



**HAL**  
open science

# Identification et caractérisation de la cellule précurseur cancéreuse dans le lymphome folliculaire : revue de la littérature

Simon Zakhour

## ► To cite this version:

Simon Zakhour. Identification et caractérisation de la cellule précurseur cancéreuse dans le lymphome folliculaire : revue de la littérature. Sciences pharmaceutiques. 2021. dumas-03524606

**HAL Id: dumas-03524606**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03524606v1>**

Submitted on 13 Jan 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



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

## **THÈSE D'EXERCICE / DOCTEUR JUNIOR**

Phase d'Approfondissement du DES de Biologie Médicale

Soutenue le 08 octobre 2021

Par M. ZAKHOUR Simon  
Né le 10 février 1993  
À Bourg de péage

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 12 avril 2017  
portant organisation du troisième cycle des études de Médecine et de  
Pharmacie

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN  
PHARMACIE

----oOo----

### **IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DE LA CELLULE PRECURSEUR CANCEREUSE DANS LE LYMPHOME FOLLICULAIRE : REVUE DE LA LITTERATURE**

----oOo----

**JURY :**

Président : M. le Professeur Romaric LACROIX  
Membres : Mme le Docteur Sandrine ROULLAND (Directrice de thèse)  
Mme le Docteur Marie LOOSVELD



27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05  
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

**ADMINISTRATION :**

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI, M. Guillaume HACHE
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Henri PORTUGAL, M. Philippe CHARPIOT
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Florence GAUREL
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

**DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

**PROFESSEURS**

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT  
M. Hervé KOVACIC

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Philippe PICCERELLE

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI  
Mme Odile RIMET-GASPARINI  
Mme Pascale BARBIER  
M. François DEVRED  
Mme Manon CARRE  
M. Gilles BREUZARD  
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA  
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE  
M. Emmanuel CAUTURE  
Mme Véronique ANDRIEU  
Mme Marie-Pierre SAVELLI

BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES  
PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE

M. Jérémy MAGALON  
Mme Carole SIANI

## ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

**DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE**  
Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

## PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE  
Mme Laurence CAMOIN-JAU  
Mme Florence SABATIER-MALATERRE  
Mme Nathalie BARDIN

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN  
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET  
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	M. Thierry AUGIER M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER M. Romaric LACROIX Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Michèle LAGET Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

## ATER

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	Mme Anne-Claire DUCHEZ
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE	Mme Alexandra WALTON

## A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Mélanie VELIER
----------------------------	--------------------

## DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

## PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOGNOSIE	Mme Evelyne OLLIVIER

**MAITRES DE CONFERENCES**

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Pierre REBOUILLON
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUEHYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	M. Riad ELIAS Mme Valérie MAHIOU-LEDDDET Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN

**MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Anne-Marie PENET-LOREC
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE	M. Marc LAMBERT
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA

**A.H.U.**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Mathieu CERINO
--	-------------------

**ATER.**

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Duje BURIC
--	---------------

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

**PROFESSEURS**

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE Mme Frédérique GRIMALDI M. Joseph CICCOLINI

**MAITRES DE CONFERENCES**

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

**A.H.U.**

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE PHARMACIE CLINIQUE	Mme Anaïs MOYON M. Florian CORREARD
---	--

**ATER.**

TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Anne RODALLEC
----------------------------------	-------------------



Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire  
Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint  
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire  
M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie  
Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché  
Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint  
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier  
M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 23 janvier 2020

# REMERCIEMENTS

Aux membres du jury

**A Monsieur le Professeur Romaric LACROIX,**

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites de présider mon jury de thèse et d'avoir accepté de juger ce travail. Soyez assuré de ma sincère gratitude et de mon plus profond respect.

**A Madame le Docteur Marie LOOSVELD,**

Merci de m'avoir fait l'honneur d'accepter de rejoindre ce jury et de juger ce travail. Merci pour ta disponibilité et pour tes conseils précieux lors de mon premier semestre d'hématologie au CHU La Timone, ainsi que pendant mon master 2.

**A Madame le Docteur Sandrine ROULAND,**

Je te remercie d'avoir accepté de juger ce travail et ton implication dans cette thèse, ainsi que de m'avoir permis d'effectuer un master 2 de recherche au sein de ton équipe où j'ai appris de nombreuses connaissances du monde de la recherche.

*« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »*

# TABLE DES MATIERES

<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>1</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>1</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>2</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>3</b>
<b>I. LE LYMPHOME FOLLICULAIRE .....</b>	<b>4</b>
<b>A. Généralités .....</b>	<b>4</b>
1. Épidémiologie du lymphome folliculaire .....	4
1.1 <i>Tendance générale de l'incidence</i> .....	4
1.2 <i>Facteurs génétiques et environnementaux</i> .....	6
2. Présentation clinico-biologique du lymphome folliculaire .....	7
2.1 <i>Généralités</i> .....	7
2.2 <i>Formes cliniques particulières</i> .....	8
2.3 <i>Transformation et progression précoce de la maladie</i> .....	10
<b>B. Diagnostic de lymphome folliculaire .....</b>	<b>12</b>
1. Biopsie et/ou ponction ganglionnaire .....	12
1.1 <i>Caractéristiques morphologiques</i> .....	12
1.2 <i>Caractéristiques phénotypiques</i> .....	13
1.3 <i>Caractéristiques moléculaires</i> .....	14
2. Examens paracliniques et facteurs pronostiques .....	14
2.1 <i>Scores pronostiques</i> .....	14
2.2 <i>Mesure de la masse tumorale</i> .....	16
3. Suivi de la maladie résiduelle minimale.....	17
<b>C. Stratégies thérapeutiques .....</b>	<b>17</b>
1. Traitements des formes localisées (Stade I/II) .....	18
2. Traitements des formes avancées (Stade III/IV) .....	19

3. Traitements des formes en rechute .....	21
<b>II. ONTOGENIE DES LYMPHOCYTES B .....</b>	<b>23</b>
<b>A. Développement physiologique des lymphocytes B .....</b>	<b>23</b>
1. Lymphopoïèse B dans la moelle osseuse .....	23
1.1 <i>Diversité et spécificité du BCR</i> .....	24
1.2 <i>Sélection des lymphocytes B dans la moelle osseuse</i> .....	26
2. Différenciation des lymphocytes B dans les organes lymphoïdes secondaires .....	28
2.1 <i>Structure des organes lymphoïdes secondaires</i> .....	28
2.2 <i>Dynamique cellulaire des lymphocytes B</i> .....	31
2.3 <i>Signature transcriptomique des lymphocytes B au sein du centre germinatif</i> .....	47
<b>B. Lymphomagenèse/Physiopathologie.....</b>	<b>54</b>
1. Altérations génomiques .....	54
1.1 <i>La translocation t(14 ;18)</i> .....	54
1.2 <i>Les altérations génétiques additionnelles</i> .....	55
2. Hétérogénéité clonale du lymphome folliculaire.....	60
3. Le rôle du microenvironnement .....	62
3.1 <i>Microenvironnement propice à la croissance tumorale</i> .....	62
3.2 <i>Les mécanismes d'échappement immunitaire</i> .....	64
3.3 <i>L'interaction entre le BCR et le microenvironnement</i> .....	67
3.4 <i>Hétérogénéité du microenvironnement et lien avec la génétique des tumeurs</i> ....	68
<b>C. La cellule précurseur cancéreuse.....</b>	<b>70</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>75</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>76</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1.</b> Les différents grades histologiques du lymphome folliculaire .....	13
<b>Tableau 2.</b> Index pronostique international des lymphomes folliculaires (FLIPI) et les différents groupes de risques .....	15
<b>Tableau 3.</b> Les différents critères de masse tumorale dans les lymphomes folliculaires du GELF .....	16
<b>Tableau 4.</b> Classification des lymphomes folliculaires déterminant le traitement .....	18
<b>Tableau 5.</b> Les différentes altérations génétiques et leurs fréquences retrouvées au sein des lymphomes folliculaires.....	60

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Aspect histologique de coupe de ganglions lymphatiques colorés par HE, BCL2 et CD10.....	10
<b>Figure 2.</b> Algorithme de prise en charge thérapeutique des lymphomes folliculaires.....	21
<b>Figure 3.</b> La composition et l'expression du récepteur des cellules B (BCR) et du pré-BCR.....	24
<b>Figure 4.</b> Structure du récepteur des cellules B (BCR).....	26
<b>Figure 5.</b> Schéma d'une coupe transversale de rate.....	29
<b>Figure 6.</b> Structure d'une coupe transversale d'un ganglion lymphatique .....	30
<b>Figure 7.</b> Schéma représentant l'initiation et la formation des centres germinatifs.....	37
<b>Figure 8.</b> Vue d'ensemble de la dynamique du centre germinatif .....	42
<b>Figure 9.</b> Le devenir des lymphocytes B selon l'affinité de leur BCR et de l'interaction avec les LT <sub>FH</sub> .....	44
<b>Figure 10.</b> Les différents profils d'expression des principaux gènes au cours des différentes étapes du centre germinatif.....	51
<b>Figure 11.</b> Le microenvironnement du lymphome folliculaire dans les organes lymphoïdes secondaires.....	66
<b>Figure 12.</b> Altérations génétiques des cellules B du LF et remodelage du microenvironnement tumoral .....	69
<b>Figure 13.</b> Les différentes étapes représentant la lymphomagenèse du lymphome folliculaire .....	74

## LISTE DES ABREVIATIONS

AID :	Activation Induced cytidine Deaminase
BCR :	Récepteur de Cellule B
CDF :	Cellule Dendritique Folliculaire
CG :	Centre Germinatif
CMH :	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CMS :	Cellule Myéloïde Suppressive
CPC :	Cellule Précurseur Cancéreuses
CRF :	Cellule Réticulaire Fibroblastique
CRM :	Cellule Réticulaire Marginale
CSR :	Class-Switch Recombination, commutation de classe isotypique
DLBCL :	Lymphome B diffus à grandes cellules
DZ :	Dark Zone, zone sombre
FLIPI :	Indice International de Pronostic du Lymphome Folliculaire
GELF :	Groupes d'Études des Lymphomes Folliculaires
ITAM	Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif, motif d'activation des récepteurs immuns basé sur la tyrosine
Ig :	Immunoglobuline
LB :	Lymphocyte B
LF :	Lymphome Folliculaire
LNH :	Lymphome Non Hodgkinien
LT :	Lymphocyte T
LT <sub>FH</sub> :	Lymphocyte T Folliculaire Helper
LT <sub>FR</sub> :	Lymphocyte T Folliculaire Régulateur
LZ :	Light Zone, zone claire
NK :	Natural Killer
OLS :	Organe lymphoïde secondaire
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PI3K :	Phosphoinositide 3-Kinase
RAG :	Recombination Activating Genes
SHM :	Somatic Hypermutation, hyper-mutation somatique
TH :	Transformation histologique

# INTRODUCTION

Les lymphomes sont des cancers hématologiques qui représentent le 7<sup>ème</sup> cancer humain le plus répandu dans le monde. L'OMS a classé 80 sous-types de lymphomes répartis en deux formes les lymphomes hodgkiniens (maladie de Hodgkin) et les lymphomes non hodgkiniens (LNH). Le lymphome folliculaire (LF) est le deuxième lymphome spécifique des lymphocytes B le plus courant chez les adultes dans les pays occidentaux. Le LF est classé comme le lymphome indolent le plus fréquent. Cependant, cette maladie reste incurable avec l'arsenal thérapeutique existant à ce jour. Une partie des patients présente une maladie qui rechute ou qui progresse, entraînant un pronostic défavorable. A ce jour, il n'existe aucun moyen afin d'identifier les patients avec un risque important de rechute ou de progression. De plus, aucun traitement spécifique pour ces patients n'est disponible sur le marché. Les progrès des méthodes et des pratiques scientifiques des dernières années ont permis d'avoir une meilleure connaissance de la lymphomagenèse de cette pathologie. L'émergence de ces nouvelles techniques d'analyses ont mis en évidence un pool de cellules correspondant à un ancêtre précoce commun du LF et pouvant être responsable des rechutes. Ces cellules doivent être formellement identifiées et caractérisées pour pouvoir les cibler avec des approches thérapeutiques afin d'améliorer le pronostic et la survie de la maladie.



# I. Le lymphome folliculaire

## A. Généralités

Les lymphomes sont des tumeurs solides du système immunitaire. Ils peuvent être divisés en deux grandes catégories : les lymphomes non hodgkiniens (90%) et les lymphomes hodgkiniens (10%). La plupart des LNH, environ 90%, ont pour origine une transformation maligne des lymphocytes B (LB), mais ils peuvent également être d'origine T ou Natural Killer (NK). Les LNH présentent un large éventail d'apparences histologiques et de caractéristiques cliniques, ce qui peut rendre le diagnostic difficile. En effet, les LNH constituent un ensemble de néoplasies hétérogènes divisées en une classification complexe et en constante évolution, avec plus de 50 sous-types différents répertoriés dans la dernière classification de l'organisation mondiale de la santé 2016 (OMS 2016) (1). La classification de l'OMS 2016 regroupe les différentes pathologies au sein des néoplasmes à cellules B matures, les néoplasmes à cellules T et NK matures, les lymphomes hodgkiniens, les syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation et les tumeurs des cellules histiocytaires et dendritiques. Le LF se trouve au sein du groupe des néoplasmes à cellules B matures habituellement regroupés dans des structures d'architecture folliculaires. Cependant, il existe quatre variants histologiques du LF qui sont détaillés dans la classification de l'OMS 2016. Ces variants sont la néoplasie folliculaire *in situ*, le variant diffus du LF, le LF de type duodénal et le LF de type testiculaire. A noter que la néoplasie folliculaire *in situ* correspond à un diagnostic anatomo-pathologique pouvant ensuite conduire au diagnostic d'un LF concomitant dans un autre site ganglionnaire. Le LF reste, à ce jour, une maladie incurable, indolente et ponctuée de multiples rechutes qui deviennent résistantes au cours du temps et pouvant évoluer vers un lymphome agressif.

### 1. Épidémiologie du lymphome folliculaire

#### 1.1 Tendence générale de l'incidence

Le LF est un lymphome indolent dans 80% des cas et représente le 2<sup>ème</sup> sous type de LNH le plus fréquent après le lymphome B diffus à grandes cellules (DLBCL) dans les pays occidentaux (2). Le LF représente 35% de tous les LNH et 70% des LNH de bas grade (3). Le LF touche principalement les adultes, rarement observé chez les patients âgés de moins de 18 ans. Au moment du diagnostic, l'âge médian des patients se situe autour de 60-65 ans (2).

L'évolution de cette pathologie est hétérogène d'un patient à l'autre. En effet, 20% des patients vont rechuter dans les deux ans suivant le traitement dont le pronostic est défavorable avec une survie sans progression à 5 ans de 60%. Alors que la moyenne de la survie sans progression des patients atteint de LF est de 7 ans. De plus, la transformation histologique (TH) des LF en une forme plus agressive comme le DLBCL se produit chez 2 à 3% des patients par an. D'après une étude de Santé Publique France l'incidence du LF en 2018 était d'environ 3 000 nouveaux cas avec un âge médian au diagnostic de 66 ans (4). Une étude rétrospective récente du Spanish Lymphoma Oncology Group a enregistré une incidence cumulée sur 5 ans de 7% de transformation dans une population de plus de 1 000 patients (5). Plusieurs études épidémiologiques ont montré que le LF a une incidence plus élevée dans les populations caucasiennes que dans les populations africaines ou asiatiques (6). En étudiant l'incidence du LF chez les américains d'origine asiatique, Clarke *et al.* ont trouvé que l'incidence était significativement plus faible chez les Américains d'origine Asiatiques nés à l'étranger que ceux nés aux États-Unis, ce qui suggère un rôle des facteurs environnementaux dans la pathogénèse dans le LF (6). La plupart des malignités lymphoïdes présentaient un excès de risque pour les hommes dans l'étude de Teras *et al*, mais ce n'était pas le cas pour le LF qui avait un sex-ratio de 1.18 (7). Les données d'un programme national américain (SEER) montrent que le taux d'incidence pour 100 000 personnes a augmenté de 1,3 cas en 1975 à 3,9 cas en 1986. Le taux s'est depuis stabilisé aux alentours 3,3 cas pour 100 000 personnes. Depuis 2001, on observe une baisse du taux d'incidence pour les deux sexes, avec une diminution du taux de 3,1 en 2001 à 2,5 en 2018. En parallèle, la survie à 5 ans est restée stable dans les années 1990 avec un taux de 70%, puis elle a augmenté jusqu'à 92,4% en 2014. Le sexe, l'âge et la race n'a pas d'influence significative sur les taux de survie à 5 ans (7). En somme, le LF est une pathologie équilibrée entre les hommes et les femmes. Cette pathologie est plus répandue aux États-Unis et en Europe dont le taux d'incidence diminue et la survie à 5 ans augmente au cours des dernières années. La baisse du taux d'incidence pourrait être due à la diminution des taux de tabagisme au cours de cette période, ainsi qu'aux changements des modes de vie ou à l'exposition environnementale. L'augmentation du taux de survie à 5 ans est expliquée par l'introduction du rituximab (anticorps anti-CD20) dans la thérapeutique du LF et par les différents progrès thérapeutiques (8).

## 1. 2 Facteurs génétiques et environnementaux

Les données d'incidence suggèrent que le LF pourrait résulter d'une interaction complexe de facteurs génétiques et environnementaux, bien que la plupart des patients ne présentent pas de facteurs de risque clairement identifiables au moment du diagnostic. Le consortium InterLymph qui regroupe 19 études cas-témoins avec 3 530 cas et 22 639 témoins en Europe, en Amérique du Nord et en Australie a montré que les antécédents familiaux de LNH chez un parent au premier degré confèrent un risque multiplié par 2 de LF (2). Lorsqu'un parent masculin au premier degré est atteint de myélome multiple, le risque de développer un LF est 3,6 fois plus élevé que dans la population générale, cependant ce risque augmenté n'est pas si évident lorsqu'un parent féminin au premier degré est atteint d'un myélome. De plus, le fait d'avoir des parents au premier degré atteints de leucémie ou de lymphome de hodgkin ne semblait pas présenter un risque accru de LF (2). Depuis quelques années, de nombreuses études d'association pangénomique (GWAS ou Genome Wide Association Study) ont identifié des polymorphismes nucléotidiques pouvant expliquer la susceptibilité héréditaire (6). En effet, les polymorphismes génétiques retrouvés dans les gènes codant pour les molécules de présentation antigénique (CMH de classe I et de classe II) sont associés à risque plus élevé de développer un LF. Des polymorphismes ont également été retrouvés près d'oncogènes potentiels et d'oncogènes avérés sans qu'un lien fonctionnel biologique de causalité n'ait pu être établi (8).

L'étude des facteurs de risque environnementaux est régulièrement source de confusion et de biais inévitables, par conséquent il est difficile d'établir des liens entre l'origine naturelle du LF et les différents facteurs car les données des études épidémiologiques sont souvent contradictoires. La plupart des études considèrent les LNH dans leur ensemble et non spécifiquement le LF, ce qui en limite les conclusions vis-à-vis du LF. Parmi les facteurs retrouvés de manière récurrente dans la littérature, le risque de LF augmente de manière significative avec l'exposition à des solvants chimiques connus pour être cancérigène tels que le benzène, le toluène, le xylène et le styrène (OR 1,7) (9). L'exposition professionnelle aux pesticides augmente la prévalence et la fréquence de cellules porteuses de la translocation t(14 ;18), à l'origine de la pathogénèse du LF, en particulier pendant les périodes d'utilisation intensive de pesticides (10). Une étude épidémiologique a montré un risque accru associé à l'exposition de pesticides pour les lymphomes non hodgkinien possédant la translocation t(14 ;18) mais pas pour ceux ne la présentant pas (8). La translocation t(14 ;18) entraîne la juxtaposition du gène anti-apoptotique *BCL2* sous le promoteur de l'immunoglobuline, elle se

produit dans 70% à 90% des cas de LF et a également été associée à certains pesticides dans deux études (6). Des études ont indiqué un risque accru de LF pour les fumeurs actuels par rapport aux non-fumeurs, de plus l'association entre le tabagisme et le LF est biologiquement plausible étant donné la fréquence accrue de cellules t(14 ;18) chez les gros fumeurs (6). Cependant, deux études prospectives ont montré des résultats contraires, suggérant un risque plus faible de LF chez les fumeurs actuels ou les anciens fumeurs (6). La méta-analyse InterLymph a montré que le fait d'être en surpoids ou obèse à l'âge adulte confère un risque 1,5 fois plus élevé de LF (2) et une autre étude confirme que l'augmentation de l'indice de masse corporelle est positivement associée au risque de LF (11).

## 2. Présentation clinico-biologique du lymphome folliculaire

### 2.1 Généralités

La présentation clinique du LF est le plus généralement caractérisée par la forme ganglionnaire. Les patients peuvent présenter un tableau clinique variable, avec la présence d'adénopathies superficielles de volume modéré, évoluant depuis plusieurs mois et généralement non douloureuses et non inflammatoires qui peuvent se localiser au niveau fémorale, inguinale, axillaire et cervicale. Des symptômes au niveau abdominal d'apparence banale peuvent mettre en évidence des ganglions se développant très lentement et nécessitant une imagerie. Les symptômes B comme la fièvre, l'amaigrissement et les sueurs nocturnes peuvent également être retrouvés chez ces patients. On retrouve également une élévation des lactates déshydrogénases (LDH) sur le plan biologique chez environ un patient sur 4 et une anémie chez un patient sur 5. Les cellules du LF au diagnostic peuvent envahir les ganglions, la rate et la moelle osseuse. En effet, une atteinte de la moelle osseuse est retrouvée dans 70% des cas, alors que l'atteinte d'autres organes extra-nodaux est plus rare. L'envahissement sanguin des cellules tumorales est très rare (<5%) mais peut être observé sur l'hémogramme avec une analyse microscopique et par l'immunophénotypage, le pronostic est alors défavorable (12) (13). Un bilan rénal et hépatique est nécessaire pour exclure tout dysfonctionnement de ces organes, ainsi qu'une électrophorèse des protides qui peut mettre en évidence chez certains patients une discrète hypogammaglobulinémie et/ou un composant monoclonal de faible taux. La lenteur de l'évolution de la pathologie, ainsi que les longues phases de stabilité caractérisent l'histoire naturelle de la maladie pour 80% des patients. Il existe différentes formes cliniques plus rares de LF pouvant être différencier en termes de comportements cliniques et de résultats

après thérapie. La fréquence de cellules porteuses d'une translocation t(14 ;18) plusieurs années en amont du diagnostic pourrait être également utilisé comme un biomarqueur prédictif du risque de développer un LF bien que non-utilisé en pratique du fait de la faible incidence de LF dans la population générale (14).

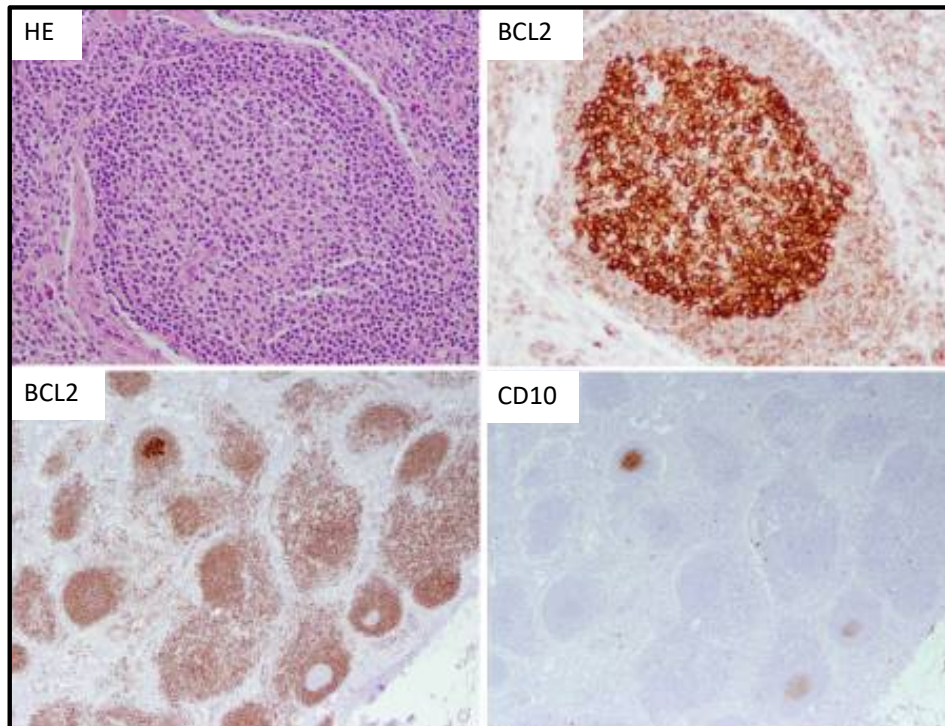
## 2.2 Formes cliniques particulières

La néoplasie folliculaire *in situ* désigne des follicules néoplasiques composés par de nombreux LB porteurs de la translocation t(14 ;18) au sein d'un ganglion où l'on ne retrouve pas d'évidence histologique d'envahissement par un LF manifeste (15). L'architecture des ganglions lymphatiques est préservée, à première vue, le follicule néoplasique est généralement imperceptible et difficile à distinguer d'un centre germinatif (CG) normal (16). L'identification de ce follicule est définie par l'identification d'une population uniforme de petits centrocytes néoplasiques qui peut être confirmé par une analyse d'immunohistochimie. La présence de cellule au sein du follicule exprimant fortement BCL2 et CD10 est caractéristique de la néoplasie folliculaire *in situ* (Figure 1). Un bilan d'extension en imagerie est alors effectué afin d'éliminer d'autres localisations de la maladie. La néoplasie folliculaire peut être associée à une progression vers un LF de forme classique dans 5 à 10% des cas pouvant être diagnostiquée entre 23 mois et jusqu'à 10 ans plus tard (17). On retrouve dans les *in situ* des cellules circulantes porteuses de la t(14 ;18) issues du même clone que dans le ganglion (14). Cependant, ces LB présentent peu d'altérations génétiques supplémentaires suggérant qu'il s'agit d'une étape précoce dans le processus de lymphomagenèse (18) (19). Parmi les altérations retrouvées, on retrouve des mutations de régulateurs épigénétiques (*CREBBP*) et l'acquisition de site de N-glycosylations du récepteur aux cellules B (BCR) qui pourrait fournir un signal de survie à ces cellules *via* des contacts avec les lectines du microenvironnement (20) (21).

Une atteinte duodénale isolée est caractérisée par des douleurs abdominales ou épigastriques banales conduisant à la réalisation d'une biopsie endoscopique et pouvant aboutir au diagnostic du LF de type duodénal. Ce sous-type de LF est présenté comme des lésions polyplœides solitaires ou multiples qui sont confinées à la muqueuse ou la sous-muqueuse de la deuxième partie du duodénum (17). L'évolution de cette forme de LF est très indolente et évolue rarement vers un LF « classique » (< 10%). Le pronostic est excellent mais nécessite une prise en charge thérapeutique distincte.

Le LF de type pédiatrique est devenu une entité définitive dans la révision en 2016 de la classification l'OMS 2008 (1). Ce sont des LF retrouvés principalement chez l'enfant, l'adolescent et l'adulte jeune. Le tableau clinique présente le plus souvent une adénopathie isolée, souvent inguinale. L'analyse histologique met en évidence de grandes cellules faisant évoquer une pathologie plutôt agressive, cependant il s'agit une pathologie bénigne car l'exérèse de l'adénopathie atteinte est souvent le seul traitement nécessaire. Le LF de type pédiatrique est caractérisé pathologiquement par une forte prolifération et une absence de réarrangement t(14 ;18) (17). L'étude des mutations des gènes rencontrées dans les LF de type pédiatrique a permis d'améliorer l'identification cette forme particulière de lymphome chez l'adolescent ou l'adulte jeune. En effet, le LF de type pédiatrique se distingue du LF classique par des altérations génomiques de *TNFRSF14*, d'*IRF4* qui sont fréquemment retrouvées. Les mutations de *MAP2K1* sont également retrouvées dans 43% des cas (15).

Le LF testiculaire est rare et plus fréquent chez les enfants. Généralement, ce sont des lymphomes à un stade limité et se limitent au testicule et à l'épididyme. Ils ne présentent pas la translocation t(14 ;18) et le taux de guérison chez les patients est élevé après une résection chirurgicale (17).



**Figure 1.** Aspect histologique de coupe de ganglions lymphatiques colorés par HE, BCL2 et CD10 (15).

L'unique follicule impliqué est fortement positif pour BCL2 et CD10. Les cellules B et les cellules T de la zone du manteau présentent une positivité moins intense pour BCL2. Les CG normaux sont BCL2 négatif et faiblement positif pour CD10.

