258–1265 (2004).
34. Solal-Céligny, Ph., Cahu, X. & Cartron, G. Follicular lymphoma prognostic factors in the modern era: what is clinically meaningful? *Int. J. Hematol.* **92**, 246–254 (2010).
35. Federico, M. *et al.* Follicular Lymphoma International Prognostic Index 2: A New Prognostic Index for Follicular Lymphoma Developed by the International Follicular Lymphoma Prognostic Factor Project. *J. Clin. Oncol.* **27**, 4555–4562 (2009).
36. Bachy, E. *et al.* A simplified scoring system in de novo follicular lymphoma treated initially with immunochemotherapy. *Blood* **132**, 49–58 (2018).
37. Huet, S. *et al.* A gene-expression profiling score for prediction of outcome in patients with follicular lymphoma: a retrospective training and validation analysis in three international cohorts. *Lancet Oncol.* **19**, 549–561 (2018).
38. Sarkozy, C. *et al.* The prognostic value of clonal heterogeneity and quantitative assessment of plasma circulating clonal IG-VDJ sequences at diagnosis in patients with follicular lymphoma. *Oncotarget* **8**, 8765–8774 (2017).
39. Höglund, M. *et al.* Identification of cytogenetic subgroups and karyotypic pathways of clonal evolution in follicular lymphomas: Cytogenetic Subgroups of Follicular Lymphoma. *Genes. Chromosomes Cancer* **39**, 195–204 (2004).
40. Johnson, N. A. *et al.* Prognostic significance of secondary cytogenetic alterations in follicular lymphomas. *Genes. Chromosomes Cancer* **47**, 1038–1048 (2008).
41. Carreras, J. *et al.* High numbers of tumor-infiltrating FOXP3-positive regulatory T cells are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *Blood* **108**, 2957–2964 (2006).

42. Sweetenham, J. W. *et al.* Prognostic value of regulatory T cells, lymphoma-associated macrophages, and MUM-1 expression in follicular lymphoma treated before and after the introduction of monoclonal antibody therapy: a Southwest Oncology Group Study. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **21**, 1196–1202 (2010).
43. Boo, S. H. *et al.* Predictive Value of Interim and End-of-Therapy 18F-FDG PET/CT in Patients with Follicular Lymphoma. *Nucl. Med. Mol. Imaging* **53**, 263–269 (2019).
44. Okosun, J., Montoto, S. & Fitzgibbon, J. The routes for transformation of follicular lymphoma: *Curr. Opin. Hematol.* **23**, 385–391 (2016).
45. Link, B. K. *et al.* Rates and Outcomes of Follicular Lymphoma Transformation in the Immunochemotherapy Era: A Report From the University of Iowa/Mayo Clinic Specialized Program of Research Excellence Molecular Epidemiology Resource. *J. Clin. Oncol.* **31**, 3272–3278 (2013).
46. Pasqualucci, L. *et al.* Genetics of Follicular Lymphoma Transformation. *Cell Rep.* **6**, 130–140 (2014).
47. Dang, C. V. MYC on the Path to Cancer. *Cell* **149**, 22–35 (2012).
48. Hsieh, A. L., Walton, Z. E., Altman, B. J., Stine, Z. E. & Dang, C. V. MYC and metabolism on the path to cancer. *Semin. Cell Dev. Biol.* **43**, 11–21 (2015).
49. Stine, Z. E., Walton, Z. E., Altman, B. J., Hsieh, A. L. & Dang, C. V. MYC, Metabolism, and Cancer. *Cancer Discov.* **5**, 1024–1039 (2015).
50. Sesques, P. & Johnson, N. A. Approach to the diagnosis and treatment of high-grade B-cell lymphomas with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements. *Blood* **129**, 280–288 (2017).
51. Stasik, C. J. *et al.* Increased MYC gene copy number correlates with increased mRNA levels in diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica* **95**, 597–603 (2010).
52. Valentino, C. *et al.* Colorimetric In Situ Hybridization Identifies MYC Gene Signal Clusters Correlating With Increased Copy Number, mRNA, and Protein in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Am. J. Clin. Pathol.* **139**, 242–254 (2013).

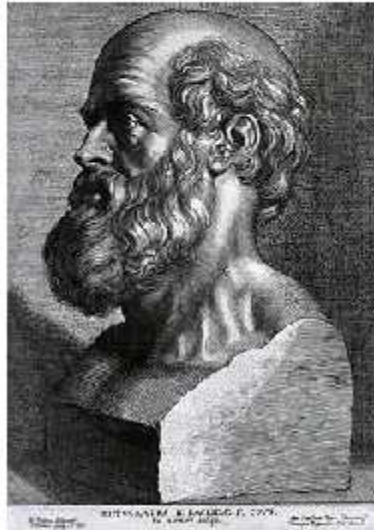
53. Wierstra, I. & Alves, J. The c-myc promoter: still Mystery and challenge. *Adv. Cancer Res.* **99**, 113–333 (2008).
54. Beroukhim, R. *et al.* The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. *Nature* **463**, 899–905 (2010).
55. Dalla-Favera, R. *et al.* Human c-myc onc gene is located on the region of chromosome 8 that is translocated in Burkitt lymphoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **79**, 7824–7827 (1982).
56. Taub, R. *et al.* Translocation of the c-myc gene into the immunoglobulin heavy chain locus in human Burkitt lymphoma and murine plasmacytoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **79**, 7837–7841 (1982).
57. Cucco, F. *et al.* Distinct genetic changes reveal evolutionary history and heterogeneous molecular grade of DLBCL with MYC/BCL2 double-hit. *Leukemia* **34**, 1329–1341 (2020).
58. Wang, W.-G. *et al.* MYC protein dysregulation is driven by BCR-PI3K signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Histopathology* **71**, 778–785 (2017).
59. Copie-Bergman, C. *et al.* MYC-IG rearrangements are negative predictors of survival in DLBCL patients treated with immunochemotherapy: a GELA/LYSA study. *Blood* **126**, 2466–2474 (2015).
60. Savage, K. J. *et al.* Impact of dual expression of MYC and BCL2 by immunohistochemistry on the risk of CNS relapse in DLBCL. *Blood* **127**, 2182–2188 (2016).
61. Sermer, D. *et al.* Extra copies of MYC, BCL2, and BCL6 and outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Adv.* **4**, 3382–3390 (2020).
62. Pophali, P. A. *et al.* High level MYC amplification in B-cell lymphomas: is it a marker of aggressive disease? *Blood Cancer J.* **10**, 5 (2020).
63. Zou, D. *et al.* BCL-2 and MYC gain/amplification is correlated with central nervous system involvement in diffuse large B cell lymphoma at leukemic phase. *BMC Med. Genet.* **18**, 16 (2017).

