

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER

FACULTÉS DE MÉDECINE

ANNÉE 2020

2020 TOU3 1595

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE

Présentée et soutenue publiquement

par

Lisa KERVAREC

le 5 Octobre 2020

APPORTS DE L'ANALYSE MOLECULAIRE DANS L'EVALUATION PRONOSTIQUE DU LYMPHOME B DIFFUS À GRANDES CELLULES

Directrice de thèse : Pr Camille LAURENT

JURY

Monsieur le Professeur Pierre BROUSSET	Président
Madame le Professeur Camille LAURENT	Assesseur
Madame le Docteur Lucie OBERIC	Assesseur
Madame le Docteur Solène EVRARD	Assesseur
Monsieur le Professeur Loïc YSEBAERT	Suppléant

TABLEAU du PERSONNEL HOSPITALO-UNIVERSITAIRE
des Facultés de Médecine de l'Université Toulouse III - Paul Sabatier
au 1^{er} septembre 2019

Professeurs Honoraires

Doyen Honoraire	M. CHAP Hugues	Professeur Honoraire	M. FREXINOS Jacques
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	Professeur Honoraire	Mme GENESTAL Michèle
Doyen Honoraire	M. LAZORTHES Yves	Professeur Honoraire	M. GERAUD Gilles
Doyen Honoraire	M. PUEL Pierre	Professeur Honoraire	M. GHISOLFI Jacques
Doyen Honoraire	M. ROUGE Daniel	Professeur Honoraire	M. GOUZI Jean-Louis
Doyen Honoraire	M. VINEL Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. GUIRAUD CHAUMEIL Bernard
Professeur Honoraire	M. ABBAL Michel	Professeur Honoraire	M. HOFF Jean
Professeur Honoraire	M. ADER Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. JOFFRE Francis
Professeur Honoraire	M. ALBAREDE Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LACOMME Yves
Professeur Honoraire	M. ARBUS Louis	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE Jacques
Professeur Honoraire	M. ARLET Jacques	Professeur Honoraire	Mme LARENG Marie-Blanche
Professeur Honoraire	M. ARLET Philippe	Professeur Honoraire	M. LARENG Louis
Professeur Honoraire	M. ARLET-SUAU Elisabeth	Professeur Honoraire	M. LAURENT Guy
Professeur Honoraire	M. ARNE Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES Franck
Professeur Honoraire	M. BARRET André	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES Yves
Professeur Honoraire	M. BARTHE Philippe	Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE Paul
Professeur Honoraire	M. BAYARD Francis	Professeur Honoraire	M. MAGNAVAL Jean-François
Professeur Honoraire	M. BOCCALON Henri	Professeur Honoraire	M. MANELFE Claude
Professeur Honoraire	M. BONAFÉ Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. MANSAT Michel
Professeur Honoraire	M. BONEU Bernard	Professeur Honoraire	M. MASSIP Patrice
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURE Jean-Paul	Professeur Honoraire	Mme MARTY Nicole
Professeur Honoraire	M. BOUTAULT Franck	Professeur Honoraire	M. MAZIERES Bernard
Professeur Honoraire	M. BUGAT Roland	Professeur Honoraire	M. MONROZIES Xavier
Professeur Honoraire	M. CAHUZAC Jean-Philippe	Professeur Honoraire	M. MOSCOVICI Jacques
Professeur Honoraire	M. CARATERO Claude	Professeur Honoraire	M. MURAT
Professeur Honoraire	M. CARLES Pierre	Professeur Honoraire	M. OLIVES Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARRIERE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. PASCAL Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARTON Michel	Professeur Honoraire	M. PESSEY Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. CATHALA Bernard	Professeur Honoraire	M. PLANTE Pierre
Professeur Honoraire	M. CHABANON Gérard	Professeur Honoraire	M. PONTONNIER Georges
Professeur Honoraire	M. CHAMONTIN Bernard	Professeur Honoraire	M. POURRAT Jacques
Professeur Honoraire	M. CHAVOIN Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. PRADERE Bernard
Professeur Honoraire	M. CLANET Michel	Professeur Honoraire	M. PRIS Jacques
Professeur Honoraire	M. CONTE Jean	Professeur Honoraire	Mme PUEL Jacqueline
Professeur Honoraire	M. COSTAGLIOLA Michel	Professeur Honoraire	M. PUEL Pierre
Professeur Honoraire	M. COTONAT Jean	Professeur Honoraire	M. PUJOL Michel
Professeur Honoraire	M. DABERNAT Henri	Professeur Honoraire	M. QUERLEU Denis
Professeur Honoraire	M. DALOUS Antoine	Professeur Honoraire	M. RAILHAC Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. DALY-SCHWEITZER Nicolas	Professeur Honoraire	M. REGIS Henri
Professeur Honoraire	M. DAVID Jean-Frédéric	Professeur Honoraire	M. REGNIER Claude
Professeur Honoraire	M. DELSOL Georges	Professeur Honoraire	M. REME Jean-Michel
Professeur Honoraire	Mme DELISLE Marie-Bernadette	Professeur Honoraire	M. ROCHE Henri
Professeur Honoraire	Mme DIDIER Jacqueline	Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI Pierre
Professeur Honoraire	M. DUCOS Jean	Professeur Honoraire	M. ROLLAND Michel
Professeur Honoraire	M. DUFFAUT Michel	Professeur Honoraire	M. ROQUE-LATRILLE Christian
Professeur Honoraire	M. DUPRE M.	Professeur Honoraire	M. RUMEAU Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. DURAND Dominique	Professeur Honoraire	M. SALVADOR Michel
Professeur Honoraire associé	M. DUTAU Guy	Professeur Honoraire	M. SALVAYRE Robert
Professeur Honoraire	M. ESCANDE Michel	Professeur Honoraire	M. SARRAMON Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. ESCHAPASSE Henri	Professeur Honoraire	M. SIMON Jacques
Professeur Honoraire	M. ESCOURROU Jean	Professeur Honoraire	M. SUC Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. ESQUERRE J.P.	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT Jean-Paul
Professeur Honoraire	M. FABIÉ Michel	Professeur Honoraire	M. TKACZUK Jean
Professeur Honoraire	M. FABRE Jean	Professeur Honoraire	M. TREMOULET Michel
Professeur Honoraire	M. FOURNIAL Gérard	Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE Pierre
Professeur Honoraire	M. FOURNIE Bernard	Professeur Honoraire	M. VAYSSE Philippe
Professeur Honoraire	M. FOURTANIER Gilles	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE Christian
Professeur Honoraire	M. FRAYSSE Bernard	Professeur Honoraire	M. VOIGT Jean-Jacques

Professeurs Émérites

Professeur ADER Jean-Louis	Professeur JOFFRE Francis
Professeur ALBAREDE Jean-Louis	Professeur LAGARRIGUE Jacques
Professeur ARBUS Louis	Professeur LARENG Louis
Professeur ARLET-SUAU Elisabeth	Professeur LAURENT Guy
Professeur BOCCALON Henri	Professeur LAZORTHES Yves
Professeur BONEU Bernard	Professeur MAGNAVAL Jean-François
Professeur CARATERO Claude	Professeur MANELFE Claude
Professeur CHAMONTIN Bernard	Professeur MASSIP Patrice
Professeur CHAP Hugues	Professeur MAZIERES Bernard
Professeur CONTE Jean	Professeur MOSCOVICI Jacques
Professeur COSTAGLIOLA Michel	Professeur RISMANN Pascal
Professeur DABERNAT Henri	Professeur ROQUES-LATRILLE Christian
Professeur FRAYSSE Bernard	Professeur SALVAYRE Robert
Professeur DELISLE Marie-Bernadette	Professeur SARRAMON Jean-Pierre
Professeur GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	Professeur SIMON Jacques

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-RANGUEIL

133, route de Narbonne - 31062 TOULOUSE Cedex

Doyen : Elie SERRANO

P.U. - P.H.

P.U. - P.H.

Classe Exceptionnelle et 1^{ère} classe

2^{ème} classe

M. ARBUS Christophe	Psychiatrie	M. AUSSEL Jérôme	Biochimie et biologie moléculaire
M. ACAR Philippe	Pédiatrie	M. BERRY Antoine	Parasitologie
M. ACCADBLED Franck	Chirurgie Infantile	M. BOUNES Vincent	Médecine d'urgence
M. ALRIC Laurent (C.E)	Médecine Interne	Mme BOURNET Barbara	Gastro-entérologie
Mme ANDRIEU Sandrine	Epidémiologie	M. CHAPUT Benoit	Chirurgie plastique et des brûlés
M. ARNAL Jean-François	Physiologie	Mme DALENC Florence	Cancérologie
Mme BERRY Isabelle (C.E)	Biophysique	M. DECRAMER Stéphane	Pédiatrie
M. BONNEVILLE Fabrice	Radiologie	Mme FARUCH-BILFELD Marie	Radiologie et Imagerie Médicale
M. BUJAN Louis (C. E)	Urologie-Andrologie	M. FAGUER Stanislas	Néphrologie
Mme BURA-RIVIERE Alessandra	Médecine Vasculaire	M. FRANCHITTO Nicolas	Addictologie
M. BUBCAIL Louis (C.E)	Hépatogastro-entérologie	M. GARRIDO-STOMVHAS Ignacio	Chirurgie Plastique
M. CANTAGREL Alain (C.E)	Rhumatologie	M. GATIMEL Nicolas	Médecine de la reproduction
M. CARON Philippe (C.E)	Endocrinologie	Mme LAPRIE Anne	Radiothérapie
M. CHAUFOUR Xavier	Chirurgie Vasculaire	M. LAURENT Camille	Anatomie Pathologique
M. CHAYNES Patrick	Anatomie	M. LE CAIGNEC Cédric	Génétique
M. CHIRON Philippe (C.E)	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie	M. MARCHEIX Bertrand	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
M. CONSTANTIN Arnaud	Rhumatologie	M. MEYER Nicolas	Dermatologie
M. COURBON Frédéric	Biophysique	M. MUSCARI Fabrice	Chirurgie Digestive
Mme COURTADE SAIDI Monique	Histologie Embryologie	M. REINA Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M. DAMBRIN Camille	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire	M. SILVA SIFONTES Stein	Réanimation
M. DELABESSE Eric	Hématologie	M. SOLER Vincent	Ophthalmologie
M. DELOBEL Pierre	Maladies Infectieuses	Mme SOMMET Agnès	Pharmacologie
M. DELOIRD Jean-Pierre	Cancérologie	Mme SOTO-MARTIN Maria-Eugénia	Gériatrie et biologie du vieillissement
M. DIDIER Alain (C.E)	Pneumologie	M. TACK Ivan	Physiologie
Mme DULY-SOUHANICK Béatrice (C.E)	Thérapeutique	M. VERGEZ Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
M. ELBAZ Meyer	Cardiologie	M. YSEBAERT Loïc	Hématologie
M. GALINIER Michel (C.E)	Cardiologie		
M. GLOCK Yves (C.E)	Chirurgie Cardio-Vasculaire		
Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel	Anatomie Pathologique		
M. GOURDY Pierre	Endocrinologie		
M. GRAND Alain (C.E)	Epidémiologie, Eco. de la Santé et Prév.	P.U. Médecine générale	
M. GROLLEAU RADUX Jean-Louis (C.E)	Chirurgie plastique	Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve	
Mme GUIMBAUD Rosine	Cancérologie		
Mme HANAIRE Hélène (C.E)	Endocrinologie		
M. HUYGHE Eric	Urologie		
M. KAMAR Nassim (C.E)	Néphrologie	Professeur Associé de Médecine Générale	
M. LARRUE Vincent	Neurologie	M. BOYER Pierre	
M. LEVADE Thierry (C.E)	Biochimie	M. STILLMUNKES André	
M. MALECAZE François (C.E)	Ophthalmologie		
M. MARQUE Philippe	Médecine Physique et Réadaptation		
M. MAURY Jean-Philippe	Cardiologie		
Mme MAZEREEUW Juliette	Dermatologie		
M. MINVILLE Vincent	Anesthésiologie Réanimation		
M. OTAL Philippe	Radiologie		
M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)	Psychiatrie Infantile		
M. RITZ Patrick (C.E)	Nutrition		
M. ROLLAND Yves (C.E)	Gériatrie		
M. ROUGE Daniel (C.E)	Médecine Légale		
M. ROUSSEAU Hervé (C.E)	Radiologie		
M. ROUX Franck-Emmanuel	Neurochirurgie		
M. SAILLER Laurent	Médecine Interne		
M. SCHMITT Laurent (C.E)	Psychiatrie		
M. SENARD Jean-Michel (C.E)	Pharmacologie		
M. SERRANO Elie (C.E)	Oto-rhino-laryngologie		
M. SOULAT Jean-Marc	Médecine du Travail		
M. SOULIE Michel (C.E)	Urologie		
M. SUC Bertrand	Chirurgie Digestive		
Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)	Pédiatrie		
Mme URC-COSTE Emmanuelle	Anatomie Pathologique		
M. VAYSSIERE Christophe	Gynécologie Obstétrique		
M. VELLAS Bruno (C.E)	Gériatrie		