### 2. 3 Transformation et progression précoce de la maladie

L'évolution du LF est très variable selon les patients. En effet, environ 20 à 30% des patients rechutent au cours des deux ans suivant le traitement de 1<sup>ère</sup> ligne. Cette rechute constitue un facteur de mauvais pronostic entraînant une survie globale défavorable avec un risque de décès dans les 5 ans estimé à 50% contre 90% pour le reste des patients (22). On retrouve également des patients qui présentent des tumeurs qui vont se transformer en lymphome agressif. La TH est associée à un très mauvais pronostic. Le risque de TH semble être stable et constant à environ 2 à 3% par an pendant au moins les 10 à 15 premières années suivant le diagnostic (17). Cependant, la survie à 5 ans est significativement plus mauvaise pour les patients ayant subi une TH à 75% contre 85% pour les patients non transformés (17). Cette TH correspond le plus souvent, environ 80% des cas, à un DLBCL et moins fréquemment à d'autres types de DLBCL, à un lymphome à cellules B de haut grade avec translocation *MYC*. Le LF peut s'orienter, plus rarement, vers un lymphome lymphoblastique ou en sarcome histiocytaire (23). Le tableau clinique correspond à une accélération de l'atteinte ganglionnaire ou extra-ganglionnaire,

associé ou non à une altération de l'état général et à des symptômes B. Une élévation des LDH sérique, avec parfois une hypercalcémie sont retrouvées lors d'une analyse sanguine.

Une analyse rétrospective de différents cas de LF ayant rechuter précocement a permis d'identifier plusieurs gènes mutés responsables : *TP53*, *BTG1*, *XBPI*, *KMT2C* ou encore *MYD88* (24). L'analyse a également permis de mettre en évidence un faible degré de divergence clonale et une évolution linéaire lors des rechutes précoces. Cela suggère que ces gènes mutés sont le plus souvent présents dès le diagnostic conférant à la tumeur sa capacité à rechuter précocement. La TH repose sur l'activation de certains oncogènes, comme *cMYC* ou *CCND3*, et sur l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs, comme *TP53* ou *B2M* (15). En effet, un des gènes qui a été impliqué dans la transformation du LF vers un néoplasme plus agressif est *TP53* (25). La présence d'une anomalie sur ce gène est très rare dans les échantillons au diagnostic (<5% de tous les LF), cependant dans les LF transformés sont particulièrement enrichis (25-30%) pour ces anomalies. Ces mutations conduisent à l'inactivation du gène suppresseur de tumeur *P53*. De plus, la translocation du gène *MYC* est également rare dans les LF mais peut se produire plus fréquemment lors des TH. Les LF transformés comportent des altérations génétiques plus nombreuses qu'au moment du diagnostic. Le séquençage de l'ADN circulant des tumeurs est apparu comme une nouvelle approche pour le suivi de l'évolution des tumeurs et est prometteur pour la détection précoce de la TH (26). En effet, l'analyse d'échantillons appariées de LF et de LF transformé ont montré une grande divergence clonale par rapport à leur dernier progéniteur clonal commun. Ainsi en incorporant ces différences génomiques dans un modèle, des chercheurs ont constaté que la TH des LF pouvait être prédite avec une sensibilité et une spécificité élevée à partir de l'ADN circulant (26).



## **B. Diagnostic de lymphome folliculaire**

### **1. Biopsie et/ou ponction ganglionnaire**

La réalisation d'une biopsie tumorale permet de poser le diagnostic de LF (1). Il peut s'agir, le plus souvent, d'une biopsie ganglionnaire et, dans de rares cas, d'un autre organe atteint comme le foie, la rate, le poumon, etc... Mais dans le cas d'une atteinte ganglionnaire et extra-ganglionnaire, la biopsie ganglionnaire est privilégiée. Il peut exister une hétérogénéité cellulaire et architecturale au sein d'un même ganglion, il est donc important de réaliser une biopsie chirurgicale lorsque les cas le permettent au lieu d'une biopsie transcutanée (ponction). La détection des plages de grandes cellules pouvant faire suspecter une TH sera également améliorée lors des biopsies chirurgicales (27). La biopsie est ensuite analysée dans un service d'anatomopathologie pour une analyse histologique, d'un immunophénotypage, d'un caryotype ou d'analyses en biologie moléculaire.

#### **1.1 Caractéristiques morphologiques**

L'analyse histologique repose sur l'examen macroscopique et microscopique de la biopsie. Ces examens permettent de définir différents grades (bas, intermédiaire et haut grade) à partir des résultats de la biopsie ganglionnaire. En effet, l'analyse microscopique permet de mettre en évidence des follicules néoplasiques qui semblent homogènes avec une perte de polarité ainsi qu'une prolifération en proportion variable de petites cellules clivées (centrocytes) et de grandes cellules (centroblastes). Les centrocytes néoplasiques sont deux fois plus grand que les lymphocytes matures réactifs avec des noyaux hyperchromatiques, dentelés ou tordus sans nucléole. Les centroblastes sont deux à trois fois plus grand que les lymphocytes matures et présentent un noyau ovale à rond avec un à trois nucléoles basophiles, ils présentent également un cytoplasme basophile. On retrouve également dans des proportions variables des cellules folliculaires dendritiques au niveau des espaces inter-folliculaires, ainsi qu'une infiltration de lymphocytes T (LT) dans les espaces inter-folliculaires et folliculaires, pouvant avoir une certaine importance pronostique (28). L'appréciation de la proportion de centrocytes et de centroblastes permet de classer les LF en différents grades allant de I (bas) à III (haut) (Tableau 1) :

- Grade I : moins de 5 centroblastes par champ microscopique
- Grade II : entre 6 et 15 centroblastes par champ microscopique
- Grade III : plus de 15 centroblastes par champ microscopique
  - IIIA : persistance de centrocytes dans les follicules
  - IIIB : plages homogènes de centroblastes

Le grade IIIB est considéré comme une forme agressive et est assimilé à un DLBCL pour le traitement et l'évolution clinique (Tableau 1).

Centrocytes	Centroblastes	Grades histologiques	Évolution
++ / +++	0 à 15 par champ	<b>I - II</b>	Indolente
+	> 15 par champ	<b>IIIa</b>	Agressive
<b>Absence</b>	> 15 par champ	<b>IIIb</b>	Agressive

**Tableau 1.** Les différents grades histologiques du lymphome folliculaire (29).

## 1. 2 Caractéristiques phénotypiques

L'analyse par immunohistochimie ou par cytométrie en flux permet de caractériser les cellules du LF qui possèdent le même phénotype que les cellules B du CG en associant l'expression des antigènes des cellules B (CD19, CD20, CD22...) ainsi que la chaîne légère monotypique des immunoglobulines de surface et des marqueurs de CG, comme CD10 ou BCL6. Les LF de grade bas et intermédiaire (grade I et II) sur-expriment presque tout le temps la protéine BCL2 alors qu'on retrouve moins fréquemment cette protéine dans le LF de haut grade (grade IIIA et IIIB). L'expression de BCL2 et de BCL6 normalement mutuellement exclusive dans les CG normaux est co-exprimée dans les CG du LF. La majorité des cas de LF sont également positives pour BCL6 et CD10, cependant les cellules néoplasiques peuvent réguler à la baisse l'expression de ces deux marqueurs dans les zones inter-folliculaires (17). L'indice de prolifération Ki67 est généralement corrélé avec les grades histologiques du LF. Les bas grades ont généralement un faible taux de prolifération, inférieur à 30%, tandis que les LF de haut grade ont un taux de prolifération élevé, généralement supérieur à 40%.

### 1.3 Caractéristiques moléculaires

La cytogénétique permet d'identifier des anomalies génétiques au niveau des chromosomes par caryotype ou par la technique FISH (*hybridation in situ* en fluorescence). Le LF dans sa forme classique présente dans plus de 70% des cas de façon caractéristique la translocation t(14 ;18) entre le gène anti-apoptotique *BCL2* et les régions régulatrices du gène *IGH* (30) qui est mis en évidence par ces deux techniques. L'amplification par PCR (« Polymerase Chain Reaction ») est une méthode de biologie moléculaire permettant la détection de la translocation. Cette technique peut être utilisée pour le suivi de la maladie résiduelle bien que celle-ci n'ait pas montré d'intérêt pronostique. La PCR permet aussi la détection des cellules précurseurs t(14 ;18) circulantes détectables chez la plupart des individus sains sans signe manifeste de LF.

## 2. Examens paracliniques et facteurs pronostiques

### 2.1 Scores pronostiques

Des analyses paracliniques sont nécessaires pour établir un diagnostic pronostique, comme la tomographie par émission de positron (TEP), la biopsie de la moelle osseuse complétée par un myélogramme. Le TEP-scanner est le plus souvent utilisé car plus de 99% des patients ont une atteinte ganglionnaire fixant le 18-fluorodéoxyglucose (16) (27). Cette technique d'imagerie permet d'identifier de façon précise la présence des ganglions pathologiques de petit volume. La biopsie ostéomédullaire et le myélogramme sont utiles pour apprécier l'envahissement médullaire qui est retrouvé dans 50 à 60% des cas.

De multiples facteurs cliniques au moment du diagnostic ont été identifiées comme ayant une importance pronostique dans le LF. Les caractéristiques cliniques de 4 167 patients au moment du diagnostic atteint de LF entre 1985 et 1992 ont été analysées pour identifier les facteurs les plus fortement prédictifs du pronostic ce qui a abouti à l'indice international de pronostic du lymphome folliculaire (FLIPI) (31). Le FLIPI, publié en 2004, est composé de 5 facteurs pronostics : l'âge, le stade, le nombre de zone ganglionnaire atteinte, la lactate déshydrogénase sérique et l'hémoglobine (Tableau 2). Le score FLIPI permet de classer les patients en trois groupes avec des pronostics distincts en terme de progression et de survie globale. Le groupe avec un risque faible et intermédiaire a un score entre 0 et 2 et une survie globale à 5 ans entre 89 et 91%. Puis le groupe à haut risque avec un score compris entre 3 et 5 et donc une survie

globale à 5 ans oscillant entre 59 et 75% (Tableau 2) (32). FLIPI a été développé avant l'introduction de la thérapie contenant le rituximab, mais ce score a depuis été validé chez des patients traités par le protocole R-CHOP (33). Cependant, il y a des limites sur l'index pronostic FLIPI car ce score est basé sur des données rétrospectives, qu'il ne définit pas d'indication de traitement et ne prends pas en compte certains facteurs couramment utilisé comme la  $\beta$ 2-microglobuline. Ainsi, pour remédier à certaines de ces limites, un modèle pronostic (FLIPI 2) a été élaboré en 2009 en collectant des données prospectivement auprès de 1 093 patients et permettant d'identifier 5 facteurs :  $\beta$ 2-microglobuline, envahissement médullaire, l'âge, l'hémoglobine et le diamètre du plus gros ganglion (34). Ainsi, ce score permet de définir des groupes de patients avec un risque faible, intermédiaire et élevé avec une survie sans progression à 3 ans respectivement de 91%, 69% et 51% (32). Plus récemment, un score pronostique reposant uniquement sur deux paramètres ( $\beta$ 2-microglobuline et envahissement médullaire) PRIMA-PI a été proposé (32) ainsi que le score m7-FLIPI prenant en compte le statut mutationnel de 7 gènes en plus des 5 critères clinico-biologiques (35).

Paramètres	Facteurs défavorables
Age	> 60 ans
Grades histologiques	> Grade III
LDH	> Normale
Hémoglobine	< 120 g/L
Nombre de sites ganglionnaires	> 4 sites ganglionnaires

Groupes de risque	Nombres de facteurs défavorables	Survie globale
Faible	0 à 1	} 89% à 91%
Intermédiaire	2	
Élevé	3 à 5	} 59% à 75%

**Tableau 2.** Index pronostique international des lymphomes folliculaires (FLIPI) et les différents groupes de risques (31).

## 2. 2 Mesure de la masse tumorale

L'évaluation de la masse tumorale peut être réalisée à l'aide des critères du Groupe d'Études des Lymphomes Folliculaires (GELF) et permettra de déterminer la stratégie thérapeutique adéquate. On considère que la maladie est de forte masse tumorale s'il y a la présence d'au moins un critère parmi : une masse ganglionnaire ou extra-ganglionnaire > 7cm, des symptômes B (fièvre, sueurs nocturnes ou perte de poids), un taux de lactate déshydrogénase ou de  $\beta$ 2-microglobuline supérieur à la normale, envahissement d'au moins 3 sites ganglionnaires, une splénomégalie symptomatique, des cytopénies, un syndrome compressif et un épanchement pleural ou péritonéal (Tableau 3). Les patients n'ayant aucun de ces critères sont alors considérés comme atteints d'une tumeur de faible masse tumorale. Ces tumeurs représentent environ un tiers des patients au diagnostic.

Paramètres	Critère de forte masse tumorale
<i>Ganglion</i>	Ganglion de plus de 7 cm ou 3 aires ganglionnaires distinctes de plus de 3 cm
<i>Rate</i>	Splénomégalie symptomatique
<i>Complication</i>	Syndrome tumoral compressif, épanchement pleural ou ascite
<i>Biologie</i>	Lactate déshydrogénase ou $\beta$ 2-microglobuline élevés, cytopénies
<i>Signe clinique</i>	Symptômes B (fièvre, sueurs nocturnes ou perte de poids)

**Tableau 3.** Les différents critères de masse tumorale dans les lymphomes folliculaires du GELF (36).

### 3. Suivi de la maladie résiduelle minimale

Le suivi de la maladie résiduelle minimale nécessite un niveau de sensibilité élevé pouvant être atteint avec des technologies moléculaires. Ces technologies ont été développées à partir de la PCR « classique » qualitatives et/ou quantitatives jusqu'aux techniques de séquençages de nouvelle génération. La translocation t(14 ;18) donne lieu au gène de fusion *BCL2/IGH*. Les niveaux de ce réarrangement peuvent être utilisés pour surveiller le LF par PCR quantitative dans différents compartiments comme la moelle osseuse ou le sang. Cependant, le rôle pronostique de la maladie résiduelle minimale après une immunochimiothérapie conventionnelle est controversé, en effet le gène de fusion *BCL2/IGH* peut ne pas être détecté chez tous les patients, notamment chez les 10 à 15% des patients atteints de LF sans la translocation t(14 ;18) et les compartiments sanguins et médullaires peuvent ne pas être représentatifs du statut des ganglions.

## C. Stratégies thérapeutiques

Malgré que le LF soit une maladie incurable avec les options thérapeutiques actuelles, elle reste une maladie qui répond à diverses modalités de traitement telles que la radiothérapie, la chimiothérapie, l'immunothérapie et les thérapies ciblées. Cependant, les décisions thérapeutiques doivent être prises au cas par cas en fonction de facteurs à la fois spécifiques au patient et à la maladie. Une évaluation pré-thérapeutique, à l'aide des examens paracliniques et des scores pronostiques, va permettre de déterminer le traitement adapté selon l'agressivité de la maladie, l'étendue de la maladie et l'état général du patient. La pratique générale consiste à traiter les patients sur la base d'une maladie limitée (stades I ou II, non volumineuse) ou avancée (stades III ou IV) (Tableau 4). De plus le marqueur post-traitement est la progression de la maladie dans les 24 mois (POD24) mais il n'est pas conçu pour guider le traitement initial.

Stade	Envahissement	Statut extra-nodal
<b><u>Limité</u></b>		
<b>I</b>	Un ganglion ou un groupe de ganglion adjacent	Lésion extra-nodal unique sans envahissement ganglionnaire
<b>II</b>	Deux ou plusieurs groupes de ganglions atteints d'un seul côté du diaphragme	Envahissement extra-nodal de contiguïté limité
<b>II bulky</b>	Une masse unique > 6 cm	
<b><u>Avancé</u></b>		
<b>III</b>	Ganglions envahis des deux côtés du diaphragme (rate et ganglions sus-diaphragmatique)	
<b>IV</b>	Envahissement extra-nodal en dehors d'une atteinte de contiguïté	

**Tableau 4.** Classification des lymphomes folliculaires déterminant le traitement (37).

### 1. Traitements des formes localisées (Stade I/II)

On retrouve environ 10 à 15% des patients avec une maladie localisée au moment du diagnostic (38). La radiothérapie est une approche raisonnable pour un LF localisé et une faible charge tumorale. Le suivi à long terme des patients atteints d'une maladie localisée traités par radiothérapie seule suggère des taux de survie globale à 10 ans allant jusqu'à 80% et une survie globale médiane de 20 ans (39). L'abstention thérapeutique ('Watch and Wait') associée à une surveillance du patient peut également être préconisé pour les formes asymptomatiques de faible masse tumorale (39). L'introduction dans l'arsenal thérapeutique du rituximab, un anticorps monoclonal anti-CD20, a permis de nouvelles perspectives pour les traitements. Cet anticorps monoclonal cible toutes les cellules exprimant le marqueur membranaire CD20, il est incapable de différencier les cellules B normales des cellules lymphomateuses. L'utilisation du rituximab en monothérapie est donc une possibilité pour les patients selon les résultats cliniques. En effet, Ardeshtna *et al.* ont mené une étude randomisée de phase 3 en comparant un groupe sans traitement 'Watch and Wait', un groupe traité initialement par rituximab et un autre traité par rituximab puis par une phase d'entretien avec également du rituximab (39). Ils ont observé une différence significative dans le délai d'instauration d'un nouveau traitement. Dans le groupe « wait and watch », 46% des patients n'ont pas eu besoin de traitement à 3 ans,

contre 88% dans le groupe traité avec une phase d'entretien au rituximab et 78% pour le groupe traité par du rituximab. De plus, les patients recevant une phase d'entretien ont signalé une nette amélioration de la qualité de vie avec une diminution de l'anxiété et dépression par rapport au groupe de surveillance. Ces résultats suggèrent qu'en initiant le traitement tôt chez les patients atteints de LF de faible masse tumorale, on retarde la reprise d'une thérapeutique ultérieure (39). Le rituximab en monothérapie utilisé en tant qu'induction suivie d'un entretien a été associé à une bonne qualité de vie et à des comorbidités limitées et constitue donc une option raisonnable pour les patients présentant une faible charge tumorale. Cependant, le véritable impact de cette intervention sur l'issue à long terme de la maladie est probablement modeste car presque tous les patients atteints de LF avec une faible charge tumorale auront une survie prolongée et une intervention précoce ne semble pas entraîner de différence appréciable. De plus, un essai prospectif récent a comparé la radiothérapie seul par rapport à la radiothérapie associée au rituximab et a démontré une amélioration de la survie sans progression à 10 ans avec l'association radiothérapie-rituximab par rapport à la radiothérapie seule (59% vs 41%, respectivement) sans impact sur la survie globale (39). Les patients présentant une maladie de bas grade mais avec une charge tumorale élevée selon les critères GELF peuvent être traités comme pour une maladie à un stade de haut grade (Grade 3).

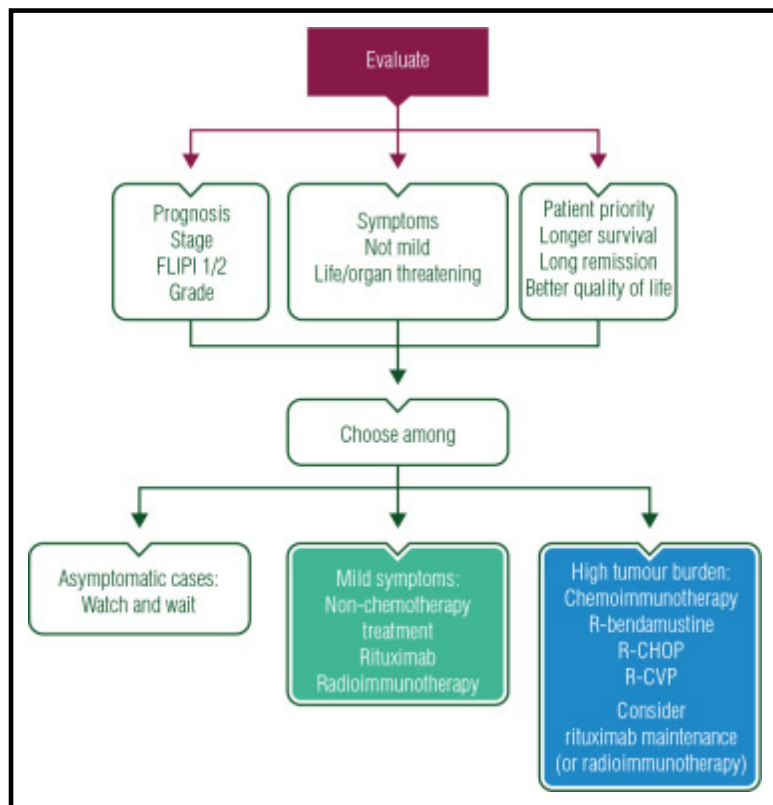
## 2. Traitements des formes avancées (Stade III/IV)

La plupart des patients atteints de LF ont une maladie à un stade avancé au moment du diagnostic, entre 70 à 85%. Ces patients ne nécessitent pas de traitement immédiat à moins qu'ils soient symptomatiques ou présentent une charge tumorale élevée. Pour ceux qui nécessitent un traitement, le rituximab, utilisé seul ou en association avec une chimiothérapie est très efficace, bien que non curatif. L'objectif principal pour ces patients est l'amélioration de la qualité de vie et la régression des symptômes. L'amélioration de la survie du LF au cours des 20 dernières années est largement due à l'utilisation de cet anticorps anti-CD20. Des études ont démontré que l'association du rituximab à la chimiothérapie (chimio-immunothérapie) pour le traitement du LF au stade avancé améliore les taux de réponse, le délai de progression et la survie globale. Ce traitement permet une survie sans progression de 50% et une survie globale d'environ 80% à 10 ans (40). De plus, des progrès de la chimiothérapie ont permis d'améliorer les résultats. La bendamustine associée au rituximab a été comparé au protocole de chimiothérapie CHOP (Cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisone) associé au



rituximab dans une étude de phase III randomisée menée auprès de 513 patients atteints de lymphomes indolents de stade avancé, dont la majorité était des LF. Les patients traités par l'association bendamustine-rituximab ont obtenu une survie sans progression supérieure (69,5 vs 31,2 mois) avec moins de toxicité.

L'association d'une thérapie « chimio-free » combinant le lénalidomide avec du rituximab (aussi connue sous l'acronyme R<sup>2</sup>) chez des patients non traités auparavant semble montrer une efficacité équivalente à la chimiothérapie associée au rituximab avec des survies sans progression à 3 ans de 77% et de 78%, respectivement (41). Des études récentes ont montré que le lénalidomide et le rituximab offrent une alternative sans chimiothérapie, tant en première ligne que dans les cas de rechute. En effet, les immunomodulateurs tel que le lénalidomide en combinaison avec le rituximab permettent d'augmenter l'activité de ce dernier. Une étude de phase II de l'association entre le lénalidomide et le rituximab a fait état d'un taux de réponse global de 95%. Le taux de rémission complète était de 72% et la survie sans progression à 5 ans était de 100% (39). La transplantation de cellules souches autologues et allogéniques est très efficace (42), mais il existe un risque accru de cancers secondaires, notamment de syndromes myélodysplasiques, de leucémies aiguës myéloïdes et de tumeurs solides. Dans un sous-groupe de patients, la TH reste un problème majeur. En effet, la recommandation est la mise en place d'un traitement de rattrapage suivi d'une intensification thérapeutique avec autogreffe (38). En conclusion, il existe de nombreuses options thérapeutiques pour les patients atteints de formes avancées avec des faibles ou fortes masses tumorales permettant au clinicien d'adapter la stratégie thérapeutique en fonction du patient (Figure 2). Bien que le pronostic du LF soit excellent, la majorité des patients vont rechuter inexorablement à plus ou moins long terme et la maladie peut toujours être mortelle. Malgré une survie globale favorable (80 %) à 10 ans, le lymphome représente la principale cause de décès au cours de la première décennie après le diagnostic. Ceci est particulièrement vrai pour les patients qui présentent un score FLIPI élevé, pour ceux dont la maladie s'est transformée et pour ceux qui n'ont pas atteint l'EFS24 (la survie sans événement à 24 mois). Compte tenu du pronostic défavorable associé à l'échec précoce du traitement (EFS24) et la TH, les efforts doivent se concentrer sur le développement de modèles cliniques ou biologiques pour mieux identifier les patients à risque et leur proposer une thérapie personnalisée.



**Figure 2.** Algorithme de prise en charge thérapeutique des lymphomes folliculaires (32).

### 3. Traitements des formes en rechute

Lorsque les patients atteints de LF en rechute ont besoin d'un traitement, il existe de nombreuses options, allant du rituximab en monothérapie ou combiné à la chimiothérapie, ou la transplantation de cellules souches. Les patients en rechute peuvent également être traités avec des thérapies ciblées dont les inhibiteurs de la phosphoinositide 3-kinase (PI3K) et une thérapie à base d'anti-CD20, avec ou sans chimiothérapie. Chez les patients en rechute et réfractaires à la LF, l'idelalisib a été le premier de ces inhibiteurs de la PI3K à être étudié avec un taux de réponse global de 57% (43) mais une toxicité importante limitant de facto son utilisation en pratique clinique. Deux autres inhibiteurs de la PI3K, le copanlisib et le duvelisib ont une activité similaire à celle de l'idelalisib et une toxicité moindre bien que cette toxicité en limite le plus souvent leur usage. L'obinutuzumab est un anticorps monoclonal anti-CD20 de nouvelle génération donnant un taux de réponse de 55% avec une survie sans progression médiane de 11,9 mois chez les patients réfractaires au rituximab (44). L'obinutuzumab possède

une cytotoxicité complément-dépendant inférieure au rituximab mais une cytotoxicité cellulaire anticorps dépendante supérieure ainsi qu'un effet cytotoxique direct sur les LB. La thérapie cellulaire CAR-T semble très prometteuse chez les patients atteints de LF en rechute et peut modifier radicalement le paradigme de traitement pour ces patients. Un taux de réponse de 71% a été rapporté chez 14 patients traités (45). Avec un suivi médian de 29 mois, 89% des répondeurs étaient sans progression. Il existe actuellement deux produits CAR-T anti-CD19 approuvés pour la transformation du LF qui est en rechute/réfractaire après deux thérapies antérieures. Des thérapies innovantes sont également en cours d'évaluation comme les anticorps bispécifiques ciblant deux cibles, le CD20 et CD3, comme le glofitamab (46). Cela permet d'obtenir une double action en ciblant les cellules cancéreuses et en activant/ formant une synapse immune entre les B et les T permettant d'éliminer les cellules cancéreuses. De nombreux essais cliniques sont en cours dans le LF avec les anticorps bi-spécifiques et les CAR-T et on peut s'attendre à une évolution rapide des pratiques de traitement dans les rechutes voire en première ligne si les résultats continuent d'être prometteurs.

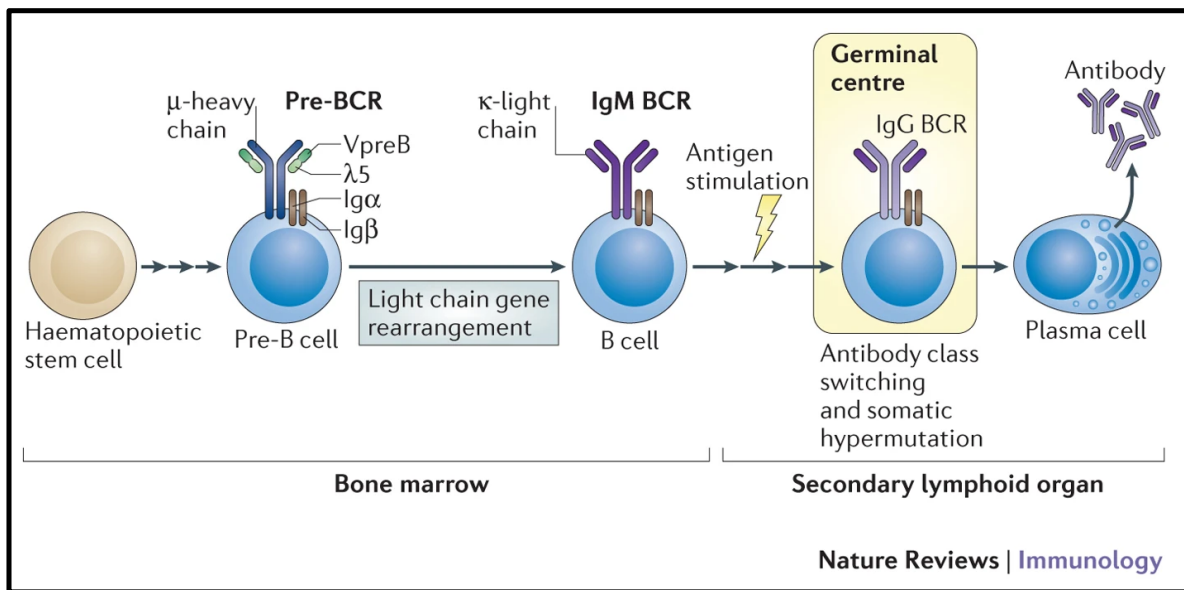
## **II. Ontogénie des lymphocytes B**

### **A. Développement physiologique des lymphocytes B**

#### **1. Lymphopoïèse B dans la moelle osseuse**

Comme toutes les autres cellules sanguines, les LB proviennent d'un précurseur commun, la cellule souche hématopoïétique, nichée dans la moelle osseuse. La moelle osseuse, ainsi que le thymus, sont appelées organes lymphoïdes primaires car ils fournissent un microenvironnement unique dont les cellules stromales qui sont essentielles à la lymphopoïèse. Les LB sont les cellules à l'origine de la production des anticorps vis-à-vis à une stimulation antigénique spécifique.