64. Schieppati, F. *et al.* An increase in *MYC* copy number has a progressive negative prognostic impact in patients with diffuse large B-cell and high-grade lymphoma, who may benefit from intensified treatment regimens. *Haematologica* **105**, 1369–1378 (2020).
65. Wang, L. *et al.* *MYC* rearrangement but not extra *MYC* copies is an independent prognostic factor in patients with mantle cell lymphoma. *Haematologica* haematol.2019.243071 (2020) doi:10.3324/haematol.2019.243071.
66. Chapiro, E. *et al.* “Double-hit” chronic lymphocytic leukemia: An aggressive subgroup with 17p deletion and 8q24 gain. *Am. J. Hematol.* **93**, 375–382 (2018).
67. Jovanović, K. K. *et al.* Targeting *MYC* in multiple myeloma. *Leukemia* **32**, 1295–1306 (2018).
68. Sekiguchi, N. *et al.* Impact of C-Myc gene-related aberrations in newly diagnosed myeloma with bortezomib/dexamethasone therapy. *Int. J. Hematol.* **99**, 288–295 (2014).
69. Yano, T., Longo, D. L. & Raffeld, M. *MYC* Rearrangements in Histologically Progressed Follicular Lymphomas. 10.
70. Ziembra, J. B., Wolf, Z., Weinstock, M. & Asakrah, S. Double-Hit and Triple-Hit Follicular Lymphoma. *Am. J. Clin. Pathol.* **153**, 672–685 (2020).
71. Miao, Y. *et al.* Double-hit follicular lymphoma with *MYC* and *BCL2* translocations: a study of 7 cases with a review of literature. *Hum. Pathol.* **58**, 72–77 (2016).
72. Yoshida, M. *et al.* Clinicopathological features of double-hit B-cell lymphomas with *MYC* and *BCL2*, *BCL6* or *CCND1* rearrangements: Double-hit lymphomas. *Pathol. Int.* **65**, 519–527 (2015).
73. Miyaoka, M. *et al.* Clinicopathological and genomic analysis of double-hit follicular lymphoma: comparison with high-grade B-cell lymphoma with *MYC* and *BCL2* and/or *BCL6* rearrangements. *Mod. Pathol.* **31**, 313–326 (2018).
74. Voorhees, P. M. *et al.* Follicular Lymphoma With a Burkitt Translocation—Predictor of an Aggressive Clinical Course: A Case Report and Review of the Literature. *Arch Pathol Lab Med* **128**, 4 (2004).

75. Xu, X. *et al.* Double-hit and triple-hit lymphomas arising from follicular lymphoma following acquisition of MYC: report of two cases and literature review. *7*.
76. Bischin, A. M., Dorer, R. & Aboulafia, D. M. Transformation of Follicular Lymphoma to a High-Grade B-Cell Lymphoma With MYC and BCL2 Translocations and Overlapping Features of Burkitt Lymphoma and Acute Lymphoblastic Leukemia: A Case Report and Literature Review. *Clin. Med. Insights Blood Disord.* **10**, 1179545X1769254 (2017).
77. Vogelsberg, A. *et al.* Genetic evolution of in situ follicular neoplasia to aggressive B-cell lymphoma of germinal center subtype. *Haematologica* haematol.2020.254854 (2020) doi:10.3324/haematol.2020.254854.
78. Laurent, C. *et al.* Impact of Expert Pathologic Review of Lymphoma Diagnosis: Study of Patients From the French Lymphopath Network. *J. Clin. Oncol.* **35**, 2008–2017 (2017).
79. Mayrhofer, M., Viklund, B. & Isaksson, A. Rawcopy: Improved copy number analysis with Affymetrix arrays. *Sci. Rep.* **6**, 36158 (2016).
80. Loo, P. V. *et al.* Allele-specific copy number analysis of tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **107**, 16910–16915 (2010).
81. Cheson, B. D. *et al.* Recommendations for Initial Evaluation, Staging, and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. *J. Clin. Oncol.* **32**, 3059–3067 (2014).
82. Wagner-Johnston, N. D. *et al.* Outcomes of transformed follicular lymphoma in the modern era: a report from the National LymphoCare Study (NLCS). *Blood* **126**, 851–857 (2015).
83. Tomita, N. *et al.* Clinicopathological features of lymphoma/leukemia patients carrying both BCL2 and MYC translocations. *Haematologica* **94**, 935–943 (2009).
84. Kim, M. *et al.* Clinicopathological and prognostic significance of *BCL2*, *BCL6*, *MYC*, and *IRF4* copy number gains and translocations in follicular lymphoma: a study by FISH analysis. *Leuk. Lymphoma* 1–9 (2020) doi:10.1080/10428194.2020.1815017.
85. Horn, H. *et al.* Follicular lymphoma grade 3B is a distinct neoplasm according to cytogenetic and immunohistochemical profiles. *Haematologica* **96**, 1327–1334 (2011).

86. Cummin, T. E. C. *et al.* BET inhibitors synergize with venetoclax to induce apoptosis in MYC-driven lymphomas with high BCL-2 expression. *Blood Adv.* **4**, 3316–3328 (2020).
87. Filip, D. & Mraz, M. The role of MYC in the transformation and aggressiveness of ‘indolent’ B-cell malignancies. *Leuk. Lymphoma* **61**, 510–524 (2020).
88. Aukema, S. M. *et al.* Expression of TP53 is associated with the outcome of MCL independent of MIPI and Ki-67 in trials of the European MCL Network. *Blood* **131**, 417–420 (2018).
89. Scott, D. W. *et al.* High-grade B-cell lymphoma with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements with diffuse large B-cell lymphoma morphology. *Blood* **131**, 2060–2064 (2018).