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-PURPAN

37 allées Jules Guesde - 31000 TOULOUSE		Doyen : Didier CARRIE	
P.U. - P.H.		P.U. - P.H.	
Classe Exceptionnelle et 1 ^{ère} classe		2 ^{ème} classe	
M. ADOUE Daniel (C.E)	Médecine interne, Gériatrie	Mme BONGARD Vanina	Epidémiologie
M. AMAR Jacques (C.E)	Thérapeutique	M. BONNEVILLE Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M. ATTAL Michel (C.E)	Hématologie	Mme CASPER Charlotte	Pédiatrie
M. AVET-LOISEAU Hervé (C.E.)	Hématologie, transfusion	M. COGNARD Christophe	Neuroradiologie
Mme BEYNE-RAUZY Odile	Médecine interne	M. LAIREZ Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie	M. LAROCHE Michel	Rhumatologie
M. BLANCHER Antoine	Immunologie (option Biologique)	M. LEOBON Bertrand	Chirurgie Thoracique et Cardiaque
M. BONNEVILLE Paul (C.E)	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie.	M. LOPEZ Raphael	Anatomie
M. BOSSAVY Jean-Pierre (C.E)	Chirurgie Vasculaire	M. MARTIN-BLONDEL Guillaume	Maladies infectieuses, maladies tropicales
M. BRASSAT David	Neurologie	M. MARX Mathieu	Oto-rhino-laryngologie
M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire	M. MAS Emmanuel	Pédiatrie
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique	M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
M. BUREAU Christophe	Hépatogastro-entérologie	M. PAGES Jean-Christophe	Biologie Cellulaire et Cytologie
M. CALVAS Patrick (C.E)	Génétique	M. PORTIER Guillaume	Chirurgie Digestive
M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale	M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie
M. CARRIE Didier (C.E)	Cardiologie	Mme RUYSSSEN-WITRAND Adeline	Rhumatologie
M. CHAIX Yves	Pédiatrie	Mme SAVAGNER Frédérique	Biochimie et biologie moléculaire
Mme CHARPENTIER Sandrine	Médecine d'urgence	M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie
M. CHALUVEAU Dominique	Néphrologie	Mme TREMOLIERES Florence	Biologie du développement
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie	Mme VEZZOSI Delphine	Endocrinologie
M. DAHAN Marcel (C.E)	Chirurgie Thoracique et Cardiaque		
M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt Fonct.		
M. DEGUINE Olivier (C.E)	Oto-rhino-laryngologie		
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie		
M. FERRIERES Jean (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique	P.U. Médecine générale	
M. FOURCADE Olivier	Anesthésiologie	M. MESTHÉ Pierre	
M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie	M. OUSTRIC Stéphane (C.E)	
M. GAME Xavier	Urologie		
M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation	Professeur Associé Médecine générale	
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie	M. ABITTEBOUL Yves	
Mme LAMANT Laurence (C.E)	Anatomie Pathologique	M. POUTRAIN Jean-Christophe	
M. LANG Thierry (C.E)	Biostatistiques et Informatique Médicale		
M. LANGIN Dominique (C.E)	Nutrition	Professeur Associé en Neurologie	
M. LAUWERS Frédéric	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie	Mme PAVY-LE TRACON Anne	
M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine d'urgence	Professeur Associé en Bactériologie - Virologie ; Hygiène Hospitalière	
M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie	Mme MALAUDA Sandra	
M. MALAUDA Bernard	Urologie		
M. MANSAT Pierre	Chirurgie Orthopédique		
M. MARCHOU Bruno (C.E)	Maladies infectieuses		
M. MAZIERES Julien	Pneumologie		
M. MOLINIER Laurent	Epidémiologie, Santé Publique		
M. MONTASTRUC Jean-Louis (C.E)	Pharmacologie		
Mme MOYAL Elisabeth	Cancérologie		
Mme NOURHACHEMI Fatemeh (C.E)	Gériatrie		
M. OSWALD Eric (C.E)	Bactériologie-Virologie		
M. PARANT Olivier	Gynécologie Obstétrique		
M. PARIENTE Jérémie	Neurologie		
M. PARINAUD Jean (C.E)	Biol. Du Dévelop. et de la Reprod.		
M. PAUL Carle	Dermatologie		
M. PAYCUX Pierre	Biophysique		
M. PAYRASTRE Bernard (C.E)	Hématologie		
M. PERON Jean-Marie	Hépatogastro-entérologie		
M. PERRET Bertrand (C.E)	Biochimie		
M. RASCOL Olivier (C.E)	Pharmacologie		
M. RECHER Christian (C.E)	Hématologie		
M. RISCHMANN Pascal (C.E)	Urologie		
M. RIVIERE Daniel (C.E)	Physiologie		
M. SALES DE GAUZY Jérôme (C.E)	Chirurgie Infantile		
M. SALLES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie		
M. SANS Nicolas	Radiologie		
Mme SELVES Janick	Anatomie et cytologie pathologiques		
M. SERRE Guy (C.E)	Biologie Cellulaire		
M. TELMON Norbert (C.E)	Médecine Légale		
M. VINEL Jean-Pierre (C.E)	Hépatogastro-entérologie		

M.C.U. - P.H.		M.C.U. - P.H.	
M. ABBO Olivier	Chirurgie Infantile	Mme ABRAVANEL Florence	Bactériologie Virologie Hygiène
M. APOIL Poi Andre	Immunologie	Mme BABBET Céline	Cytologie et histologie
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie	Mme CAMARE Caroline	Biochimie et biologie moléculaire
Mme AUSSEIL-TRUDEL Stéphanie	Biochimie et Biologie Moléculaire	M. CAMBUS Jean-Pierre	Hématologie
Mme BELLIERE-FABRE Julie	Néphrologie	Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie
Mme BERTOLI Sarah	Hématologie, transfusion	Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie
M. BIETH Eric	Génétique	Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie	Nutrition	Mme CAUSSE Elizabeth	Biochimie
Mme CASSAGNE Myriam	Ophthalmologie	M. CHASSAING Nicolas	Génétique
Mme CASSAING Sophie	Parasitologie	M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire
M. CAVAIGNAC Etienne	Chirurgie orthopédique et traumatologie	Mme COLOMBAT Magali	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme CHANTALAT Elodie	Anatomie	Mme CORRE Jill	Hématologie
M. CONGY Nicolas	Immunologie	M. DE BONNECAZE Guillaume	Anatomie
Mme COURBON Christine	Pharmacologie	M. DEDOUIT Fabrice	Médecine Légale
Mme DAMASE Christine	Pharmacologie	M. DEGBOE Yannick	Rhumatologie
Mme de GLIBEZENSKY Isabelle	Physiologie	M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale
Mme DE MAS Véronique	Hématologie	M. DESPAS Fabien	Pharmacologie
M. DUBOIS Damien	Bactériologie Virologie Hygiène	M. EDOUARD Thomas	Pédiatrie
Mme FILLAUX Judith	Parasitologie	Mme ESKUROL Yolande	Médecine du travail
M. GANTET Pierre	Biophysique	Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie
Mme GENNERO Isabelle	Biochimie	Mme FLOCH Pauline	Bactériologie-Virologie; Hygiène Hospit.
Mme GENOUX Annelise	Biochimie et biologie moléculaire	Mme GALINIER Anne	Nutrition
M. HAMDJ Safouane	Biochimie	Mme GALLINI Adeline	Epidémiologie
Mme HITZEL Anne	Biophysique	Mme GARDETTE Virginie	Epidémiologie
M. IRIART Xavier	Parasitologie et mycologie	M. GASQ David	Physiologie
Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire	M. GATIMEL Nicolas	Médecine de la reproduction
M. KIRZIN Sylvain	Chirurgie générale	Mme GRARE Marion	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie	M. GUIBERT Nicolas	Pneumologie ; Addictologie
M. LHERMUSIER Thibaut	Cardiologie	Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Anatomie Pathologique
M. LHOMME Sébastien	Bactériologie-virologie	M. GUILLEMINAULT Laurent	Pneumologie
Mme MONTASTIER Emilie	Nutrition	Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
Mme MOREAU Marion	Physiologie	M. HERIN Fabrice	Médecine et santé au travail
Mme NOGUEIRA M.L.	Biologie Cellulaire	Mme INGUENEAU Cécile	Biochimie
Mme PERROT Aurore	Hématologie ; Transfusion	M. LEANDRI Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
M. PILLARD Fabien	Physiologie	M. LEPAGE Benoit	Biostatistiques et Informatique médicale
Mme PUISSANT Bénédicte	Immunologie	Mme MAUPAS SCHWALM Françoise	Biochimie
Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie Virologie Hygiène	M. MIEUSBET Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
Mme SABOURDY Frédérique	Biochimie	M. MOULIS Guillaume	Médecine Interne
Mme SAUNE Karine	Bactériologie Virologie	Mme NASR Nathalie	Neurologie
M. TAFANI Jean-André	Biophysique	Mme QUELVEN Isabelle	Biophysique et Médecine Nucléaire
M. TREINER Emmanuel	Immunologie	M. RIMAILHO Jacques	Anatomie et Chirurgie Générale
Mme VAYSSE Charlotte	Cancérologie	M. RONGIERES Michel	Anatomie - Chirurgie orthopédique
M. VIDAL Fabien	Gynécologie obstétrique	Mme VALLET Marion	Physiologie
		M. VERGEZ François	Hématologie
		M. YRONDI Antoine	Psychiatrie d'Adultes ; Addictologie
M.C.U. Médecine générale M. BRILLAC Thierry Mme DUPOUY Julie		M.C.U. Médecine générale M. BISMUTH Michel Mme ESCOURROU Brigitte	

Maîtres de Conférences Associés de Médecine Générale

Dr CHICOULAA Bruno
Dr FREYENS Anne
Dr FUECH Marielle

Dr BIREBENT Jordan
Dr BOURGEOIS Odile
Dr LATROUS Lella
Dr. BOUSSIER Nathalie

Remerciements

A Monsieur le Professeur Pierre BROUSSET

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Anatomie et Cytologie Pathologiques

Président du jury

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse et je vous en remercie. Je vous suis par ailleurs reconnaissante de m'offrir de poursuivre ma formation en tant qu'assistante au sein de votre service en alternance avec celui du Dr Valérie Marson à Rodez. Je vous remercie pour votre enseignement tout au long de mon internat. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

A Madame le Professeur Camille LAURENT

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Anatomie et Cytologie Pathologiques

Directrice de thèse

Je te remercie de m'avoir proposé ce sujet de thèse, ainsi que pour ton encadrement, rigoureux et rassurant. Tu m'as fait confiance lorsque j'y perdais mes repères, me rendant la motivation nécessaire. Je te suis également reconnaissante pour ton enseignement de qualité en hématopathologie. J'admire ton travail, pointilleux et exigeant, et espère que ce manuscrit en sera le reflet.

Sois assurée de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Aux membres du jury,

Madame le Docteur Solène EVRARD

Maître de Conférences des Universités

Praticien Hospitalier Anatomie Pathologique et Histologie-Cytologie

Je te remercie pour ta large contribution dans ce projet, et plus particulièrement le partage de tes connaissances en Biologie Moléculaire. J'ai apprécié ta disponibilité et ta bienveillance. Merci également pour ta formation en cytologie au cours de mon internat.

Sois assurée de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Madame le Docteur Lucie OBERIC

Praticien Hospitalier

Hématologie clinique

Je te remercie pour ton encadrement concernant la partie clinique de ce travail, me guidant toujours à bon escient pour l'élaboration de notre base de données ainsi que pour l'analyse statistique. J'ai apprécié ton accessibilité et apprendre de ton expérience clinique des lymphomes.

Sois assurée de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

Monsieur le professeur Loïc YSEBAERT

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Hématologie clinique

Je suis heureuse de vous compter parmi les membres de mon jury, bien que n'ayant pas eu le plaisir de travailler directement avec vous, et honorée que vous ayez accepté de juger mon travail.

Soyez assuré de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

A ma famille,

Mes parents, présents ce soir comme chaque jour depuis toujours. Si j'exerce la médecine aujourd'hui c'est grâce à vous, aux meilleurs moyens mis en place pour mon épanouissement professionnel depuis la petite école, à vos encouragements permanents, et à votre soutien dans les moments critiques.

Nicolas mon frère pour qui je voue une admiration sans faille et dont le parcours d'étudiant en médecine, rythmé d'anecdotes incroyables et souvent cocasses a indéniablement joué un grand rôle dans mon choix professionnel. A Juliette et notre petit Abel aussi pour les moments de joie en votre présence.

Elodie ma sœur avec qui je partage ce chemin (fière d'assister à ta thèse à quelques jours de la mienne) et tellement plus.

Mes grands-parents, qui sans condition m'accordez toute confiance depuis l'enfance, me permettant de croire à tous les possibles, dont celui d'être docteur un jour. Certaines phrases, même lointaines, ne s'oublient pas.

Mes mots sont si faibles...

Simplement merci.

Aux organisateurs de Carrefour Pathologie,

Sans qui, toi **Florent**, n'aurais pas été présent ce soir, ces derniers mois, ceux à venir. A toi qui m'apportes tant. A nous. A Joe Dassin !

A mes amis,

Cécile, nous deux c'est pour la vie ! A Brive, Treleven, Paris ou Montpellier, c'est toujours un bonheur de vous voir toi et Romuald.

Caroline, je ne peux pas plus me passer de nos tête-à-tête brivistes que de mes virées au fin fond de la campagne corrèzienne pour un mijoté prêt de la cheminée, entre Kinou et toi, tenir la chandelle Lou et moi...

Alice, tu es loooooiin, et souvent celle qui manque pour les retrouvailles de notre quartet du lycée. Mais tu habites nos souvenirs et je t'attends de pied ferme, à Toulouse ou ailleurs pour nos rires sans fin, à nouveau.

Anne-Flore, ma table avec ses chaises autour mais sans toi... c'est trop triste ! Clermont a eu raison de toi. Ou les muffins au nutella, je ne sais pas. A quand le marathon de Fadat ?

Mathilde, à tous ces moments partagés, laborieux, drôles, parfois même tristes ou solennels... Tu me manques !

Mathieu, se voir tous les 3 ans c'est pas possible hein ! Alors ramenez-vous fissa en Corrèze avec **Julien** et tant pis pour la frairie des Petits Ventres. Après les andouillettes, le foie gras. C'est ça l'ascension sociale.

Tibor, tellement ravie de te retrouver à Rodez en Novembre ! On va redonner vie au Bruit qui court ! Et pourquoi pas chausser les skis, en Aubrac cette fois ?! Toujours plus haut...

Judith, j'y tiens à nos goûters des dimanches pluvieux, heureusement tu n'es pas partie bien loin, je te garde à l'œil !

Mathilde, (plus connue sous le nom de Mathou), malheureusement pas là ce soir, trop loin dans la profonde campagne aveyronnaise... Si les farçous ne peuvent plus venir à moi ce semestre, c'est moi qui viendrai les chercher et très vite ! A bientôt sur Rodez ;).

A mes co-internes,

Justine et Gabrielle, heureuse d'avoir passé ces 5 années à vos côtés, triste de vous voir partir pour l'assistantat, on formait un beau trio de promo !

Anna, tantôt ingénieure informatique, tantôt partenaire de rando... Ton humour bien trempé nous a manqué!

Cécile, tricot en hiver, légumes bio l'été (parfois désherbage du jardin aussi, faut bien entretenir), de Barbara les vers, souvent tu écoutais... Sniff reviens !

Anne-cécile, la meilleure de mes conseillers particuliers IUC, et de loin ! Egalement un guide hors pair de Toulouse et ses alentours, spécialiste adresses restos en tous genre... et jamais détrônée best cookie baker !

Et à toutes les autres fidèles représentantes du club de tricot (club gourmet pour certaines) :

Alix, Charlotte, Margot (un jour tu t'y mettras tu verras), gros Mathou précitée, **Pauline, Marine** (vous aussi, un jour), **Jessie** (tricot rime avec abdos).

Vincent et Pierre, notre fidèle et toute nouvelle gente masculine, longue vie à la testostérone en Anapath !!

Guillaume, enfin Guigui... qu'aurait été l'internat d'anapath toulousain sans toi ?! Toujours là pour nous faire rire (avec délicatesse), homme de chaque situation (tu me dois un cric...) ! Bref, c'est moins fun sans toi.

Claire, contente de partager ton bureau, ton énergie et ton chocolat pour encore un an ! Et bientôt voisine de palier en plus ? Euh... Non mais ok moi aussi je suis fan de toi ! (Tu connais la soupe de fanes ?)