Quatre étapes successives de différenciation cellulaire permettent la formation des LB matures et naïfs. Ce sont donc des étapes qui ont lieu indépendamment de la présence d'un antigène. Lors de la première étape, le progéniteur lymphoïde B se différencie en pro-B avec l'acquisition des marqueurs de surface spécifique de la lignée B, le CD19 et le CD22. Ce sont les premières cellules de la lignée B à exprimer une forme de précurseur du BCR associée à des molécules de signalisation intracellulaire CD79a et CD79b (47). A chaque étape de différenciation, le LB va acquérir de nouveaux marqueurs comme le CD10 chez le pré-B, puis la chaîne lourde  $\mu$  intracytoplasmique et enfin la présence de l'immunoglobuline M (IgM) à la surface du LB qui sera dit mature et naïf, n'ayant pas encore eu de challenge antigénique, ou n'a pas encore été sensibilisé par un antigène (Figure 3).



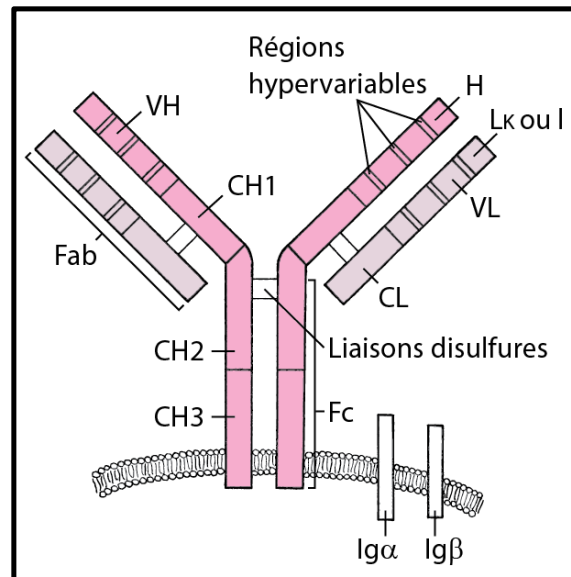
**Figure 3.** La composition et l'expression du récepteur des cellules B (BCR) et du pré-BCR. (41)

### 1. 1 Diversité et spécificité du BCR

La cellule souche hématopoïétique produit constamment des LB dans la moelle osseuse. Les LB qui en résultent sont tous caractérisés par la présence d'une immunoglobuline de surface différente, appelée BCR, qui est un récepteur membranaire ayant la propriété de reconnaître directement des antigènes présents sur des agents pathogènes. Cependant chaque LB est unique car il possède un BCR spécifique à sa surface ce qui permet constituer un large répertoire de cellules B pouvant arborer un panel de BCR différents pouvant se lier aux antigènes potentiellement pathogènes pour l'hôte humain. Le BCR possède la structure d'une immunoglobuline, une protéine composée de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères formées chacune d'une région variable V, qui va reconnaître l'antigène, et d'une région constante C, permettant les fonctions effectrices (Figure 4). Les régions constantes des chaînes lourdes permettent de définir 5 isotypes différents correspondant à 5 classes d'anticorps différents (IgA, IgD, IgE, IgG et IgM) et les régions constantes des chaînes légères sont de deux types, kappa ou lambda. Les 5 isotypes différents d'immunoglobuline ont donc des fonctions biologiques différentes. Par exemple, les IgM sont des anticorps pouvant agglutiner et lyser les micro-organismes alors que les IgE jouent un rôle dans la défense antiparasitaire ou dans les réactions allergiques. La diversité du BCR se réalise par une étape clé de la lymphopoïèse qui

est la recombinaison somatique. Elle est défini par la recombinaison des segments de gènes codant pour les immunoglobulines dans les progéniteurs B de la moelle osseuse au cours de la lymphopoïèse (48). En effet, plusieurs remaniements successifs des gènes codant pour les domaines variables des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines surviennent pour permettre de générer une importante diversité de BCR. Les domaines constants des différentes chaînes lourdes et légères sont invariables. Les domaines variables de la chaîne lourde et légère sont le site de liaison à l'antigène. Ces domaines sont codés par différents exons ; environ 200 gènes de variabilité V (*V1* à *V200*), environ 20 gènes de diversité D (*D1* à *D20*) et 6 gènes de jonction J (*J1* à *J6*), ce qui permet d'obtenir des domaines variables alternant entre des régions peu variables, dites de « charpente » ou « framework », avec des régions hypervariables appelées « complementary determining region » (Figure 4). Les gènes V et J permettent d'obtenir le domaine variable d'une chaîne légère et les gènes V, D et J celui d'une chaîne lourde. Les recombinaisons V(D)J sont effectuées par deux enzymes, RAG1 et RAG2 (Recombination Activating Genes) (49). Ces deux protéines sont exprimées de manière simultanée, exclusivement dans les LB et LT. Au cours de la lymphopoïèse, il se produit donc une recombinaison génétique, faite de manière aléatoire, permettant de sélectionner et de rapprocher un segment V<sub>x</sub>, un segment D<sub>x</sub> et un segment J<sub>x</sub> entre eux. Dans un premier temps, un segment D<sub>x</sub> va s'associer à un segment J<sub>x</sub> puis s'y lier, ce qui va former un segment D<sub>x</sub>J<sub>x</sub> recombiné alors que les autres segments D et J sont excisés. Dans un second temps, le segment V<sub>x</sub> s'assemble avec le segment D<sub>x</sub>J<sub>x</sub> recombiné, une fois les autres segments V éliminés, on obtient le segment VDJ recombiné permettant de coder une chaîne lourde (50). On observe le même mécanisme avec la juxtaposition d'un segment V<sub>x</sub> avec un segment J<sub>x</sub> pour une chaîne légère. Les recombinaisons diffèrent d'une cellule à l'autre et par conséquent les segments VDJ ou VJ obtenues sont structurellement différents d'une cellule à l'autre. De plus, des nucléotides vont être ajoutés ou retirés au hasard entre les jonctions des segments D<sub>x</sub> et J<sub>x</sub>, puis V<sub>x</sub> et D<sub>x</sub>J<sub>x</sub>, par l'enzyme désoxynucléotidyltransférase terminale (TdT) ce qui permet d'augmenter encore d'un degré la diversité de structure des segments VDJ. La particularité des LB de ne synthétiser qu'un seul type d'anticorps à la fois est permise par l'exclusion allélique. En effet, une première recombinaison est réalisée sur l'une des copies des deux gènes qui peut aboutir, soit à un réarrangement productif si une chaîne fonctionnelle peut être synthétisée, soit à un réarrangement abortif sans production de chaîne. Dans ce cas, une nouvelle recombinaison est tentée sur l'autre copie du gène. Sur le même principe, on observe également une exclusion isotypique dans une cellule B qui n'exprimera donc jamais à la fois une chaîne légère kappa et une chaîne légère lambda. Après les réarrangements VDJ de la chaîne lourde et de la chaîne

légère kappa ou lambda, les LB obtenus présentent à leur surface un IgM kappa ou lambda mais sont encore au stade immature et vont subir une sélection pour atteindre le stade final de leur différenciation dans la moelle osseuse en cellules B matures (47).



**Figure 4.** Structure du récepteur des cellules B (BCR) (45).

Le BCR est composé d'une immunoglobuline ancrée à la surface d'une cellule B. Abréviations ; CL = Région constante de la chaîne légère ; CH = région constante de la chaîne lourde ; Fab = fragment fixant l'Ag ; Fc = fragment cristallisable ; Lκ ou Lλ = 2 types de chaînes légères ; VL = régions variables de la chaîne légère ; VH = régions variables de la chaîne lourde

## 1.2 Sélection des lymphocytes B dans la moelle osseuse

Afin de s'assurer d'une production efficace et d'une spécificité unique du BCR, des sélections dites « positive » et « négative » ont lieu lors des dernières étapes de différenciation du LB dans la moelle osseuse. Ces points de contrôle empêchent le développement de LB qui ne parviennent pas à exprimer une immunoglobuline fonctionnelle, ou portant des immunoglobulines « auto-réactive ».

La « sélection positive » permet de vérifier que l'expression du BCR est fonctionnelle et productive, dans ce cas-là, la cellule reçoit un signal de survie pour poursuivre sa maturation, dans le cas contraire la cellule meurt. En effet, un BCR fonctionnel et non lié à un antigène favorise la voie de la PI3K (51). La phosphorylation tonique des tyrosines des protéines adaptatrices CD19 et/ou BCAP (« *B-cell adaptor for PI3K* ») par SFK, et éventuellement par

SYK, entraîne le recrutement de la PI3K par le biais de sa sous-unité de régulation p85 (51). Le recrutement de PI3K entraîne la phosphorylation des phospholipides membranaires, puis la phosphorylation de la protéine kinase AKT. L'activité AKT supprime la localisation nucléaire du facteur de transcription FOXO1, ce qui empêche l'expression du gène codant pour RAG1 et RAG2 et augmente la production du facteur de transcription MYC. En somme, l'activation de la voie tonique d'un BCR fonctionnel en absence d'antigène favorise la survie cellulaire de la cellule B (51). L'activité de PI3K s'oppose à celle de PTEN (« phosphatase and tensin homologue »), une phosphatase qui catalyse la réaction inverse et qui est particulièrement abondante dans les cellules B immatures. Une deuxième voie, éventuellement liée, serait impliquée dans la « sélection positive » par l'activation de RAS. L'expression de RAS actif favorise le développement des cellules B et favorise indirectement l'activité de PI3K et donc la régulation négative de l'expression de RAG1 et RAG2. La voie RAS-ERK peut également réguler le facteur de transcription des cellules B E2A (ou TCF3), qui est requis pour l'expression de *RAG* et l'accessibilité aux gènes codant pour les chaînes légères (52).

La « sélection négative » a lieu à la fin de la lymphopoïèse pour permettre l'acquisition de la tolérance au soi en purgeant les lymphocytes B auto-réactifs. Des antigènes du « soi » sont présentés aux LB par les molécules du CMH présentées à la surface des cellules stromales de la moelle osseuse. La cellule B qui est capable de reconnaître l'antigène du « soi » avec une forte affinité est alors considérée comme délétère et sera sélectionnée négativement en recevant un signal de mort cellulaire. Cependant la cellule B qui n'interagit pas avec la molécule du « soi » sera sélectionnée positivement et pourra acquérir une immunoglobuline D (IgD) de surface. A l'issue de la lymphopoïèse B, des lymphocytes naïfs et matures sont produits, ils sont caractérisés par la présence à leur surface d'une IgM unique et spécifique avec, comme vu précédemment, une chaîne légère kappa ou lambda et d'une IgD. Ces LB portant un BCR fonctionnel quittent la moelle osseuse pour rejoindre les organes lymphoïdes secondaires, en particulier la rate et les ganglions lymphatiques où ils termineront leur différenciation en plasmocyte ou en B mémoire (47).



## 2. Différenciation des lymphocytes B dans les organes lymphoïdes secondaires

Les étapes suivantes de la différenciation des LB matures se produisent dans les organes lymphoïdes secondaires ou périphériques et requièrent la reconnaissance d'un antigène par le BCR pour établir une réponse immunitaire spécifique et adaptée faisant intervenir deux processus de maturation de l'affinité du récepteur ; l'hypermutation somatique (SHM) et la commutation de classe des immunoglobulines (CSR).

### 2.1 Structure des organes lymphoïdes secondaires

Les organes lymphoïdes secondaires (OLS) sont le lieu de rencontre et de contact entre les antigènes et les cellules effectrices. L'activation des lymphocytes naïfs qui en découle va permettre d'amorcer la réponse immunitaire adaptative. On distingue plusieurs OLS ; la rate, les ganglions lymphatiques et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses.

#### a. La rate

La rate, située dans l'hypochondre gauche, est l'organe lymphoïde le plus volumineux. La particularité de cet OLS est qu'il ne possède pas de drainage par la circulation lymphatique mais est branché sur la circulation sanguine. Son rôle est donc d'épurer et de filtrer le sang par la capture des antigènes de la circulation sanguine. Cet organe est composé de deux compartiments anatomiques distincts (Figure 5) : la pulpe blanche et la pulpe rouge (53). La pulpe blanche est un tissu lymphoïde situé autour des artérioles centrales. Ce tissu comprend une zone de LT entourant les artérioles et d'une zone de LB organisées en follicules (Figure 5). Les follicules primaires sont formés par les cellules B naïves caractérisées par l'IgD et les follicules secondaires apparaissent après activation d'une cellule B spécifique d'un antigène. C'est dans ce follicule secondaire que les centres germinatifs se forment et permettent la différenciation des cellules B activées en plasmocytes ou en cellules B mémoires. On observe également une zone marginale dans ce tissu lymphoïde située à la frontière entre la pulpe rouge et la pulpe blanche. La pulpe rouge est principalement constituée de sinus veineux et de cellules immunitaires, dont les macrophages, hématies et plaquettes. C'est le lieu de destruction des hématies et des plaquettes sénescents.

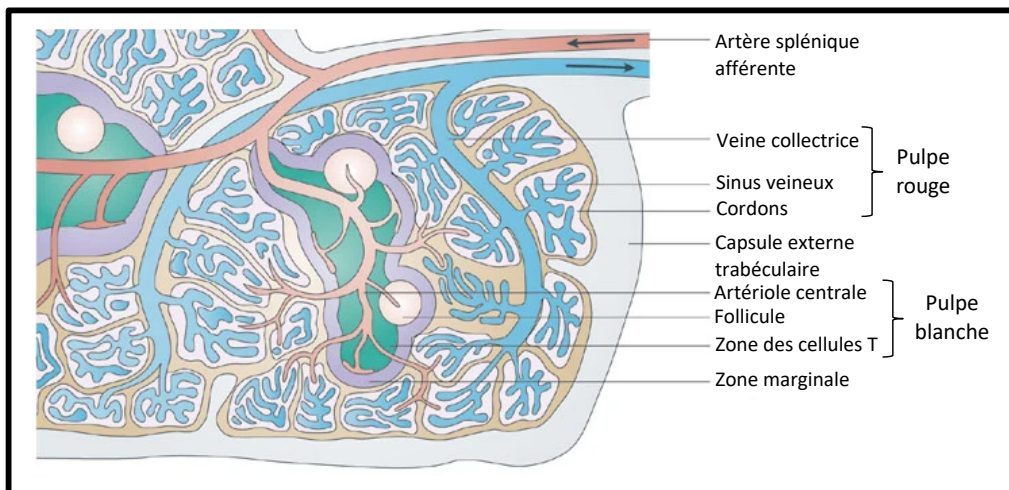
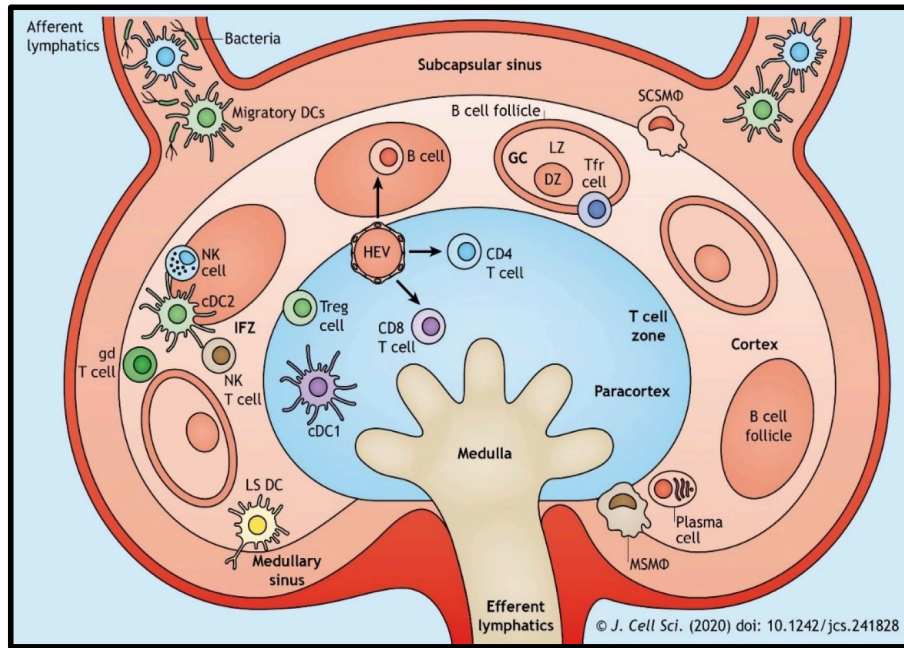


Figure 5. Schéma d'une coupe transversale de rate (49).

## b. Les ganglions lymphatiques

Les ganglions lymphatiques sont des OLS bien structurés. Ils sont environ 1 000 dans tout l'organisme, à la jonction des vaisseaux lymphatiques. Ils forment un vaste réseau qui draine et filtre les antigènes qui sont transportés par la lymphe. Le parenchyme ganglionnaire est composé de trois régions distinctes, à partir d'une coupe transversale on trouve respectivement de l'intérieur vers l'extérieur : la zone médullaire, le paracortex et le cortex (Figure 6) (54). La région médullaire est une zone mixte correspondant à un cordon cellulaire comportant des LB et LT, des plasmocytes et des macrophages. Le paracortex, une zone T-dépendante, est un tissu lymphoïde diffus composé de LT et de cellules présentatrice d'antigène. La zone corticale est une zone B-dépendante et correspond aux follicules lymphoïdes primaires similaire à la rate, qui sans stimulation antigénique d'un pathogène contiennent principalement des LB matures naïfs (Figure 6). Ce n'est qu'après 3 à 4 jours après activation du LB par un antigène que les follicules secondaires se forment de la même façon que dans la rate.



**Figure 6.** Structure d'une coupe transversale d'un ganglion lymphatique (55).

### c. Les tissus lymphoïdes associées aux muqueuses

Les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses représentent la partie la plus étendue du système immunitaire. Ce sont des tissus lymphoïdes non encapsulés présentes dans des organes et associés aux muqueuses (48). Ils assurent la protection de plus de 400 m<sup>2</sup> de muqueuses. Par exemple, les amygdales font parties du tissu lymphoïde associé aux muqueuses, ainsi que les plaques de Peyer qui sont situés dans la partie basse de l'intestin grêle. Au niveau de l'épithélium de ces structures, on trouve les cellules M (*Microfold*, micropolis) qui captent l'antigène et le transfert dans une zone contenant des lymphocytes et des cellules présentatrice d'antigène. Les lymphocytes forment un follicule constitué d'un grand dôme central de LB entourés par un plus petit nombre de LT (54).

## 2. 2 Dynamique cellulaire des lymphocytes B

### a. Présentation antigénique

Pour initier la réponse immunitaire humorale, il est nécessaire que les LB naïfs entrent en contact avec les différents antigènes ayant atteint l'organisme. Ces rencontres se produisent principalement dans les tissus lymphoïdes secondaires car ces tissus sont spécialisés pour filtrer les fluides corporels (sanguin, lymphatique et muqueux), ainsi que pour capturer les antigènes étrangers afin de les présenter aux cellules B naïves. De plus, ces tissus permettent la migration des lymphocytes dans les follicules lymphoïdes, où les antigènes leurs seront présentés (51). La présentation de ces antigènes se fait par différents types cellulaires qui varient selon le tissu lymphoïde. Dans les ganglions lymphatiques et la zone marginale de la rate, par exemple, on retrouve des macrophages spécialisés résidant dans un emplacement sous-capsulaire qui retiennent l'antigène à leur surface au lieu de l'ingérer et de le dégrader (51). Mais les macrophages sous-capsulaires peuvent également phagocyter les antigènes pour limiter la dissémination de l'infection. Au cœur des follicules lymphoïdes se trouvent des cellules dendritiques folliculaires (CDF), des cellules stromales spécialisées qui sont très efficaces pour capturer et présenter les antigènes opsonisés, c'est à dire des antigènes recouverts d'anticorps et/ou de complément. A l'aide de la technologie RNAseq à l'échelle unicellulaire, il a été montré que les CDF n'ont pas d'activité phagocytaire et ont la particularité de conserver et de présenter des antigènes intacts à leur surface pendant des semaines (51). Une fois les antigènes disposés à la surface de ces différents types cellulaires, ils peuvent enfin être présentés aux cellules B naïves.

La migration des cellules B vers les follicules est guidée par la chimiokine CXCL13 qui est produite par les CDF et par d'autres cellules stromales associées aux follicules. En effet, les cellules B naïves circulantes expriment CXCR5, le récepteur de CXCL13, permettant ainsi leur migration dans les tissus lymphoïdes secondaires où elles résideront dans les follicules lymphoïdes primaires (56). A l'intérieur du follicule, les cellules B migrent en continu le long du stroma folliculaire examinant les antigènes solubles dans l'environnement et les antigènes affichés à la surface des macrophages sous-capsulaire et des CDF (51). Les cellules stromales lymphoïdes dans les follicules sont une source de cytokine soluble BAFF, qui agit comme un facteur de survie pour les cellules B (51). BAFF peut agir sur trois récepteurs différents (BAFF-R, TACI et BCMA) mais son rôle principal est médié par le récepteur BAFF-R. Une fois stimulé, le récepteur BAFF-R active la voie de NFκB qui induit l'expression de BCL2

permettant la survie des cellules B (51). Si après plusieurs heures aucun antigène n'est détecté, les cellules B quittent les tissus lymphoïdes en réponse à la présence de la sphingosine-1-phosphate (SP1) via le récepteur SP1R1 à la surface des cellules B (51). Les cellules B sortant de la rate rejoignent ensuite les vaisseaux sanguins. Ceux sortant des ganglions lymphatiques et des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses rejoignent les vaisseaux lymphatiques. Ils peuvent alors se déplacer jusqu'à un autre tissu lymphoïde en quelques minutes pour poursuivre leur programme de « surveillance ». Des travaux récents ont montré que l'entrée et la sortie des lymphocytes des tissus lymphoïdes a une composante circadienne ; les lymphocytes s'accumulent plus dans ces tissus pendant une activité physique plus élevée. Cependant, lorsqu'une cellule B naïve rencontre un antigène spécifique à son propre BCR, elle se positionnera dans les parties externes du follicule. L'accès à ces parties externes est favorisé par la production du  $7\alpha,25$ -dihydroxycholestérol produit par les cellules stromales qui agit sur le récepteur de chimiokine EBI2 (GRP183) à la surface des cellules B (57).

## b. Activation antigénique

### b.1 Activation précoce des cellules B

Lors de la rencontre avec l'antigène, la signalisation via le BCR initie l'activation des cellules B. La transduction du signal repose sur les molécules associées à l'immunoglobuline du BCR. En particulier,  $Ig\alpha$  et  $Ig\beta$  (CD79a et CD79b) sont nécessaires pour le transport du récepteur à la surface et pour la signalisation du récepteur des LB. Ce sont ces deux protéines transmembranaires qui contiennent des motifs ITAM (« immunoreceptor tyrosine-based activation motif », motif d'activation des récepteurs immuns basé sur la tyrosine) intracellulaires et forment un hétérodimère associé aux chaînes lourdes de l'immunoglobuline. Ces motifs ITAM sont essentiels dans la transduction du signal car ils peuvent être phosphorylés par trois tyrosines kinases de la famille Src (BLK, LYN et FYN) (58). Les tyrosines kinases de la famille Src sont associées via une interaction de faible affinité aux récepteurs présent au niveau des motifs ITAM non phosphorylés. Lorsqu'il y a liaison de l'antigène aux récepteurs, les kinases sont alors activées et phosphorylent les résidus tyrosine dans les motifs ITAM. La tyrosine kinase SYK est alors recrutée dans le motif ITAM phosphorylé par l'intermédiaire de ces deux domaines SH2, qui reconnaissent spécifiquement des motifs contenant des tyrosines phosphorylées. La tyrosine kinase SYK recrutée par les motifs ITAM phosphorylés est la plus importante pour la signalisation du BCR (58). Ce

recrutement conduit à une cascade d'évènements de signalisation en aval, y compris l'activation de multiples voies.

De plus, la plupart des antigènes complexes engagent d'autres récepteurs sur les cellules B en plus du BCR conduisant à une amplification et éventuellement à une modification quantitative du signal BCR. On retrouve notamment un complexe de protéine de surface cellulaire CD19/CD21/CD81 formant un récepteur accessoire avec des fonctions co-stimulatrices. La signalisation est amplifiée si le ligand est simultanément lié à l'immunoglobuline et au récepteur accessoire car cela induit la phosphorylation de la queue cytoplasmique de CD19 par les tyrosines kinases, puis au recrutement de kinases supplémentaires aboutissant au déclenchement de la voie de PI3K-AKT favorisant ainsi la survie et la prolifération cellulaire (51). La molécule CD21 (récepteur du complément 2, CR2) de ce complexe peut également lier des agents pathogènes bactériens exprimant le fragment C3dg du complément et donc activer cette voie de signalisation supplémentaire. Le rôle de CD81 (TAPA-1) n'est pas encore bien exploré. Les récepteurs de type Toll (TLR) peuvent également amplifier le signal. Ainsi, les co-récepteurs des cellules B permettent de renforcer le signal résultant de la reconnaissance de l'antigène et peut également réduire le seuil d'antigène nécessaire pour activer les cellules B. Ensemble, les signaux transduits en aval du complexe BCR entraînent des changements dans l'expression de nombreux gènes, y compris la régulation positive des molécules costimulatrices (CD80, CD86), des molécules d'adhésion (ICAM1), des récepteurs de migration, des molécules pro-survie et des gènes liés au cycle cellulaire (51). A l'inverse, les cellules B expriment plusieurs récepteurs contenant des motifs ITIM (motif d'inhibition des récepteurs immuns basé sur la tyrosine), antagoniste des motifs ITAM, permettant le recrutement de phosphatases telles que SHIP1 et SHP1 pour diminuer le signal BCR. En parallèle, le déclenchement du BCR provoque l'internalisation du complexe BCR/antigène. L'antigène se déplace alors via les endosomes vers les lysosomes afin de subir un traitement enzymatique le fragmentant en plusieurs peptides. Les peptides sont ensuite ancrés sur le complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II) pour être présenté aux LT dans le cas d'une réponse T-dépendante. Dans certains cas, lorsque la signalisation via les co-récepteurs tels que TLR est forte, l'interaction entre le LB et LT n'est pas nécessaire et on parlera alors d'une réponse T-indépendante.

## b.2 Réponse T-dépendante

Pour que la réponse des cellules B vis-à-vis à l'antigène progresse et aboutisse à la différenciation des cellules B, une étape de prolifération est nécessaire (Figure 7). Une interaction entre une cellule B et une cellule T réagissant au même antigène permet, dans le cas d'une réponse T-dépendante, d'obtenir cette prolifération. La surexpression des récepteurs chimio-attractants CCR7 et EBI2 est l'une des premières conséquences de l'activation du BCR permettant le déplacement du LB vers la partie externe du follicule où se situe la zone des LT (51). De plus, la régulation négative de S1PR1 garantit que les cellules activées sont retenues dans le tissu lymphoïde. A l'interface de la zone des cellules T du follicule, les cellules B interagissent avec les LT CD4 auxiliaire par l'intermédiaire de différents partenaires. L'intégrine LFA1 des cellules T auxiliaires se lie à ICAM1 et ICAM2 des cellules B. Les intégrines jouent des rôles importants dans les interactions, dans la migration des cellules leucocytaires et pour contrôler la qualité et la stabilité des interactions. La quantité d'antigène couplé au CMH II du LB contribue également à la stabilité de ces interactions. La signalisation co-stimulatrice entre le CD86 du LB et le CD28 des LT est également cruciale dans la phase précoce des réponses des cellules B. Ainsi, les cellules B qui ont reçu l'aide des cellules T dans cette phase précoce vont s'activer et former une structure micro-anatomique particulière : le centre germinatif.