SERMENT D'HIPPOCRATE



SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerais mes soins gratuitement à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Adverse outcome in follicular lymphoma are associated with MYC rearrangements but not MYC extra-copies

Authors :

Lucile Bussot¹, Simon Chevalier^{2, 3, 10}, Justine Cristante³, Béatrice Grange⁴, Bruno Tesson⁵, Clémence Deteix-Santana⁶, Frédérique Orsini-Piocelle⁷, Cécile Leyronnas⁸, Sophie Dupire⁹, Rémy Gressin^{1, 10}, Gilles Salles^{11,12, 13}, Emmanuel Bachy^{11,12, 13}, Anouk Emadali¹⁰, Séverine Valmary-Degano^{3, 14}, Sarah Huet^{12, 13, 15}, Christine Lefebvre^{10,16}, Sylvain Carras^{1, 3,10, 16}.

Affiliations

1. Department of Hematology, Grenoble-Alpes university hospital, France
2. Cellular Hematology department, Grenoble-Alpes university hospital, France
3. Grenoble-Alpes university, France
4. Cytogenetic and molecular biology department, Lyon-Sud university hospital, Hospices Civils de Lyon –France
5. Institut Carnot CALYM, Pierre-Bénite, France
6. Department of Hematology and Medical Oncology, Centre Léon Bérard, Lyon, France
7. Department of Hematology, Annecy-Genevois Hospital, France
8. Department of Hematology and Medical oncology, Daniel-Hollard Institute, France
9. Department of Hematology, Bourg-en-Bresse Hospital, France
10. Institute for Advanced Biosciences, (INSERM U1209 / CNRS UMR5309 / UGA), Grenoble Alpes University, Grenoble, France.

11. Department of Hematology, Hospices Civils de Lyon, Lyon-Sud Hospital, Pierre Benite, France
12. Claude Bernard Lyon-1 University, Lyon University
13. Cancer Research Center of Lyon, UMR INSERM 1052 CNRS 5286, Team «Clinical and experimental models of lymphomagenesis», Lyon, France.
14. Department of pathology, Grenoble Alpes University Hospital, F-38000 Grenoble, France.
15. Hospices Civils de Lyon, Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Lyon-Sud, Pierre Bénite, France.
16. Cytogenetic and molecular biology department, Grenoble-Alpes university hospital, France.

Corresponding author:

Dr Sylvain Carras

scarras@chu-grenoble.fr

ORCID account : <https://orcid.org/0000-0002-0796-7914>

The authors declare no relevant conflict of interest

This work is supported by the ERiCAN (Epigenetic Reprogramming of Cancer cell plasticity and resilience) program of MSDAVENIR foundation.

The authors aknowledge Dr Sujobert and Dr Callet-Bauchu for their comments and help.

ABSTRACT

Follicular lymphoma (FL) with *MYC*-Rearrangements (*MYC*-R) and *MYC*-Extra Copies (*MYC*-EC) are rare and their prognosis impact are uncertain. We conducted a retrospective study including 321 FL, 259 (81%) patients had no 8q24 alterations and 62 (19%) were assigned to 8qAlt. Forty-five cases were classified as *MYC*-EC and 6 as *MYC*-R. *MYC*-R patients were significantly older ($p=0.008$), had higher FLIPI stage ($p=0.05$) and $\beta 2m$ ($p=0.05$). Considering patients treated with immuno-chemotherapy, 4 presented a *MYC*-R and 25 a *MYC*-EC. Univariate analysis showed the absence of significant difference between *MYC*-EC and *MYC*-NL regarding PFS (HR : 1.3 ; 95% CI [0.4-1.6]) and SOS (HR : 1,6 ; 95% CI [0,4-5,7]). Those results were confronted to data from the PRIMA trial. It confirmed that *MYC*-EC had no impact on PFS ($p=0.86$) or SOS ($p=0.9$). Conversely, *MYC*-R was associated with a trend to inferior outcome regarding PFS (HR : 6.1 ; 95% CI [2.2-17.1] ; $p=0.00026$), lymphoma-related death (SOS HR : 13.6 ; 95% CI [2,9-65] ; $p=0.00014$) and risk of transformation (TFS HR : 82.7 ; 95% CI [14.8-463.4] ; $p<0.0001$). In conclusion, *MYC*-EC has no prognosis impact in FL but *MYC*-R FL tended to be associated with an increased risk of transformation and poorer outcome.

INTRODUCTION

Follicular lymphoma (FL) is the second most common subtype of non-Hodgkin lymphoma in Western countries, accounting for one third of adult lymphoma in France(1).

While most FL cases exhibit an indolent behaviour, outcomes after first-line treatment remain heterogeneous and some patients will experience disease progression upon treatment or early relapse(2,3). Along the natural history of FL, 25-35% of the patients will present transformation into high grade lymphomas(4) but prognostic scores failed to accurately predict their occurrence(5–7).

About 80-90% of FL cases harbor the t(14;18)(q32;q21) translocation placing *BCL2* gene upon control of immunoglobulin heavy chain gene locus (*IGH*). This translocation results in *BCL2* overexpression promoting the early phase of lymphomagenesis. However, data from mouse models and clinical studies showed that *IGH-BCL2* translocation is insufficient for FL development and that secondary genetic alterations are necessary(8,9). In this setting, conventional cytogenetic and molecular studies have shown that t(14;18) is rarely an isolated genetic event in FL which display a high degree of genomic complexity(7). Some recurrent cytogenetic alterations, such as 17p deletion and trisomy 12, were historically associated with adverse prognosis(10,11) but their prognostic value remain poorly characterized in the immuno-chemotherapy era.

MYC is a human proto-oncogene located on chromosome 8q24 encoding a transcription factor regulating both transcription and translation of numerous genes involved in multiple processes such as biosynthesis, metabolism and growth(12). *MYC* alterations, such as rearrangement (*MYC-R*) or extra-copy (*MYC-EC*), have been studied extensively in lymphomas. The association of a *MYC-R* with a *BCL2* and/or *BCL6* rearrangement is now recognized by the World Health Organization (WHO) classification as a part of “High grade

B-cell lymphoma” (HGBCL)(13). These lymphomas, referred as double- or triple-hit lymphoma (DH/THL), are known to be aggressive and resistant to conventional strategies. In indolent B-NHL, *MYC* alterations are suspected to be late events and *MYC*-R were linked to a more aggressive behaviour(14) or transformation into aggressive lymphomas(15–17).