Sébastien, c'est donc ici que nos routes se séparent ! Triste sort des assistants périph-CHU binômes qui pourtant partagent tout, du microscope au freezer... A l'ère du post-it je compte sur toi pour toujours me faire rire et à un de ces quatre sur Baraqueville ;).

Quentin, dit Grand Maître, ou Papa ruthénois d'abord, Papa tarbais ensuite... Merci pour ta bonne humeur chaque jour, c'est contagieux et ça fait du bien ! A bientôt pour de nouvelles aventures tisaniesques !

Charlotte C. notre recrue saisonnière, c'est un plaisir de t'avoir pour co-interne, la bonne humeur incarnée envers et contre tous (punaises, souris, insectes volants).

A mes anciens co-internes **Laure, Oriane, Julie, Sarah, Anne Charlotte, Aurore, Gwendoline, Claire I, Camille, Romain, Maxime et Thibault** alias « les anciens », vous m'avez tous transmis beaucoup de choses, en plus de votre intérêt pour notre belle spécialité, merci !

Enfin à tous les hors filière qui se sont joints à notre joyeux mouvement macroscopiste : **Maxence, Marion, Philippe, Guillaume, Timila...**

A l'équipe du service d'Anapath de l'IUC :

Aux médecins : **Céline, Florence, Dominique, Véronique, Janick, Chantal, Nada, Audrey, Raphaëlle, Jacqueline, Philippe, Laurence, Eliane, Emmanuelle, Isabelle Duga, Marie, Béatrice, Sophie, Anne**, merci de m'avoir transmis vos savoirs et votre intérêt pour notre belle spécialité.

Aux techniciens, cadres et secrétaires du service : **Alice, Eva, Marie-Jo, Séverine, Eric, Thomas, Maria, Sophie, Laura, Virginie, Marjorie, Thomas, Corentin, Marion, Anaïs, PJ, Julian, Sylvie, Charley** et tous les autres, merci pour votre bonne humeur !

Merci à **François-Xavier** pour son aide au scanner de lames.

A l'équipe du service d'Anapath de Rodez :

Dr Marson et **Dr Bosc**, c'est avec vous que j'ai découvert l'Anapath en tant qu'interne, et 5 ans plus tard je suis ravie de revenir à Rodez en qualité d'assistante. Merci pour vos enseignements.

Aux techniciens et secrétaires, je me souviens de votre accueil, et suis très heureuse de vous retrouver prochainement pour de nouvelles aventures !

A l'équipe du service d'Anapath de Tarbes :

Dr Siani, Dr Flamme, Dr Boudat j'ai beaucoup apprécié mon semestre à Tarbes, merci encore pour votre bonne humeur et vos enseignements.

*Merci également à **Elodie Martin***, statisticienne hors-pair, pour son travail sur ma thèse.

**APPORTS DE L'ANALYSE MOLECULAIRE DANS
L'EVALUATION PRONOSTIQUE DU LYMPHOME B
DIFFUS À GRANDES CELLULES**

LISTE DES ABREVIATIONS _____ **16**

I. INTRODUCTION _____ **18**

A. Généralités sur le lymphome B diffus à grandes cellules sans autre spécificité (LBDGC-NOS) _____ **18**

1. Epidémiologie, facteurs de risque et présentation clinique	18
2. Classification OMS	19
3. Diagnostic et bilan d'extension	22
a. Examen anatomo-pathologique : morphologie	22
b. Examen anatomo-pathologique : immuno-histochimie	23
c. Biologie moléculaire et cytogénétique	26
d. Diagnostics différentiels les plus courants	26
e. Prise en charge anatomopathologique des LBDGC-NOS	30
f. Bilan d'extension	30
4. Facteurs pronostiques clinico-biologiques pré-thérapeutiques	31
a. Classification d'Ann Arbor	31
b. IPI score	32
5. Stratégie thérapeutique	33
a. Traitement de première ligne	33
b. Evaluation de la réponse au traitement	35
c. Suivi	35
6. Réponse au traitement et survie globale	36

B. Physiopathologie : lymphomagenèse du LBDGC _____ **37**

1. Différenciation et maturation des lymphocytes B	37
2. Principaux facteurs impliqués dans la lymphomagenèse du LBDGC	38
a. Centre germinatif : Lieu d'accumulation de mutations	38
b. Dérégulation de facteurs de transcription : exemple de BCL6	40
c. Altérations épigénétiques	42
d. Echappement immunitaire	42
3. Voies oncogéniques dans le LBDGC sans autre spécificité (NOS)	43
a. LBDGC GC	43
b. LBDGC non-GC	44

C. Biomarqueurs du LBDGC-NOS _____ **46**

1. Impact pronostique de la cellule d'origine (COO) dans les LBDGC-NOS	46
2. Impact pronostique du statut MYC, BCL2 et BCL6	47
a. Réarrangements de MYC et BCL2 et/ou BCL6	47
b. Surexpression protéique MYC et BCL2 : statut double expresseur	48

c.	Autres biomarqueurs immuno-histochimiques	48
3.	Perspectives de nouvelles classifications pronostiques des LBDGC-NOS	49
a.	Analyse génomique intégrative et fonctionnelle des LBDGC-NOS	49
b.	Nouvelles classifications moléculaires des LBDGC-NOS par analyse intégrative des données biologiques	50
II.	Objectifs du travail	52
III.	Matériels et méthodes	52
A.	Patients	52
1.	Critères d'inclusion	52
2.	Critères d'exclusion	53
3.	Réunion de concertation pluri-disciplinaire	53
4.	Recueil des données	53
5.	Suivi des patients	54
6.	Critères de jugement pour l'analyse statistique	54
B.	Méthodes	54
1.	Analyse statistique	54
a.	Objectifs	54
b.	Méthode statistique	55
2.	Analyse moléculaire par séquençage nouvelle génération (NGS)	55
a.	Panel de gènes en NGS capture	55
b.	Préparation des ADN tumoraux	56
c.	Séquençage	56
d.	Analyse bio-informatique	59
IV.	Résultats	60
A.	Sélection et caractéristiques cliniques des patients LBDGC-NOS	60
1.	Sélection des patients : population initiale	60
2.	Caractéristiques cliniques au diagnostic des patients LBDGC-NOS inclus	60
3.	Prise en charge thérapeutique des patients inclus (n=143)	61
B.	Survie globale et survie sans progression des patients NBDGC NOS inclus (n=143)	62
1.	Etude de survie de la population totale	62
2.	Etude de survie selon le profil GC/ non-GC des patients LBDGC-NOS	64
C.	Analyse morphologique des patients LBDGC-NOS	69
1.	Sélection des cas en vue de l'analyse morphologique et moléculaire	69
2.	Analyses morphologiques et immuno-histochimiques des cas LBDGC-NOS sélectionnés	69

D.	Analyse moléculaire par séquençage nouvelle génération (NGS)	76
1.	Profils mutationnels associés aux LBDGC-NOS sélectionnés (n=32)	76
2.	Voies de signalisation impactées dans les LBDGC-NOS sélectionnés (n=32)	77
3.	Impact clinique des mutations détectées dans les LBDGC-NOS sélectionnés (n=32)	79
4.	Profil mutationnel selon le statut GC/non-GC des LBDGC-NOS	82
a.	Types et fréquences des mutations selon le statut GC/non-GC des LBDGC-NOS	82
b.	Impact clinique des mutations selon le statut GC/non-GC des LBDGC-NOS	86
c.	Comparaison des profils mutationnels des LBDGC-NOS GC versus ceux des lymphomes B de haut grade avec réarrangements <i>MYC</i> et <i>BCL2</i> et/ou <i>BCL6</i>	88
V.	Discussion et perspectives	89
VI.	Conclusion	98
VII.	Références bibliographiques	100
VIII.	Annexes	113

Annexe 1 : Représentation heatmap des altérations géniques séquencées chez les 32 patients analysés

Annexe 2 : Classification des 32 cas analysés selon Shmitz et al

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: Acide désoxyribonucléique

ARN: Acide ribonucléique

ASCT: Greffe autologue de cellules souches

BCR: B-cell receptor

BOM: Biopsie ostéo-médullaire

CAR: Chimeric antigen receptor

CMH: Complexe majeur d'histocompatibilité

CNV: Altération du nombre de copies

CH: Centre hospitalier

COO: Cell of origin

DHL/THL: Double hit lymphoma/triple hit lymphoma

EBV: Epstein-Barr virus

FDG: Fluorodésoxyglucose

FFPE: Formalin-fixed paraffin-embedded

FISH: Hybridation in situ en fluorescence

GC: Germinal center

GEP: Gene expression profiling

HE: Hematoxylin eosin

HLA: Human leukocyte antigen

HR: Hazard ratio

IHC: Immunohistochimie

IPI: Index pronostique international

IUCT: Institut Universitaire du Cancer de Toulouse

LBDGC GC: Lymphome B diffus à grandes cellules centro-germinatif

LBDGC NGC (ABC): Lymphome B diffus à grandes cellules non centro-germinatif

(Activated B-cell)

LBDGC-NOS: Lymphome B diffus à grandes cellules, sans autre spécificité

LCR: Liquide céphalo-rachidien

LDH: Lactate déshydrogénase

LH: Lymphome hodgkinien

LNH: Lymphome non hodgkinien

NGC: Lymphome B diffus à grandes cellules, sans autre spécificité

NGS: Séquençage nouvelle génération

NK cell: Cellule natural killer

OS: Overall survival

OMS: Organisation mondiale de la santé

PCR: Réaction en chaîne par polymérase

PS: Performance status

PFS: Progression free survival

R-CHOP: Rituximab, Cyclophosphamide, Doxorubicine, Vincristine, Prednisone

RCP: Réunion de concertation pluridisciplinaire

RNAseq: RNA sequencing

SNP: Single nucleotide polymorphism

SNV: Single nucleotide variation

TDM: Tomodensitométrie

WES: Whole exome sequencing

I. INTRODUCTION

Le lymphome est une tumeur maligne du système immunitaire. Il se situe au 5^{ème} rang des cancers de l'adulte en France et représente l'hémopathie la plus fréquente et selon les données récentes publiées par l'Institut National du cancer (INCa) (1), son incidence est de plus de 18 000 nouveaux cas chaque année. Il se caractérise par une prolifération tumorale de lymphocytes matures (le plus souvent B mais également T voire T/NK) infiltrant le plus souvent les ganglions lymphatiques (2). Schématiquement, on distingue deux grands types de lymphomes : les lymphomes hodgkiniens (LH) et les lymphomes non hodgkiniens (LNH) représentant respectivement 20% et 80% des lymphomes (2). Les lymphomes sont des tumeurs très hétérogènes et leurs différents aspects morphologiques, phénotypiques et moléculaires complexifient grandement le diagnostic posé d'après l'analyse histologique du ganglion atteint. Ces dernières années, les progrès des techniques immuno-histochimiques et l'essor de la biologie moléculaire ont considérablement amélioré le sous-typage des tumeurs lymphoïdes et permettent le diagnostic précis de plus de 80 entités distinctes selon la dernière classification de l'OMS 2017 (2).

A. Généralités sur le lymphome B diffus à grandes cellules sans autre spécificité (LBDGC-NOS)

1. Epidémiologie, facteurs de risque et présentation clinique

Les LBDGC représentent plus de 60% des lymphomes agressifs et évoluent rapidement, en quelques semaines ou mois. La survenue d'un LBDGC est complexe et multifactorielle. Dans la plupart des cas, l'étiologie des LBDGC est inconnue. Cependant, certains facteurs de risques ont été incriminés tels que les pesticides ou herbicides, les agents alkylants et les radiations ionisantes. On retrouve également une incidence plus forte de LBDGC chez les patients atteints de pathologies dysimmunitaires acquises (telles que le SIDA, une transplantation, une pathologie rhumatologique auto-immune) ou innées (telles qu'un déficit immunitaire commun variable, une ataxie-télangiectasie) (3). Enfin, le virus d'Epstein-Barr (EBV) est également associé à un sous type de LBDGC plus

fréquemment observé chez les immuno-déprimés, patients âgés ou dans les populations à incidence EBV élevée telles qu'en Asie et en Amérique Latine.

Le LBDGC, sans autre spécificité ou Diffuse Large B Cell Lymphoma not otherwise specified (DLBCL NOS) est le lymphome B non Hodgkinien (B-LNH) le plus fréquemment diagnostiqué dans les pays occidentaux. Il touche 3000 à 4000 nouvelles personnes chaque année en France, soit 25 à 35% des LNH (2) et 35 à 40% des proliférations lymphoïdes B matures dans le monde (4). Légèrement plus fréquent chez l'homme (5), il est classiquement diagnostiqué après l'âge de 60 ans (avec un âge médian de 70 ans au diagnostic) (6), mais peut survenir chez les enfants et les jeunes adultes. L'incidence est plus élevée en population caucasienne que noire ou asiatique.

Les LBDGC peuvent également faire suite à la transformation d'un lymphome B de bas grade comme le lymphome lymphocytaire/la leucémie lymphoïde chronique (LCC) dont la transformation en LBDGC est connue sous le nom de syndrome de Richter, le lymphome folliculaire, le lymphome de la zone marginale ou le lymphome lympho-plasmocytaire.

Cliniquement, l'augmentation de volume d'un ou de plusieurs ganglions, l'apparition et l'élargissement rapide d'une masse tumorale extra-ganglionnaire ainsi que des symptômes généraux peuvent se manifester, notamment une fièvre, une perte de poids inexplicée, des sueurs nocturnes abondantes ou une fatigue. De nombreux patients demeurent néanmoins peu ou pas symptomatiques jusqu'au diagnostic.

2. Classification OMS

La classification de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), révisée en 2017, reposant sur les caractéristiques cliniques, morphologiques, immuno-histochimiques, cytogénétiques et moléculaires, permet de distinguer plus de 80 entités parmi lesquelles de nombreux sous-types de lymphome B à grandes cellules dont le plus fréquent est le LBDGC-NOS (2) (**Tableau 1**).

Tableau 1. Classification OMS révisée des lymphomes B à grandes cellules (d'après WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th edition, 2017) (2).