## c. Réponse immunitaire humorale

Les LB ainsi activés par l'antigène en présence des LT peuvent alors suivre deux voies : certaines cellules vont migrer dans les zones médullaires des ganglions lymphatiques et de la rate pour se différencier en plasmablastes et en cellules B mémoires extra-folliculaires, et certains LB vont migrer dans un follicule lymphoïde primaire où ils seront à l'origine de la formation des centres germinatifs, lieu de production des cellules B mémoires et des plasmocytes à longue durée de vie.

### c.1. Plasmablastes extra-folliculaire

Les plasmablastes sont des cellules B pouvant sécréter des anticorps tout en continuant à se diviser afin de se différencier en cellules plasmiques (59), une fois que ces cellules cessent de se diviser et arrivent à maturité elles deviennent des plasmocytes. La diminution de l'expression de CCR7, deux à trois jours après l'activation, permet aux LB de s'éloigner de la zone frontière avec les cellules T. En parallèle, l'augmentation de l'expression de EIB2 entraîne la migration des LB vers les zones extra-folliculaires des ganglions lymphatiques et de la rate. L'accumulation des LB forme un agrégat cellulaire responsable de la première réponse des LB vis-à-vis à l'agent pathogène. Ces plasmocytes provenant de la première phase de réponse, indépendamment du CG, reste généralement dans le tissu lymphoïde périphérique et sont des plasmocytes avec une durée de vie courte (59). Ils sont générés dans les premiers jours de la réponse immunitaire et sont capable de produire des IgM ou des IgG de faible affinité, afin d'obtenir une première réponse face à l'antigène en attendant une réponse plus spécifique et plus adaptée provenant des LB du CG (Figure 7).

### c.2. Le centre germinatif

Les LB activées par les LT ne vont pas tous migrer vers le follicule externe pour établir le foyer extra-folliculaire composé de plasmablastes. En effet, certaines cellules vont continuer à proliférer afin de former un CG dans le follicule lymphoïde, appelé follicule secondaire.

#### *i. Description du centre germinatif*

Le CG est une zone de division cellulaire active de cellule B en réponse à un agent pathogène et également le lieu où se réalise la maturation et la sélection de l'affinité du BCR pour l'antigène. Les LB non activés sont déplacés vers la périphérie du follicule afin de former une zone manteau de LB quiescents naïfs (Figure 7). Les CG sont des structures hautement dynamiques qui se forment de manière transitoire dans les organes lymphoïdes secondaires. Le CG s'organise en deux compartiments fonctionnels avec la zone sombre (dark zone, DZ) et la zone claire (light zone, LZ). Après 5 à 7 jours de prolifération, la structure caractéristique du CG mature devient apparente avec la formation de ces deux zones dont chacune a des fonctions précises sur le développement des LB (Figure 7). C'est donc au sein de ces CG que s'effectue



la différenciation terminale des LB en cellules B mémoires ou en plasmocytes (51). En effet, plusieurs processus ont lieu afin d'obtenir des anticorps plus efficaces et plus spécifiques pour combattre l'infection. Les SHM, qui se déroulent principalement dans la DZ, permettent l'augmentation de l'affinité des anticorps par accumulation de mutations dans la partie variable du BCR. La CSR, également dans la DZ, permet de sécréter des anticorps de même affinité mais d'isotype différent et donc avec des fonctions effectrices différentes. La formation du CG est donc une étape primordiale pour établir des anticorps de haute affinité, pour la CSR, et pour la constitution d'une mémoire lymphocytaire B.

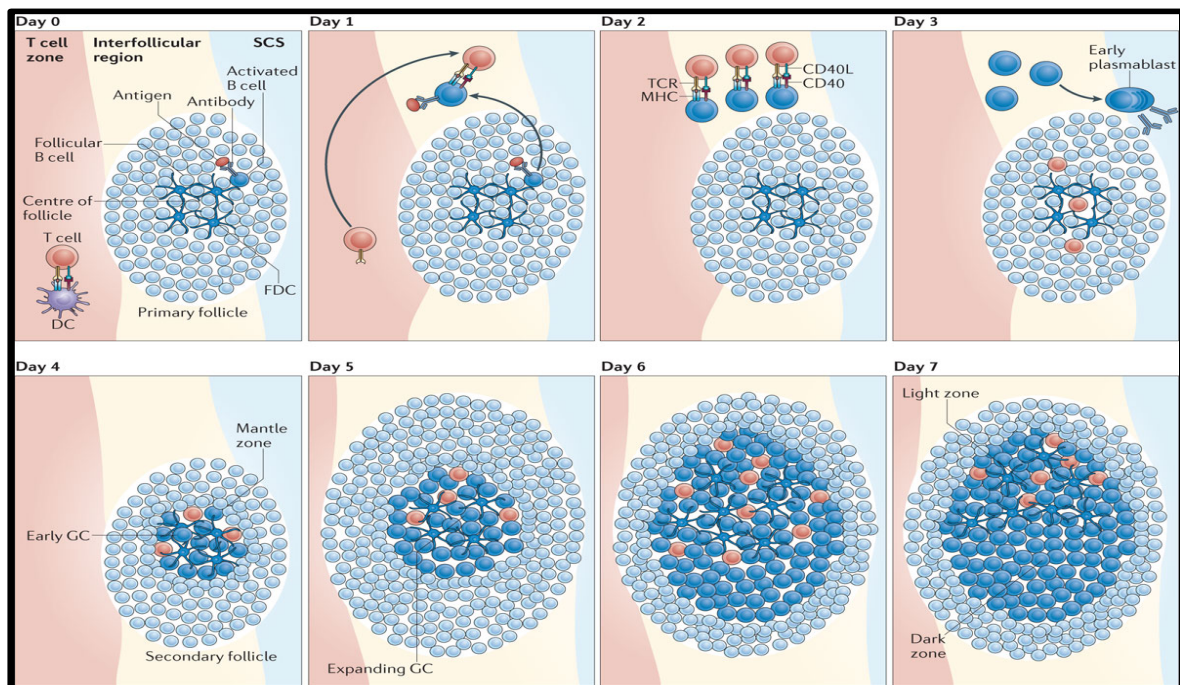
- La zone sombre :

La zone sombre est le lieu de l'expansion clonale des LB activés appelées centroblastes, qui expriment fortement le récepteur de chimiokine CXCR4 et expriment peu l'immunoglobuline de surface (60). Cette zone est située proche de la zone des cellules T. Le stroma de la DZ est composé d'un délicat maillage de cellules réticulaires exprimant le CXCL12 (SDF-1), le ligand de CXCR4, permettant de maintenir les centroblastes dans la DZ (61). De plus, les centroblastes ont une expression accrue en AID (Activation Induced cytidine Deaminase), qui est une enzyme indispensable aux processus de SHM et de CSR. Une fois le mécanisme de diversification de l'immunoglobuline terminé, l'expression de CXCR4 des LB diminue pour permettre la migration des cellules dans la LZ. L'affinité du BCR sera alors testée vis à vis de l'antigène au sein de cette zone.

- La zone claire :

La zone claire est composée de différents types cellulaires tels que les LB dont des LB venant de la DZ, appelés aussi centrocytes, des CDF, des macrophages, des LT folliculaires helper (LT<sub>FH</sub>) et de LT folliculaires régulateurs (LT<sub>FR</sub>). Les centrocytes expriment fortement le récepteur de chimiokine CXCR5, permettant leurs déplacements à travers cette zone selon un gradient de CXCL13. Cette zone est la région du CG où le LB va terminer sa différenciation en fonction de l'affinité de son BCR et de l'aide reçue par les LT<sub>FH</sub>. Les LB avec une très forte affinité à l'antigène, correspondant à environ 10% des LB, se différencieront directement en plasmocytes (25) et ceux d'affinité faible/modérée pourront ré-entrer dans un cycle dynamique entre la DZ et la LZ pour de nouveaux cycles de mutation/sélection au terme desquels les cellules pourront se différencier également en B mémoires (26). Une importante proportion de LB subira une apoptose dû à l'absence d'affinité pour l'antigène. Dans la LZ, les LB présentent un phénotype activé avec une expression plus élevée des marqueurs d'activation CD83 et CD86

(60), la surexpression du CD40, l'activation de la voie du BCR et, pour une faible sous-population de LB, l'expression de MYC permettant la réentrée des LB dans la DZ (Figure 8). Cela suggère que la LZ est le lieu de sélection des cellules B de haute affinité (62). Cette sélection est finement régulée par les CDF qui fournissent des signaux de survie et influencent leur devenir. Les  $LT_{FH}$  exercent également un rôle important dans la sélection des clones B les plus affins. Les  $LT_{FR}$  entraînent un effet modulateur sur les LB et les  $LT_{FH}$  durant la réponse immunitaire. Par exemple, les  $LT_{FR}$  inhibe la production de cytokines des  $LT_{FH}$  tel que l'IL4 et l'IL21, qui sont nécessaires à la formation des CG et à la production d'anticorps (15). Elles permettent d'éviter la survenue de réactions auto-immunes.



**Figure 7.** Schéma représentant l'initiation et la formation des centres germinatifs (59).

Au jour 0, les cellules B et les cellules T sont activées par la reconnaissance de leur antigène. Au jour 1, les cellules B et T activées migrent vers la région interfolliculaire et commencent à interagir. Au deuxième jour, les cellules B et les cellules T forment des interactions de longue durée, ce qui entraîne l'activation complète des cellules B. Les cellules T acquièrent le phénotype caractéristique des cellules auxiliaires folliculaires T (cellules  $T_{FH}$ ). Au troisième jour, les cellules  $T_{FH}$  migrent de la région interfolliculaire vers le follicule. Certaines cellules B activées par l'antigène se différencient en cellules sécrétant des anticorps ou en plasmablastes précoces qui migrent vers une région adjacente au sinus subcapsulaire (SCS). Au quatrième jour, les cellules B migrent de la région interfolliculaire vers le centre du follicule commencent à proliférer et, par conséquent, repoussent les cellules B folliculaires résidentes pour former le centre germinal précoce (CG). Aux jours 5 et 6, la CG s'étend rapidement en raison de la prolifération rapide des blastes de cellules B. Au jour 7, des zones sombres et des zones claires apparaissent. Au septième jour, des zones sombres et des zones claires se forment, ce qui aboutit à l'établissement du CG mature.

## ii. Cinétique des lymphocytes B du centre germinatif

Les LB du CG se divisant rapidement, toutes les 6 à 8h, sont localisées au niveau de la DZ. C'est également dans ce compartiment où le LB va subir des SHM au niveau de la partie variable de son immunoglobuline afin d'améliorer sa spécificité à l'antigène (61). Les SHM des gènes variables des immunoglobulines est un mécanisme majeur dans la génération de la diversité du répertoire des LB. Ce processus a lieu dans la DZ du CG, contrairement à la recombinaison V(D)J qui a lieu dans la moelle osseuse. En effet, les LB de la DZ ont une expression plus élevée de l'enzyme AID, codé par le gène *AICDA*, et de l'ADN polymérase *éta*. Les SHM sont dépendantes de l'enzyme AID car c'est une enzyme entraînant une réaction de désamination directement sur les bases cytosines de l'ADN les transformant en uracile. L'ADN polymérase *éta* intervient ensuite dans la réparation des lésions de l'ADN induites par AID, mais cette dernière est sujette à des erreurs conduisant à l'incorporation de mutations somatiques au niveau des lésions médiées par AID (60). L'expression accrue de ces deux enzymes suggère que la DZ est le site des SHM et donc l'endroit où sont générés les différents clones ayant chacun une affinité différente pour le même antigène. Mayer *et al* ont réussi à calculer, à l'aide d'un rapporteur *in vivo* d'apoptose, que la moitié des LB dans le CG subissent une apoptose toutes les 6h. En effet, les mutations somatiques peuvent, dans certains cas, générer un changement du cadre de lecture ou un codon stop, ainsi la production de protéine et l'expression du BCR seront altérées entraînant l'apoptose de ces cellules B. Dans d'autres cas, les mutations affecteront positivement ou négativement l'affinité du BCR à l'antigène. Suite à ces mutations aléatoires, les LB remplacent leur BCR par le nouveau BCR codé par les gènes nouvellement mutés. L'absence d'expression d'un BCR fonctionnel à cette étape empêchera la migration de la cellule vers la LZ et déclenchera son apoptose (60). Les cellules n'ayant pas eu de mutations délétères et exprimant un BCR fonctionnel doivent ensuite subir une sélection de l'affinité du BCR à l'antigène dans la LZ. Ainsi, les cellules B doivent migrer entre ces deux zones pour que la sélection d'affinité s'effectue. La migration est possible par des changements dans l'expression des gènes, notamment dans l'expression des récepteurs des chimiokines CXCR4 et CXCR5. Dès les années 90, un modèle théorique est proposé sous le nom de « réentrée cyclique » correspondant à des cycles itératifs de SHM et de sélection clonale (63). Selon ce modèle, une fraction de LB de la LZ ayant une forte affinité est capable de réentrer via la surexpression de MYC dans la DZ pour de nouvelles séries de divisions cellulaires et de SHM afin d'affiner encore plus leurs spécificités à l'antigène. Des études récentes ont fourni

de nombreuses preuves expérimentales de la réintroduction de cellules B de la LZ vers la DZ (64) (65). En fonction de l'impact des nouvelles mutations sur le BCR, les cellules filles du clone initialement réentrée dans la DZ peuvent retourner dans la LZ où leur nouveau BCR peut à nouveau être testé pour son affinité à l'antigène présenté par le CDF. Comme dans la DZ, une partie des LB de la LZ qui auront un BCR de très faible affinité seront éliminés par apoptose. En utilisant une combinaison de GFP photoactivable, de microscopie photonique et de cytométrie en flux, Victora et son équipe a mis en évidence cette migration des LB du CG entre ces deux zones, ainsi que le phénomène de sélection qui se déroule au sein de la LZ (66).

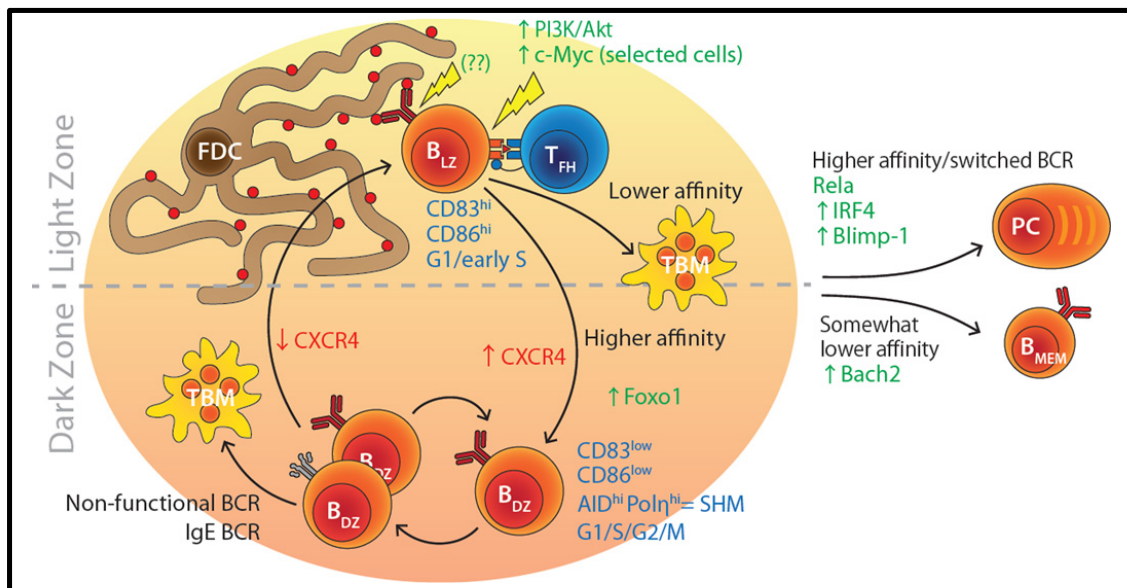
### *iii. Sélection positive des clones de haute affinité*

On observe environ 50% des cellules de la DZ migrant vers la LZ toutes les 4h et seulement 10% des cellules retournent vers la DZ (15). Les cellules non sélectionnées subissent une apoptose par une expression accrue de gènes pro-apoptotiques (66). Une fraction de cellule sélectionnée va retourner dans la DZ et une faible proportion de cellule de haute affinité va quitter le CG pour se différencier en cellules B mémoires ou en plasmocytes (Figure 8). Il existe plusieurs mécanismes afin de sélectionner la population de cellules de haute affinité. Un signal fort provenant du BCR permettra aux cellules de haute affinité de survivre, et une interaction précieuse avec les  $LT_{FH}$  va fournir les signaux nécessaires à leur différenciation. Dans la LZ, l'antigène est présenté aux LB par les CDF afin de tester leur affinité (Figure 8). Ainsi, la sélection est médiée par la signalisation du BCR activé ou non par la présence de l'antigène. Les BCR de haute affinité entraînent des voies de signalisation plus stable et plus intense que les BCR de faible affinité (15). Mais il a été montré que les signaux BCR des LB du CG sont nettement atténués, par rapport aux LB naïfs, dû à une augmentation de l'activité des phosphatases (67). Un remaniement des voies de signalisation du BCR et du CD40 explique également ces signaux atténués. En effet, au sein des LB du CG, le BCR accentue la signalisation passant par PI3K-AKT-FOXO1 et inhibe la voie NF $\kappa$ B, alors que le signal de CD40 passe par la voie NF $\kappa$ B (15). Alors que les LB naïfs passent uniquement par la voie de signalisation du BCR ou du CD40. Le remaniement de ces voies des LB du CG permet alors d'obtenir un signal complémentaire et pouvant être activés de manière synergique afin de déclencher l'expression de cMYC, facteur de transcription clé pour la survie des cellules B du CG (Figure 8). De plus, cela active IRF4 qui permet de réprimer l'expression de BCL6 entraînant l'extinction du programme du CG et permettant la différenciation post-CG (68). Ce

« recablage » des LB du CG entraîne alors une exigence plus stricte pour l'antigène et pour les cellules T afin qu'elles soient activées. Cette signalisation du BCR favorise la présentation de l'antigène aux cellules T. En effet, en plus des voies de signalisation intracellulaire, le BCR est également un récepteur endocytaire qui capture l'antigène afin de le présenter sous forme de complexe CMHII-antigène aux  $LT_{FH}$ . Un BCR de faible affinité ne pourra pas décrocher les antigènes de la CDF et donc, ne bénéficiera pas de l'interaction avec les  $LT_{FH}$  (15). La sélection est donc également médiée par l'interaction avec les  $LT_{FH}$ . En effet, l'expression du CMH II sur les LB est nécessaire pour le développement et le maintien du CG. Le rôle du BCR serait donc de récupérer l'antigène à la surface des CDF afin de former les complexes CMHII-antigène à sa surface. La quantité d'antigène présentée par le LB sera donc directement proportionnelle à l'affinité du BCR. Suite à la présentation antigénique au  $LT_{FH}$ , on observe une compétition entre des LB de différentes affinités afin de recevoir le signal adéquat à leur sélection. En effet l'affinité du BCR influence donc directement la quantité d'antigène présentée par le LB mais également l'expression du récepteur de co-stimulation ICOSL, indispensable pour interagir avec ICOS des  $LT_{FH}$ . En réponse à cette présentation antigénique des LB, plusieurs signaux se mettent en place permettant une interaction entre le LB et le  $LT_{FH}$ . Les interactions entre les cellules B et T sont nombreuses, essentielles et interviennent tout le long du processus afin de maintenir les CG. Une étude a découvert que la dopamine est un nouveau facteur sécrété par les  $LT_{FH}$  qui provoque une translocation rapide d'ICOSL intracellulaire à la surface des cellules B, ce qui augmente l'expression de CD40 par les LB (61). L'interaction entre CD40 et CD40L est l'une des plus importante avec la production d'IL4, d'IL21 et de BAFF par les  $LT_{FH}$  (61). Les interactions entre le LB et le  $LT_{FH}$  favoriseraient probablement la survie sur une période plus longue que le signal BCR. Les molécules de la famille SLAM (molécule d'activation des lymphocytes de signalisation) sont impliquées dans le prolongement et la stabilisation des contacts entre cellules. En effet, les cellules  $T_{FH}$  et les LB co-expriment CD150, CD84 et LY108 favorisant ainsi l'adhésion cellulaire par des interactions homotypiques. Les protéines associées à SLAM (SAP) sont des protéines adaptatrices fortement exprimé par les  $LT_{FH}$  qui interagissent avec les régions cytoplasmiques des molécules SLAM. Cette interaction est nécessaire pour prolonger le contact entre les cellules médiées par ces récepteurs. Cependant, lorsque les cellules  $T_{FH}$  manquent de molécule SAP, SLAM recrutent SHP1 ce qui limite la capacité des  $LT_{FH}$  à interagir avec les LB. En plus de permettre la sélection des cellules B de haute affinité, les cellules  $T_{FH}$  sont également connues pour sécréter des cytokines qui régulent la prolifération des cellules B et la production d'anticorps. En effet, le nombre de division du LB dans la DZ sera plus élevée si le

signal reçu, provenant de l'interaction B/T<sub>FH</sub>, est intense (15). L'IL4 et IL21, sécrétée par le LT<sub>FH</sub>, favorisent la prolifération des cellules B, la CSR et la différenciation en plasmocytes. Dans certains types de réponse immunitaire, les cellules T<sub>FH</sub> peuvent sécréter d'autres cytokines, telles que IL10 et l'interféron gamma (IFN $\gamma$ ) (69). La production d'interféron  $\gamma$  est notamment associée à une CSR vers les IgG2a/IgG2c. En conclusion, la sélection positive est régulée par l'affinité du BCR qui permet d'influencer la signalisation intra-cellulaire, la quantité d'antigène présenté aux LT<sub>FH</sub> et la stabilité de l'interaction entre les cellules B et T<sub>FH</sub> (15).

En parallèle de la sélection positive, il est nécessaire de contrôler les LB du CG face aux antigènes du « soi » pour empêcher l'émergence d'un clone auto-réactif. En effet, les LB du CG qui n'ont pas augmentée voir même diminuée l'affinité de leur BCR pour l'antigène ne doivent pas être sélectionnées positivement par les mécanismes vu précédemment. Un modèle suggère que l'augmentation de l'activité des phosphatases entraînant une diminution du signal du BCR au sein des CG serait un moyen de réaliser une sélection négative afin de discriminer le soi et le non-soi (67). Ainsi, un signal très fort provoqué, par exemple, par un antigène du soi pourrait surpasser l'activité des phosphatases entraînant une signalisation BCR complète. Cette signalisation BCR plus complète serait alors interpréter comme un signal négatif par la cellule et pourrait conduire à son apoptose, comme cela se produit lors de la sélection négative dans la moelle osseuse lors du développement des LB immatures (70). Néanmoins, ce modèle ne peut pas expliquer l'élimination de tous les LB auto-réactifs, il est évident qu'une partie de ces cellules peuvent survivre suffisamment longtemps dans le CG pour acquérir des mutations somatiques qui supprimeraient leur auto-réactivité tant qu'elles puissent maintenir ou augmenter leur affinité pour les antigènes étrangers. La connaissance dans le fonctionnement et l'échec de ces mécanismes reste l'un des principaux défis à relever dans ce domaine.



**Figure 8.** Vue d'ensemble de la dynamique du centre germinatif (57).

Abréviations ; TBM : tingible body macrophages ; PC : plasmocytes ; B<sub>MEM</sub> : lymphocyte B mémoire.

#### iv. La commutation de classe isotypique

Le processus de CSR a également lieu dans les OLS. C'est un réarrangement intrachromosomique de l'ADN d'un locus de la chaîne lourde de l'immunoglobuline du LB, médié par l'enzyme AID mais par un domaine différent de celui qui permet de réaliser les SHM. En effet, il existe 5 classes d'immunoglobulines avec des fonctions effectrices différentes qui diffèrent par des variations de leur région constante : IgM, IgG, IgA, IgE et IgD. Pour chacun de ses isotypes il existe un gène de région constante :  $C\mu$  (pour les IgM),  $C\delta$  (pour les IgD),  $C\gamma$  (pour les IgG),  $C\epsilon$  (pour les IgE),  $C\alpha$  (pour les IgA). La sélection de l'isotype approprié pour obtenir une réponse adaptée à l'hôte au cours de l'infection est déterminée par les cytokines et les LT<sub>FH</sub>. L'IL10, par exemple, permet de produire des IgG1 et IgG3 après la CSR (71). La CSR permet donc aux LB de changer l'isotype de leur BCR de l'IgM et IgD en IgG, IgA, IgD ou en IgE. Depuis de nombreuses années, la DZ des CG est considéré comme le site principal où s'effectue la CSR car l'activité de l'enzyme AID est plus élevée dans les LB de la DZ, comme vu précédemment (72). La CSR a donc lieu en même temps que les SHM mais de manière indépendante. Cependant une nouvelle étude suggère que la CSR des immunoglobulines peut se dérouler, avant l'entrée du LB dans le CG, au niveau de la zone riche en cellule T du paracortex (73). Pour montrer cela, ils ont étudié l'expression des transcrits

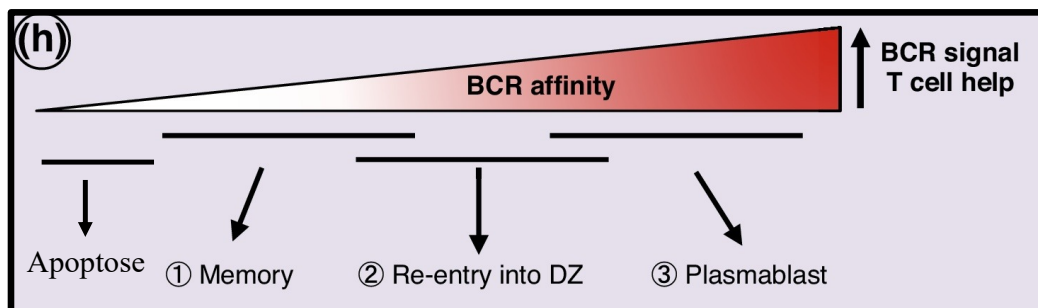
germinaux dans des LB activées par les lymphocytes T et des LB du CG. Les transcrits germinaux correspondent à des transcrits des gènes V, (D) et J non réarrangés ou partiellement réarrangés, ils sont non codants et la synthèse de ces transcrits est corrélée à la CSR. L'analyse de l'expression montre que les transcrits germinaux sont produits en très petites quantités dans les CG matures, ce qui montre que la CSR peut être activée avant la formation des CG et qu'elle diminue rapidement lorsque les cellules B se différencient dans les CG au cours d'une réponse immunitaire primaire contre les antigènes dépendants des cellules T.