Literature analysis reveals co-occurrence of *BCL2* and *MYC* translocation in 2% of untransformed FL cases(18) and it has been proposed that *MYC*-R FL may represent a more aggressive subtype. This finding remains controversial because published data are based either on case reports, small or heterogeneous cohorts including transformed FL(19–22). Regarding other *MYC* alterations, a recent work highlighted the negative prognostic impact of *MYC* amplification (*MYC*-Amp, defined by at least 4 gene copies), in DLBCL(23) but the impact of *MYC*-EC remains debated(24–26). In other B-NHL, *MYC*-EC has not been characterized extensively, especially in FL(10,14,27). Thus, a better understanding of *MYC* alterations impact on FL prognosis is needed.

Here, we conducted a retrospective study investigating *MYC* alterations in *de novo* FL and their clinical impact on patients treated with immuno-chemotherapy. Secondly, we addressed the question of the impact of *MYC*-EC in a subgroup of patients from the PRIMA trial(28) in order to validate our results in an independent cohort.

METHODS

Patients

We conducted a retrospective study of patients with diagnosis of *de novo* FL with available conventional cytogenetic data from January 2001 and January 2020 in the following hospitals: Grenoble Alpes University Hospital, Lyon Hospices Civils and University, Annecy Genevois Hospital, Bourg-en-Bresse Hospital, Daniel Hollard Institute and Léon Berard Center. Institutional multidisciplinary meetings dedicated to lymphoma diagnosis (biologist, clinician, pathologist) reviewed all the cases.

Inclusion criteria were age over 18 years, availability of cytogenetic data; diagnosis of *de novo* grade 1/2 or 3a FL confirmed by an expert center (LYMPHOPATH network)(1). Exclusion criteria were absence of clinical and biological data at diagnosis, stage 3b or histological transformation and immunodeficiency-associated lymphoma.

The GELF (Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires). criteria were defined as previously published by the presence of bulky disease (one lesion ≥ 7 cm or three nodes ≥ 3 cm), symptomatic splenic enlargement; organ compression, pleural or peritoneal effusion; raised serum concentrations of lactate dehydrogenase (LDH) or $\beta 2$ -microglobulin ($\beta 2m$); or B symptoms(29). For survival analysis, we focused on GELF+ patients at diagnosis and treated with immuno-chemotherapy.

Cytogenetic analyses and Fluorescence *in situ* hybridization (FISH):

Conventional chromosomal analysis was performed on R- or G-banded metaphase cells prepared from cell suspension from tissue biopsy specimen (n=314), blood (n=2), bone marrow (n=2), spleen (n=1), pleural liquid (n=1) or ascitis liquid (n=1). Karyotypes were classified according to the International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2016).

FISH analyses were performed in case of suspected 8q alterations affecting the *MYC* locus on cytogenetic pellet using standard *in situ* hybridization protocols with the following probes: LSI *MYC* break apart, LSI *IGH/MYC/CEP 8* Tri color dual fusion, LSI *IGH/BCL2* dual fusion and LSI *BCL6* break apart (Vysis, Abbott laboratories Ltd, UK). All the cases were studied on metaphase and interphase nuclei with at least 10 metaphases and 200 nuclei, respectively. The cut-off for positive values were 2% for *MYC* probe, 1% for *IGH/MYC/CEP8* probe, 3% for *BCL6* probe and 1% for *IGH/BCL2* probe.

We defined 8qAlt group, constituted with cases with 8q24 alteration, and No8qAlt group, defined as all cases without any 8q24 alteration. Based on FISH results, 8qAlt group was divided into 2 subgroups *MYC-EC* and *MYC-R*. Cases with missing FISH results were excluded from subgroup analysis. Control group was constituted from No8qAlt group and defined as *MYC-NL* in this analysis.

Validation cohort: PRIMA cohort:

Fresh-Frozen tissue tumor (FFT) biopsies were obtained from FL patients at diagnosis participating in the phase III randomized PRIMA trial (NCT00140582). In this cohort, cytogenetic data have not been collected but Affymetrix Cytoscan HD DNA Arrays analyses allowing study of *MYC-EC* were performed.

Cytoscan DNA analysis was performed using extracted DNAs from FFT tumor biopsies. Those data were processed with rawcopy V1.0(30) to produce B-allele Frequency (BAF) and

Log R ratio (LRR) values from individual probes. The LRR and BAF profiles were then analyzed using ASCAT (v. 2.4)(31) for joint segmentation and ploidy and purity estimation. Absolute copy number calls for each segment were then derived using the estimated purity and ploidy and the LRR signal. The "neutral" copy number for a given tumor was defined as the most frequent one across the genome, and gains and deletions were defined as deviations from this neutral state. The *MYC* gene was considered as altered (gain or amplification) if 75% or more of the probes mapping to the *MYC* locus were assigned an extra-copy status.

Statistical analysis:

Patients' characteristics of the whole cohort were compared across the No8qAlt, 8qAlt, *MYC*-NL, *MYC*-EC and *MYC*-R using Fisher's exact test, whereas t test was used for continuous parameters.

Survival analysis were performed in the GELF+ group treated with immuno-chemotherapy using the Kaplan-Meier method and compared by log rank test. Progression Free Survival (PFS) and Overall Survival (OS) were defined according to IWG(32). Specific-overall Survival (SOS) was defined considering only lymphoma related deaths and Transformation Free Survival (TFS) from time of diagnosis to proven transformation. Multivariate analyses were conducted using Cox model. Statistical analyses were performed using the RStudio software, version 3.6.1. A p-value <0.05 was considered significant.

RESULTS:

Clinical characteristics of the retrospective population:

We collected data from all consecutive patients meeting the inclusion criteria (n=321). Number of patients and reasons for withdrawal and exclusion criteria are presented in the flow chart (Figure 1). Clinical characteristics (Table 1) and outcome (Supplementary data) were similar to published data(33). One hundred and seventeen patients (36%) were GELF- and benefited from “watch and wait” strategy, radiotherapy or immunotherapy. Two hundred and four patients (64%) presented GELF+ criteria and 132 (41%) received immuno-chemotherapy.

Cytogenetic characteristics of the retrospective population:

Of those 321 patients, 86% presented a t(14;18). According to conventional karyotype results, 62 (19%) were assigned to 8qAlt and 259 (81%) to No8qAlt. The 8qAlt group presented significantly more complex karyotype with a median of 8 cytogenetic alterations versus 4 in No8qAlt ($p<0.001$). Other patients' characteristics were not significantly different including incidence of t(14;18) (Table 1). Considering only GELF+ patients treated with immuno-chemotherapy, the 8qAlt group also presented more complex karyotype but others cohort characteristics were balanced in both groups (Table 2).