<p>Diffuse large B-cell lymphoma, NOS</p> <p>Morphological variants</p> <ul style="list-style-type: none"> Centroblastic Immunoblastic Anaplastic Other rare variants <p>Molecular subtypes</p> <ul style="list-style-type: none"> Germinal centre B-cell subtype Activated B-cell subtype
<p>Other lymphomas of large B cells</p> <ul style="list-style-type: none"> T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma Primary diffuse large B-cell lymphoma of the CNS Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma, NOS Diffuse large B-cell lymphoma associated with chronic inflammation Lymphomatoid granulomatosis Large B-cell lymphoma with IRF4 rearrangement Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma Intravascular large B-cell lymphoma ALK-positive large B-cell lymphoma Plasmablastic lymphoma HHV8-positive diffuse large B-cell lymphoma Primary effusion lymphoma
<p>High-grade B-cell lymphoma</p> <ul style="list-style-type: none"> High-grade B-cell lymphoma with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements High-grade B-cell lymphoma, NOS
<p>B-cell lymphoma, unclassifiable</p> <ul style="list-style-type: none"> B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and classic Hodgkin lymphoma

La catégorie **LBDGC-NOS** est représentée par tous les LBDGC qui ne sont classés dans aucune autre catégorie diagnostique spécifique, de par leur localisation anatomique, leurs caractéristiques moléculaires et immuno-phénotypiques. Il s'agit d'un diagnostic d'exclusion.

La classification OMS révisée en 2017 classe les LBDGC-NOS selon leur origine cellulaire, incluant d'une part le sous-type centro-germinatif, dit GC dont la signature transcriptomique des cellules tumorales est comparable à celle des cellules B centrofolliculaires, d'autre part le sous-type non centro-germinatif, dit

non-GC ou ABC (activated B-cell) dont la signature transcriptomique est comparable à celle des cellules B périphériques activées (7).

La détermination d'un tel sous-type se base sur le profil d'expression génomique de la tumeur (6), difficilement applicable en routine. L'analyse immunohistochimique classiquement utilisée (8,9) et qui utilise par exemple l'algorithme de Hans se basant sur l'expression du CD10, de BCL6 et MUM1 permet une approche relativement fidèle et plus accessible que les analyses par puces à ADN (DNA micro-arrays).

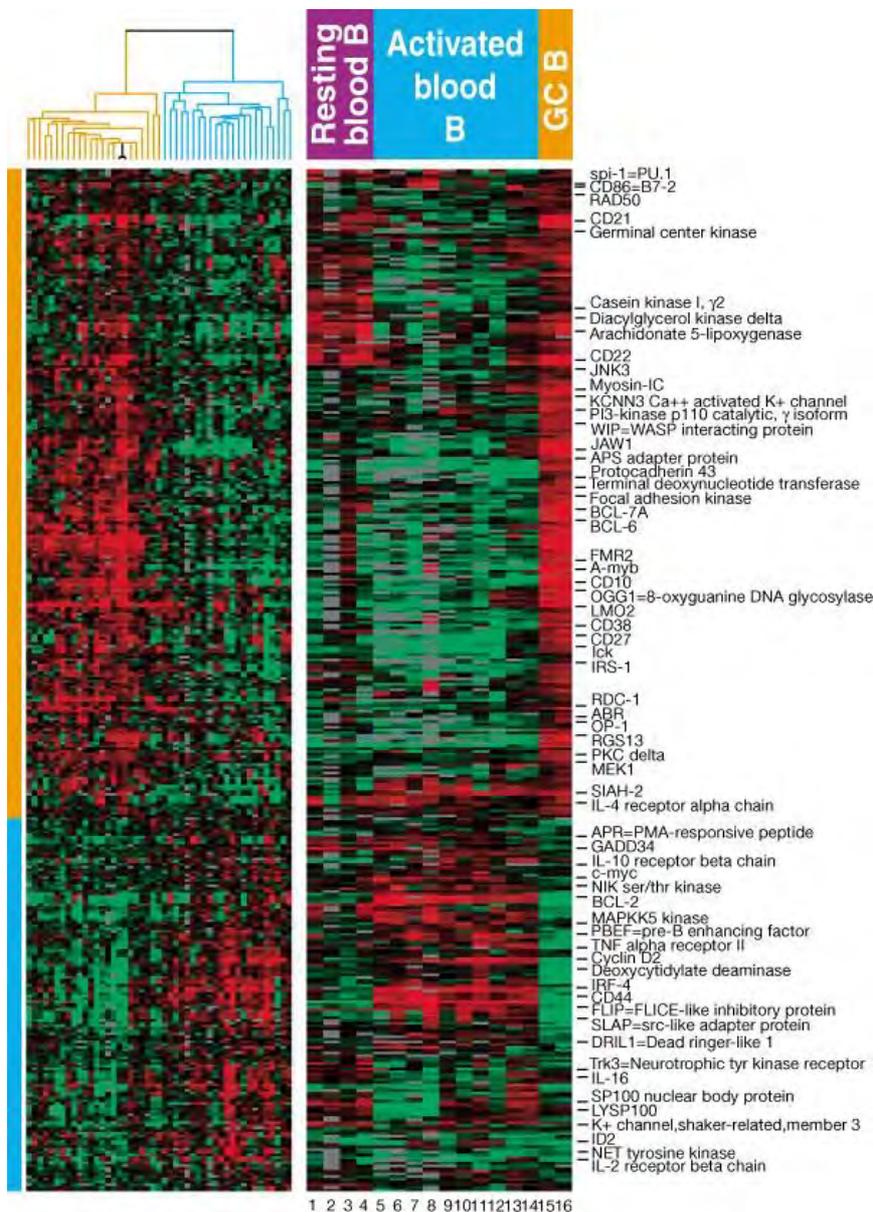


Figure 1. Profil GC/non-GC(ABC) des LBDGC déterminé par GEP (d'après Alizadeh et al nature 2000) (8).

La révision de la classification OMS 2017 distingue de nouvelles entités, comme celle des **lymphomes B de haut grade avec réarrangements de *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6*** ou lymphomes « double/triple hits » en référence à la présence concomitante de réarrangements de *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6*. L'amplification des gènes pré-cités ne permet pas un tel diagnostic. La nouvelle classification OMS 2017 intègre également un nouveau sous type : le **lymphome B de haut grade, sans autre spécificité** (high grade B cell lymphoma, not otherwise specified, LBHG NOS) regroupant les rares cas jusqu'alors inclassables, aux caractéristiques morphologiques frontières entre un lymphome de Burkitt et un LBDGC sans réarrangements de *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6*. Sont également inclus dans cette catégorie les LBDGC de morphologie blastoïde, ainsi que ceux présentant une translocation de *MYC* associée à une amplification de *BCL2* (2). Ce diagnostic doit être posé avec réserves.

3. Diagnostic et bilan d'extension

a. Examen anatomo-pathologique : morphologie

Comme la plupart des pathologies lymphomateuses, le diagnostic repose sur l'analyse histologique d'une biopsie ganglionnaire ou, plus rarement, d'une biopsie de moelle osseuse (BOM). La démarche diagnostique du pathologiste repose sur 2 critères morphologiques fondamentaux : l'architecture de la prolifération et les caractères cytologiques des cellules lymphomateuses.

Comme son nom l'indique, le LBDGC-NOS présente une architecture le plus souvent diffuse, il s'étend sous forme de plages de grandes cellules, détruisant l'architecture ganglionnaire et pouvant infiltrer le tissu adipeux périganglionnaire avoisinant. Un envahissement ganglionnaire partiel, interfolliculaire ou plus rarement sinusoïdal par les cellules tumorales peut également être observé.

Il est caractérisé par une prolifération lymphoïde dense, constituée de cellules d'allure centroblastique, immunoblastique ou plus rarement anaplasique, parfois même de cellules très pléomorphes (**Figure 2**) (2). Ces cellules se dispersent sur un fond inflammatoire réactionnel d'abondance variable souvent modérée. Le stroma peut être plus ou moins fibreux, parfois scléreux. On note fréquemment une activité mitotique importante et des phénomènes nécrotiques.

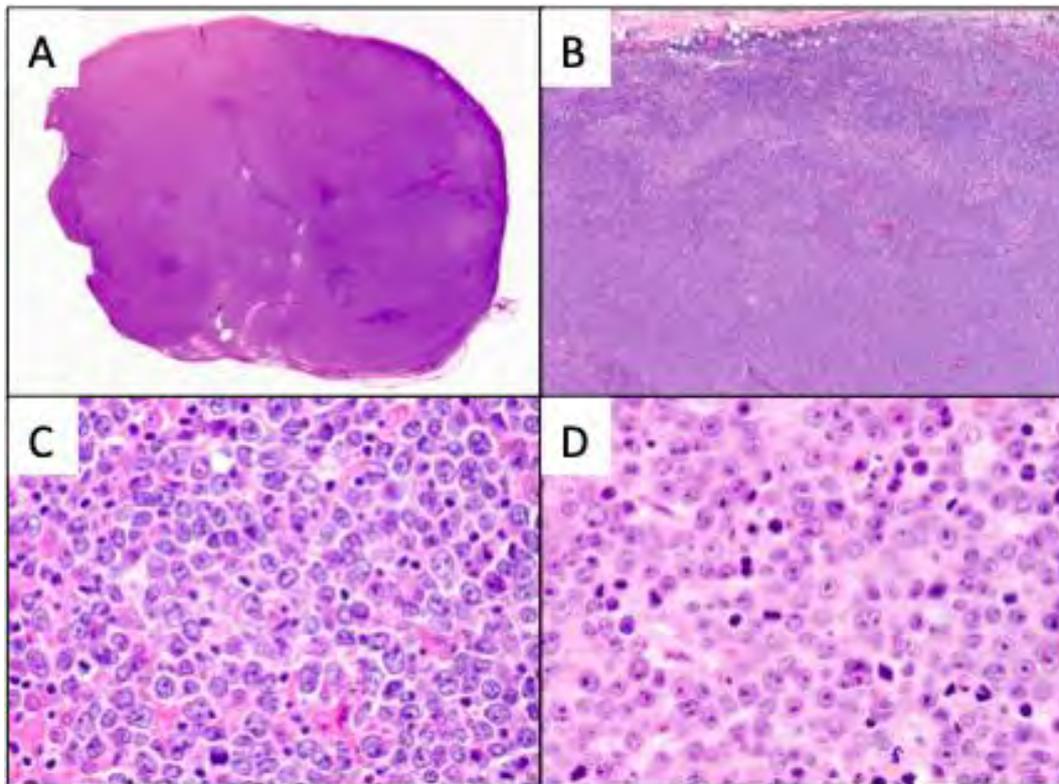


Figure 2. Coupes de ganglions envahis par un LBDGC en microscopie optique.

A et B. Infiltration ganglionnaire diffuse et destruction de son architecture normale (coloration HE).

Les cellules tumorales ressemblent à des centroblastes ou immunoblastes, de taille deux ou trois fois supérieure à celle d'un lymphocyte, avec des contours irréguliers, un noyau rond ou ovalaire, vésiculeux à chromatine fine.

C. Prédominance de cellules « centroblaste-like ». Deux à quatre nucléoles sont visibles, cantonnés à la membrane nucléaire, le cytoplasme est peu abondant, plutôt amphophile ou basophile (HE, grossissement x200).

D. Prédominance de cellules « immunoblaste-like », plus grandes, avec nucléole unique proéminent central, et un cytoplasme abondant (HE, grossissement x200).

b. Examen anatomo-pathologique : immuno-histochimie

D'un point de vue immuno-histochimique les cellules tumorales ont un phénotype B mature CD20⁺, CD79a⁺, PAX5⁺ avec un index de prolifération Ki67 le plus souvent élevé. La caractérisation moléculaire du sous-type GC/non-GC (NGC) du LBDGC-NOS est importante car elle a un impact pronostique (8). En pratique, on utilise l'algorithme de Hans, basé sur l'expression de CD10, BCL6 et MUM1 en immunohistochimie (IHC) (**Figure 3**) (9). Ainsi Les LBDGC-NOS de profil GC expriment majoritairement le CD10 souvent associé au BCL6 (**Figure 4**) et les

LBDGC non-GC expriment MUM1/IRF4 (**Figure 5**). CD10, BCL6 et IRF4/MUM1 sont tous trois considérés positifs dès lors que plus de 30% des cellules tumorales expriment le marqueur (9).

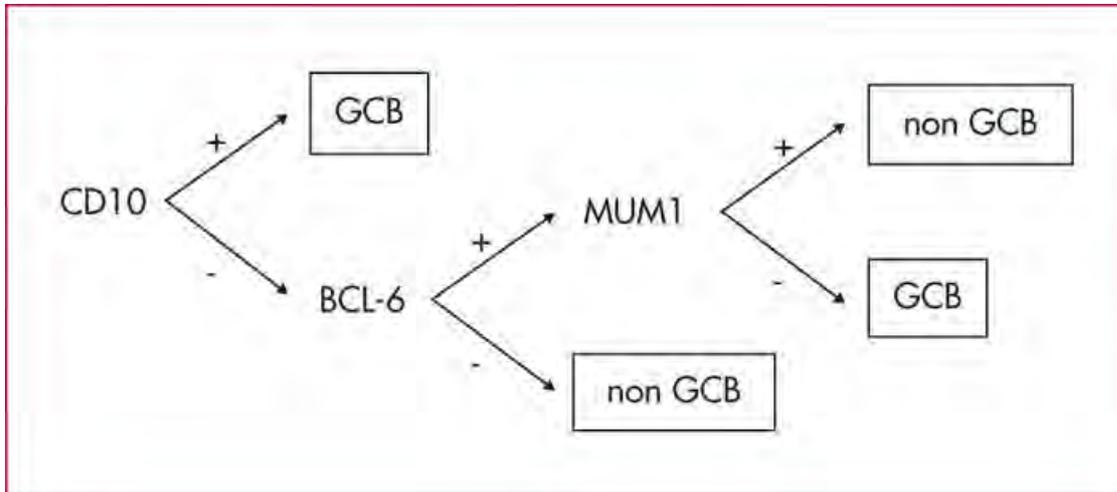


Figure 3. Algorithme de Hans (d'après Hans CP et al, Blood 2004) (9).