#### v. *Différenciation en plasmocytes*

Les LB du CG a plusieurs destins possibles, en effet son entrée dans un cycle de mutation/sélection dans le CG aboutit soit à une différenciation en plasmocytes ou en cellules B mémoires ou bien une mort cellulaire par apoptose en cas de non sélection (Figure 9). Les mécanismes de différenciation en ces différents types cellulaires est dépendante en partie de l'affinité du récepteur BCR et des signaux de survie provenant des LT<sub>FH</sub>. Plusieurs études se sont intéressés aux mécanismes qui gouvernent le choix mémoire *versus* plasmocyte en recherchant à caractériser les cellules précurseurs des plasmocytes parmi les CG. Krautler et son équipe ont récemment signalé une petite population de cellules BLIMP1<sup>+</sup> au sein des CG qui étaient également CD38<sup>low</sup> et qui présentaient des gènes surexprimés dans les plasmocytes (74). Ces cellules avaient tendance à avoir une affinité plus élevée pour l'antigène et ont été désignées comme des précurseurs putatifs malgré l'absence d'expérience le prouvant. Des études antérieures affirment que les LB du CG ayant une affinité plus élevée seraient sélectionnées pour se différencier en plasmocytes. Cependant, une étude a montré que les cellules d'affinité élevée sont également sélectionnées afin de subir une expansion clonale et de nouveaux cycles dans la DZ plutôt qu'une différenciation en plasmocyte (75). En effet, plus la réponse immunitaire avance, plus l'affinité des cellules B augmentent suite aux différents cycles itératifs dans le CG, ce qui conduit à la production de plasmocytes (15). L'association entre une affinité élevée et la différenciation en plasmocyte est probablement liée au fait que le plasmocyte se différencie plus tard dans la réaction du CG, permettant alors aux cellules B de subir plusieurs cycles de mutations et de sélections afin d'améliorer leur affinité. Il semblerait que le devenir des LB soit également influencé selon l'isotype du BCR obtenu après la CSR dans la DZ (Figure 9) (76). Une partie des plasmocytes ainsi produit, au sein des organes lymphoïdes secondaires, peuvent devenir des cellules de longue durée de vie pouvant résider



dans la moelle osseuse et pouvant être réactivés pour synthétiser de grandes quantités d'anticorps à long terme. La différenciation en plasmocyte dans le CG nécessite que le programme de transcription des cellules B du CG soit réduit au silence pour l'introduction d'un nouveau transcriptome orienté vers la production d'une énorme quantité d'immunoglobulines, ainsi que dans la surveillance immunitaire et la survie dans des niches comme la moelle osseuse. L'interaction entre les  $LT_{FH}$  et le LB active les voies de signalisation CD40/CD40L, ICOS/ICOSL et l'IL21 qui permet d'initier la différenciation en plasmocyte. Ces voies de signalisation entraînent l'expression de trois facteurs de transcription : IRF4, BLIMP1 et XBP1 (59). L'IRF4 fonctionne de manière dose-dépendante ; à faibles doses il permet la formation des cellules dans le CG et la CSR par l'activation du gène *AICDA* et *BCL6*, cependant à fortes doses il réprime *BCL6* et active *BLIMP1* facilitant la différenciation de la cellule en plasmocyte. *BLIMP1* est un répresseur transcriptionnel qui favorise la différenciation terminale des LB. Enfin, *XBP1* est impliqué dans le contrôle de la production de l'IL6, une cytokine essentielle à la survie des plasmocytes (77). Ainsi, *XBP1* permet de réguler l'expression de gènes importants pour le bon fonctionnement du système immunitaire et dans la réponse au stress cellulaire.



**Figure 9.** Le devenir des lymphocytes B selon l'affinité de leur BCR et de l'interaction avec les  $LT_{FH}$  (78).

## vi. *Différenciation en cellules B mémoires*

Les cellules B mémoires proviennent soit des LB activés au niveau de la bordure des cellules B et T lors de l'activation antigénique, soit des cellules du CG sélectionnées dans la LZ. Cela permet la génération d'un pool de cellules B mémoires relativement quiescents et pouvant être réactivées en cas de nouvelles expositions au même antigène (79). Les LB du CG donnent donc naissance à une grande partie du pool de cellules B mémoires, mais des cellules B mémoires indépendantes du CG apparaissant très tôt dans la réponse immunitaire ont été décrites (79). La voie de signalisation du CD40 permet la différenciation des LB activés en cellules B mémoire au stade de pré-CG. La plupart des cellules B mémoires produites lors de ce stade présentent une IgM au niveau de leur BCR de faible affinité (15). Les LB de la LZ ayant une faible affinité pour l'antigène vont également se différencier en cellules B mémoires. Le mécanisme de sélection des cellules B mémoires n'est pas encore complètement élucidé. Une étude suggère que le mécanisme potentiel pourrait être, l'aide relativement faible des LT<sub>FH</sub> qui maintiennent l'expression de BACH2 à des taux élevés dans les LB de faible affinité de la LZ, ce qui seraient un état avantageux pour l'entrée dans la voie de différenciation des cellules B mémoires (78). Une faible quantité de BACH2 permettrait de maintenir les CG alors qu'une concentration importante serait nécessaire pour générer des LB mémoires. L'inhibition complète de l'expression de BACH2 aurait pour conséquence une diminution conséquente des LB du CG (78). La concentration de BACH2 ne serait qu'un des nombreux facteurs qui interviennent dans ce processus de sélection. Récemment, un marqueur caractéristique des cellules B du CG destinées à se différencier en cellules B mémoires a été décrit : l'expression du récepteur de chimiokine CCR6 permet l'identification des précurseurs des LB mémoires dans le CG. Les analyses des SHM et de liaison à l'antigène ont révélé que les LB mémoires émergent principalement de cellules CCR6<sup>+</sup> de faible affinité de la LZ. Les cellules B mémoires proviendraient de cellules de la LZ « non sélectionnées », ce qui est cohérent avec les données que ces cellules B mémoires surviennent plus tôt dans la réaction du CG et ont donc moins de mutations dans les régions variables entraînant une affinité moindre pour l'antigène (78). La signature transcriptionnel des LB mémoires présente de nombreuses similitudes avec les LB naïfs. On note que l'expression de PAX5 est présente dans les LB naïfs, les cellules B mémoires et dans les LB du CG supposant donc un rôle important de PAX5 dans le programme transcriptomique des cellules B lors de ces stades de développement. Les LB mémoires expriment des niveaux plus élevés d'ARNm codant pour les récepteurs costimulateurs CD80 et

CD86 ainsi que pour les gènes anti-apoptotiques *BCL2* et *BIRC6* (70). La concentration de BACH2 joue également un rôle important dans la différenciation des B mémoires. L'expression d'ABF1 (Facteur 1 des cellules B activées) favoriserait également la différenciation des cellules B en mémoire. ABF1 et BLIMP1 se réprime mutuellement pour permettre une différenciation soit en cellules mémoires soit en plasmocytes, respectivement. Plus récemment, le facteur de transcription HHEX a été identifié comme un promoteur important de la différenciation des cellules B mémoires (80). Ce facteur est impliqué dans la répression de BCL6 permettant alors l'expression de BCL2, élément clé de la survie des précurseurs B mémoires (80).

Une majorité des LB mémoires semble re-circuler via le sang et la lymphe à l'aide de l'expression sélective de molécules d'adhésions telle que la L-sélectine qui se lie à GlyCAM-1 exprimé sur les veinules endothéliales des ganglions lymphatiques et à MadCAM-1 exprimé sur les cellules endothéliales. Il existe également des LB mémoires « sentinelles » qui résident dans les tissus, comme les poumons (81) et aux portes d'entrée des pathogènes. La première ligne de défense des LB mémoires résidentes est assurée par les LB mémoires IgA<sup>+</sup> qui se trouvent au niveau des muco-cutanées exposées (82), la seconde par les LB mémoires IgG<sup>+</sup> qui sont situées dans les ganglions lymphatiques qui filtrent la lymphe dans une niche sous-capsulaire permettant une rencontre rapide avec les macrophages et les cellules T<sub>FH</sub>. Puis la troisième, par les LB mémoires IgM<sup>+</sup> qui sont stationnées dans la zone marginale splénique. Lors d'une nouvelle exposition à l'antigène les LB mémoires peuvent alors se différencier directement en plasmocytes, soit sont capable de se « dé-différencier » pour reformer des CG secondaires. Ces cellules offrent donc une deuxième vague de protection contre la réexposition aux agents pathogènes. Une étude a observé que lors d'une réexposition à un antigène, les LB mémoires IgM<sup>+</sup> ré-entrent dans le CG pour subir une CSR, contrairement aux LB mémoires IgG<sup>+</sup> qui se différencient en plasmocytes, puis migrent vers la moelle osseuse (76). Une autre étude a identifié les deux sous-ensemble de LB mémoire sur la base de l'expression du CD80 et PDL2, indépendamment de l'isotype (83). Les CBM CD80<sup>+</sup>PDL2<sup>+</sup> se sont différenciés en plasmocytes et avaient une affinité relativement élevée, cependant les LB mémoires CD80<sup>-</sup>PDL2<sup>-</sup> se sont différenciées en LB du CG avec une affinité plus faible. Les auteurs constatent également que le compartiment CD80<sup>+</sup>PDL2<sup>+</sup> est enrichi en LB mémoires IgG<sup>+</sup> et le compartiment CD80<sup>-</sup>PDL2<sup>-</sup> est principalement constitué en LB mémoires IgM<sup>+</sup>. Dans une étude récente, il a été démontré que les LB mémoires CD80<sup>hi</sup> provenaient de LB de haute affinité et nécessitaient une forte signalisation CD40 avec les LT<sub>FH</sub> (84). Le devenir des LB mémoires dépend donc de plusieurs paramètres : l'expression de CD80 et PDL2 et de l'isotype de l'Ig. Les LB mémoires sont une population cellulaire très hétérogène mais un modèle basé

l'isotype du BCR (IgD+, IgM+ et IgG+) et l'expression de marqueurs de surface (CD73, CD80 et PDL2) permet de concilier des études pouvant être contradictoires (85). Dans ce modèle, les LB mémoires IgD+ ré-entre dans le CG pour former de nouveaux LB mémoires. Les LB mémoires CD73+CD80+PDL2+ avec un isotype IgM et IgG sont eux potentiellement limitées à la production de plasmablastes et plasmocytes. En effet, des études ont démontré que les LB mémoires non commuté ré-entrait dans les CG, tandis que les cellules IgG+ formaient rapidement des plasmablastes (76). Cependant, à l'aide de modèles murins, Mesin *et al.* (86) ont montré que les CG secondaires, lors d'une ré-immunisation, étaient presque exclusivement composées d'un répertoire de LB naïfs récemment activés. Seule une minorité de LB mémoires issus de la réponse primaire sont « réactivés » afin de ré-entrer dans le CG et se différencier en plasmocyte. Cela suggère qu'une partie seulement de ces clones, initialement présents, connaisse une expansion et une diversification clonale importante. Ainsi, la participation des CG secondaires à la production des LB mémoires est relativement rare physiologiquement contrairement aux situations pathologiques (87) (86).

### 2.3 Signature transcriptomique des lymphocytes B au sein du centre germinatif

Les cellules de la DZ et de la LZ se trouvent dans des états fonctionnels distincts et peuvent être reconnus dans une certaine mesure par leur signature transcriptomique. Au sein des CG, les programmes moléculaires complexes et hautement orchestrés doivent équilibrer la prolifération, les SHM et la sélection pour à la fois fournir une immunité humorale efficace et protéger contre l'instabilité génomique et la TH.

#### a. BCL6

La régulation positive de BCL6 est essentielle pour initier la réaction du CG car les LB appauvris en BCL6 ne pénètrent pas dans le follicule (88). BCL6 est un puissant répresseur transcriptionnel qui est absolument nécessaire pour le développement des CG (Figure 10). Les signaux spécifiques qui entraînent une régulation positive de BCL6 après une stimulation antigénique sont en grande partie inconnus. Cependant plusieurs facteurs de transcription ont été impliqués dans ce processus comme IRF4, IRF8 et MEF2B (89). BCL6 permet de diminuer l'expression de la protéine anti-apoptotique BCL2, des facteurs tels que p53, ce qui entraîne

une tolérance de la cellule B aux dommages à l'ADN induit par AID ou par une prolifération intense (89). Il inhibe également l'expression des gènes impliqués dans l'activation des LB dans les réponses immunitaires médiée par les LT, comme ceux codant pour CD69, STAT1 et le récepteur co-stimulateur CD80. De plus, BCL6 inhibe la différenciation des LB du CG en plasmocytes en réprimant le gène *PRMD1* qui code pour le facteur de transcription essentiel pour le développement des plasmocytes, BLIMP1. BCL6 est donc un facteur important pour établir le statut hyper-prolifératif des cellules B de la DZ tout en leur permettant de tolérer les ruptures d'ADN associés aux phénomènes des SHM et de CSR (89). De plus, BCL6 empêche la transduction de signaux des récepteurs qui pourraient conduire à une activation et une différenciation prématurée avant la sélection de clones de cellules B de haute affinité. Cependant, une fois ces processus terminés, l'expression de BCL6 doit être réprimée au moment de la différenciation terminale des cellules B. Les mécanismes responsables de cet interrupteur moléculaire ont été partiellement élucidés et comprennent au moins deux signaux qui opèrent respectivement au niveau de la traduction et de la transcription: l'activation de la voie de signalisation du BCR par l'antigène présenté par les CDF, et l'activation du récepteur CD40 par le ligand CD40L présent sur les cellules T<sub>FH</sub> (89).

## b. MYC

Le facteur de transcription MYC se lie à l'ADN et cible des gènes contrôlant un large éventail de programmes cellulaires, notamment la prolifération, la croissance cellulaire, le métabolisme énergétique, le maintien de la télomérase, la différenciation et l'apoptose (89). De plus, il a été démontré que MYC contrôle la réplication de l'ADN par des mécanismes indépendant de son activité transcriptionnelle, une propriété qui peut favoriser l'instabilité génomique en induisant un stress de réplication. Au cours de la réaction du CG, l'expression de MYC est étroitement régulée, en effet la protéine est tout d'abord exprimée dans les LB à l'origine de l'initiation du CG, peu après la liaison de l'antigène au BCR. La protéine est ensuite réprimée par le facteur de transcription BCL6 dans les cellules B de la DZ, avant d'être ré-induite dans un petit sous-ensemble de LB de la LZ qui subissent une sélection positive basée sur l'affinité (Figure 10) (62). Cependant l'absence d'expression de MYC dans les cellules de la DZ est une source de confusion, étant donné son rôle dans la prolifération cellulaire, ce paradoxe n'a pas été encore élucidé. Néanmoins, il a été démontré lors d'une étude *in vivo* qu'une surexpression de MYC dans la LZ est nécessaire pour que les cellules B sélectionnées

rentrent dans un cycle cellulaire en migrant une nouvelle fois vers la DZ pour des cycles supplémentaires de prolifération et des SHM (62). La délétion de *MYC* dès la stimulation antigénique abroge la formation des CG, et l'inhibition de son activité spécifiquement dans la LZ conduit à la dissolution des CG établis (62). Une étude récente suggère que, dans les cellules B de la LZ, le facteur de transcription *MYC* est induit par la stimulation BCR et CD40 via l'activation de NFκB et FOXO1 respectivement (90).

### c. FOXO1

FOXO1 est un membre de la famille Fox-O des facteurs de transcription Forkhead qui joue un rôle essentiel à des stades de transitions au cours du développement des LB (89). Au sein du CG, FOXO1 est presque omniprésent dans les cellules de la DZ (Figure 10), cette observation est conforme à la faible activité de la voie de signalisation PI3K-AKT, un régulateur négatif majeur de FOXO1 qui n'est détectable que dans la LZ du CG (89). Ainsi, FOXO1 est nécessaire à l'établissement et au maintien des différentes zones du CG et également au phénotype des LB de la DZ (89). Le maintien du phénotype des LB dans la DZ se fait grâce à FOXO1 qui va activer de multiples gènes comme le récepteur de chimiokine CXCR4. Le facteur de transcription va également permettre une prolifération cellulaire intense et une modulation négative de la réparation de l'ADN, qui est spécifique de la DZ. L'inhibition des voies de signalisation caractéristiques du programme des LB de la LZ résulte de l'action de FOXO1 en coopération avec BCL6.

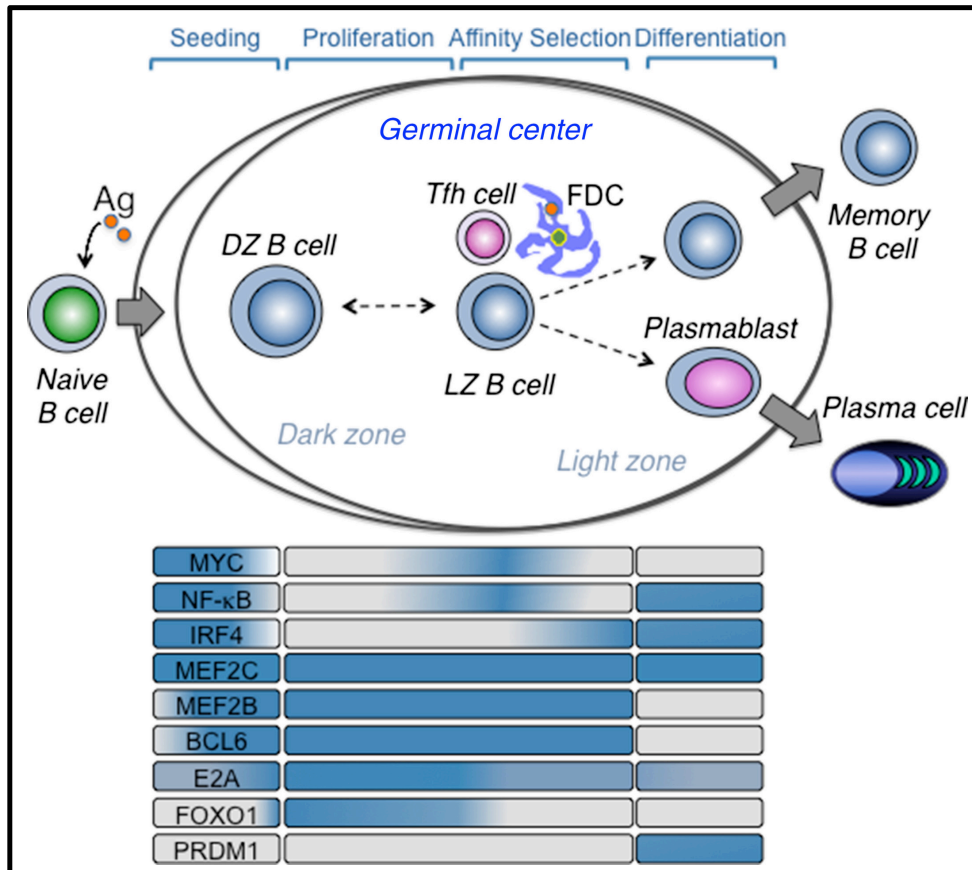
### d. EZH2

L'activateur de l'homologue zeste 2 (EZH2) est une histone méthyltransférase du domaine SET qui inhibe la transcription de certains gènes en triméthylant le résidu Lysine 27 de l'histone H3 (H3K27me3) et en recrutant le complexe répressif polycomb 2 (PRC2) (89). Cette triméthylation H3K27me3 est en corrélation avec une chromatine fermée et, par conséquent entraîne une inhibition de l'expression génique lors du développement des cellules B matures. L'expression d'EZH2 est induite dans les LB du CG et une expression élevée est maintenue jusqu'à ce que les LB quittent le CG (Figure 10). EZH2 contrôle la transcription des gènes impliqués dans la régulation négative du cycle cellulaire (*CDKN1A*) et dans la différenciation terminale (*IRF4*, *PRDMI*) (89). Des études ont mis en évidence une boucle de

rétroaction positive par laquelle EZH2 permet l'expression d'un phénotype prolifératif caractéristique des cellules B du CG en supprimant *CDKN1A* et en entraînant l'expression de E2F1. *In vivo*, la perte de *EZH2* a complètement abrogé la formation du CG, désignant cette méthyltransférase comme un maître régulateur de la CG (89).

#### e. MEF2B/MEF2C

Le facteur activateur spécifique des myocytes 2B (MEF2B) et 2C (MEF2C) appartient à une ancienne famille de facteurs de transcription impliqués dans la régulation de multiples programmes de développement par interaction avec des cofacteurs de transcription spécifiques (89). MEF2B et MEF2C ont des rôles essentiels dans les cellules B du CG mais ont des fonctions distinctes. Il a été démontré que MEF2C est exprimé à tous les stades de différenciations des cellules B du CG (Figure 10). Il permet la régulation de la prolifération des cellules en fonctionnant comme un effecteur transcriptionnel dans la voie de signalisation du BCR via la voie MAPK/P38. La perte de fonction MEF2C a entraîné une réduction des réponses immunitaires et une formation défectueuse du CG en raison d'une prolifération altérée des cellules B. En revanche, la transcription de *MEF2B* est rapidement induite au sein des cellules B après l'activation de l'antigène dépendant des cellules T et avant la régulation à la hausse de BCL6 (91). En effet, MEF2B possède la capacité à se lier directement aux séquences promotrices de BCL6 et à activer son expression (91).



**Figure 10.** Les différents profils d'expression des principaux gènes au cours des différentes étapes du centre germinatif (89) (bleu = exprimé, gris = non exprimé).

#### f. Hétérogénéité des cellules du centre germinatif

Le développement des techniques d'analyse d'expression génique à l'échelle de la cellule unique a permis de mettre en évidence une hétérogénéité des cellules B du CG allant plus loin que la simple séparation en DZ et en LZ. La division en deux sous-ensembles des LB du CG remonte en 1930 à l'aide de colorations histologiques simples. Au fil des années, les connaissances concernant ces deux zones se sont améliorées grâce aux nouvelles technologies de transcriptomique et d'imagerie. Les cellules B du CG ont historiquement été divisées en centrocytes dans la LZ et en centroblastes dans la DZ. Cependant la diversité des programmes moléculaires qui sont orchestrés dans le CG (prolifération/mutation dans la DZ et sélection/différentiation dans la LZ) ont récemment conduit à proposer une vision plus dynamique et complexe des cellules B du CG. Bien que la compartimentation DZ et LZ ait été essentielle à la compréhension de la biologie du CG, elle représente très probablement une



simplification excessive de la dynamique complexe de la prolifération, du trafic et de la différenciation des cellules B au sein du CG. Afin de mieux comprendre la réaction du CG, Il est désormais possible d'étudier l'hétérogénéité des cellules B présentes au sein de la réaction cyclique du CG à l'échelle unicellulaire et ce à différents niveaux : séquence et mutations du BCR, expression de leurs gènes et phénotype de surface (92) (93). En analysant la co-expression des différents gènes au cours du cycle du CG, différents sous-populations ont pu être identifiées reflétant des programmes d'expression génique synchronisée caractérisant différentes phases du cycle du CG. Ces différents profils de co-expression génique définissant le cycle du CG sont préservés entre les cellules normales issues de donneurs différents. La technologie sur cellule unique a permis de décrypter l'hétérogénéité des cellules du CG dans des conditions normales et de modéliser les différents états transitoires pouvant exister entre la DZ et la LZ ainsi que les précurseurs des cellules B à mémoire et des plasmocytes (93). Les analyses du transcriptome sur cellule unique des cellules B du CG normales ont révélé qu'une grande proportion de cellules, entre 30 à 50%, se trouvent dans un état intermédiaire (93). Des études ont mis en évidence un état distinct de la LZ, correspondant probablement à des cellules récemment sélectionnées, entrant dans une phase de prolifération avant de retourner au sein de la DZ pour des cycles itératifs visant à améliorer l'affinité du BCR (40). Ces cellules de la LZ sélectionnées positivement expriment des niveaux élevés de MYC, BATF, des gènes N $\kappa$ B, des gènes induits par CD40, comme *EBI3* et *MTORC1*. L'analyse, en parallèle, du répertoire BCR dans les cellules B du CG a mis en évidence certaines différences spécifiques à l'isotype dans les programmes transcriptionnels pendant la maturation d'affinité, et a montré que la CSR se produit principalement dans les cellules B activées avant l'entrée dans le CG (40).

Les cellules du LF ayant pour origine cellulaire la transformation de cellules B du CG, l'équipe du CIML a appliqué une analyse transcriptomique single-cell (scRNA-seq) pour caractériser l'hétérogénéité des cellules du LF. Lorsque Milpied *et al.* ont comparé les données scRNA-seq de cellules B du LF malignes à des cellules B humaines normales du CG, mémoires et plasmocytes provenant d'hyperplasies ganglionnaires et de rate normales par le biais de l'analyse en composantes principales (ACP) ou de tSNE, les cellules B LF sont cartographiées séparément des cellules B normales et clustérisent dans un espace transcriptionnel situé entre les cellules B du CG et les B mémoires. Les cellules B du LF expriment la plupart des gènes exprimés par les cellules du CG mais la co-expression des gènes caractéristique du programme synchronisé du CG est perdue dans tous les échantillons LF. Ce phénomène appelé « désynchronisation » du programme transcriptionnel du CG révèle que la plupart des cellules B du LF malignes ne sont pas « bloquées » dans un stade spécifique du CG comme le prétend

la majorité des études transcriptomique « bulk » (sur cellules totales) mais sont dans un état transcriptionnel propre remettant en question la « cellule d'origine » du LF. Ainsi, étant donné que la plupart des cellules B du LF malignes sont loin de leur cellule d'origine putative, une classification des cellules LF basée sur le CG peut être trompeuse pour comprendre la biologie des cellules B tumorales, même si elle peut s'avérer utile pour définir plusieurs groupes de patients avec des résultats cliniques différents.

En conclusion, l'ontogénie des LB débute par la production dans moelle osseuse des LB matures et naïf à partir de progéniteurs hématopoïétiques. Le mécanisme de recombinaison V(D)J s'effectue dans la moelle osseuse et aboutit à la constitution d'un BCR spécifique pour chaque LB. Les sélections « positives » et « négatives » permettent de sélectionner les réarrangements productifs des gènes des immunoglobulines et d'éliminer les clones « auto-réactif ». Une fois dans la circulation sanguine et lymphatique, les LB rejoignent les organes lymphoïdes secondaires et peuvent s'activer en rencontrant un antigène ayant une affinité pour leur BCR spécifique. Cette activation entraîne la formation des CG dans les organes lymphoïdes secondaires où les LB prolifèrent et se différencient en cellules B mémoires et en plasmocytes à vie longue. Les mécanismes des SHM et des CSR ont également lieu dans les CG. Ces deux phénomènes vont permettre la production d'anticorps de haute affinité et à isotype modifié pour obtenir une réponse immunitaire adaptée à l'agent pathogène. L'ontogénie des LB est étroitement régulée par des interactions cellulaires mais également par le contrôle des programmes transcriptionnels des LB tout au long de son développement.

## B. Lymphomagenèse/Physiopathologie

### 1. Altérations génomiques

#### 1.1 La translocation t(14 ;18)

La lymphomagenèse du LF est un processus complexe qui se déroule sur plusieurs années chez des patients initialement asymptomatiques. La translocation t(14 ;18) se produit tôt dans le développement des cellules B. Elle a lieu pendant la recombinaison V(D)J du locus de la chaîne lourde de l'immunoglobuline dans les précurseurs des cellules B de la moelle osseuse (6). L'acquisition de cette translocation est détectée dans presque 90% des patients atteints de LF, ce qui en fait une caractéristique génétique très importante pour cette pathologie (8). De plus, cette translocation est observée dans presque tous les cas de LF de bas grade, tandis que sa fréquence diminue dans les cas de LF de haut grade. Cet événement précoce entraîne la juxtaposition du gène de *BCL2* sous le contrôle transcriptionnel des régions régulatrices du gène de la chaîne lourde des immunoglobulines, ce qui conduit à une surexpression ectopique de la protéine anti-apoptotique BCL2 (8). Les ruptures au niveau de *BCL2* sont probablement dues à une fragilité inhérente des îlots CpG à proximité de ce gène, ce qui conduit à une recombinaison avec le gène de la chaîne lourde d'immunoglobuline en raison de la proximité de ces deux locus lors de la recombinaison V(D)J. La surproduction de la protéine BCL2 bloque la dernière voie commune de la mort cellulaire programmée empêchant l'apoptose et permettant donc la survie de ces cellules malgré leur affinité potentiellement faible ou modérée vis-à-vis à un antigène. De plus, il existe un lien entre la prévalence des cellules porteuses de la translocation t(14 ;18) et un risque plus élevé de développer un LF (8). Des preuves ont montré que les cellules porteuses de la translocation et qui sont en circulation dans le sang ne correspondent pas à des cellules B naïves. Ce sont plutôt des clones cellulaires ayant subi une expansion dans le CG suggérant que la maladie clinique nécessite d'autres événements mutationnels. En effet, l'entrée dans le CG des cellules porteuses de la translocation t(14 ;18) semble être un événement insuffisant pour déclencher une progression pré-LF vers LF. De plus, une grande proportion des personnes en bonne santé, environ 70%, présentent un faible taux de cellules t(14 ;18)+ dans le sang et/ou dans les tissus lymphoïdes dont la grande majorité ne développeront jamais de LF, ainsi la dérégulation de BCL2 n'est pas suffisante à elle seule pour la progression de la tumeur (8). Les cellules B du CG doivent accumuler d'autres altérations génétiques au cours des dernières phases de maturation et notamment lors de son passage dans le CG. En effet, la surexpression de la

protéine BCL2 médiée par la translocation t(14 ;18) provoque la persistance des cellules avec des BCR de faible affinité permettant un plus large spectre de réactivité croisée avec des antigènes. Ces cellules subiront probablement des cycles répétitifs de prolifération dans les CG au cours des nombreux défis antigéniques auxquels le système immunitaire est confronté. Ces cellules courent un risque accru d'acquérir des mutations oncogènes en raison de l'exposition répétée à l'enzyme AID impliquée dans les SHM. La survenue de manière aléatoire des altérations chromosomiques confère généralement un désavantage sélectif au cours des cycles itératifs ultérieurs, cependant l'expression ectopique de BCL2 bloque ce désavantage. Il y aurait également une nouvelle accumulation de lésions chromosomiques lors de ces cycles, dont certaines présenteraient un avantage sélectif et une progression maligne. Une étude a montré à l'aide d'un modèle de souris que les modifications des gènes médiée par AID sont les principaux facteurs contribuant à la pathogénèse du LF (94). Ainsi, l'acquisition de mutations secondaires qui se fait de manière progressive est nécessaire, en plus de la translocation, pour induire le LF.