Thirty-five patients (56%) in 8qAlt and 132 patients (51%) in No8qAlt ($p=0.09$) were treated by immuno-chemotherapy as frontline strategy (Table 2).

Of the 62 8qAlt patients, 51 (82%) patients had available FISH data and 45 cases (72%) exhibited *MYC*-EC versus 6 (10%) *MYC*-R. Patients' characteristics are summarized Table 1. *MYC*-R patients were significantly older with a median age of 76 versus 58years for *MYC*-EC patients ($p<0.001$) and 2 patients (33%) presented an ECOG \geq 2 versus 0% in *MYC*-EC group ($p=0.026$). Considering patients treated with immuno-chemotherapy, *MYC*-R

patients were significantly older with a median age of 74 versus 61 years for *MYC*-EC patients ($p=0.008$), had higher FLIPI stage with 3/4 (75%) patients stage 4-5 versus 4/25 (16%) for *MYC*-EC patients ($p=0.05$) and elevated $\beta 2m$ in all cases (100%) versus 35% in *MYC*-EC patients ($p=0.05$) (Table 2). Other clinical and biological factors were balanced between each group.

Considering *MYC*-R cases, translocation partner of *MYC* consists in *IGH/IGL* in 2 cases and non-IG partners in others cases (Supplementary table 1). Most of the cases were GELF+ (5/6) but only 4/6 received R-CHOP like regimens, as one case received palliative care because of several comorbidities and another patient had a favorable outcome relative to an indolent presentation. He benefited from “watch and wait” strategy and presented treatment criteria 19 months later and benefited from R-CHOP regimen with maintenance with the obtention of a persistent CR at 92 months. One patient presented a transformation into acute lymphoblastic leukemia like (ALL-like) 2 months after treatment initiation and was refractory to therapeutic strategies, resulting in death few months later. Two cases presented transformations into DLBCL but benefited from adapted treatment and achieved complete remission with a follow up of respectively 17 and 80 months. The last case relapsed 39 months after diagnosis. A transformation was suspected but histological confirmation was not performed because of his advanced age (80-year-old) and the presence of several comorbidities. He received supportive care and died few weeks later.

Prognostic impact of cytogenetic alterations on patients treated with immuno-chemotherapy:

Median follow up was 7.2 years. Five-years (5y) PFS, OS, SOS and TFS of the whole GELF+ group were respectively 63% (95% CI [55%; 71%]), 85% (95% CI [80%; 91%]), 92% (95% CI [88%; 96%]) and 94% (95% CI [90%; 98%]) (Supplementary figure 1).

Univariate analysis showed significant differences between 8qAlt and No8qAlt regarding long-term SOS survival ($p=0.018$), (HR 3.0 ; 95% CI [1.2-7.7], Figure 2C). The 5ySOS was respectively of 79 % (95% CI [64%; 96%]) and 95% (95% CI [91%; 99%]). We did not observe any significant differences regarding PFS ($p=0.98$) with a 5yPFS of 64% (95% CI [56%; 73%]) and 56 % (95% CI [40%; 78%]) respectively (Figure 2A) but 8qAlt experienced more transformations than No8qAlt ($p=0.0015$) (Figure 2E).

We then focused on the impact of *MYC*-EC and *MYC*-R prognostic impact. Univariate analysis revealed differences in outcome between *MYC*-EC, *MYC*-R and *MYC*-NL regarding long-term PFS ($p=0.00026$), SOS ($p=0.00014$) and TFS ($p<0.0001$) (Figure 2B, D, F). These differences were related to *MYC*-R with an increased risk of relapse compared to *MYC*-NL (PFS HR : 6.1 ; 95% CI [2.2-17.1]), lymphoma-related death (SOS HR : 13.6 ; 95% CI [2,9-65]) and transformation (TFS HR : 82.7 ; 95% CI [14.8-463.4]). Conversely, we did not observed any impact of *MYC*-EC compared to *MYC*-NL (PFS HR : 1.3 ; 95% CI [0.4-1.6]; SOS HR : 1,6 ; 95% CI [0,4-5,7]; TFS HR : 3.8 ; 95% CI [0.9-16.1]).

This trend suggesting an unfavorable impact of *MYC*-R was illustrated by 2yPFS and 2ySOS of respectively 50% (95% CI [18%; 100%]) and 75% (95% CI [43%; 100%]) compared to 83% (95% CI [70; 99%]) and 100% (95% CI [100-100]) for *MYC*-EC and 76% (95% CI [69%; 84%]) and 97% (95% IC [94; 99]) for *MYC*-NL. In the *MYC*-R group, all deaths were related to lymphoma compared to 40% in *MYC*-EC and *MYC*-NL. Our results also suggested an increased risk of transformation in *MYC*-R. Indeed, we observed a lower 2yTFS for *MYC*-R than *MYC*-NL and *MYC*-EC with respectively 50% (95% CI [19%; 100%]) and 98% (95% CI [95%; 100%]).

Validation Cohort:

To confirm that presence of *MYC*-EC at diagnosis do not have any impact on PFS or SOS in FL, we confronted those results to an independent prospective cohort of 156 patients from the PRIMA trial. In this study, clinical characteristics were similar to patients from the whole PRIMA study(28). Median follow-up was 6.6 years and the clinical characteristics were similar between *MYC*-EC and no *MYC*-EC (Table 3). Twenty patients (13%) had *MYC*-EC of whom 8 (5%) were cryptic and 136 (87%) had no *MYC*-EC.

As expected, *MYC*-EC had no impact on PFS ($p=0.86$) or the SOS ($p=0.9$) in the PRIMA cohort (Figure 3). Multivariate analysis confirmed the absence of significant association between *MYC*-EC and *MYC*-NL both in term of PFS (HR: 0.99; 95% CI [0.47, 1.89]; $p=0.9$) and SOS (HR: <0.001 ; 95% CI $[-\infty; +\infty]$; $p>0.9$).