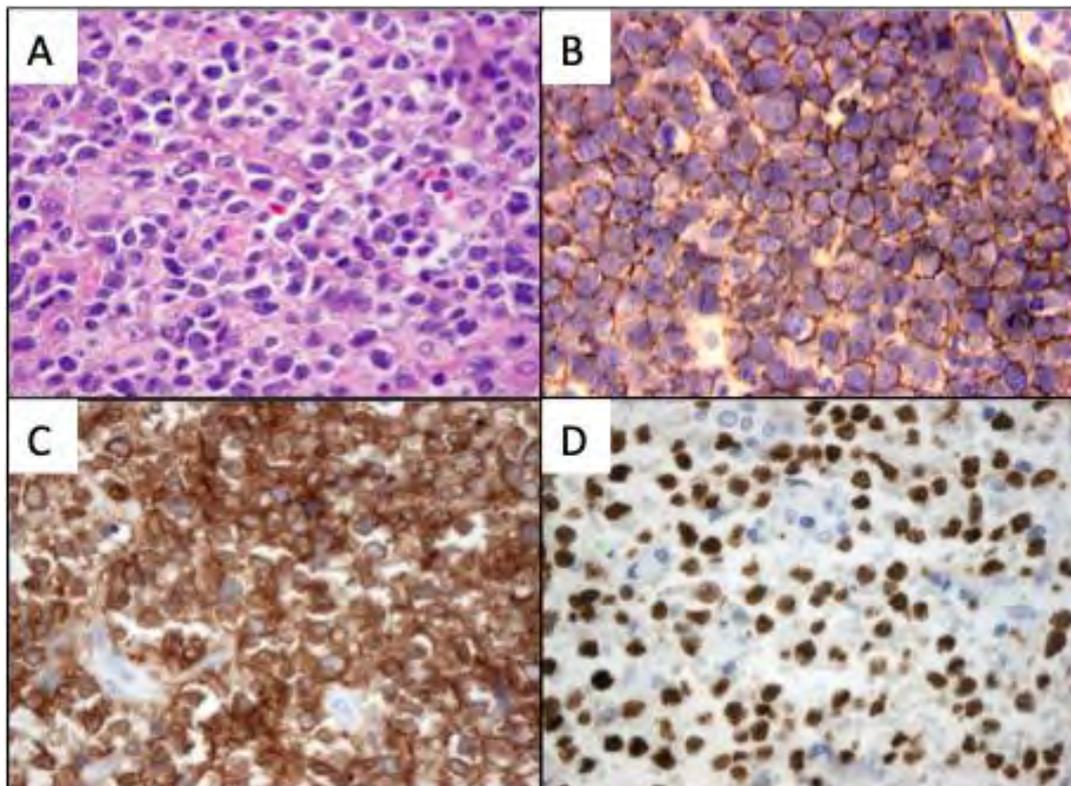


Figure 4. Immuno-histochimie du LBDGC de type GC.

- A. HE au grossissement x400.
- B. IHC anti-CD20 : positif.
- C. IHC anti-CD10 : positif (>30% des cellules).
- D. IHC anti-BCL6 : positif (>30% des cellules).

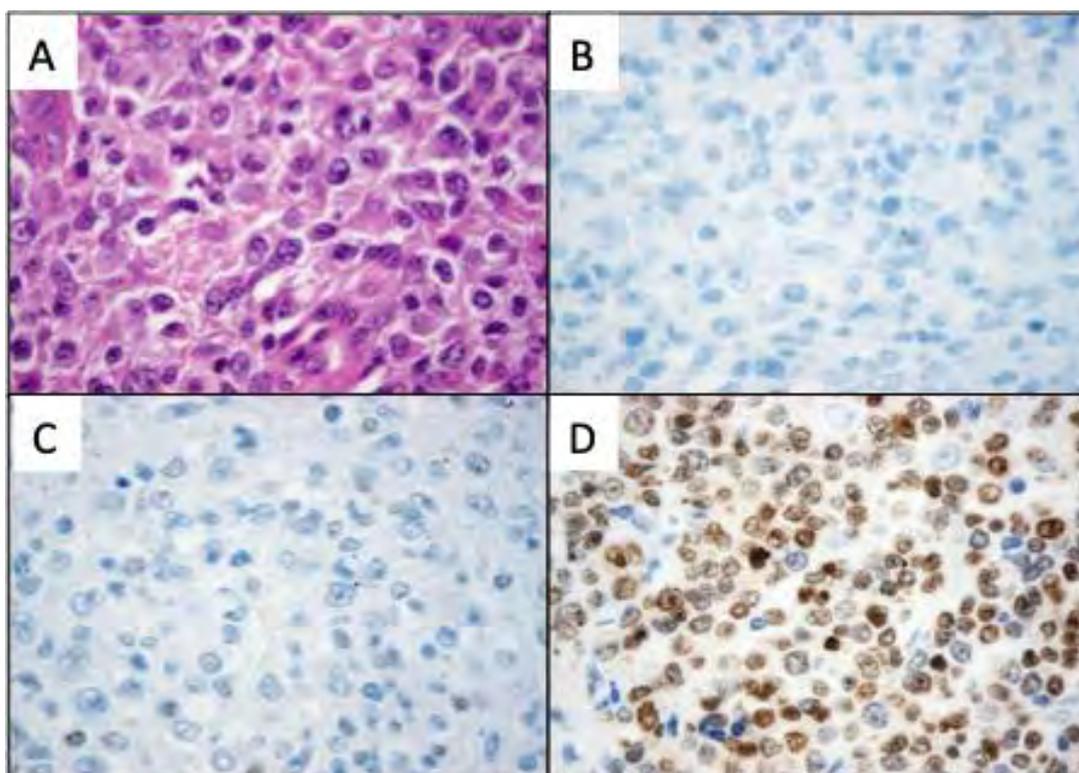


Figure 5. Immuno-histochimie du LBDGC de type non-GC.

A. HE au grossissement x400.

B. IHC anti-CD10 : négative.

C. IHC anti-BCL6 : négative.

D. IHC anti-MUM1 : positive (>30% des cellules).

D'autres algorithmes immuno-histochimiques ont été développés toujours avec un objectif de corrélérer au mieux la stratification des patients GC versus non-GC avec les résultats des analyses en micro-array (GEP). Nous citerons notamment les algorithmes de Choi et Tally, tous deux intégrant l'anticorps anti-FOXP1, et dont la signification pronostique, la concordance avec les résultats de la génomique et la facilité d'utilisation en font deux concurrents du Hans plus communément utilisé (9).

En complément du statut GC/non-GC, l'évaluation de la surexpression des protéines MYC et BCL2 en IHC avec un cut-off respectif de 40% et de 50%, détermine le statut double expresseur ou non du LBDGC-NOS quel que soit le statut génétique de *BCL2* et *MYC*. Cette co-expression protéique observée dans un tiers des LBDGC majoritairement de type non-GC a une valeur pronostique et complète le diagnostic anatomopathologique des LBDGC-NOS.

c. Biologie moléculaire et cytogénétique

La classification OMS révisée en 2017 préconise la détermination du sous-type GC versus non-GC par biologie moléculaire ou par immuno-histochimie (cf. **chapitre A. 2. Classification OMS**). Bien que parfois incriminée pour son manque de robustesse et de reproductibilité (10), l'IHC est la méthode la plus utilisée en routine compte tenu d'un accès encore restreint des laboratoires d'anatomo-pathologie aux plateformes moléculaires transcriptomiques. Ces dernières permettent de déterminer précisément le sous type GC/non-GC soit par micro-array sur échantillon congelé (gold standard) soit sur FFPE en se basant sur l'expression différentielle d'une vingtaine de gènes à l'aide de la puce Lymph2Cx (développée par NanoString®) (11) (**Figure 6**).

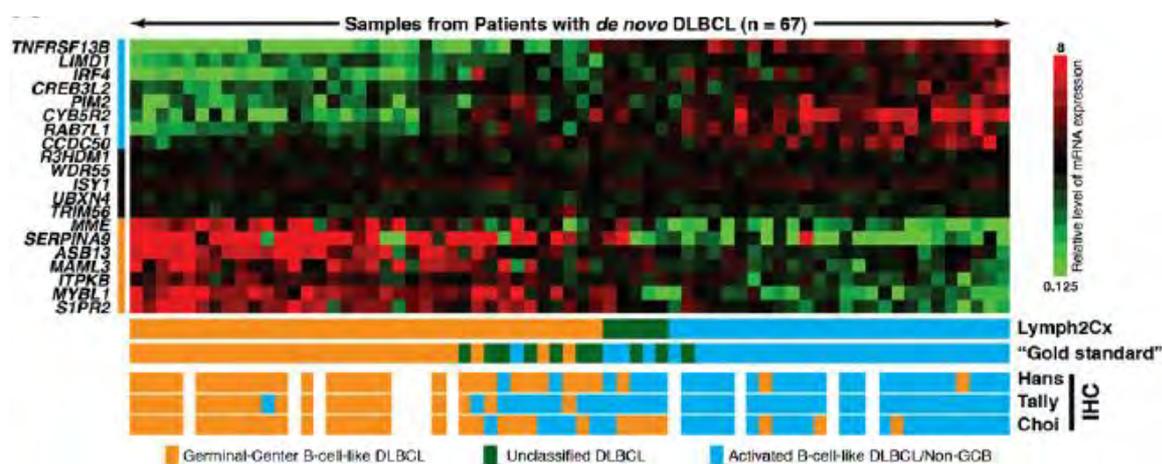


Figure 6. Comparaison du profil GC/non-GC des LBDGC déterminé par Nanostring technology (puce Lymph2Cx) avec la technique Gold standard (GEP microarray) et avec les algorithmes IHC (algorithmes de Hans, Tally ou de Choi) : 67 patients ont bénéficié du profilage par micro-array, représentés de gauche à droite selon leur score d'expression des mRNA pour les 20 gènes pré-sélectionnés. Les 8 premiers gènes (en haut) sont surexprimés chez les patients non-GC, les 5 suivants sont des gènes de ménage exprimés dans tous types cellulaires, et les 7 derniers gènes sont surexprimés chez les patients GC (d'après Scott et al. - 2014 - Blood) (11).

d. Diagnostics différentiels les plus courants

- **Le lymphome B de haut grade avec ou sans réarrangement *MYC*, *BCL2* et/ou *BCL6***

La nouvelle classification OMS des lymphomes 2017 identifie deux nouveaux sous-types de lymphomes B : le lymphome B de haut grade avec ou sans réarrangement

de *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6* ou double hit/triple hit lymphoma (DHL/THL) (2) et le lymphome B de haut grade NOS, sans réarrangement de *MYC* associé à *BCL2* et/ou *BCL6* (cf. **chapitre A. 2. Classification OMS**). Ils sont définis par des critères morphologiques intermédiaires entre le LBDGC et le lymphome de Burkitt (« Burkitt-like ») (**Figure 7**) et pour le sous-type DHL/THL par la présence de réarrangements des gènes *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6*.

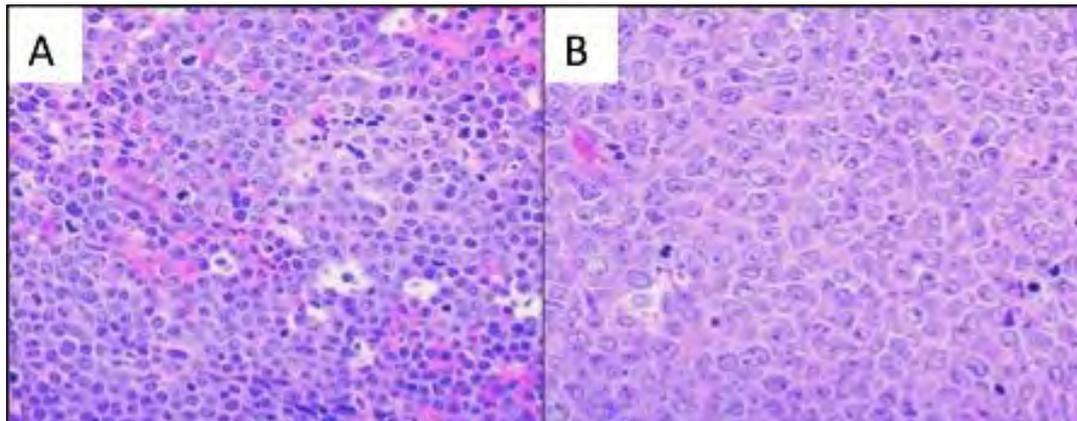


Figure 7. Comparaison des caractéristiques cytologiques de DHL/THL versus LBDGC (d'après McPhail et al, Haematologica 2018) (12).

A. Lymphome double/triple hit (DH/TH) avec critères morphologiques de haut grade (« Burkitt-like ») : cellules de taille moyenne à grande, pléomorphisme modéré, contours nucléaires parfois irréguliers (HE, grossissement x200).

B. DH/TH avec critères morphologiques de LBDGC : cellules de grande taille avec contours nucléaires arrondis ou irréguliers, nucléole de taille variable, cytoplasme assez abondant (HE, grossissement x200).

D'un point de vue immuno-histochimique, ces lymphomes sont essentiellement de phénotype GC, exprimant souvent de façon concomitante CD10 et BCL6 et étant négatifs pour MUM1 (13). Ils conservent par ailleurs les marqueurs B matures (tels que CD20, CD19, CD79a et PAX5). Une forte expression cytoplasmique de BCL2 est aussi classiquement décrite et aide pour le diagnostic différentiel avec le lymphome de Burkitt. Ils ont une faible expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité, ce qui se traduit par une faible infiltration lymphocytaire T CD4+ (13). Un profil mutationnel distinct a pu être identifié touchant plus fréquemment les gènes *MYC*, *DDX3X*, *CREBBP*, *BCL2*, *EZH2* (Y646), *TP53* et *MLL2* (14,15). A partir d'une cohorte de 157 LBDGC-GC incluant 25 DH/TH *MYC* et *BCL2* réarrangés, une signature appelée double-hit (DHIT) a été identifiée comprenant 104 gènes et indépendante du statut DH/TH (la moitié des

cas ne présentaient aucun réarrangement), et qui serait associée à un pronostic défavorable (14,16). Cette signature caractérisée par une surexpression des gènes *MYC* et *E2F*, *MTORC1* ou impliqués dans la phosphorylation oxydative a été validée dans une cohorte indépendante (DLBCL90 assay) sur un panel réduit de 30 gènes applicable en routine clinique par technique Nanostring.

Les critères diagnostiques du lymphome B de haut grade avec ou sans réarrangement de *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6*, qu'ils soient morphologiques ou cytogénétiques, doivent toujours être recherchés et éliminés compte tenu du caractère agressif de cette entité, dont le faible taux de réponse au traitement par R-CHOP conduit à une médiane de survie entre 4.5 et 18.5 mois (2).

- **Lymphome de Burkitt**

Le lymphome de Burkitt est une entité agressive que l'on découvre souvent au stade de localisations extra-ganglionnaires ou de leucémie aigüe. Il se compose de cellules B monomorphes de taille moyenne avec un cytoplasme basophile et de nombreuses figures mitotiques (**Figure 8**). On identifie généralement une translocation du gène *MYC*. La fréquence d'infection par l'EBV varie selon le sous-type épidémiologique de lymphome de Burkitt (2).