## 1.2 Les altérations génétiques additionnelles

### a. KMT2D/KMT2C

Le gène *KMT2D* (ou *MLL2* ou *MLL4*) produit une lysine méthyltransférase contenant un domaine SET qui fait partie de la lysine méthyltransférase 2 (KMT2). *KMT2D* et *KMT2C* sont des membres de cette famille qui sont recrutés par des corécepteurs nucléaires ou des facteurs de transcription afin de réaliser la monométhylation de H3K4 au niveau des éléments enhanceurs qui représente une marque activatrice (95). *KMT2D* et *KMT2C* permet de catalyser la méthylation de H3K4 de manière indépendante, mais également dans le cadre d'un complexe multi-protéique de protéine associées à des complexes de type Set1 (COMPASS) qui sont principalement associés à des gènes régulés lors du développement. La monométhylation des éléments amplificateurs conduit au recrutement d'autres coactivateurs qui aboutissent à la boucle promoteur-amplificateur, à l'activation de l'ARN polymérase II et à la transcription des gènes. *KMT2C* est muté dans environ 13% des cas de LF, ces mutations de *KMT2C* n'excluent pas les mutations mutuelles avec *KMT2D*, ce qui suggère que ces gènes peuvent fonctionner de manière non redondante. Le gène *KMT2D* est le gène modificateur de chromatine le plus souvent muté dans le LF, dans environ 80-90% des cas (Tableau 5) (8). La majorité de ces mutations sont des mutations non-sens ou un décalage du cadre de lecture entraînant la perte de

la protéine KMT2D et donc une perte de fonction de son activité enzymatique (95). Des mutations codantes, c'est-à-dire aboutissant à la production de la protéine peuvent survenir, mais elles affectent principalement la partie C-terminale du gène contenant le domaine SET entraînant une réduction de l'activité de la méthyltransférase. La perte de fonction de KMT2D dans les modèles murins a été étudiée dans deux études qui ont montré que le knockout ou le knockdown de *KMT2D* dans les cellules B murines n'a pas d'influence dans le développement normal des cellules B, cependant l'augmentation de la fréquence des cellules B du CG et la réduction du nombre de cellules B à classe commutée après immunisation a été observée (95). Cela indique un défaut de maturation des cellules B et/ou un défaut de la recombinaison de classe isotypique en l'absence de KMT2D. Ces études ont également montré une perte de méthylation de H3K4 au niveau des activateurs spécifiques des cellules B du CG et ont confirmé le rôle de la perte de KMT2D dans la promotion de la lymphomagenèse lors d'un contexte avec une surexpression de BCL2. Une étude a démontré que KMT2C et KMT2D fonctionnent tous deux comme des coactivateurs à distance, indépendamment de leur activité catalytique. Il n'est donc pas clair si les mutations faux-sens qui réduisent l'activité de la méthyltransférase mais qui maintiennent l'expression de la protéine auraient la même conséquence fonctionnelle que les mutations non-sens ou de décalage du cadre de lecture qui entraînent une perte de la protéine (95).

#### b. TNFRS14 (HVEM)

Ce gène code pour un membre de la superfamille des récepteurs du facteur de nécrose tumorale (TNF) qui active la réponse immunitaire inflammatoire et inhibe les cellules T. HVEM possède plusieurs fonctions en interagissant avec de multiples ligands, comme LIGHT, BTLA, CD160 et lymphotoxine- $\alpha$  (95). Les mutations touchant *HVEM* sont des événements fréquents dans le LF, allant de 18 à 50% des cas, qui entraînent généralement la perte du récepteur (Tableau 5) (8). Mais certaines mutations peuvent affecter des fonctions spécifiques. Les mutations du gène *HVEM* pourrait contribuer au développement du LF, bien qu'elles représentent probablement des événements tardifs dans l'évolution de la maladie. Une étude a identifié un mécanisme possible reliant le microenvironnement du CG à la pathogénèse des lymphomes en évaluant l'expression des HVEM et BTLA dans 198 échantillons du LF. Les auteurs ont rapporté que les interactions entre ces deux récepteurs sont perdues dans 75% des cas de LF (96). La liaison entre HVEM et BTLA conduit à l'inhibition de la signalisation du

BCR et bloque la prolifération des cellules, par conséquent la perte de HVEM stimule la signalisation BCR et la croissance des cellules B de manière autonome (96). De plus, la perte de HVEM entraîne des changements micro-environnementaux qui soutiennent la croissance du lymphome marqué par une activation exacerbée du stroma lymphoïde et d'un recrutement accru des cellules T<sub>FH</sub> (96). En effet les lymphocytes B déficient en HVEM produisent des quantités accrues de cytokines de la famille des TNF (TNF- $\alpha$ , LT $\alpha$ , LT $\beta$ ) qui sont les principaux activateurs des cellules du stroma lymphoïde telles que les CDF et les cellules réticulaires fibroblastiques (CRF).

### c. CREBBP

Le gène *CREBBP* (alias *CBP*) produit une lysine acétyltransférase (KAT) qui acétyle l'histone 3 au lysine 18 (H3K18Ac) et 27 (H3K27Ac), ainsi que les protéines non-histones. L'acétylation des histones modifie leur charge et relâche leur association avec l'ADN pour le rendre plus accessible aux facteurs de transcription (95). Les mutations de *CREBBP* se produisent dans environ 65% des cas de LF dont environ 80% créent des changements erronés d'acide aminé dans le domaine KAT entraînant une réduction de l'activité de l'acétyltransférase (Tableau 5) (95). Les mutations de *CREBBP* ont été identifiées comme des événements précoces au cours de la genèse de la maladie du LF. Il est intéressant de noter qu'une étude a détecté une mutation de *CREBBP* dans le compartiment de cellules souches et progénitrices hématopoïétiques chez un patient dont le lymphome était porteur de la même mutation. Les tumeurs de LF mutantes pour *CREBBP* ont montré une expression significativement réduite du CMH de classe II par rapport aux tumeurs de LF sans mutation dans le gène *CREBBP*. Cette réduction de l'expression du CMH de classe II des cellules tumorales accroît la lymphomagenèse et permet l'évasion immunitaire par une présentation réduite de l'antigène. La perte de *CREBBP* favorise le développement du lymphome en entraînant la dérégulation des gènes cibles de BCL6 (95). De plus, la mutation de *CREBBP* peut également favoriser les lymphomes par une réduction de l'acétylation de cible non-histone, telle que P53. En effet, le knock-out de *CREBBP* conduit à une atténuation significative de l'acétylation de P53 et réduit la réponse aux dommages de l'ADN (95). Il est probable que l'expression de la protéine CREBBP catalytiquement inactive résultant de mutations faux sens du domaine KAT ait des conséquences fonctionnelles différentes de celles des mutations entraînant la perte de l'expression de la protéine CREBBP.

#### d. EZH2

Les mutations d'*EZH2* ont été les premières mutations récurrentes de gènes modifiant la chromatine à être signalées dans LF et ont été les premières à être étudiées à l'aide de modèles murins. La majorité de ces mutations sont des mutations faux-sens de la tyrosine 641 (Y641) dans le domaine SET de EZH2 qui entraîne une activité accrue de l'enzyme à catalyser le H3K27me3, une marque répressive (95). Au niveau mécanistique, la protéine mutante a une activité réduite pour l'ajout des deux premier groupes méthyles, ce qui peut expliquer pourquoi on retrouve ce gène sous forme hétérozygote dans les tumeurs des patients et la nécessité de conserver une forme WT sur un des allèles. En effet, sous forme hétérozygote, la protéine EZH2 de type sauvage et mutée peut agir en coopération pour promouvoir la marque H3K27me3 et le développement des tumeurs. Il a été montré que l'expression du mutant Y641 de la protéine peut coopérer avec la surexpression de BCL2 pour favoriser le développement du lymphome folliculaire chez la souris. Des études sur l'évolution clonale ont caractérisé ces mutations comme étant principalement subclonales au moment du diagnostic et ont montré qu'elles restent subclonales au moment de la rechute. Cela suggère donc que les mutations *EZH2* sont des « événements tardifs » et des « accélérateurs » de la lymphomagenèse. L'hétéroclonalité entre le clone sauvage et la mutation Y641 de *EZH2* peut présenter un avantage, en effet seul un nombre mineur de cellules mutantes Y641 serait nécessaire pour donner un avantage de prolifération à la population tumorale alors qu'en cas d'une importante population de cellules mutantes Y641, l'effet pourrait être délétère (95). Une compréhension plus aboutie de cette hétéroclonalité est importante en raison du potentiel émergent des inhibiteurs d'EZH2 comme nouvelle thérapie pour le LF.

#### e. N-glycosylation

La N-glycosylation est une modification post-traductionnelle qui ajoute des glucides de manière covalente à l'azote du groupement amide d'une asparagine. Les protéines glycosylées sont alors soit sécrétées, soit intégrées à la membrane plasmique. Les immunoglobulines sont glycosylées et cette modification post-traductionnelle joue un rôle structurel important dans la modulation des fonctions des immunoglobulines. Dans les cellules B normales, la N-glycosylation est principalement confinée aux sites conservés dans les régions constantes des immunoglobulines, et quelques régions variables codées par la lignée germinale. En revanche,

le nombre de sites potentiels de glycosylation des immunoglobulines augmente considérablement dans le LF via le processus de SHM. Zhu *et al.* ont montré que 50 patients atteints de LF sur 70 avaient au moins un nouveau site potentiel de N-glycosylation dans la séquence de la région variable de la chaîne lourde des immunoglobulines (97). Les nouveaux sites potentiels de N-glycosylation se produisent avec une faible fréquence (8%) dans les cellules normales, ce qui suggère fortement que les sites sont sélectionnés de manière positive dans le LF. Des travaux supplémentaires ont démontré que les glucides ajoutés aux immunoglobulines dans le LF sont exceptionnellement de type mannose. Cependant, les sucres ajoutés lors de la mannosylation des protéines peuvent se lier à deux lectines de type C majeures, le récepteur du mannose et DC-SIGN (*dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin*) exprimés par les cellules de l'immunité innée, y compris les macrophages et les cellules dendritiques. L'étude a permis de mettre en évidence une différence entre l'effet de la liaison des lectines de type C aux cellules du LF et aux cellules B normales (98). Les lectines de type C assurent la médiation de la signalisation intracellulaire dans le LF et non dans les cellules normales. En effet, l'activation des voies de phosphorylation intracellulaire des récepteurs des cellules B du LF se produit lorsqu'elles rencontrent des macrophages exprimant DC-SIGN et indépendamment de l'antigène (20).



Gene	Alterations (effect)	Frequency in FL (%)	Effect or function
<b>Proliferation</b>			
KMT2D	Mutation (↓)	80–90	Histone modification; tumour suppressor
IgHV, IgLV	Mutation (↑)	75–90	N-glycosylation of IgV region of BCR; BCR signalling
RB1	Deletion (↓)	12	Impairment of cell cycle control
CDK4	Copy number gain (↑)	29	Impairment of cell cycle control
BCL6	Translocation (↑)	6–15	Transcription factor; tumour progression
	Mutation (↑)	47	
H1–2, H1–4	Mutation (↓)	44	Chromatin remodelling
MEF2B	Mutation (↓)	13–15	Transcription factor; transcriptional activator
EP300	Mutation (↓)	10–20	Histone modification
SESN1	Epigenetic silencing (↓)	~20	Promotion of mTOR activity
RRAGC <sup>ATP6V1B2, ATP6AP1</sup>	Mutation (↑)	17	mTORC1 survival signal
EZH2	Mutation (↑)	7–30	Histone modification
ARID1A	Mutation (↓)	15	Chromatin remodelling
GNA13	Mutation (↓)	~10	B cell growth and lymphoma cell dissemination
SGK1	Mutation (↓)	~10	Deregulation of FOXO transcription factors and NF-κB
FOXO1	Mutation (↑)	~10	Transcription factor; survival and proliferation
CARD11	Mutation (↑)	10	Increased BCR signalling
STAT6	Mutation (↑)	10	Activation of JAK–STAT signalling
<b>Survival</b>			
BCL2	Translocation (↑)	80–90	Suppression of apoptosis
	Mutation (↑)	50	
TNFAIP3	Mutation (↓)	2–26	Loss of tumour suppressor
<b>Immune evasion</b>			
EPHA7	Deletion (↓)	70	Tumour suppressor
	Epigenetic silencing (↓)		
TNFRSF14	Mutation (↓)	18–50	Tumour suppressor; increased BCR signalling
CREBBP	Mutation (↓)	33–70	Histone modification; tumour suppressor

**Tableau 5.** Les différentes altérations génétiques et leurs fréquences retrouvées au sein des lymphomes folliculaires (8).

## 2. Hétérogénéité clonale du lymphome folliculaire

L'hétérogénéité clonale peut être définie comme la présence de plusieurs sous-clones hébergeant différentes aberrations génomiques au sein d'une même tumeur. Ce phénomène peut résulter d'altérations génétiques et épigénétiques, d'une interaction avec des facteurs micro-environnementaux ou induit par des thérapies. La coopération entre différents sous-clones peut apporter un avantage sélectif pour la croissance tumorale et pour la résistance thérapeutique, et représente donc une cible potentielle pour inhiber la progression de la maladie (99). Comme déjà mentionné, la translocation t(14;18) représente un événement génétique marqueur afin de définir le LF. Cependant, il existe une hétérogénéité inter et intra-tumorale significative sur l'expression de la protéine BCL2 et sur la sensibilité aux thérapies des cellules du LF chez les patients (100). La même étude a montré que la survie globale était significativement plus élevée chez les patients exprimant des taux de BCL2 plus faibles, ce qui

souligne l'importance de l'hétérogénéité inter-tumorale. Un acteur important dans l'hétérogénéité clonale du LF est représenté par AID. Cette enzyme est requise au sein du CG afin de réaliser les SHM et la CSR afin de générer des anticorps de haute affinité. Son action est principalement limitée aux gènes d'immunoglobulines, cependant il a été démontré que l'activité aberrante de AID cible également des locus supplémentaires, dont la plupart sont composés de grands réseaux de promoteurs et d'amplificateurs interconnectés, qui présentent des niveaux de transcription et d'accessibilité épigénétique exceptionnellement élevés (119). L'activité aberrante de AID entraîne des « entailles » et des cassures double-brin favorisant les translocations chromosomiques. Ainsi, un fonctionnement anormal du processus physiologique de AID peut conduire à une instabilité génétique et entraîner une hétérogénéité clonale dans le LF.

Le développement des techniques d'analyse d'expression génique à l'échelle de la cellule unique a permis également de mettre en évidence une hétérogénéité des cellules tumorales comme vu précédemment (I. A. 2. 3. f. Hétérogénéité des cellules du centre germinatif). L'hétérogénéité des cellules B normales présente au sein du CG est caractérisée par la séquence du BCR, par l'expression des gènes et par le phénotype de surface des cellules B (92) (93). A l'aide de leur profil d'expression génique, les cellules uniques du CG ont pu être placées le long des différentes étapes qui composent le cycle du CG. Cela permet de caractériser la façon dont l'expression des gènes évoluent tout au long de ce cycle (120). En analysant l'expression des différents gènes au cours de la réaction du CG, différents clusters ont pu être identifiés et considérés comme le reflet de différents programmes d'expressions synchronisés propre aux différentes phases du cycle du CG. Ces différents profils d'expression génique sont préservés entre les cellules normales issues de donneurs différents. Ainsi, cette technique à l'échelle de la cellule unique a permis de préciser l'hétérogénéité des cellules et de modéliser les différents états transitoires pouvant exister entre la DZ et la LZ (93). Milpied *et al.* ont ainsi mis en évidence que les cellules du LF sont désynchronisées du programme d'expression génique du CG entraînant donc l'expression de gènes de manière incohérente par rapport aux cellules normales du CG. L'analyse de séquençage de l'ARN à partir de la cellule unique (scRNAseq) des échantillons de LF a confirmé le concept de désynchronisation. En conséquence, les cellules du LF doivent être clairement distinguées de leurs homologues normaux présents au sein du CG car ils ne sont pas éduqués par la même dynamique transcriptionnelle. Cette désynchronisation de l'expression génique des cellules du LF peut être provoquée par des modifications de facteurs extrinsèques fournis par le microenvironnement ou par une dérégulation génétique intrinsèque de la cellule.

### 3. Le rôle du microenvironnement

Le rôle majeur du microenvironnement dans le développement et l'évolution du LF a été mis en évidence par l'échec des cellules LF à survivre et à croître de manière autonome *in vitro*. Les cellules malignes se retrouvent au sein d'une niche composée des mêmes cellules accompagnant les cellules B normales des CG. En effet, les cellules B du LF présentent la caractéristique générale des centrocytes et dépendent fortement de l'interaction directe avec un microenvironnement de type CG, comprenant des cellules stromales lymphoïdes, des macrophages et des cellules T<sub>FH</sub> CD4<sup>+</sup>. En cas d'infiltration de la moelle osseuse, on retrouve une différenciation ectopique des cellules stromales de type lymphoïde et un enrichissement local en cellules T CD4<sup>+</sup>, ce qui suggère que les cellules B du LF sont dépendante de ces cellules de soutien (102). Cependant, il existe des différences dans la composition cellulaire et l'organisation cellulaire de la moelle osseuse et du ganglion lymphatique. En parallèle, les cellules LF présentes dans la moelle osseuse sont caractérisées par un grade cytologique et une prolifération plus faible, suggérant que le microenvironnement pourrait contribuer à la sélection clonale et à l'hétérogénéité moléculaire. Le microenvironnement tumoral possède la capacité à favoriser directement ou indirectement la croissance des cellules du LF ainsi que d'échapper au contrôle du système immunitaire.

#### 3.1 Microenvironnement propice à la croissance tumorale

##### a. Les cellules stromales

Les cellules stromales jouent un rôle clé dans le développement et la progression tumorale dans divers modèles de cancer. En effet, les fibroblastes associés au cancer (CAF) sont phénotypiquement et fonctionnellement différents de leur homologue normal. Les CAF possèdent des caractéristiques communes avec les cellules stromales lymphoïdes. Les cellules stromales lymphoïdes sont organisées au sein d'un compartiment cellulaire hétérogène avec trois niches cellulaires spécialisées au sein des organes lymphoïdes secondaires (102) :

- Un réseau stromal mésenchymateux au niveau de la zone des cellules T formé par les CRF. Ce réseau cellulaire permet la délivrance des antigènes, le recrutement des cellules immunitaires, la motilité, l'homéostasie par la sécrétion d'IL7, de VEGF, d'oxyde nitrique et de chimiokines homéostatique (CCL19, CCL21 et CXCL12).

- Les CDF qui permettent d’attirer les LB et les LT<sub>FH</sub> dans les CG par l’intermédiaire de CXCL13. Elles favorisent donc la sélection des LB de haute affinité par la rétention et la présentation d’antigènes sous forme de complexes immuns, ainsi que la survie des cellules B du CG par des facteurs solubles comme BAFF (Figure 11).
- Les cellules réticulaires marginales (CRM) délivrent de petits antigènes aux LB.

Les cellules stromales dans le LF présentent un phénotype et une signature transcriptomique spécifique, notamment une activation uniforme et marquée du réseau de CRF. Cette modification entraîne un recrutement des cellules malignes du LF au sein de ce réseau par la libération de CXCL12 et CXCL13 contribuant au développement tumoral. De plus, les cellules stromales sur-expriment CCL2 qui favorise le recrutement de monocytes et déclenche leur différenciation en macrophages pro-angiogéniques et anti-inflammatoires. Les cellules stromales jouent un rôle clé dans la pathogénèse du LF par une activité directe de soutien des cellules malignes et une activité indirecte sur l’organisation de la niche cellulaire. Malgré de nombreux rapports montrant l’impact négatif du pronostic des CDF dans le LF, la présence intra-tumorale de cellules dendritiques plasmacytoïdes (CD123+) a été associée à une amélioration de la survie chez les patients atteints de LF, montrant que la compréhension de la biologie des différents sous-ensembles de cellules dendritiques nécessite des recherches plus approfondies (103).

## b. Les cellules T<sub>FH</sub>

Les LT<sub>FH</sub> ont été initialement identifiés comme des cellules T CD4<sup>+</sup> exprimant CXCR5, permettant leur localisation dans les zones folliculaires des organes lymphoïdes secondaires. Mais des données récentes ont défini les LT<sub>FH</sub> comme une lignée distincte de LT auxiliaires, sous le contrôle de BCL6, et jouant un rôle central dans la localisation, la sélection, la différenciation des cellules B normaux du CG. En somme, le compartiment T<sub>FH</sub> semble hétérogène et subdivisé en plusieurs sous-ensembles en fonction de la sécrétion de diverses cytokines. Les LT<sub>FH</sub> exprimant PD1, un marqueur d’épuisement, sont enrichis dans un ganglion lymphatique envahi par le LF (Figure 11). Les LT<sub>FH</sub> exprimant la PD1 sont associées à une survie globale plus courte chez les patients atteints de LF (104). Les LT<sub>FH</sub> du microenvironnement tumoral produisent également des quantités élevées de CD40L et d’IL4 entraînant une stimulation directe des LB tumoraux (102). Les études montrent que les cellules T<sub>FH</sub> jouent un rôle important dans la pathogénèse du LF via l’activation de la voie

IL4/JAK/STAT6 (105), la présence de mutations activatrices dans STAT6 s'associe à des niveaux accrus d'IL4 dans le microenvironnement de la tumeur (106). En effet, l'IL4 entraîne l'augmentation du niveau d'expression du BCR à la surface des cellules tumorales, ainsi que de DC-SIGN au niveau des macrophages (Figure 11). Les cellules tumorales sont alors stimulées par l'activation du BCR et son interaction avec le récepteur des macrophages (20). Outre cette activité pro-tumorale directe, les LT<sub>FH</sub> peuvent également moduler la niche cellulaire par l'expression du TNF et de la lymphotoxine A (LTA) entraînant le maintien des cellules stromales lymphoïdes, propice aux développements des cellules malignes (102).

### 3.2 Les mécanismes d'échappement immunitaire

#### a. La réduction de l'immunogénicité

Les cellules tumorales diminuent leur expression des molécules du CMH afin d'échapper à la reconnaissance par les LT CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>. Dans le LF, la perte d'expression du CMH de classe I peut être causée par des mutations de la  $\beta 2$ -microglobuline (107). De plus, les mutations précoces de *CREBBP*, fréquente dans le LF, a été récemment présentée comme le principal mécanisme soutenant la régulation négative des molécules du CMH de classe II (107). Cela a pour conséquence une diminution de la prolifération des cellules T ainsi qu'une réduction de l'infiltration T au sein de la tumeur.

#### b. L'inhibition des effecteurs immunitaires

Le second mécanisme d'échappement immunitaire est la réduction de l'activité des cellules T et des cellules NK anti-tumorales. On retrouve une régulation positive des récepteurs co-inhibiteurs sur les LT cytotoxiques au sein de la tumeur. De plus, la motilité et leur capacité à former des synapses immunologiques avec les cellules tumorales sont également réduites. Les cellules T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques intra-tumorales sont fréquentes dans les échantillons de tumeurs provenant des patients atteints de LF, leur densité est en corrélation avec une survie globale prolongée. Cependant, ces cellules peuvent également exprimer la protéine du récepteur de mort programmé (PD1) ou le gène d'activation des lymphocytes 3 (LAG3), qui sont associés à l'épuisement des cellules T et à des mauvais résultats cliniques chez les patients atteints de LF (108). Un autre mécanisme d'épuisement des cellules T est l'expression du marqueur de sénescence CD57, en effet les cellules T CD57<sup>+</sup> sont incapables de proliférer et ne réagissent

pas aux cellules du LF (109). Il est intéressant de noter que les cellules LF peuvent induire des changements, affectant l'activité anti-tumorale des cellules T qui infiltrent les tumeurs. Les cellules LF peuvent en effet affecter la transcription de gènes importants (*PMCH*, *ETV1*, *TNFRSF9*) dans les lymphocytes CD4 et CD8 infiltrant les tumeurs influençant leur motilité et leur survie (110). Les cellules NK pourraient également être inhibées dans les niches cellulaires, soit par l'expression de PD1, soit par interaction avec le transcrit de type lectine 1. Cette lectine est le ligand du récepteur inhibiteur des NK, le CD161 qui s'est révélé fortement exprimé par les cellules B du LF.

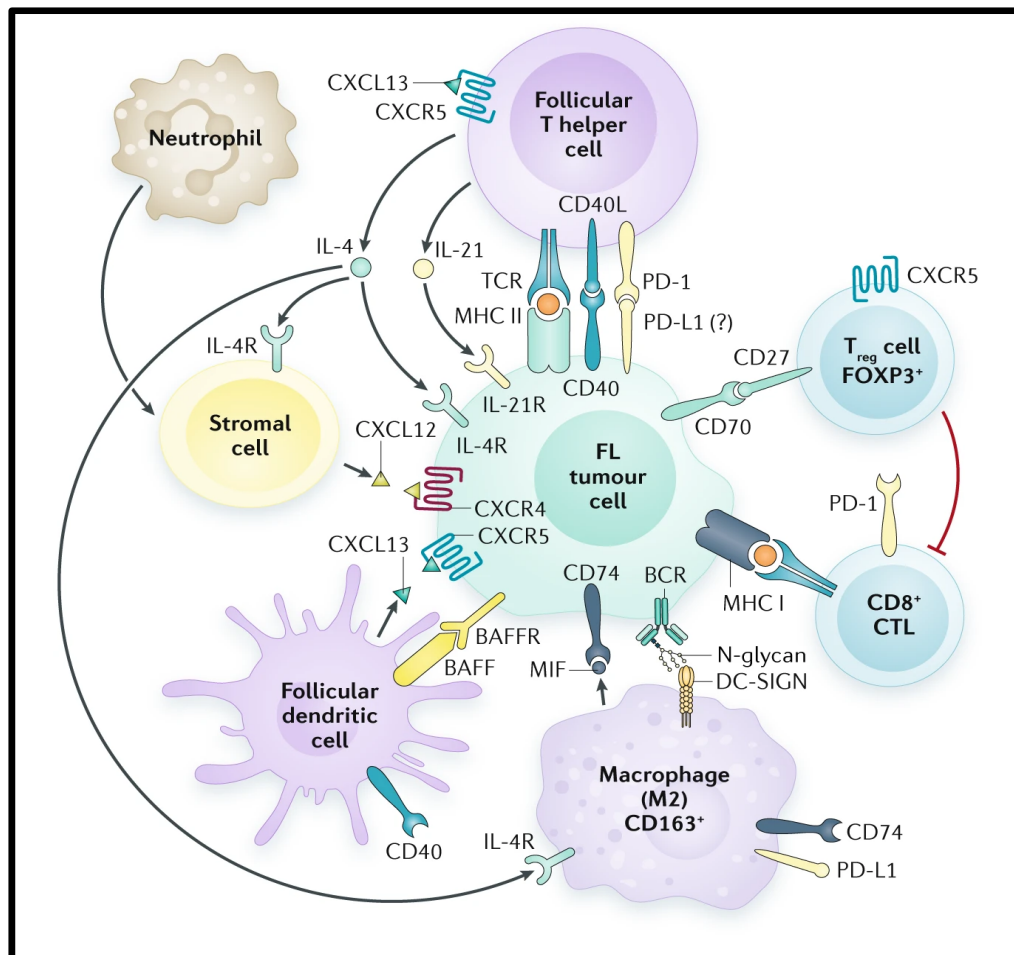
### c. L'infiltration par des cellules immunosuppressives

On observe une expansion des cellules immunosuppressives, notamment les lymphocytes T régulatrices (LT<sub>REG</sub>), les cellules myéloïdes suppressives (CMS) et les cellules stromales.