DISCUSSION:

MYC alterations are well described in DLBCL or BL but their prognostic impact in FL is unclear. In this study, we explore the prognostic impact of 8qAlt and especially *MYC*-EC and *MYC*-R in *de novo* FL patients with GELF criteria treated by immuno-chemotherapy. To our knowledge, this is the largest series studying *MYC* alterations in classical FL.

We first observed that the presence of 8qAlt has a significant impact in SOS but not in PFS. This discrepancy may be explained by an increased risk of transformation, associated with poorer prognosis, as we show that 8qAlt group presented an increased rate of transformation that may be translated into lymphoma related deaths(34). In FL, *BCL2* rearrangement have been described as an early event but *MYC* alterations, driven by genomic instability might be key events for lymphoma progression or transformation(7,16,35). Here, we first confirmed that *MYC* alterations are rare events associated with more complex karyotypes. No other differences between the two groups allowed explanation of this impact on outcome. This observation prompted us to study the specific impact of *MYC*-EC and *MYC*-R.

Disease presentation and prognosis were similar between *MYC*-EC and *MYC*-NL FL in our study. The results obtained from the PRIMA cohort confirmed that *MYC*-EC was neither associated with the presence of unfavorable factors at diagnosis nor survival differences in FL patients. Publications studying *MYC*-EC prognostic impact in B-NHL have shown controversial results. The absence of survival impact of *MYC*-EC was recently reported in a cohort of 88 MCL cases (HR: 2.4; 95% CI [0.632, 8.923]; p=0.2)(14) and another work showed that *MYC*-Amp, but not *MYC*-EC, is associated with a poorer outcome in DLBCL(23). In CLL, Chapiro et al. have shown that 8q24 gain was associated with higher risk of transformation with an increased risk in case of concomitant 17p alteration(27). Finally, in FL a recent study showed a trend to worse outcome in case of *MYC*-EC but those

results must be discussed carefully as it reported only 12 FL cases including grade 3b FL (5/12)(36). Our results demonstrate the absence of clinical impact of *MYC*-EC, in accordance with recent published studies about MCL and DLBCL. Nonetheless, we cannot address the question of *MYC*-Amp because of the scarcity of this event in FL (1 case in our cohort).

MYC-R are rare in untransformed FL(20,37) but these events may be underestimated because of inpatient tumoral heterogeneity(4). Here we identified 6 patients with *MYC*-R and, in accordance with others publications, we pointed out that *MYC*-R FL patients are older with higher tumor burden. Despite this limited population, our study is the only one comparing *MYC*-R to non *MYC*-R FL patients treated similarly. Previous reports have suggested that *MYC*-R FL are more aggressive diseases than classical FL with a higher risk of transformation(19,20,36). Miao *et al*, reported a review of literature and a cohort of 7 patients of whom 4 were treated with intensive regimen and suggested that *MYC*-R FL are associated with poor prognosis. In this study, none of the patients treated intensively relapsed, while patients treated with RCHOP failed to reach a complete response. Conversely, despite a limited follow-up time, heterogeneous therapeutic strategies and the absence of comparison to FL cases without *MYC*-R, Miyaoka(22) *et al* proposed that *MYC*-R FL are associated with an indolent behaviour. Taken together, these works as well as a recent review of literature(21) both suggest that there could be an interest in using more intensive regimens such as R-EPOCH for *MYC*-R FL patients. Further studies should focus on establishing the *MYC*-R FL prognostic impact according to treatment strategies to confirm whether they could represent good candidates for intensified or targeted strategies(38).

Interestingly, we highlighted a trend to a dramatic adverse prognosis of *MYC*-R regardless of *MYC* partner gene. Thus, we observed an increased risk of transformation in the 8qAlt group associated with a lower 5y-SOS, which is no longer observed when focusing in *MYC*-EC group. Conversely, our results suggest that *MYC*-R may have a strong impact on

transformation risk and thus in lymphoma-related deaths due to the adverse outcome associated to transformation(34). Altogether, these results strongly suggest that *MYC*-R FL are associated with an unfavorable outcome.

It has been described that *MYC*-R but not *MYC*-EC induce *MYC* overexpression at mRNA and proteic levels through *IGH/L* enhancer hijacking(12,26). This overexpression has a strong impact in terms of lymphomagenesis and aggressiveness through *MYC* oncogenic activity. Thus, the exclusive prognostic impact in *MYC*-R FL could be explained by the absence of *MYC* overexpression in case of *MYC*-EC. Moreover, Copie-Bergman et al.(39) reported that the unfavorable prognosis impact of *MYC*-R is restricted to translocations involving an immunoglobulin gene partner (*IGH* or *IGL/K*) in DH/TH DLBCL(39). In FL, the impact of *MYC* partner gene remains an open question and we suggest that this point should be explored by future studies.

Double-hit lymphomas are defined as mature B-NHL with a chromosomal breakpoint affecting the *MYC* locus combined with an oncogene rearrangement(40) and the last WHO classification recognized an entity as “HGBCL with *MYC* and *BCL2* and/or *BCL6* rearrangements”. HGBCL are aggressive, resistant to conventional chemotherapy, associated with poor prognosis(13) and belong mostly to GCB subtype(41). *MYC*-R FL do not fulfill these criteria, nevertheless, it appears from previous work(19) and our study that *MYC*-R FL may share more similarities with DLBCL than classical FL. Interestingly, Cucco et al(42) recently showed that HGBCL with *MYC/BCL2* rearrangements share a common mutational pattern with FL. The authors suggest that these results bring evidences that *MYC/BCL2*-R HGBCL probably arise from previously undetected FL lesions. In this work, *MYC/BCL2*-R HGBCL frequently exhibit an aggressive phenotype associated with unfavorable prognosis. Moreover, *MYC* mutations enhancing its stability and transforming capacity were enriched in

this subtype. Thus, *MYC*-R FL may represent an intermediary state between FL and HGBCL and it should be particularly relevant to investigate also *MYC* mutational events in *MYC*-R FL.

Some limitations of the current study should be noted with a limited sample size in the *MYC*-R subgroup and the retrospective nature of this study. Despite these limitations, we think that our observations strengthen the interest for larger studies focusing on *MYC*-R prognostic impact in grade 1-3a FL.

In conclusion, our results reveal that 8qAlt but not *MYC*-EC is a negative prognosis factor in FL patients treated by immuno-chemotherapy. We suggest that *MYC*-R FL tended to be associated with an increased risk of transformation and a dramatically poorer outcome and that conventional cytogenetic may constitute a useful tool to identify a small population of high-risk FL patients.