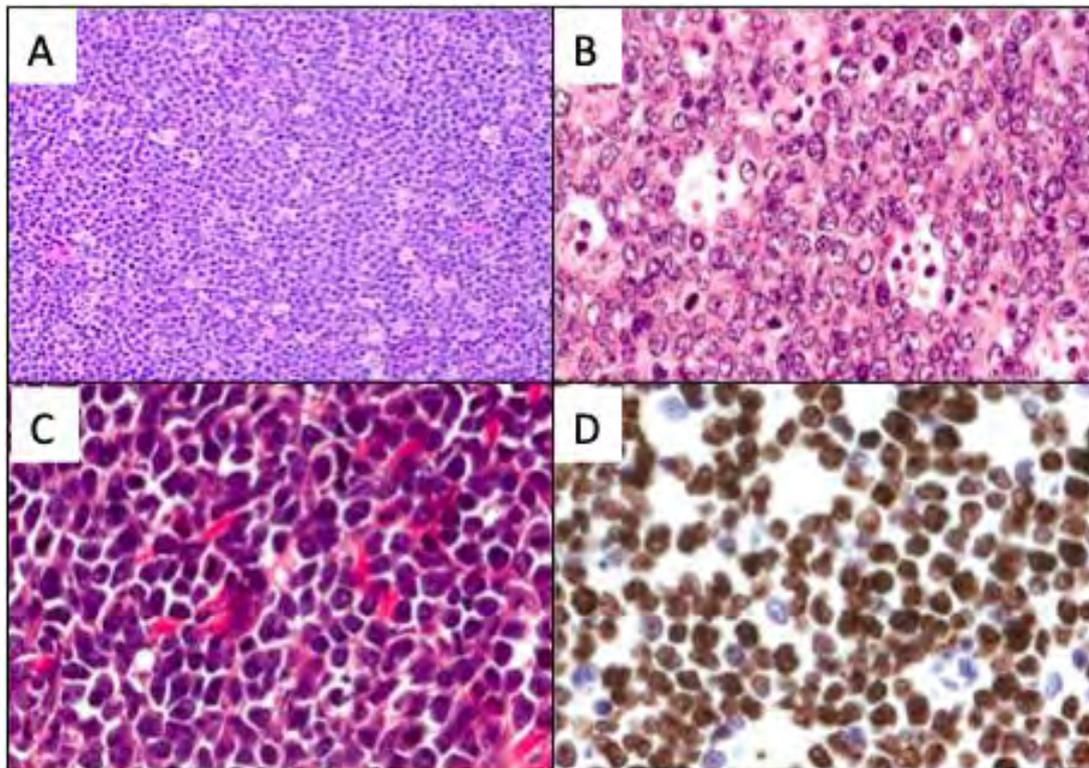


Figure 8. Aspects microscopiques du lymphome de Burkitt :

- A. Aspect classique à faible grossissement : plages diffuses de lymphocytes de taille moyenne à grande, pléomorphisme léger avec cellules en cycle et nombreux corps apoptotiques (HE, grossissement x100).
- B. Tumeur d'aspect monomorphe avec des cellules multi-nucléolées, une chromatine finement dispersée (HE, grossissement x200).
- C. Tumeur d'aspect plus pléomorphe, nombreuses irrégularités nucléaires, hyperchromatisme diffus (HE, grossissement x200).
- D. IHC : forte positivité diffuse pour l'index de prolifération Ki67.

Un travail récent a montré des similitudes troublantes entre le lymphome B de haut grade et l'entité bien connue qu'est le lymphome de Burkitt (17). Il s'agissait de se baser sur une signature définie précédemment de type Burkitt, et de l'appliquer à une cohorte de 928 patients atteints de LBDGC, inclus dans l'essai REMoDL-B (18). Il a été montré ainsi que le lymphome B de haut grade et le lymphome de Burkitt ont en commun une surexpression de MYC, des gènes impliqués dans le cycle cellulaire, des cibles de TCF3, des gènes ribosomaux, un profil d'expression de type centroblaste et une surexpression de FOXP1 (18). Il apparaissait néanmoins que les mutations de *TCF3* et *ID3* sont moins fréquentes dans les lymphomes B de haut grade que dans les lymphomes de Burkitt, ce qui suggère des mécanismes moléculaires distincts entre les deux entités (17).

D'autres diagnostics différentiels existent : citons le lymphome du manteau variante blastoïde, le lymphome B à grandes cellules ALK+, les lymphomes associés à l'EBV et à l'HHV8 qui doivent faire l'objet d'un examen morphologique minutieux et d'une étude IHC approfondie pour dédouaner un autre sous type distinct des LBDGC-NOS.

e. Prise en charge anatomopathologique des LBDGC-NOS

La prise en charge anatomopathologique des LBDGC intègre non seulement l'analyse morphologique et l'analyse IHC du statut GC/non-GC (CD10, BCL6, MUM1) et de double expression de BCL2 et MYC mais aussi la recherche de réarrangements des gènes *MYC*, *BCL2* et *BCL6* par technique de FISH afin d'éliminer le sous-type lymphome B de haut grade avec réarrangements de *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6*. Les auteurs de la classification révisée de l'OMS 2017 insistent sur le fait que l'immunohistochimie à l'aide de l'anticorps anti-MYC ne permet pas de statuer sur le statut de translocation de la tumeur (2). De même, un index de prolifération élevé (mesuré selon le Ki67) ne constitue aucunement un indice fiable de la présence d'une translocation (19).

f. Bilan d'extension

Après un bilan biologique exhaustif initial comportant notamment un hémogramme, un bilan de coagulation et de la fonction rénale, la mesure du taux d'acide urique et de lactate déshydrogénase (LDH), et enfin une recherche d'immunisation contre le VIH et les hépatites B et C, la prise en charge diagnostique comprend divers examens en vue d'évaluer l'étendue de l'atteinte lymphomateuse.

Le bilan d'extension de la maladie est nécessaire pour décider de la prise en charge thérapeutique et entre en compte dans l'évaluation pronostique de la maladie. Les atteintes extra-ganglionnaires sont fréquentes (presque 40% des cas) et touchent fréquemment le tube digestif, la peau, le médiastin, l'os, mais toutes les localisations sont possibles.

- **Imagerie :**
 - Tomodensitométrie (TDM) abdominale et pelvienne ;
 - TEP-scanner au FDG ;
 - et selon le terrain / la symptomatologie : radiographie thoracique, échographie abdominale ou pelvienne, IRM, endoscopie digestive haute...

- **Biologie :**
 - Biopsie ostéoméduleaire, généralement complétée par un myélogramme ; les consensus récents indiquent qu'elle n'est pas requise en cas de négativité du TEP-scanner (20).
 - Ponction lombaire avec analyse cytologique et biochimique du LCR pour recherche d'une atteinte méningée, en présence de localisation mammaire, testiculaire, ORL, lorsque le patient présente plus de deux atteintes extra-ganglionnaires ou une atteinte médullaire, enfin lorsque le lymphome survient dans le décours d'une infection par le VIH (21).

4. Facteurs pronostiques clinico-biologiques pré-thérapeutiques

a. Classification d'Ann Arbor

L'étendue de la maladie est appréciée selon la classification d'Ann Arbor (**Tableau 2**).

Tableau 2. Classification d'Ann Arbor (d'après Tilly et al. - 2015 - Diffuse large B-cell lymphoma) (6).

stade I	Atteinte d'une seule aire ganglionnaire sus ou sous diaphragmatique
stade II	Atteinte de deux ou plusieurs aires ganglionnaires du même côté du diaphragme
stade III	Atteinte ganglionnaire de part et d'autre du diaphragme
stade IV	Atteinte viscérale à distance d'un groupe ganglionnaire (médullaire, hépatique, pulmonaire...)

Le stade est complété de :

- la lettre A : en l'absence de signes généraux d'évolutivité (fièvre >38° durant au moins une semaine, hypersudation nocturne abondante, amaigrissement de plus de 10% en six mois) ;
- la lettre B : si présence d'au moins un signe général ;
- la lettre E : si atteinte extra-ganglionnaire contiguë à une atteinte ganglionnaire (6).

b. IPI score

L'**index pronostique international (IPI)** a été développé dans les années 90 dans le but de classer les patients en groupes de risque à partir de données clinico-biologiques validées. Il est basé sur cinq variables que sont l'âge, le score ECOG PS (Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status), le taux de LDH (Lactate déshydrogénase), le nombre de sites extra ganglionnaires envahis et le stade Ann Arbor (22). Pour chacune des variables est attribué un score de 0 à 1, aboutissant au total à un score global compris entre 0 et 5.

Le **score IPI adapté à l'âge (IPIaa)**, utilisé en pratique quotidienne, propose une redistribution des facteurs sans tenir compte de l'âge ni du nombre de sites extra ganglionnaires envahis (validés chez les patients de moins de 60 ans) (22). Le score total pour l'IPIaa varie ainsi de 0 à 3 (**tableau 3**). Plus récemment sont apparus le R-IPI (Revised International Prognostic Index) (23) puis le NCCN-IPI, une version enrichie de l'IPI avec pour but d'identifier au mieux les patients à haut risque de rechute (24).

Tableau 3. Index pronostique international dans le LBDGC (d'après Bonnet C et al, Revue médicale suisse 2012) (25).

LDH: lactate déshydrogénase; ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group.	
Index pronostique international (IPI): Facteurs défavorables	
• Age	≥ 60 ans
• Localisations extraganglionnaires	≥ 2
• Stade d'Ann Arbor	> 2
• LDH	> Normale
• Indice de performance selon l'ECOG	≥ 2
Index pronostique international adapté à l'âge (aaIPI): facteurs défavorables	
• Stade d'Ann Arbor	> 2
• LDH	> Normale
• Indice de performance selon l'ECOG	≥ 2

Ce score IPI a permis de déterminer 4 groupes pronostiques tous âges confondus, dont la survie globale à 5 ans pour le score IPI varie de 75% (IPI 0-1), 51% (IPI2), 43% (IPI3), à 26 % (IPI 4-5) et pour le score aaIPI (moins de 60 ans) de 83% (IPI0), 59% (IPI1), 46% (IPI2) à 32% (IPI3)(22). Développé avant l'utilisation de l'immuno-chimiothérapie, il reste valide à l'ère du rituximab (26). Toutefois les données de survie ont été réévaluées grâce au score R-IPI dans l'étude rétrospective de Sehn et al. qui distingue 3 groupes dont la survie globale à 4 ans varie de 94% (IPI 0), 79% (IPI 1-2) à 55% (IPI 3-5)(23).

5. Stratégie thérapeutique

a. Traitement de première ligne

Les LBDGC du système nerveux mis à part, la prise en charge thérapeutique de référence en première ligne reste basée sur une immuno-chimiothérapie couplant le rituximab, anticorps monoclonal dirigé contre le CD20 présent à la surface des cellules tumorales, à une polychimiothérapie comportant notamment cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisone (6,27). L'immuno-chimiothérapie est typiquement délivrée selon 6 à 8 cycles, espacés de 14 à 21 jours (6). On utilise des critères pronostiques clinico-biologiques pour adapter les

composants de cette polychimiothérapie, leurs posologies et fréquences d'administration. L'adhésion du patient à la chimiothérapie est primordiale pour un effet thérapeutique optimal (28).

L'introduction du rituximab dans les années 2000 a représenté un progrès thérapeutique notable dans le traitement du LBDGC quel qu'en soit le sous type (29,30). Il s'agit d'une molécule d'immunothérapie ciblant le CD20, phosphoprotéine glycosylée présente à la surface des cellules B tumorales. Le premier essai clinique mené par le groupe d'étude des lymphomes de l'adulte (GELA) évaluant le traitement rituximab associé à une polychimiothérapie à base de cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine, prednisone (R-CHOP) versus CHOP seul dans le LBDGC, mettait en évidence un taux de rémission de 76% versus 63% et une amélioration de la survie globale à 10 ans de 43,5% versus 27,6% dans le groupe R-CHOP versus CHOP respectivement (31).

D'autres traitements peuvent être utilisés en première ligne ou lors des rechutes tels que les polychimiothérapies R-ACVBP (rituximab, doxorubicine, cyclophosphamide, vindesine, bléomycine et prednisone), R-DHAP (rituximab, dexaméthasone, cytarabine, cisplatine), R-ICE (rituximab, ifosfamide, carboplatine et étoposide), qui peuvent précéder une greffe autologue de cellules souches (ASCT) (32).

Avant de débiter le traitement proprement dit, une «préphase» comportant corticoïdes et vincristine peut être administrée pour limiter le risque de complications liées à la lyse tumorale et améliorer l'état général du malade, point primordial pour les sujets âgés (25). Enfin, la prophylaxie des rechutes neuroméningées doit être discutée en RCP chez les patients présentant des localisations spécifiques à haut risque (sinus, palais, masses para-vertébrales, moelle osseuse, testicule, sein et ovaire) ou ayant un score IPI élevé. Elle repose habituellement sur une injection intrathécale de méthotrexate lors des 4 premiers cycles de chimiothérapie.

b. Evaluation de la réponse au traitement

L'ensemble des examens anormaux lors du bilan initial est répété trois à quatre semaines après la dernière cure de chimiothérapie, y compris la ponction-biopsie osseuse (BOM) si la moelle était initialement envahie. La négativité du TEP scanner (Tomoscintigraphie par Emission de Positron couplée à la tomodensitométrie) permet d'affirmer la rémission complète, information très pertinente chez les patients présentant des masses résiduelles en imagerie conventionnelle (6). En effet, l'estimation de la réponse au traitement repose actuellement sur l'évaluation en médecine nucléaire par TEP scanner selon l'échelle en 5 points de Deauville permettant de définir les patients en réponse complète, en réponse partielle ou en progression (33). De plus toute masse métaboliquement «active» doit être rebiopsiée pour affirmer la persistance de tissu tumoral (27).

Les données du TEP scanner après deux cures permettent éventuellement d'adapter la stratégie thérapeutique en proposant une autogreffe aux patients en réponse insuffisante après les premières cures d'immunochimiothérapie (34).

Dans la littérature, plusieurs situations cliniques de maladie réfractaire peuvent être rencontrées et sa définition n'est pas univoque entre les différentes séries rétrospectives. Celle-ci est modifiée au cours du temps et selon l'avènement de nouveaux critères d'évaluation de la réponse au traitement notamment évaluée par TEP scanner. Certaines études considèrent les patients en rechute à moins d'un an du diagnostic, d'autres à moins de 6 mois de la fin du traitement. De même, les critères permettant de définir la réponse partielle et la progression de la maladie ne sont pas unanimes.

c. Suivi

Les patients en rémission sont cliniquement suivis trimestriellement la première année suivant la fin du traitement, et semestriellement pendant deux années supplémentaires. Ensuite, un suivi annuel à la recherche d'effets secondaires tardifs ou de cancer secondaire est recommandé. Les contrôles biologiques sont réalisés trimestriellement la première année, à deux ans après la fin du traitement puis uniquement en cas de symptôme ou de signe clinique alarmant ensuite. Un

contrôle scannographique est proposé à 6, 12 et 24 mois après la fin du traitement. Cependant, il n'a pas été prouvé que la réalisation systématique de tels examens permette une amélioration de la survie (6). Le TEP scanner ne fait pas partie des examens à réaliser lors du suivi (27). Les patients jeunes, éligibles à un traitement de rattrapage curatif peuvent tirer bénéfice d'un suivi plus rapproché afin de détecter plus précocement une éventuelle rechute.