Les LT<sub>REG</sub> CD25<sup>+</sup> représente une population cellulaire quantitativement plus importante dans le microenvironnement du LF par rapport à un tissu réactionnel normal. On note une proportion importante de cellules T régulatrices folliculaires CXRC5<sup>+</sup> ICOS<sup>+</sup> PD1<sup>+</sup> (LT<sub>FR</sub>) au sein de cette population cellulaire. Des taux élevés de LT<sub>REG</sub> dans les follicules tumoraux sont associés à des résultats cliniques mauvais suggérant qu'ils sont probablement la médiation de l'immunosuppression chez les patients (111). Dans les CG normaux, les LT<sub>FR</sub> interfèrent avec les LT<sub>FH</sub>, contrôlant ainsi négativement la réaction des CG. Dans le LF, les LT<sub>FR</sub> sont capable d'inhiber les LT CD4<sup>+</sup>, dont les LT<sub>FH</sub>, et les cellules B du LF ce qui suggère qu'elles pourraient avoir une activité anti-tumorale (107). Ils interagissent avec les cellules tumorales via ICOS et son ligand ICOSL, conduisant à une diminution secondaire des niveaux d'ICOSL produits par les cellules tumorales (112). A l'inverse, les LT<sub>FR</sub> pourraient également inhiber les LT cytotoxiques présent aux abords du CG entraînant un environnement propice à l'échappement immunitaire. Il semblerait que le changement de phénotype des cellules T vers les LT<sub>FR</sub> soit régulé par les cellules B malignes par la production de CCL22 qui recrute les LT<sub>REG</sub>, par l'expression de CD70 et par ICOSL (Figure 11) (107). En effet, les cellules T<sub>FH</sub> intra-tumorales favoriseraient indirectement l'échappement immunitaire et la croissance de la tumeur en induisant l'expression de CCL17 et CCL22 par les cellules LF, ce qui conduit au recrutement de LT<sub>REG</sub> dans le microenvironnement tumoral (113).

De plus, les CMS jouent également un rôle dans l'échappement au contrôle du système immunitaire dans les lymphomes B. Un nombre élevé de cellules myéloïdes circulantes, y compris les monocytes et les neutrophiles, et un niveau élevé de marqueurs liés aux fonctions suppressives myéloïdes, comme PDL1 soluble ou IL10, est associé à un mauvais pronostic. Il existe deux sous-ensembles, les CMS monocytaires (M) et les CMS granulocytaires (G), circulant dans le sang périphérique des patients et pouvant jouer des fonctions immunosuppressives puissantes (15).

Enfin, les cellules stromales présentes au sein de la tumeur du LF, sur-expriment la prostaglandine E2 (107). Ce facteur immunosuppresseur favorise la croissance des cellules B malignes par le recrutement des LT<sub>REG</sub> et des CMS.



**Figure 11.** Le microenvironnement du lymphome folliculaire dans les organes lymphoïdes secondaires (7).

### 3.3 L'interaction entre le BCR et le microenvironnement

Le microenvironnement tumoral est un acteur clé dans l'activation du BCR chez les patients atteints de LF. Environ 25% des BCR des cellules malignes, essentiellement d'isotype IgG, sont supposés être auto-réactif. Le BCR des cellules B du LF est caractérisé par une pression sélective afin de conserver un isotype IgM malgré un processus actif de CSR. Le maintien de l'IgM pourrait contribuer à bloquer la cellule maligne dans un phénotype de cellules du CG-like et donc d'entraîner un risque plus élevé d'évènements génétiques supplémentaires (107). De plus, l'activation du BCR avec un isotype IgM est plus forte qu'avec un isotype IgG. L'introduction des sites de N-glycosylation, dans plus de 80% des cas de LF, permet l'ajout de glycanes inhabituels se terminant par un taux élevé de mannose. Ces BCR glycosylés permet une interaction avec le DC-SIGN à la surface des macrophages et des cellules dendritiques. Cette interaction entraîne une activation de la voie de signalisation du BCR et permet la survie des cellules malignes malgré l'absence d'antigène. Les altérations génétiques récurrentes sont donc associés à une capacité accrue des cellules malignes à interagir avec le microenvironnement (107).

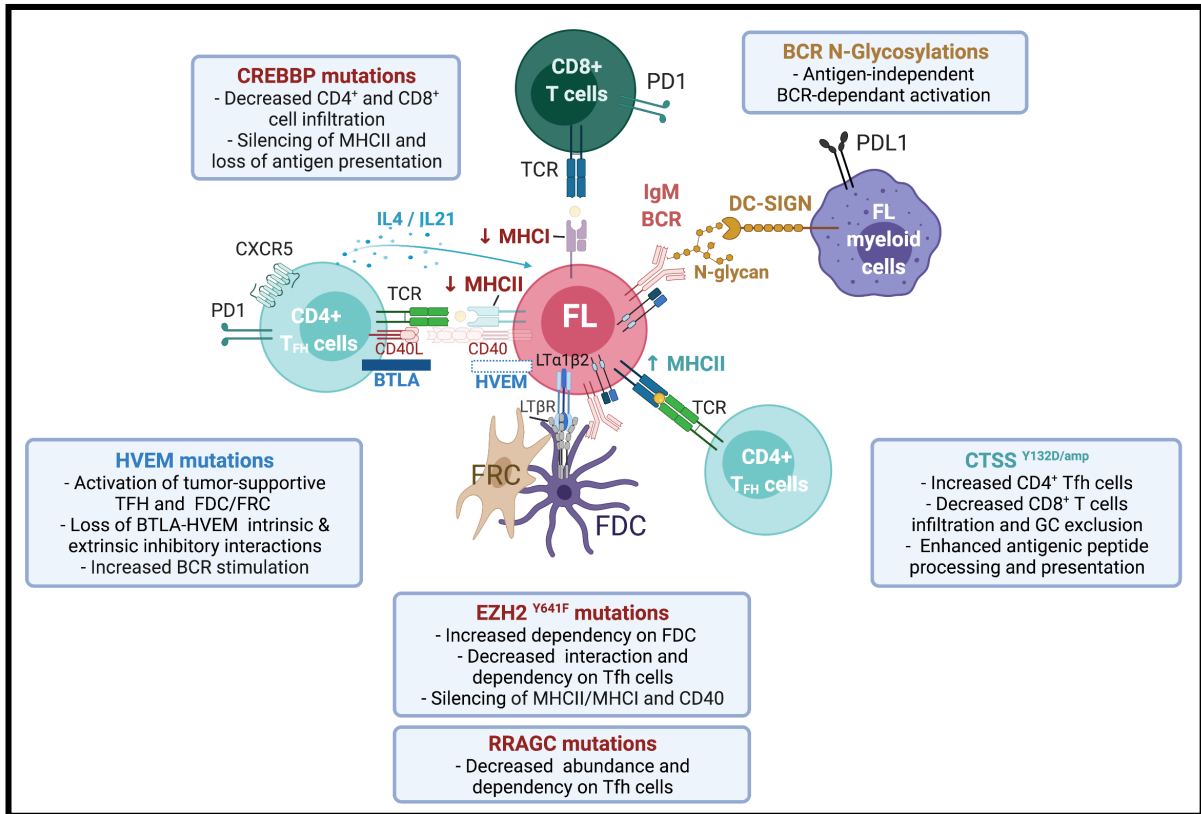
En conclusion, le microenvironnement du LF délivre une combinaison de signaux de survie et de croissance aux cellules B malignes, favorisant le développement du LF et la résistance aux médicaments. Les futurs essais cliniques devront prendre en compte le rôle crucial joué par le microenvironnement tumoral dans le LF, en ciblant un point de contrôle immunitaire pertinent et en identifiant les premiers biomarqueurs de l'activité du microenvironnement et de la réponse au traitement. Plusieurs nouveaux agents capables de cibler efficacement le microenvironnement tumoral sont désormais disponibles pour le traitement des patients atteints de LF. Ceux-ci incluent les anticorps monoclonaux anti-CD20, tels que l'obinutuzumab, les inhibiteurs de la PI3K tels que le copanlisib et l'agent immunomodulateur lénalidomide. D'autres options thérapeutiques, encore à l'étude, comprennent des modulateurs du récepteur des lymphocytes B, tels que les inhibiteurs de SYK ou les inhibiteurs de la Bruton tyrosine kinase (BTK). Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déchiffrer les fonctions complexes du microenvironnement du LF, cela mènera à terme à la découverte de nouvelles stratégies thérapeutiques intéressantes pour l'amélioration des résultats cliniques chez les patients atteints de LF.



### 3.4 Hétérogénéité du microenvironnement et lien avec la génétique des tumeurs

L'existence d'une relation directe entre des mutations génétiques spécifiques et la capacité des cellules B LF malignes à interagir avec, ou plus encore à instruire un microenvironnement spécifique n'a émergé que récemment. Suite aux études initiales décrivant la réduction de l'infiltration des cellules T chez les patients mutés *CREBBP* (114), et la capacité accrue des BCR N-glycosylés à interagir avec les macrophages associés aux tumeurs exprimant DC-SIGN (20), ce domaine de recherche a récemment émergé grâce à l'analyse détaillée de modèles de souris LF génétiquement modifiées.

Alors que l'impact de l'expression/perte d'une molécule membranaire de signalisation comme *HVEM* sur l'organisation du microenvironnement tumoral est attendu (cf II. B. 1. 2. b. TNFRS14 (*HVEM*)), d'autres événements (épi)génétiques ont été plus récemment associés à des modifications du dialogue entre les cellules B et le microenvironnement tumoral (Figure 12). En particulier, il a été démontré que les mutations de gain de fonction d'*EZH2* survenant précocement au cours de la transformation tumorale rendent les cellules indépendantes des signaux  $T_{FH}$ , tout en retenant une dépendance vis-à-vis des CDF pour s'accumuler en centrocytes (Figure 12) (115). Cette observation a été validée chez l'homme où les cellules LF humaines mutées pour *EZH2* présentent une plus grande association avec un réseau intact des CDF par rapport aux cellules LF non mutées. Des altérations de la cathepsine S (*CTSS*), qui entraînent une hyperactivité de cette protéase et une présentation accrue des antigènes par le CMH de classe II, déclenchent une accélération du développement des lymphomes chez la souris et sont associées à une infiltration accrue des cellules T  $CD4^+$ , tandis que les cellules T  $CD8^+$  sont réduites et exclues du CG (Figure 12) (116). A nouveau, les patients atteints de LF dont la cathepsine S était dérégulée présentaient une plus grande infiltration intra-folliculaire de cellules T  $CD4$ , ce qui soutient une plus forte dépendance vis-à-vis des cellules  $T_{FH}$  et un rôle clé des mutations de la cathepsine S dans la co-optation du microenvironnement tumoral dans le LF. Il est intéressant de noter que les mutations de la cathepsine S, qui modulent l'équilibre entre les cellules  $T_{FH}/CD8$ , se sont révélées mutuellement exclusives des mutations *HVEM* (116) (117). Dans l'ensemble, ces données démontrent que la génétique tumorale a un impact énorme sur la reprogrammation du microenvironnement tumoral dans le LF. Il reste à comprendre comment ces différentes mutations souvent présentes simultanément dans les cellules du LF coopèrent et quelle est in fine leur impact sur le microenvironnement tumoral.



**Figure 12.** Altérations génétiques des cellules B du LF et remodelage du microenvironnement tumoral (118).

Représentation schématique des principaux mécanismes par lesquels les altérations (épi)génétiques intrinsèques des cellules B affectent l'interaction entre le microenvironnement immunitaire et stromal et les cellules B (pré)malignes du LF pour promouvoir la lymphomagenèse. La sélection des cellules B dans la LZ CG implique la présentation des antigènes par le CMH de classe II aux cellules T CD4+ et la reconnaissance des antigènes sur les CDF par le BCR. Les cellules B tumorales utilisent plusieurs moyens pour échapper à la surveillance immunitaire : Les cellules B mutantes pour *CREBBP* entraînent la perte d'expression du CMH de classe II empêchant la présentation de l'antigène aux cellules T CD4+. Le gain de fonction de la cathepsine S (*CTSS*) permet un meilleur apprêtement des peptides antigéniques et une meilleure présentation du CMH de classe II liée à un recrutement accru des cellules T<sub>FH</sub> CD4+ de soutien de la tumeur et à l'exclusion des cellules CD8+ du CG. Les mutations d'*EZH2* reprogramment la niche du CG en atténuant la dépendance des cellules B mutantes à l'égard des cellules T CD4+ tout en gardant une forte dépendance des CDF. Les cellules B déficientes en HVEM induisent un microenvironnement favorable à la tumeur marqué par un stroma lymphoïde exacerbé et une activation des cellules T<sub>FH</sub>. L'accumulation de motifs de N-glycosylation (N-gly) introduits par hypermutation somatique dans la région variable du BCR déclenche l'activation et l'expansion du BCR par interaction avec des lectines endogènes liant le mannose comme DC-SIGN exprimée par les cellules myéloïdes infiltrant le LF, fournissant ainsi un mécanisme de soutien tumoral indépendant de la reconnaissance antigénique

## C. La cellule précurseur cancéreuse

Les deux principaux défis à relever chez les patients atteints de LF sont l'optimisation du traitement et de la stratification des patients au moment du diagnostic, notamment en identifiant les 20% des patients à haut risque de rechute et d'aborder la question des rechutes chimio-résistantes. Pour cela, il nous faut mieux définir la biologie des cellules (sous-clones) d'où émergent les rechutes, et comprendre en amont les étapes qui sous-tendent l'évolution clonale de la maladie des stades les plus précoces jusqu'au LF manifeste. L'évolution clonale du LF se met en place de manière indolente qui commence des années, voire des décennies, avant le diagnostic (118). L'apparition tardive du LF est due à l'accumulation de plusieurs éléments oncogéniques au sein des LB dès les stades les plus précoces du développement. Le LF est en effet précédé d'une phase insidieuse de croissance asymptomatique, provenant probablement de clones précurseurs largement disséminés évoluant au fil du temps. La caractéristique la plus récurrente du LF est la présence de la translocation t(14 ;18) chez plus de 90% des patients, elle est considérée comme le premier événement dans la cascade oncogénique survenant lors d'une recombinaison V(D)J fautive dans la moelle osseuse. Cependant, une grande proportion (>70%) d'individus sains sont porteurs de faibles quantités de cellules t(14 ;18)+, environ une cellule par million, dans le sang et/ou les tissus lymphoïdes qui persistent à long terme (8). La grande majorité de ces patients ne développeront jamais de LF, ce qui indique que la translocation t(14 ;18) seule est insuffisante pour entraîner la progression vers la phase tumorale de la pathologie. Ainsi, les cellules B doivent accumuler d'autres événements oncogéniques au cours de leur développement. Une étude sur une cohorte épidémiologique d'individus sains ayant subi un prélèvement de sang à l'inclusion et suivis sur plus de 20 ans a permis de comparer 165 individus qui ont développé un LF jusqu'à 20 ans après par rapport à 346 témoins sains qui n'ont pas développé cette pathologie. Pour chaque patient ayant développé un LF, des relations clonales basées sur la signature moléculaire de la translocation t(14 ;18) ont été établies entre des échantillons appariés provenant de sang périphérique et de biopsie de LF, prélevés à 10 ans d'intervalle montrant que ces cellules t(14 ;18)+ chez l'individu sain sont de réels précurseurs de la maladie (14). Cela démontre que la progression vers la phase tumorale s'est faite à partir de précurseur possédant la même translocation t(14 ;18) capable de persister à long terme dans l'organisme (118). De plus, chez environ 20% des patients « sains » qui ont ensuite développé un LF, la progression vers la pathologie est précédée par une fréquence élevée de cellules t(14 ;18)+ supérieur à 1 pour

10 000 dans le sang. Cette fréquence est associée à un risque de développer un LF 23 fois plus élevé établissant la fréquence de t(14;18) circulante comme biomarqueur prédictif de développement ultérieur de LF (14). De plus, des études génétiques d'échantillons de LF appariés au diagnostic et à la rechute ont montré que les rechutes proviennent rarement de l'évolution directe du clone dominant au moment du diagnostic, mais plutôt de l'évolution divergente de clones ancestraux ou précurseurs moins évolués (118). Le modèle actuel de lymphomagenèse folliculaire converge donc vers l'existence d'une population de précurseurs engagés à se transformer, qui sert de racine pour propager la rechute par l'intermédiaire de différents sous-clones.

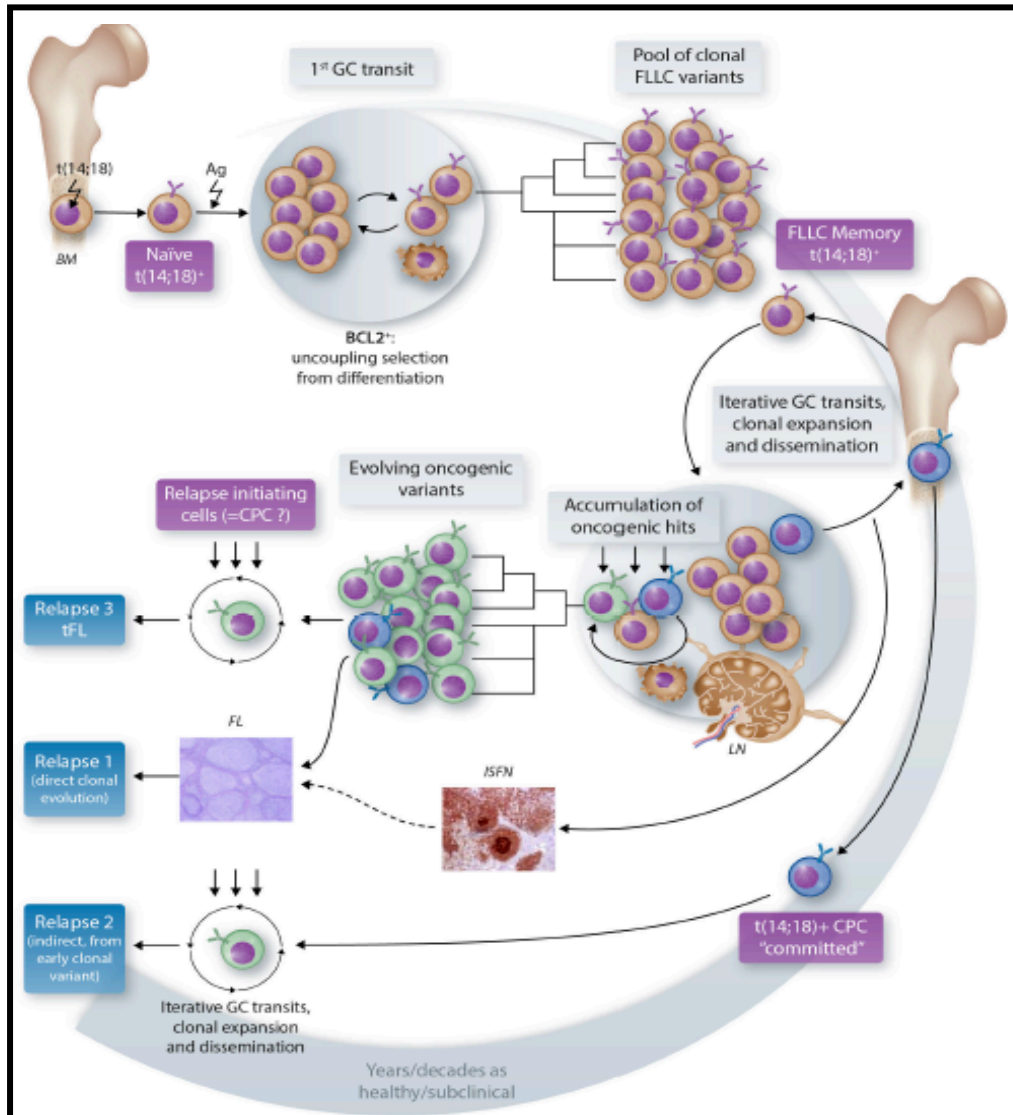
Pouvoir distinguer les individus porteurs de la translocation t(14;18) à des forts taux et donc à risque de développer un LF représente un potentiel challenge avec des perspectives sur la prévention primaire de ces maladies voire la mise en place de thérapies ciblant les phases précoces de la maladie. Le fait que de tels précurseurs puissent être retrouvés à différents stades du développement du LF, y compris lors des stades précoces en amont de la maladie, mais également engendrer les rechutes constitue un changement de paradigme fondamental dans le modèle de la pathogénèse du LF, avec un impact clinique majeur. L'apparition de rechutes récurrentes après une rémission à l'immunochimiothérapie chez les patients indique que ces traitements n'éradiquent probablement pas les sous-clones précurseurs du LF. Ainsi, la conséquence est l'existence potentielle de cellules précurseurs cancéreuses (CPC) engagées dans la lymphomagenèse chez des individus « asymptomatiques », qui finiront par évoluer vers une phase tumorale du LF (Figure 13). Une autre preuve convaincante de l'existence des CPC provient de l'apparition d'un LF de manière synchrone chez des donneurs et des receveurs 3 à 10 ans après une transplantation allogénique de cellules souches (8). Les deux clones LF du donneur et du receveur étaient clonalement liés par la même signature moléculaire de la translocation et par le même réarrangement du BCR. De plus, elles partageaient les mêmes événements génétiques, ce qui démontre qu'un transfert direct de la CPC de la moelle osseuse du donneur au receveur a donné lieu à un LF concomitant. La présence du même clone t(14;18)+ chez deux hôtes différents a fourni la preuve directe qu'un clone précurseur engagé du LF peut être présent dans le sang longtemps avant le diagnostic et être capable de redonner un LF. L'évolution clonale du LF est donc caractérisé par le fait que les cellules tumorales ne partagent qu'un ensemble restreint de mutations provenant d'une cellule ancestrale, les CPC, mais différentes par un important nombre de mutations secondaires uniques entraînant une divergence clonale. En effet, les analyses du réarrangement de VDJ et du schéma des

hypermutations somatiques du locus variable de la chaîne lourde de l'immunoglobuline ont démontré que les clones de LF au diagnostic et à la transformation ont le plus souvent une origine commune et qu'elles proviennent probablement d'une évolution ramifiée de la CPC (Figure 13).

Le LF est une pathologie présentant de multiples mutations somatiques avec un enrichissement en mutations des régulateurs épigénétiques de la chromatine, retrouvés dans 90% des cas de LF en association avec la t(14 ;18) et combine ainsi une forte dépendance au microenvironnement (118). Dans le modèle actuel de la lymphomagenèse des LF, les CG sont au cœur de la génération des clones précurseurs et de leur évolution vers phase tumorale du LF. En effet, l'expression constitutive de BCL2, secondaire à la translocation t(14 ;18), permet la différenciation des cellules pré-B en cellules B naïves et la sortie de la moelle osseuse en tant que cellules B matures naïves. La stimulation chronique de ces cellules B t(14;18)+ par des antigènes récurrents au cours de la vie provoquerait des entrées itératives dans les CG, générant de multiples cycles d'expansion clonale et un processus de diversification des anticorps, et augmentant ainsi le risque d'accumulation d'événements oncogéniques secondaires. Les cellules t(14;18)+ exposées aux CG se disséminent très tôt dans tout l'organisme, y compris dans la moelle osseuse, pour devenir des précurseurs engagés. Comme certains de ces cellules pré-malignes pourraient être à l'origine des rechutes, une meilleure caractérisation des clones précurseurs du LF est essentielle. La pathogenèse des LF précoces est moins claire et peu étudiée dans les cas t(14;18) négatifs qui représentent environ < 30-50% des LF de stade I/II et 15% des LF au stade III/IV. Les événements génétiques précoces sont acquis au cours des premières étapes et partagés par toute la descendance, comme par exemple les mutations de *CREBBP* ou t(14;18), tandis que les autres mutations reflètent l'évolution séparée des différents clones (119) (Figure 13). La dissémination de ces cellules t(14 ;18) et leur capacité à ré-entrer de manière itérative dans les CG est probablement un des mécanismes qui sous-tend l'hétérogénéité sous-clonale mais aussi transcriptomique observée au diagnostic expliquant la nature prolongée et incurable de la maladie. De plus, cette évolution clonale du LF conduit à une hétérogénéité clonale inter-patient et intra-patient.

Dans l'ensemble, les données disponibles convergent vers un scénario de lymphomagenèse du LF selon lequel le clone retrouvé au diagnostic, à la TH et aux rechutes proviennent toutes d'un « réservoir caché » de CPC engagées dans l'évolution vers le LF, résistantes aux thérapies actuelles et pouvant disséminer largement pendant des décennies chez

des patients asymptomatiques (8). Les principales mutations précoces des CPC (en dehors de la t(14;18)) et déduites des analyses génétiques sont celles qui impliquent les régulateurs épigénétiques, comme *KMT2D* et *CREBBP*, et l'acquisition de sites de N-glycosylation au niveau du BCR. En outre, les rares cas de transformation de LF en leucémie lymphoblastique aiguë de type B ou en sarcome histiocytaire, qui sont liés à un clone où la translocation t(14;18) est partagée, suggèrent que la population de précurseurs pourrait se différencier en entités lymphoïdes immatures ou se trans-différencier en entités non lymphoïdes, respectivement, et suggèrent donc que les CPC possèdent une plasticité phénotypique (120). Il semble donc que chez une partie des individus, l'engagement dans la phase tumorale du LF est associé à la prolifération et à la libération de clones précurseurs des tissus vers le sang, et probablement vers les niches de la moelle osseuse, puisque les fréquences de cellules t(14;18)+ élevées dans le sang sont corrélées aux fréquences t(14;18)+ élevées dans la moelle osseuse. À ce jour, les CPC restent une population cellulaire qui n'a jamais été isolée du fait de sa faible fréquence et qui échappe également aux stratégies thérapeutiques. Ces cellules représentent probablement un sous-ensemble mineur de la population tumorale qui pourrait être absente de la masse ou être indétectable avec les méthodes existantes. L'éradication des CPC est une promesse de prévention des rechutes ou des TH, voire de guérison de la maladie (120). Par conséquent, le phénotype précis, la niche et les vulnérabilités thérapeutiques de cette population putative représentent un domaine d'intérêt intense pour la recherche.



**Figure 13.** Les différentes étapes représentant la lymphomagenèse du lymphome folliculaire (8).

La complexité biologique du lymphome folliculaire est décrite comme un processus se déroulant le long des stades de différenciation des cellules B pendant des années/décennies. Plusieurs intermédiaires « pré malins » ont été identifiés en tant que « précurseurs » ou « CPC », chacun d'entre eux pouvant être à l'origine des rechutes. La caractérisation des différentes entités de CPC (moléculaire/phénotypique/fonctionnel) est un défi majeur actuel. Les flèches représentent la trajectoire supposée des cellules précurseurs du lymphome folliculaire le long de la différenciation normale des cellules B. BM = moelle osseuse ; CPC = cellules précurseurs engagés ; GC = centre germinatif ; FLLC = cellules FL-like ; ISFN = in situ néoplasie folliculaire ; LN = ganglion lymphatique ; tFL = lymphome folliculaire transformé. Schéma adapté (118).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'introduction du rituximab dans l'arsenal thérapeutique contre le LF donne des rémissions plus longues, probablement en limitant/contrôlant le pool de précurseurs de LF ou leurs sous-clones descendants. La réponse au problème des rechutes est intimement liée à l'éradication de ces précurseurs engagés qui échappent à la thérapie pour une raison inconnue, et ne sera pas obtenue avec des thérapies ciblant les altérations génétiques tardives présentes uniquement dans les sous-clones de LF évolués. La caractérisation et la cartographie du paysage mutationnel des précurseurs génétiques est un défi majeur actuellement en cours dans plusieurs laboratoires de recherche. La présence de mutations précoces des gènes modificateurs de la chromatine dans les précurseurs suggère que le ciblage de ces mutations pourrait être intéressant et des thérapies épigénétiques dont les inhibiteurs d'histone déacétylase (HDAC) pourraient restaurer la perte de fonction de *CREBBP*. Ainsi, la caractérisation précise de ces cellules tant sur un versant génétique que sur un versant transcriptomique permettrait de proposer une approche ciblée pour éradiquer cette population cellulaire et prévenir les rechutes. L'association de médicaments épigénétiques avec des immunothérapies ciblées pourrait constituer une bonne approche pour éradiquer les précurseurs du LF. Les futurs essais devront intégrer de nouveaux outils pour surveiller les précurseurs du LF et les cellules initiatrices de rechute dans le sang et la moelle osseuse.