REFERENCES:

1. Laurent C, Baron M, Amara N, Haioun C, Dandoit M, Maynadié M, et al. Impact of Expert Pathologic Review of Lymphoma Diagnosis: Study of Patients From the French Lymphopath Network. *J Clin Oncol*. 2017 Jun 20;35(18):2008–17.
2. Casulo C, Le-Rademacher J, Dixon J, Salles G, Hoster E, Herold M, et al. Validation of POD24 As a Robust Early Clinical Endpoint of Poor Survival in Follicular Lymphoma: Results from the Follicular Lymphoma Analysis of Surrogacy Hypothesis (FLASH) Investigation Using Individual Data from 5,453 Patients on 13 Clinical Trials. *Blood*. 2017 Dec 7;130(Supplement 1):412–412.
3. Sarkozy C, Maurer MJ, Link BK, Ghesquieres H, Nicolas E, Thompson CA, et al. Cause of Death in Follicular Lymphoma in the First Decade of the Rituximab Era: A Pooled Analysis of French and US Cohorts. *J Clin Oncol*. 2019 Jan 10;37(2):144–52.
4. Montoto S, Fitzgibbon J. Transformation of Indolent B-Cell Lymphomas. *J Clin Oncol*. 2011 May 10;29(14):1827–34.
5. Huet S, Tesson B, Jais J-P, Feldman AL, Magnano L, Thomas E, et al. A gene-expression profiling score for prediction of outcome in patients with follicular lymphoma: a retrospective training and validation analysis in three international cohorts. *Lancet Oncol*. 2018 Apr;19(4):549–61.
6. Sarkozy C, Huet S, Carlton VEH, Fabiani B, Delmer A, Jardin F, et al. The prognostic value of clonal heterogeneity and quantitative assessment of plasma circulating clonal IG-VDJ sequences at diagnosis in patients with follicular lymphoma. *Oncotarget*. 2017 Jan 31;8(5):8765–74.
7. Huet S, Sujobert P, Salles G. From genetics to the clinic: a translational perspective on follicular lymphoma. *Nat Rev Cancer*. 2018 Apr;18(4):224–39.
8. Sungalee S, Mamessier E, Morgado E, Grégoire E, Brohawn PZ, Morehouse CA, et al. Germinal center reentries of BCL2-overexpressing B cells drive follicular lymphoma progression. *J Clin Invest*. 2014 Dec 1;124(12):5337–51.
9. Roulland S, Kelly RS, Morgado E, Sungalee S, Solal-Celigny P, Colombat P, et al. t(14;18) Translocation: A Predictive Blood Biomarker for Follicular Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2014 May 1;32(13):1347–55.
10. Höglund M, Sehn L, Connors JM, Gascoyne RD, Siebert R, Säll T, et al. Identification of cytogenetic subgroups and karyotypic pathways of clonal evolution in follicular lymphomas: Cytogenetic Subgroups of Follicular Lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer*. 2004 Mar;39(3):195–204.

11. Johnson NA, Al-Tourah A, Brown CarolynJ, Connors JM, Gascoyne RD, Horsman DE. Prognostic significance of secondary cytogenetic alterations in follicular lymphomas. *Genes Chromosomes Cancer*. 2008 Dec;47(12):1038–48.
12. Filip D, Mraz M. The role of MYC in the transformation and aggressiveness of ‘indolent’ B-cell malignancies. *Leuk Lymphoma*. 2020 Feb 23;61(3):510–24.
13. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391–405.
14. Wang L, Tang G, Medeiros LJ, Xu J, Huang W, Yin CC, et al. MYC rearrangement but not extra MYC copies is an independent prognostic factor in patients with mantle cell lymphoma. *Haematologica*. 2020 Apr 9;haematol.2019.243071.
15. Bischin AM, Dorer R, Aboulafia DM. Transformation of Follicular Lymphoma to a High-Grade B-Cell Lymphoma With MYC and BCL2 Translocations and Overlapping Features of Burkitt Lymphoma and Acute Lymphoblastic Leukemia: A Case Report and Literature Review. *Clin Med Insights Blood Disord*. 2017 Jan;10:1179545X1769254.
16. Xu X, Zhang L, Wang Y, Zhang Q, Zhang L, Sun B, et al. Double-hit and triple-hit lymphomas arising from follicular lymphoma following acquisition of MYC: report of two cases and literature review. *Int J Clin Exp Pathol*. 2013;6(4):788-94.
17. Voorhees PM, Carder KA, Smith SV, Ayscue LH, Rao KW, Dunphy CH. Follicular Lymphoma With a Burkitt Translocation—Predictor of an Aggressive Clinical Course: A Case Report and Review of the Literature. *Arch Pathol Lab Med*. 2004;128:4.
18. Yano T, Longo DL, Raffeld M. MYC Rearrangements in Histologically Progressed Follicular Lymphomas. *Blood*. 1992 Aug 1;80(3):758-67.
19. Miao Y, Hu S, Lu X, Li S, Wang W, Medeiros LJ, et al. Double-hit follicular lymphoma with MYC and BCL2 translocations: a study of 7 cases with a review of literature. *Hum Pathol*. 2016 Dec;58:72–7.
20. Yoshida M, Ichikawa A, Miyoshi H, Kiyasu J, Kimura Y, Arakawa F, et al. Clinicopathological features of double-hit B-cell lymphomas with MYC and BCL2 , BCL6 or CCND1 rearrangements: Double-hit lymphomas. *Pathol Int*. 2015 Oct;65(10):519–27.
21. Ziemba JB, Wolf Z, Weinstock M, Asakrah S. Double-Hit and Triple-Hit Follicular Lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2020 Apr 15;153(5):672–85.