6. Réponse au traitement et survie globale

A l'heure actuelle, aucune molécule parmi celles testées durant les deux dernières décennies n'a supplanté le protocole thérapeutique par R-CHOP (18,35,36). Cependant malgré des progrès thérapeutiques considérables ciblant les cellules tumorales, une fraction significative des patients (30 à 40%) rechute ou ne répond pas au traitement standard à base d'immuno-chimiothérapie (R-CHOP) (37-39). La survie globale des patients atteints de LBDGC est de 80% à 2 ans et de 60-70% à 5 ans (18,37). Pour les patients sans événement dans les 2 ans suivant le diagnostic, la survie est comparable à celle d'une population contrôle (de même sexe et du même âge) non atteinte de lymphomes (39). Les patients en rémission complète à la fin du traitement de première ligne représentent environ 65 à 75% des cas (40) et près de 10% n'atteignent qu'une réponse partielle (41). La survie globale à 2 ans dépend grandement de la qualité de la réponse : atteignant plus de 90% pour les patients en rémission complète et moins de 50% pour ceux en rémission partielle. Le pronostic des patients n'atteignant qu'une réponse partielle est certes moins bon que celui de ceux qui atteignent une réponse complète mais semble meilleur que celui des patients progressifs ou en rechute dans l'année suivant le diagnostic (42).

Dans près de 10 à 15% des cas, la maladie va être primo-réfractaire à l'immuno-chimiothérapie initiale (ou progresser durant le traitement) ou réévoluer très précocément dans les 6 mois suivant la fin du traitement ou dans l'année suivant le diagnostic, après une réponse initiale. Les patients réfractaires primaires ou en rechute précoce constituent un peu moins de la moitié des rechutes globales. Dans ces situations la médiane de survie globale est inférieure à un an à compter du début de la progression tumorale (37) et seulement 10% de ces patients répondront à une chimiothérapie de seconde ligne, suivie ou non d'une autogreffe

de cellules souches autologues (43)(44). Enfin, seulement 7% des rechutes surviennent au-delà de 5 ans, la majorité des événements survenant durant les deux premières années (45)(46).

Il est à noter par ailleurs que les LBDGC transformés à partir d'une maladie lymphomateuse indolente pré-existante sont de moins bon pronostic.

B. Physiopathologie : lymphomagénèse du LBDGC

1. Différenciation et maturation des lymphocytes B

Les lymphocytes B matures trouvent leur origine dans la moelle osseuse. Ils résultent de la transformation de progéniteurs B après réarrangements des gènes *VDJ* codant pour une immunoglobuline exprimée à la surface de ces cellules. Après avoir quitté la moelle, les cellules B matures naïves sont exposées à un antigène dans les organes lymphoïdes secondaires. Suite à la reconnaissance de cet antigène, la majorité d'entre elles migre dans le centre germinatif, structure qui apparaît dans les ganglions au cours de la réponse immunitaire et où se réalisent divers processus de prolifération et de maturation (47). Le centre germinatif (GC) est constitué d'une zone dite sombre où les lymphocytes B prolifèrent et subissent des hyper-mutations somatiques dans le but d'améliorer l'affinité des immunoglobulines au niveau de leur région variable, ces dernières permettant aux lymphocytes d'exprimer un récepteur antigénique (BCR) de haute affinité pour l'antigène. Ils prennent ici la forme d'un centroblaste, stade à partir duquel se développe le LBDGC de type GC (germinal center). Les lymphocytes B poursuivent leur maturation dans la zone claire du centre germinatif en tant que centrocytes desquels dérivent les LBDGC de type non-GC (ABC), en testant l'affinité de leur BCR par interaction avec les cellules dendritiques folliculaires et les lymphocytes T helper CD4⁺. Ils sont alors la cible d'une nouvelle recombinaison génétique appelée commutation de classe (ou recombinaison isotypique), qui augmente l'affinité et la diversité des immunoglobulines. Puis, ils sortent du centre germinatif et mûrissent en lymphocytes B mémoires ou en plasmocytes. Après leur interaction dans la zone claire avec les cellules dendritiques ou les lymphocytes T CD4⁺, les lymphocytes B peuvent être également redirigés vers la zone sombre pour subir de nouveaux cycles de prolifération et d'hypermutation somatique

(SHM), ou peuvent entrer en apoptose si leur BCR est de trop faible affinité pour l'antigène (48) (**Figure 9**).

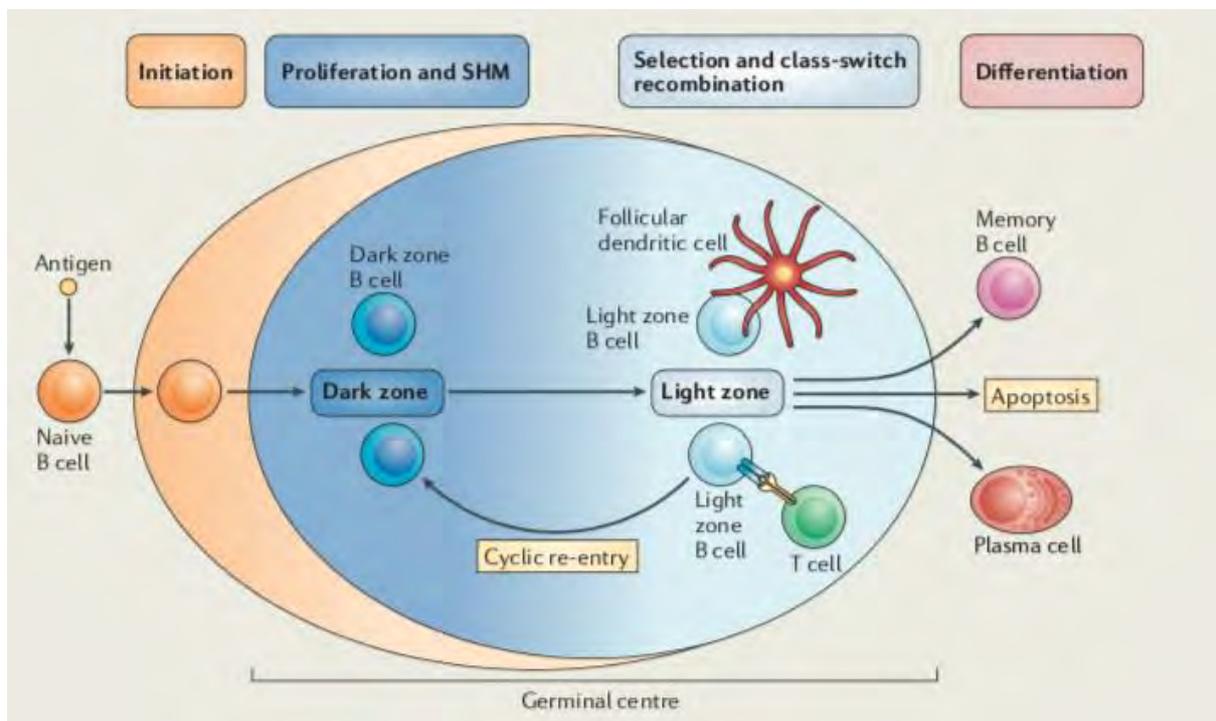


Figure 9. Le centre germinatif: lieu de maturation des lymphocytes B (d'après Germinal centres and B-cell lymphomagenesis, Basso et Dalla-Favera, Nature reviews, Immunology, 2015) (49).

2. Principaux facteurs impliqués dans la lymphomagenèse du LBDGC

a. Centre germinatif : Lieu d'accumulation de mutations

Le développement et la maturation des lymphocytes B au niveau du GC nécessite de nombreux intervenants qui peuvent être dérégulés dans les lymphomes (**Figure 10**). Ces dérégulations peuvent être liées d'une part à des recombinaisons génétiques telles les translocations chromosomiques, qui en juxtaposant un oncogène avec des sites régulateurs de l'expression des immunoglobulines, entraînent une expression constitutive de ce même oncogène. D'autre part, elles peuvent être secondaires à l'apparition d'hypermutations somatiques aberrantes touchant des facteurs de transcription nécessaires au bon développement d'un lymphocyte B. En effet les différentes étapes de maturation et de différenciation d'un lymphocyte B nécessitent l'expression ou la répression de nombreux facteurs transcriptionnels. Parmi eux, notons PAX5, BCL6 et BLIMP-1 : PAX5 dans les

cellules B matures et les cellules B du GC, BCL-6 dans les cellules B du GC et BLIMP-1 dans les plasmocytes. PAX5 et BCL-6 répriment l'expression de PRDM-1/BLIMP-1. Parallèlement BLIMP-1 réprime l'identité cellulaire B (via la répression de PAX5 et BCL-6), favorise la sortie du cycle cellulaire par la répression de MYC, et la sécrétion d'anticorps par l'activation de XBP-1. MYC est également exprimé par les cellules B de la zone sombre pour être finalement réprimé par BCL6 et ne s'exprime plus dans la zone claire. Il est ré-exprimé de façon transitoire par les lymphocytes B qui sont redirigés dans la zone sombre. En outre, MYC semble être indispensable pour l'architecture du centre germinatif car les souris qui expriment un antagoniste de MYC sous le contrôle de la doxycycline ont des centres germinatifs de plus petite taille que ceux des souris contrôles après leur immunisation (50).

En définitive, lors des étapes de leur maturation dans le GC, les lymphocytes B, à cause de leur prolifération rapide et des phénomènes de commutations isotypiques et de mutations hypersomatiques, sont particulièrement sujets à développer des anomalies génétiques favorisant le développement d'un lymphome.

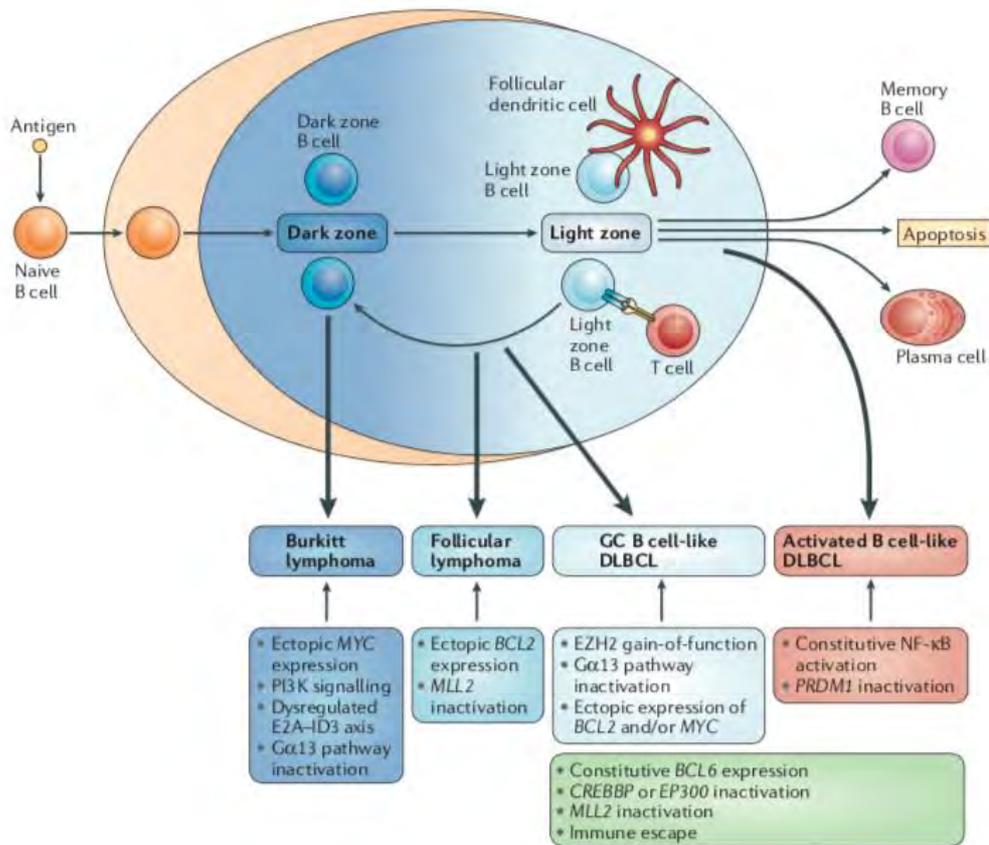


Figure 10. Le centre germinatif: lieu d'apparition de lymphomes (d'après Germinal centres and B-cell lymphomagenesis, Basso et Dalla-Favera, Nature reviews, Immunology, 2015) (49).

b. Dérégulation de facteurs de transcription : exemple de BCL6

BCL6 (B Cell Lymphoma 6) est un répresseur de la transcription qui gouverne plusieurs processus nécessaires à la maturation des lymphocytes B dans le centre germinatif. En effet, il inhibe l'arrêt du cycle cellulaire, l'apoptose, les réponses dues au stress génotoxique, l'activation et la différenciation des lymphocytes B. Ainsi BCL6 favorise les réarrangements génétiques qui ont lieu au sein du centre germinatif (51). Plusieurs aberrations génétiques aboutissent à la dérégulation de BCL6 impliquée dans le lymphome diffus à grandes cellules B (52). Le gène codant pour BCL6 peut être mis sous contrôle d'un promoteur de substitution par des translocations chromosomiques, rendant son expression constitutive (53). De plus, des mutations génétiques dans les régions régulatrices du gène *BCL6*, peuvent aboutir à des mécanismes d'autorégulation ou à l'impossibilité de réprimer son expression, notamment par les voies IRF4 ou CD40 (54). L'activité anormale de BCL6 dépend également de mécanismes indirects variés, tels que les

mutations intéressant le facteur de transcription MEF2B, un de ses régulateurs positifs (55), l'activation de FBXO11 qui assure son ubiquitination en vue de sa dégradation par le protéasome (56), ou encore la perte de fonctions découlant des altérations des acétyl-transférases CREBBP et EP300 (57) (**Figure 11**). En outre, les souris transgéniques surexprimant BCL6 dans les lymphocytes B développent des lymphomes diffus à grandes cellules B, prouvant le caractère oncogénique de BCL6 (58).