## BIBLIOGRAPHIE

1. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2375–90.
2. Linet MS, Vajdic CM, Morton LM, de Roos AJ, Skibola CF, Boffetta P, et al. Medical History, Lifestyle, Family History, and Occupational Risk Factors for Follicular Lymphoma: The InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *JNCI Monogr*. 2014 Aug 1;2014(48):26–40.
3. Sabattini E, Bacci F, Sagranso C, Pileri SA. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues in 2008: an overview. *Pathologica*. 2010 Jun;102(3):83–
4. SPF. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 - Tumeurs solides : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim [Internet]. [cited 2021 Sep 22]. Available from: <https://www.santepubliquefrance.fr/import/estimations-nationales-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-france-metropolitaine-entre-1990-et-2018-tumeurs-solides-etude-a-partir>
5. Méndez M, Torrente M, Sánchez-Beato M, González-Rincón J, Royuela A, Gómez-Codina J, et al. Transformed follicular lymphoma in the rituximab era: A report from the Spanish Lymphoma Oncology Group. *Hematol Oncol*. 2019 Apr;37(2):143–50.
6. Ng ZY, Leslie C, Cheah CY. Follicular Lymphoma: Epidemiology, Pathogenesis and Initiating Events. In: Fowler NH, editor. *Follicular Lymphoma* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2021 May 30]. p. 3–21. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2\\_1](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2_1)
7. Teras LR, DeSantis CE, Cerhan JR, Morton LM, Jemal A, Flowers CR. 2016 US lymphoid malignancy statistics by World Health Organization subtypes: 2016 US Lymphoid Malignancy Statistics by World Health Organization Subtypes. *CA Cancer J Clin*. 2016 Nov 12;66(6):443–59.
8. Carbone A, Roulland S, Gloghini A, Younes A, von Keudell G, López-Guillermo A, et al. Follicular lymphoma. *Nat Rev Dis Primer*. 2019 Dec;5(1):83.
9. Cocco P, t'Mannetje A, Fadda D, Melis M, Becker N, de Sanjose S, et al. Occupational exposure to solvents and risk of lymphoma subtypes: results from the Epilymph case-control study. *Occup Environ Med*. 2010 May 1;67(5):341–7.
10. Roulland S, Lebailly P, Lecluse Y, Briand M, Pottier D, Gauduchon P. Characterization of the t(14;18) BCL2-IGH translocation in farmers occupationally exposed to pesticides. *Cancer Res*. 2004 Mar 15;64(6):2264–9.
11. Skibola CF, Holly EA, Forrest MS, Hubbard A, Bracci PM, Skibola DR, et al. Body mass index, leptin and leptin receptor polymorphisms, and non-hodgkin lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. 2004 May;13(5):779–86.
12. Sarkozy C, Baseggio L, Feugier P, Callet-Bauchu E, Karlin L, Seymour JF, et al. Peripheral blood involvement in patients with follicular lymphoma: a rare disease manifestation associated with poor prognosis. *Br J Haematol*. 2014 Mar;164(5):659–67.

13. Sébahoun G. Les lymphomes. Paris: Bioforma; 2010.
14. 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.
15. Brisou G. Rôle de l'inactivation du régulateur épigénétique KMT2D dans le développement du lymphome folliculaire. Aix-Marseille Université; 2020.
16. Jegalian AG, Eberle FC, Pack SD, Mirvis M, Raffeld M, Pittaluga S, et al. Follicular lymphoma in situ: clinical implications and comparisons with partial involvement by follicular lymphoma. *Blood*. 2011 Sep 15;118(11):2976–84.
17. Sakhdari A, Miranda RN. Pathologic Features, Grading, and Variants of Follicular Lymphoma. In: Fowler NH, editor. *Follicular Lymphoma* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2021 May 30]. p. 23–45. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2\\_2](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2_2)
18. Mamessier E, Song JY, Eberle FC, Pack S, Drevet C, Chetaille B, et al. Early lesions of follicular lymphoma: a genetic perspective. *Haematologica*. 2014 Mar 1;99(3):481–8.
19. Mamessier E, Drevet C, Broussais-Guillaumot F, Mollichella M-L, Garciaz S, Roulland S, et al. Contiguous follicular lymphoma and follicular lymphoma in situ harboring N-glycosylated sites. *Haematologica*. 2015 Apr 1;100(4):e155–7.
20. Amin R, Mourcin F, Uhel F, Pangault C, Ruminy P, Dupré L, et al. DC-SIGN-expressing macrophages trigger activation of mannosylated IgM B-cell receptor in follicular lymphoma. *Blood*. 2015 Oct 15;126(16):1911–20.
21. Schmidt J, Ramis-Zaldivar JE, Bonzheim I, Steinhilber J, Müller I, Haake A, et al. CREBBP gene mutations are frequently detected in in situ follicular neoplasia. *Blood*. 2018 Dec 20;132(25):2687–90.
22. Casulo C, Burack WR, Friedberg JW. Transformed follicular non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2015 Jan 1;125(1):40–7.
23. Wafa A, Moassass F, Liehr T, Bhatt S, Aljapawe A, Al Achkar W. A high complex karyotype involving eleven chromosomes including three novel chromosomal aberrations and monoallelic loss of TP53 in case of follicular lymphoma transformed into B-cell lymphoblastic leukemia. *Mol Cytogenet*. 2016 Dec;9(1):91.
24. Kridel R, Chan FC, Mottok A, Boyle M, Farinha P, Tan K, et al. Histological Transformation and Progression in Follicular Lymphoma: A Clonal Evolution Study. *Mardis ER, editor. PLOS Med*. 2016 Dec 13;13(12):e1002197.
25. O'Shea D, O'Riain C, Taylor C, Waters R, Carlotti E, MacDougall F, et al. The presence of TP53 mutation at diagnosis of follicular lymphoma identifies a high-risk group of patients with shortened time to disease progression and poorer overall survival. *Blood*. 2008 Oct 15;112(8):3126–9.
26. Scherer F, Kurtz DM, Newman AM, Stehr H, Craig AFM, Esfahani MS, et al. Distinct biological subtypes and patterns of genome evolution in lymphoma revealed by circulating tumor DNA. *Sci Transl Med*. 2016 Nov 9;8(364):364ra155-364ra155.
27. Sujobert P, Salles G. Actualités dans le lymphome folliculaire. *Presse Médicale*. 2019 Jul;48(7–8):850–8.
28. Weltgesundheitsorganisation. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th edition. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA,

Stein H, et al., editors. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017. 585 p. (World Health Organization classification of tumours).

29. Traitements actuels du lymphome folliculaire [Internet]. *Revue Medicale Suisse*. [cited 2021 Sep 5]. Available from: <https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2009/revue-medicale-suisse-214/traitements-actuels-du-lymphome-folliculaire>

30. Nadel B, Marculescu R, Le T, Rudnicki M, Böcskör S, Jäger U. Novel Insights into the Mechanism of t(14;18)(q32;q21) Translocation in Follicular Lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2001;42(6):1181–94.

31. Solal-Celigny P. Follicular Lymphoma International Prognostic Index. *Blood*. 2004 Sep 1;104(5):1258–65.

32. Johnston A, Trotman J. Prognostic Factors in Follicular Lymphoma. In: Fowler NH, editor. *Follicular Lymphoma* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2021 May 30]. p. 83–99. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2>

33. Buske C, Hoster E, Dreyling M, Hasford J, Unterhalt M, Hiddemann W, et al. The Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI) separates high-risk from intermediate- or low-risk patients with advanced-stage follicular lymphoma treated front-line with rituximab and the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) with respect to treatment outcome. *Blood*. 2006 Sep 1;108(5):1504–8.

34. Federico M, Bellei M, Marcheselli L, Luminari S, Lopez-Guillermo A, Vitolo U, 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*. 2009 Sep 20;27(27):4555–62.

35. Pastore A, Jurinovic V, Kridel R, Hoster E, Staiger AM, Szczepanowski M, et al. Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *Lancet Oncol*. 2015 Sep;16(9):1111–

36. Brice P, Bastion Y, Lepage E, Brousse N, Haioun C, Moreau P, et al. Comparison in low-tumor-burden follicular lymphomas between an initial no-treatment policy, prednimustine, or interferon alfa: a randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires. *Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. J Clin Oncol*. 1997 Mar;15(3):1110–7.

37. 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–

38. Dreyling M, Ghielmini M, Rule S, Salles G, Vitolo U, Ladetto M. Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2016 Sep;27:v83–90.

39. Cohen JB, Kahl BS. Current Management and Novel Approaches to the Management of Follicular Lymphoma. In: Fowler NH, editor. *Follicular Lymphoma* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2021 May 30]. p. 119–34. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2\\_7](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2_7)

40. Milpied P, Gandhi AK, Cartron G, Pasqualucci L, Tarte K, Nadel B, et al. Follicular lymphoma dynamics. In: *Advances in Immunology* [Internet]. Elsevier; 2021 [cited 2021 Sep 2]. p. 43–103. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S006527762100016X>

41. Morschhauser F, Fowler NH, Feugier P, Bouabdallah R, Tilly H, Palomba ML, et al. Rituximab plus Lenalidomide in Advanced Untreated Follicular Lymphoma. *N Engl J Med*. 2018 Sep 6;379(10):934–47.
42. Chaekal O, Strati P, van Besien K. Cellular Therapy for Follicular Lymphoma. In: Fowler NH, editor. *Follicular Lymphoma* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2021 May 30]. p. 165–86. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2\\_9](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2_9)
43. Nastoupil LJ. Molecular Targeting in Follicular Lymphoma. In: Fowler NH, editor. *Follicular Lymphoma* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2021 May 30]. p. 207–18. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2\\_11](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2_11)
44. Villasboas JC, Nowakowski GS. Antibody Therapy in Follicular Lymphoma. In: Fowler NH, editor. *Follicular Lymphoma* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2021 May 30]. p. 189–206. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2\\_10](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2_10)
45. Leukam MJ, Smith SM. Transformed Follicular Lymphoma. In: Fowler NH, editor. *Follicular Lymphoma* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2021 May 30]. p. 135–63. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2\\_8](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2_8)
46. Hoffmann-La Roche. A Phase 1B Study Evaluating Glofitamab (RO7082859) in Combination With Rituximab (R) or Obinutuzumab (G) Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone (CHOP) in Participants With Relapsed or Refractory Non-Hodgkin Lymphoma (R/R NHL) or in Participants With Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL) [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2021 Aug [cited 2021 Sep 1]. Report No.: NCT03467373. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03467373>
47. Cooper MD. The early history of B cells. *Nat Rev Immunol*. 2015 Mar;15(3):191–7.
48. Bonaud A. Maturation finale des lymphocytes B: de la commutation de classe aux conséquences pathologiques de la production d'immunoglobulines anormales. Université de Limoges; 2015.
49. Raff MC, Megson M, Owen JJT, Cooper MaxD. Early production of intracellular IgM by B-lymphocyte precursors in mouse. *Nature*. 1976 Jan;259(5540):224–6.
50. Roth DB. V(D)J Recombination: Mechanism, Errors, and Fidelity. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2014 Dec 10 [cited 2020 Mar 29];2(6). Available from: <http://www.asmscience.org/content/journal/microbiolspec/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0041-2014>
51. Cyster JG, Allen CDC. B Cell Responses: Cell Interaction Dynamics and Decisions. *Cell*. 2019 Apr;177(3):524–40.
52. Novak R, Jacob E, Haimovich J, Avni O, Melamed D. The MAPK/ERK and PI(3)K Pathways Additively Coordinate the Transcription of Recombination-Activating Genes in B Lineage Cells. *J Immunol*. 2010 Sep 15;185(6):3239–47.
53. Lewis SM, Williams A, Eisenbarth SC. Structure and function of the immune system in the spleen. *Sci Immunol*. 2019 Mar 1;4(33):eaau6085.
54. Rodda LB, Bannard O, Ludewig B, Nagasawa T, Cyster JG. Phenotypic and Morphological Properties of Germinal Center Dark Zone *Cxcl12* -Expressing Reticular Cells. *J Immunol*. 2015 Nov 15;195(10):4781–91.
55. Grant SM, Lou M, Yao L, Germain RN, Radtke AJ. The lymph node at a glance – how

- spatial organization optimizes the immune response. Lennon-Duménil A-M, editor. *J Cell Sci*. 2020 Mar 1;133(5):jcs241828.
56. Batista FD, Harwood NE. The who, how and where of antigen presentation to B cells. *Nat Rev Immunol*. 2009 Jan;9(1):15–27.
  57. Cyster JG, Dang EV, Reboldi A, Yi T. 25-Hydroxycholesterols in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*. 2014 Nov;14(11):731–43.
  58. Kurosaki T, Shinohara H, Baba Y. B Cell Signaling and Fate Decision. *Annu Rev Immunol*. 2010 Mar;28(1):21–55.
  59. Nutt SL, Hodgkin PD, Tarlinton DM, Corcoran LM. The generation of antibody-secreting plasma cells. *Nat Rev Immunol*. 2015 Mar;15(3):160–71.
  60. Victora GD, Nussenzweig MC. Germinal Centers. *Annu Rev Immunol*. 2012 Apr 23;30(1):429–57.
  61. Mesin L, Ersching J, Victora GD. Germinal Center B Cell Dynamics. *Immunity*. 2016 Sep;45(3):471–82.
  62. Dominguez-Sola D, Victora GD, Ying CY, Phan RT, Saito M, Nussenzweig MC, et al. The proto-oncogene MYC is required for selection in the germinal center and cyclic reentry. *Nat Immunol*. 2012 Nov;13(11):1083–91.
  63. Kepler TB, Perelson AS. Cyclic re-entry of germinal center B cells and the efficiency of affinity maturation. *Immunol Today*. 1993 Aug;14(8):412–5.
  64. Allen CDC, Okada T, Tang HL, Cyster JG. Imaging of Germinal Center Selection Events During Affinity Maturation. *Science*. 2007 Jan 26;315(5811):528–31.
  65. Gitlin AD, Shulman Z, Nussenzweig MC. Clonal selection in the germinal centre by regulated proliferation and hypermutation. *Nature*. 2014 May;509(7502):637–40.
  66. Victora GD, Schwickert TA, Fooksman DR, Kamphorst AO, Meyer-Hermann M, Dustin ML, et al. Germinal Center Dynamics Revealed by Multiphoton Microscopy with a Photoactivatable Fluorescent Reporter. *Cell*. 2010 Nov;143(4):592–605.
  67. Khalil AM, Cambier JC, Shlomchik MJ. B Cell Receptor Signal Transduction in the GC Is Short-Circuited by High Phosphatase Activity. *Science*. 2012 Jun 1;336(6085):1178–81.
  68. Saito M, Novak U, Piovan E, Basso K, Sumazin P, Schneider C, et al. BCL6 suppression of BCL2 via Miz1 and its disruption in diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci*. 2009 Jul 7;106(27):11294–9.
  69. Vinuesa CG, Linterman MA, Yu D, MacLennan ICM. Follicular Helper T Cells. *Annu Rev Immunol*. 2016 May 20;34(1):335–68.
  70. Shlomchik MJ, Luo W, Weisel F. Linking signaling and selection in the germinal center. *Immunol Rev*. 2019 Mar;288(1):49–63.
  71. Malisan F, Brière F, Bridon JM, Harindranath N, Mills FC, Max EE, et al. Interleukin-10 induces immunoglobulin G isotype switch recombination in human CD40-activated naive B lymphocytes. *J Exp Med*. 1996 Mar 1;183(3):937–47.
  72. Muramatsu M, Kinoshita K, Fagarasan S, Yamada S, Shinkai Y, Honjo T. Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell*. 2000 Sep 1;102(5):553–63.
  73. Roco JA, Mesin L, Binder SC, Nefzger C, Gonzalez-Figueroa P, Canete PF, et al. Class-Switch Recombination Occurs Infrequently in Germinal Centers. *Immunity*. 2019 Aug;51(2):337-350.e7.

74. Kräutler NJ, Suan D, Butt D, Bourne K, Hermes JR, Chan TD, et al. Differentiation of germinal center B cells into plasma cells is initiated by high-affinity antigen and completed by Tfh cells. *J Exp Med*. 2017 May 1;214(5):1259–67.
75. Weisel FJ, Zuccarino-Catania GV, Chikina M, Shlomchik MJ. A Temporal Switch in the Germinal Center Determines Differential Output of Memory B and Plasma Cells. *Immunity*. 2016 Jan;44(1):116–30.
76. Dogan I, Bertocci B, Vilmont V, Delbos F, Mégret J, Storck S, et al. Multiple layers of B cell memory with different effector functions. *Nat Immunol*. 2009 Dec;10(12):1292–9.
77. Iwakoshi NN, Lee A-H, Vallabhajosyula P, Otipoby KL, Rajewsky K, Glimcher LH. Plasma cell differentiation and the unfolded protein response intersect at the transcription factor XBP-1. *Nat Immunol*. 2003 Apr;4(4):321–9.
78. Shinnakasu R, Inoue T, Kometani K, Moriyama S, Adachi Y, Nakayama M, et al. Regulated selection of germinal-center cells into the memory B cell compartment. *Nat Immunol*. 2016 Jul;17(7):861–9.
79. Weisel F, Shlomchik M. Memory B Cells of Mice and Humans. *Annu Rev Immunol*. 2017 Apr 26;35(1):255–84.
80. Laidlaw BJ, Cyster JG. Transcriptional regulation of memory B cell differentiation. *Nat Rev Immunol*. 2021 Apr;21(4):209–20.
81. Allie SR, Bradley JE, Mudunuru U, Schultz MD, Graf BA, Lund FE, et al. The establishment of resident memory B cells in the lung requires local antigen encounter. *Nat Immunol*. 2019 Jan;20(1):97–108.
82. Liu Y-J, Barthélémy C, Bouteiller OD, Arpin C, Isabelle D, Banchereau J. Memory B cells from human tonsils colonize mucosal epithelium and directly present antigen to T cells by Rapid Up-Regulation of B7-1 and B7-2. *Immunity*. 1995 Mar;2(3):239–48.
83. Zuccarino-Catania GV, Sadanand S, Weisel FJ, Tomayko MM, Meng H, Kleinstein SH, et al. CD80 and PD-L2 define functionally distinct memory B cell subsets that are independent of antibody isotype. *Nat Immunol*. 2014 Jul;15(7):631–7.
84. Koike T, Harada K, Horiuchi S, Kitamura D. The quantity of CD40 signaling determines the differentiation of B cells into functionally distinct memory cell subsets. *eLife*. 2019 Jun 21;8:e44245.
85. Harms Pritchard G, Pepper M. Memory B cell heterogeneity: Remembrance of things past. *J Leukoc Biol*. 2018 Feb;103(2):269–74.
86. Mesin L, Schiepers A, Ersching J, Barbulescu A, Cavazzoni CB, Angelini A, et al. Restricted Clonality and Limited Germinal Center Reentry Characterize Memory B Cell Reactivation by Boosting. *Cell*. 2020 Jan;180(1):92-106.e11.
87. 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.
88. Kitano M, Moriyama S, Ando Y, Hikida M, Mori Y, Kurosaki T, et al. Bcl6 Protein Expression Shapes Pre-Germinal Center B Cell Dynamics and Follicular Helper T Cell Heterogeneity. *Immunity*. 2011 Jun;34(6):961–72.
89. Pasqualucci L. Molecular pathogenesis of germinal center-derived B cell lymphomas. *Immunol Rev*. 2019 Mar;288(1):240–61.
90. Luo W, Weisel F, Shlomchik MJ. B Cell Receptor and CD40 Signaling Are Rewired

- for Synergistic Induction of the c-Myc Transcription Factor in Germinal Center B Cells. *Immunity*. 2018 Feb;48(2):313-326.e5.
91. Ying CY, Dominguez-Sola D, Fabi M, Lorenz IC, Hussein S, Bansal M, et al. MEF2B mutations lead to deregulated expression of the oncogene BCL6 in diffuse large B cell lymphoma. *Nat Immunol*. 2013 Oct;14(10):1084–92.
  92. McHeyzer-Williams LJ, Milpied PJ, Okitsu SL, McHeyzer-Williams MG. Class-switched memory B cells remodel BCRs within secondary germinal centers. *Nat Immunol*. 2015 Mar;16(3):296–305.
  93. Milpied P, Cervera-Marzal I, Mollichella M-L, Tesson B, Brisou G, Traverse-Glehen A, et al. Human germinal center transcriptional programs are de-synchronized in B cell lymphoma. *Nat Immunol*. 2018 Sep;19(9):1013–24.
  94. Pasqualucci L, Bhagat G, Jankovic M, Compagno M, Smith P, Muramatsu M, et al. AID is required for germinal center–derived lymphomagenesis. *Nat Genet*. 2008 Jan;40(1):108–12.
  95. Tadros S, Green MR. Genomic Drivers in Follicular Lymphoma. In: Fowler NH, editor. *Follicular Lymphoma* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cited 2021 Jul 7]. p. 47–64. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2\\_3](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-26211-2_3)
  96. Boice M, Salloum D, Mourcin F, Sanghvi V, Amin R, Oricchio E, et al. Loss of the HVEM Tumor Suppressor in Lymphoma and Restoration by Modified CAR-T Cells. *Cell*. 2016 Oct;167(2):405-418.e13.
  97. Zhu D, McCarthy H, Ottensmeier CH, Johnson P, Hamblin TJ, Stevenson FK. Acquisition of potential N-glycosylation sites in the immunoglobulin variable region by somatic mutation is a distinctive feature of follicular lymphoma. *Blood*. 2002 Apr 1;99(7):2562–8.
  98. Coelho V, Krysov S, Ghaemmaghami AM, Emara M, Potter KN, Johnson P, et al. Glycosylation of surface Ig creates a functional bridge between human follicular lymphoma and microenvironmental lectins. *Proc Natl Acad Sci*. 2010 Oct 26;107(43):18587–92.
  99. Zhou H, Neelakantan D, Ford HL. Clonal cooperativity in heterogenous cancers. *Semin Cell Dev Biol*. 2017 Apr;64:79–89.
  100. Barreca A, Martinengo C, Annaratone L, Righi L, Chiappella A, Ladetto M, et al. Inter- and intratumoral heterogeneity of BCL2 correlates with IgH expression and prognosis in follicular lymphoma. *Blood Cancer J*. 2014 Oct;4(10):e249–e249.
  101. Qian J, Wang Q, Dose M, Pruett N, Kieffer-Kwon K-R, Resch W, et al. B Cell Super-Enhancers and Regulatory Clusters Recruit AID Tumorigenic Activity. *Cell*. 2014 Dec;159(7):1524–37.
  102. Amé-Thomas P, Tarte K. The yin and the yang of follicular lymphoma cell niches: Role of microenvironment heterogeneity and plasticity. *Semin Cancer Biol*. 2014 Feb;24:23–32.
  103. Butsch R, Lukas waelti S, Schaerer S, Braun J, Korol D, Probst-hensch N, et al. Intratumoral plasmacytoid dendritic cells associate with increased survival in patients with follicular lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2011 Jul;52(7):1230–8.
  104. Richendollar BG, Pohlman B, Elson P, Hsi ED. Follicular programmed death 1–positive lymphocytes in the tumor microenvironment are an independent prognostic factor in follicular lymphoma. *Hum Pathol*. 2011 Apr;42(4):552–7.
  105. Pangault C, Amé-Thomas P, Ruminy P, Rossille D, Caron G, Baia M, et al. Follicular lymphoma cell niche: identification of a preeminent IL-4-dependent TFH–B cell axis.

Leukemia. 2010 Dec;24(12):2080–9.

106. Yildiz M, Li H, Bernard D, Amin NA, Ouillette P, Jones S, et al. Activating STAT6 mutations in follicular lymphoma. *Blood*. 2015 Jan 22;125(4):668–79.

107. Verdière L, Mourcin F, Tarte K. Microenvironment signaling driving lymphomagenesis: *Curr Opin Hematol*. 2018 Jul;25(4):335–45.

108. Yang Z-Z, Kim HJ, Villasboas JC, Chen Y-P, Price-Troska T, Jalali S, et al. Expression of LAG-3 defines exhaustion of intratumoral PD-1+ T cells and correlates with poor outcome in follicular lymphoma. *Oncotarget*. 2017 May 29;8(37):61425–39.

109. Focosi D, Petrini M. CD57 Expression on Lymphoma Microenvironment As a New Prognostic Marker Related to Immune Dysfunction. *J Clin Oncol*. 2007 Apr 1;25(10):1289–91.

110. García-Muñoz R, Panizo C. Follicular lymphoma (FL): Immunological tolerance theory in FL. *Hum Immunol*. 2017 Feb;78(2):138–45.

111. Voo KS, Foglietta M, Percivalle E, Chu F, Nattamai D, Harline M, et al. Selective targeting of Toll-like receptors and OX40 inhibit regulatory T-cell function in follicular lymphoma: Inhibition of Regulatory T Cells in Follicular Lymphoma. *Int J Cancer*. 2014 Dec 15;135(12):2834–46.

112. Le K-S, Thibult M-L, Just-Landi S, Pastor S, Gondois-Rey F, Granjeaud S, et al. Follicular B Lymphomas Generate Regulatory T Cells via the ICOS/ICOSL Pathway and Are Susceptible to Treatment by Anti-ICOS/ICOSL Therapy. *Cancer Res*. 2016 Aug 15;76(16):4648–60.

113. Rawal S, Chu F, Zhang M, Park HJ, Nattamai D, Kannan S, et al. Cross Talk between Follicular Th Cells and Tumor Cells in Human Follicular Lymphoma Promotes Immune Evasion in the Tumor Microenvironment. *J Immunol*. 2013 Jun 15;190(12):6681–93.

114. Green MR, Kihira S, Liu CL, Nair RV, Salari R, Gentles AJ, et al. Mutations in early follicular lymphoma progenitors are associated with suppressed antigen presentation. *Proc Natl Acad Sci*. 2015 Mar 10;112(10):E1116–25.

115. Béguelin W, Teater M, Meydan C, Hoehn KB, Phillip JM, Soshnev AA, et al. Mutant EZH2 Induces a Pre-malignant Lymphoma Niche by Reprogramming the Immune Response. *Cancer Cell*. 2020 May;37(5):655-673.e11.

116. Dheilily E, Battistello E, Katanayeva N, Sungalee S, Michaux J, Duns G, et al. Cathepsin S Regulates Antigen Processing and T Cell Activity in Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer Cell*. 2020 May;37(5):674-689.e12.

117. Ortega-Molina A, Deleyto-Seldas N, Carreras J, Sanz A, Lebrero-Fernández C, Menéndez C, et al. Oncogenic Rag GTPase signalling enhances B cell activation and drives follicular lymphoma sensitive to pharmacological inhibition of mTOR. *Nat Metab*. 2019 Aug;1(8):775–89.

118. Brisou G, Nadel B, Roulland S. The Premalignant Ancestor Cell of t(14;18)+ Lymphoma. *HemaSphere*. 2021 Jun;5(6):e579.

119. 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.

120. Kumar E, Pickard L, Okosun J. Pathogenesis of follicular lymphoma: genetics to the microenvironment to clinical translation. *Br J Haematol*. 2021 Mar 10;bjh.17383.



## SERMENT DE GALIEN

*Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :*

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

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

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



## Résumé

Les lymphomes sont des cancers hématologiques qui représentent le 7<sup>ème</sup> cancer humain le plus répandu dans le monde. Le lymphome folliculaire (LF) est le deuxième lymphome le plus courant chez les adultes dans les pays occidentaux. Cette hémopathie lymphoïde dérive des cellules B du centre germinatif (CG). La lymphomagenèse est un processus dynamique débutant dans les précurseurs des cellules B, puis se développe dans les cellules du CG. Le LF débute par une phase préclinique asymptomatique avec l'apparition de la translocation t(14;18) dans plus de 80% des cas. Les cellules B porteuses de cette translocation acquièrent des altérations génétiques supplémentaires lors de leur passage au sein du CG. Ces cellules peuvent alors progresser vers la phase tumorale. Le LF est le lymphome indolent le plus fréquent, dont l'évolution est largement favorable. Bien qu'une partie des patients soit à risque de progression et de rechute entraînant une évolution défavorable. De plus, cette maladie reste incurable avec l'arsenal thérapeutique existant à ce jour. L'introduction du rituximab dans la stratégie thérapeutique a permis d'obtenir une amélioration de la survie globale. Malgré cela, cette maladie reste, à ce jour, incurable avec l'arsenal thérapeutique existant. Il n'existe également aucun moyen afin d'identifier les patients avec un risque important de rechute ou de progression. De plus, aucun traitement spécifique pour les patients présentant une progression ou une rechute de la maladie n'est disponible sur le marché. Pour relever les défis cliniques du LF, il est nécessaire de comprendre en profondeur la nature des cellules résistantes au traitement qui alimentent les rechutes, ainsi que les bases biologiques de la progression précoce de la maladie. Les progrès des méthodes et des pratiques scientifiques des dernières années ont permis d'avoir une meilleure connaissance dans le paysage épigénétique du LF, du microenvironnement tumoral et de la lymphomagenèse. L'émergence de ces nouvelles techniques d'analyses a mis en évidence un pool de cellules correspondant à un ancêtre précoce commun du LF et pouvant être responsable des rechutes : les cellules précurseurs cancéreuses. Ces cellules doivent donc être formellement identifiées et caractérisées pour pouvoir les cibler avec des approches thérapeutiques afin d'améliorer le pronostic et la survie de la maladie.

Mot-clé : Lymphome folliculaire, cellule précurseur cancéreuse, translocation, t(14;18)