22. Miyaoka M, Kikuti YY, Carreras J, Ikoma H, Hiraiwa S, Ichiki A, et al. Clinicopathological and genomic analysis of double-hit follicular lymphoma: comparison with high-grade B-cell lymphoma with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements. *Mod Pathol*. 2018 Feb;31(2):313–26.
23. Schieppati F, Balzarini P, Fisogni S, Re A, Pagani C, Bianchetti N, et al. An increase in MYC copy number has a progressive negative prognostic impact in patients with diffuse large B-cell and high-grade lymphoma, who may benefit from intensified treatment regimens. *Haematologica*. 2020 May;105(5):1369–78.
24. Sermer D, Bobillo S, Dogan A, Zhang Y, Seshan V, Lavery JA, et al. Extra copies of MYC, BCL2, and BCL6 and outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Adv*. 2020 Jul 28;4(14):3382–90.
25. Pophali PA, Marinelli LM, Ketterling RP, Meyer RG, McPhail ED, Kurtin PJ, et al. High level MYC amplification in B-cell lymphomas: is it a marker of aggressive disease? *Blood Cancer J*. 2020 Jan;10(1):5.
26. Sesques P, Johnson NA. Approach to the diagnosis and treatment of high-grade B-cell lymphomas with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements. *Blood*. 2017 Jan 19;129(3):280–8.
27. Chapiro E, Lesty C, Gabillaud C, Durot E, Bouzy S, Armand M, et al. “Double-hit” chronic lymphocytic leukemia: An aggressive subgroup with 17p deletion and 8q24 gain. *Am J Hematol*. 2018 Mar;93(3):375–82.
28. Bachy E, Seymour JF, Feugier P, Offner F, López-Guillermo A, Belada D, et al. Sustained Progression-Free Survival Benefit of Rituximab Maintenance in Patients With Follicular Lymphoma: Long-Term Results of the PRIMA Study. *J Clin Oncol*. 2019 Nov 1;37(31):2815–24.
29. Salles G, Seymour JF, Offner F, López-Guillermo A, Belada D, Xerri L, et al. Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2011 Jan;377(9759):42–51.
30. Mayrhofer M, Viklund B, Isaksson A. Rawcopy: Improved copy number analysis with Affymetrix arrays. *Sci Rep*. 2016 Dec;6(1):36158.
31. Loo PV, Nordgard SH, Lingjærde OC, Russnes HG, Rye IH, Sun W, et al. Allele-specific copy number analysis of tumors. *Proc Natl Acad Sci*. 2010 Sep 28;107(39):16910–5.
32. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, et al. Recommendations for Initial Evaluation, Staging, and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. *J Clin Oncol*. 2014 Sep 20;32(27):3059–67.
33. Solal-Celigny P. Follicular Lymphoma International Prognostic Index. *Blood*. 2004 Sep 1;104(5):1258–65.

34. Wagner-Johnston ND, Link BK, Byrtek M, Dawson KL, Hainsworth J, Flowers CR, et al. Outcomes of transformed follicular lymphoma in the modern era: a report from the National LymphoCare Study (NLCS). *Blood*. 2015 Aug 13;126(7):851–7.
35. Tomita N, Tokunaka M, Nakamura N, Takeuchi K, Koike J, Motomura S, et al. Clinicopathological features of lymphoma/leukemia patients carrying both BCL2 and MYC translocations. *Haematologica*. 2009 Jul 1;94(7):935–43.
36. Kim M, Hwang HS, Son EM, Cho H, Yoon DH, Suh C, et al. Clinicopathological and prognostic significance of *BCL2*, *BCL6*, *MYC*, and *IRF4* copy number gains and translocations in follicular lymphoma: a study by FISH analysis. *Leuk Lymphoma*. 2020 Sep 13;1–9.
37. Horn H, Schmelter C, Leich E, Salaverria I, Katzenberger T, Ott MM, et al. Follicular lymphoma grade 3B is a distinct neoplasm according to cytogenetic and immunohistochemical profiles. *Haematologica*. 2011 Sep 1;96(9):1327–34.
38. Cummin TEC, Cox KL, Murray TD, Turaj AH, Dunning L, English VL, et al. BET inhibitors synergize with venetoclax to induce apoptosis in MYC-driven lymphomas with high BCL-2 expression. *Blood Adv*. 2020 Jul 28;4(14):3316–28.
39. Copie-Bergman C, Cuillière-Dartigues P, Baia M, Briere J, Delarue R, Canioni D, et al. MYC-IG rearrangements are negative predictors of survival in DLBCL patients treated with immunochemotherapy: a GELA/LYSA study. *Blood*. 2015 Nov 26;126(22):2466–74.
40. Aukema SM, van Pel R, Nagel I, Bens S, Siebert R, Rosati S, et al. MYC expression and translocation analyses in low-grade and transformed follicular lymphoma. *Histopathology*. 2017 Dec;71(6):960–71.
41. Scott DW, King RL, Staiger AM, Ben-Neriah S, Jiang A, Horn H, et al. High-grade B-cell lymphoma with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements with diffuse large B-cell lymphoma morphology. *Blood*. 2018 May 3;131(18):2060–4.
42. Cucco F, Barrans S, Sha C, Clipson A, Crouch S, Dobson R, et al. Distinct genetic changes reveal evolutionary history and heterogeneous molecular grade of DLBCL with MYC/BCL2 double-hit. *Leukemia*. 2020 May;34(5):1329–41.

ANNEXE 2

Dear Lucile Bussot,

Article ID: BJH17550

Article DOI: 10.1111/bjh.17550

Internal Article ID: 17072814

Article: Adverse outcome in follicular lymphoma is associated with MYC rearrangements but not MYC extra-copies.

Journal: British Journal of Haematology

Congratulations on the acceptance of your article for publication in British Journal of Haematology.

Your article has been received and the production process is now underway. We look forward to working with you and publishing your article. Using Wiley Author Services, you can track your article's progress.

Not registered on Wiley Author Services?

Please click below and use **lbussot@chu-grenoble.fr** to register to ensure you find the article in your dashboard. **NOTE:** Please don't forward this message to co-authors. This registration link can only be used once. Your co-authors have received their own invitation emails with unique links.

https://authorservices.wiley.com/index.html#register-invite/pR5i82xqSLvfJlb9-0A_V82S4EibKstvd6SzR48nI9g%3D?campaign=email_invitation-new

Already registered?

Please click below to login - if you are using a different email address to lbussot@chu-grenoble.fr, you will need to manually assign this article to your Dashboard (see How do I assign a missing article to My Dashboard?):

https://authorservices.wiley.com/index.html#login?campaign=email_invitation-new

If applicable, a list of available actions will appear below – check out your Author Services Dashboard for all actions related to your articles.

Track your article's progress to publication

Access your published article

If you need any assistance, please click here to view our Help section.

Sincerely,

Wiley Author Services