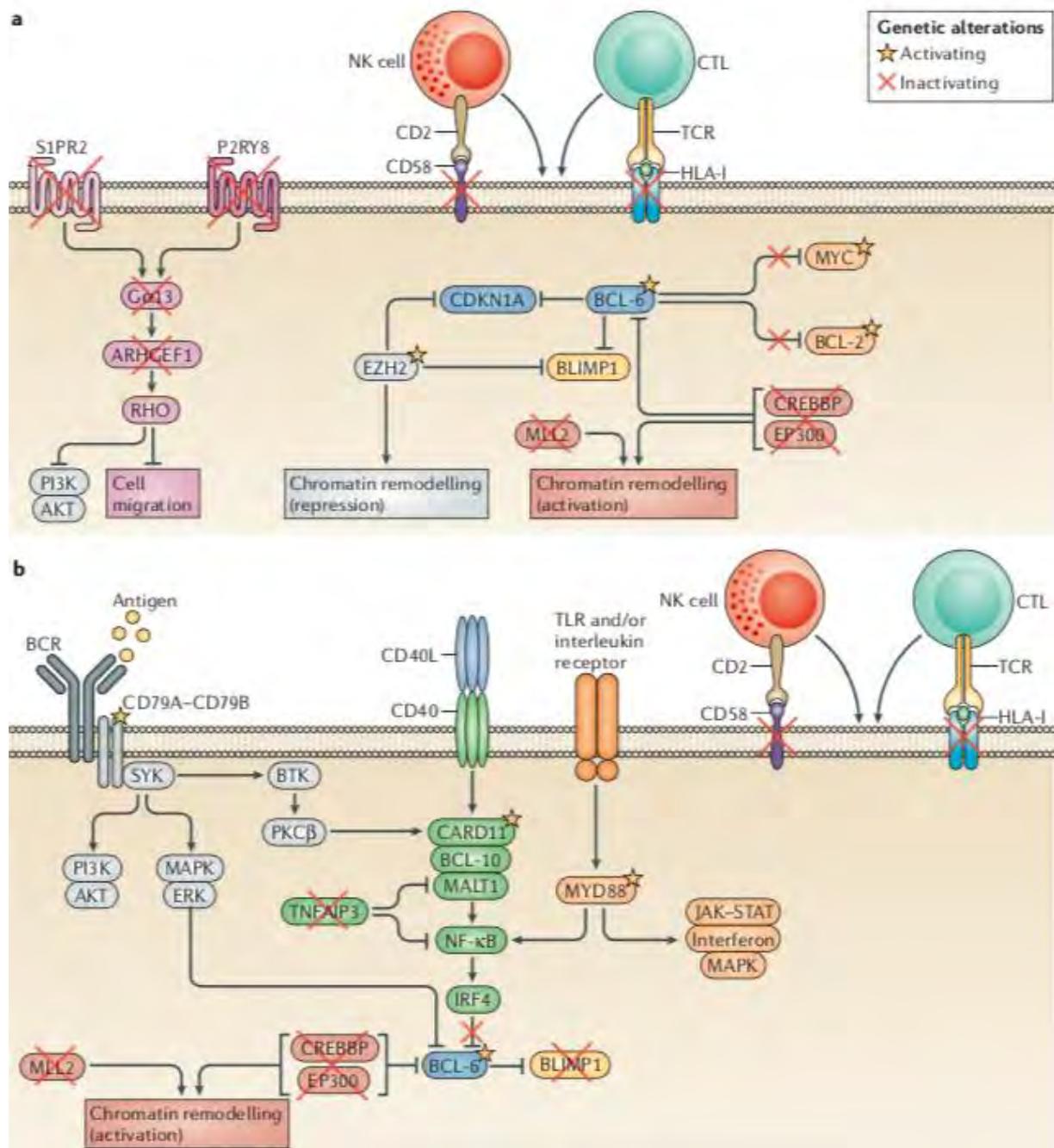


Figure 11. Représentation schématique des différentes voies de dérégulations dans la lymphomagenèse du LBDGC (d'après Germinal centres and B-cell lymphomagenesis, Basso et Dalla-Favera, Nature reviews, Immunology, 2015) (49).

a. Principales voies de pathogénèse dans le lymphome B diffus à grandes cellules de type centro-germinatif.

b. Principales voies de pathogénèse dans le lymphome B diffus à grandes cellules de type non centro-germinatif.

c. Altérations épigénétiques

L'altération des mécanismes de régulation épigénétique survient par mutation, délétion ou dérégulation de l'expression de leurs gènes cibles entraînant des profils d'expression aberrants et une instabilité génomique prédisposant au cancer. Ces dérégulations épigénétiques peuvent aussi impliquer la répression de l'allèle encore actif d'un gène suppresseur de tumeur déjà muté. Dans les LBDGC, l'inactivation des acétyl-transférases EP300 et/ou CREBBP et de l'histone méthyl-transférase MLL2 est fréquemment retrouvée (30-40% des cas). Dans le cas de l'inactivation de CREBBP et EP300, l'inactivation du proto-oncogène BCL6 et l'expression du gène suppresseur de tumeur *TP53* (57)(59) sont entravées (**Figure 11**).

d. Echappement immunitaire

Dans la majorité des cas de LBDGC, les cellules tumorales échappent à la reconnaissance anti-tumorale médiée par les cellules T cytotoxiques et les cellules NK au cours du processus d'immuno-surveillance. Des études IHC montrent en effet que plus de la moitié des LBDGC présentent une perte partielle ou complète de l'expression des molécules du CMH de classe I nécessaire à leur reconnaissance par les lymphocytes T cytotoxiques (LTC) (60). Ceci peut être dû à l'inactivation du gène codant pour la β 2-microglobuline (β 2m), à l'inactivation des gènes codant HLA-A, HLA-B et HLA-C, ou à un transport défectueux de ces molécules jusqu'à la surface cellulaire (61). Un défaut d'expression de surface du complexe HLA de classe I (HLA-I) est souvent associé à une inactivation génétique ou à un défaut de transport du récepteur CD58 impliqué dans l'immunosurveillance par les cellules natural killer (NK) (61). La diminution de l'expression des molécules CMH II est également fréquente et représente un mécanisme d'immuno-évasion particulièrement important dans les lymphomes comme en témoigne l'impact

pronostique péjoratif de la perte du CMH II dans les LBDGC et les lymphomes de Hodgkin (62). Plusieurs mécanismes expliquent la perte d'expression du CMH II parmi lesquels l'apparition de mutations homozygotes du gène codant le CMH II ou de réarrangements du gène *CIITA*, indispensable à la transcription du CMH II. Enfin d'autres mécanismes aboutissent à la perte du CMH comme les mutations des protéines impliquées dans le processing de l'antigène (LMP2/7) (63) ou dans le transport de l'antigène (TAP1 et TAP2) (60). De façon concomitante, cette immuno-évasion intègre divers mécanismes qui mènent à une expression aberrante de HLA-I et CD58 dans plus de 60% des cas de LBDGC (61).

3. Voies oncogéniques dans le LBDGC sans autre spécificité (NOS)

De nombreux travaux ont précisé la valeur pronostique des sous-types GC et non-GC et les différences biologiques qui les caractérisent, telles que la prévalence des réarrangements de *MYC*, *BCL2* ou *BCL6*, l'expression protéique de ces oncogènes, les profils mutationnels et altérations du nombre de copies (CNV) géniques, la signalisation cellulaire ou encore la structure du récepteur du BCR.

a. LBDGC GC

Les cellules tumorales sont dans ce cadre issues d'un clone B du centre germinatif. Les LBDGC GC présentent fréquemment une dérégulation d'expression de la protéine anti-apoptotique *BCL2* souvent liée à un réarrangement *BCL2/IGH* secondaire à la translocation *t(14;18)* classiquement observée dans le lymphome folliculaire et retrouvée dans 34% des LBDGC GC. De plus, l'apport des techniques de NGS a permis de mettre en évidence que *BCL2* est l'un des gènes les plus fréquemment mutés dans les LBDGC GC (64). Les réarrangements chromosomiques impliquant *MYC* représentent quant à eux environ 10% des LBDGC GC. Les mutations de *MYC* et/ou de *BCL6* sont également fréquemment observées dans les LBDGC GC. Les LBDGC GC présentent fréquemment une activation de la voie PI3K/AKT, pouvant être liée à la perte de *PTEN* (gène suppresseur de tumeur, régulant de manière négative la voie PI3K). Celle-ci sera illustrée par une perte d'expression de *PTEN* en IHC dans 55% des LBDGC GC (65) et par la détection d'une délétion du gène *PTEN* dans 11% des LBDGC GC (66).

Enfin les LBDGC GC sont caractérisés par la présence de mutations de régulateurs épigénétiques telles que des mutations du gène *CREBBP* codant pour une histone acétyl-transférase observées dans 30% des LBDGC GC ou encore d'*EZH2* observées dans 22 % des LBDGC GC (67) à l'origine d'une hyperméthylation de l'histone H3K27 entraînant une diminution de transcription de gènes suppresseurs de tumeurs comme *CDKN1A*, *PRDM1* et *IRF4* (68) (**Figure 11**).

Les voies de signalisation impliquées dans les mécanismes de migration cellulaire depuis le GC sont activées de façon anormale dans environ 30% des LBDGC GC (69). Il s'agit à l'origine de mutations intéressant les gènes *S1PR2*, *GNA13*, *ARHGEF1* ou *P2RY8* (codant pour des chémokines et leurs récepteurs impliqués dans les capacités de migration cellulaire) qui altèrent la voie de contrôle (Gα13) du confinement des cellules B au sein du centre germinatif et promeuvent leur survie et diffusion dans la circulation sanguine et lymphatique (69) (**Figure 11**).

b. LBDGC non-GC

Dans le LBDGC non-GC, les cellules tumorales sont issues d'un clone B post-GC et sont caractérisées d'un point de vue moléculaire, par une activation constitutive de la voie NFκB. NFκB représente une famille de facteurs de transcription impliqués dans le contrôle de la prolifération cellulaire, l'inflammation, la sécrétion cytokinique ou encore l'angiogénèse.

Cette voie peut être activée lors de l'engagement du BCR ou bien lors de l'engagement de récepteurs TLR (Toll-Like Receptor), également exprimés par les cellules B. L'activation constitutive de cette voie observée dans les LBDGC non-GC passe par plusieurs mécanismes. Ainsi des mutations activatrices de *CARD11* (Caspase Recruitment Domain-containing protein 11), protéine impliquée dans la signalisation du BCR au sein du complexe *CARD11-BCL10-MALT1*, sont observées dans 10% des LBDGC non-GC (70).

Dans 20% des cas, les LBDGC présentent des mutations des gènes codant pour les co-récepteurs *CD79A* et/ou *CD79B* entraînant l'activation constitutive du BCR par suppression du mécanisme d'endocytose du récepteur ou par inhibition de *LYN* qui en est un régulateur négatif (71).

De même des mutations de *MYD88* impliquant une activation constitutive de la voie TLR sont observées dans 35% des cas. La mutation de *MYD88* engendre de plus une activation de la voie *MAPK* entraînant la production d'IL-6 et l'IL-10, elles-mêmes à l'origine d'une stimulation de la voie *JAK/STAT* de manière autocrine. Enfin il a été décrit des mutations inactivatrices de *TNFAIP3* (régulateur négatif de la voie NFκB) dans 30% des LBDGC non-GC (72).

Par ailleurs, il existe pour ces cellules tumorales B activées une incapacité à se différencier en plasmocytes, découlant de la régulation négative des fonctions de BLIMP1. Cela s'explique à l'échelle moléculaire par l'inactivation du gène *PRDM1* (49), pouvant passer par trois mécanismes distincts. L'inactivation bi-allélique de *PRDM1* concerne 30% des LBDGC de type non-GC (73). Vingt-cinq pour cent d'entre eux présentent des altérations de SPIB (66), un facteur de transcription qui, en formant un complexe avec IRF4 contribue à l'inactivation de PRDM1 par répression transcriptionnelle (74). Enfin, les translocations chromosomiques impliquant *BCL6* (51), plus fréquentes chez les LBDGC de type non-GC que chez les profils GC, mènent à une répression constitutive de PRDM1 (75) (**Figure 11**).

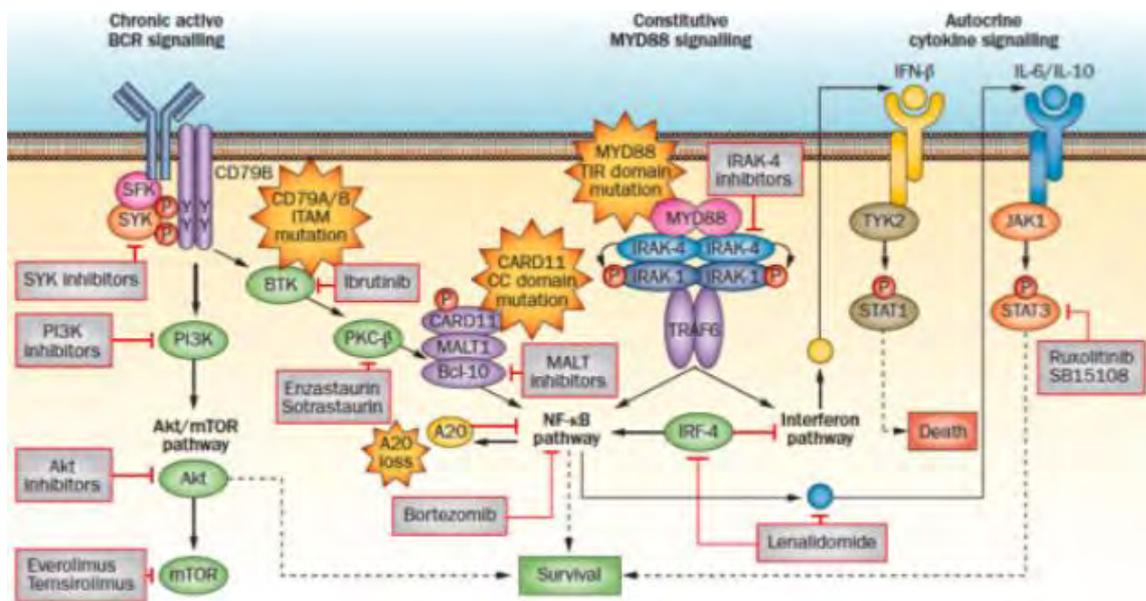


Figure 12. Représentation schématique des voies oncogéniques dans le LBDGC NGC et cibles thérapeutiques potentielles (d'après Roschewski M et al, Nature reviews 2014) (32).

C. Biomarqueurs du LBDGC-NOS

1. Impact pronostique de la cellule d'origine (COO) dans les LBDGC-NOS

Les deux grands sous-types de LBDGC, GC et non-GC, ont été identifiés pour la première fois grâce à l'utilisation des puces à ADN il y a près de 20 ans, dans le travail publié par A.A. Alizadeh et al (8) montrant un pronostic péjoratif des LBDGC non-GC comparativement au GC. Les fréquences relatives de GC versus non-GC décrites dans la littérature sont respectivement de 60% et 40%, variables selon la location géographique, l'âge médian de la population étudiée, et la méthode diagnostique utilisée (76). A noter qu'environ 10% à 15% des cas ne peuvent être inclus ni dans l'une, ni dans l'autre catégorie et demeurent inclassables.

À la suite de cette publication, de nombreux travaux ont précisé la valeur pronostique de ces deux sous-types et les différences biologiques qui les caractérisent (7,35,76–78). Le sous type non-GC apparait de moins bon pronostic avec un taux de survie globale à 3 ans d'environ 45% contre 80% pour le LBDGC GC (79). Le bénéfice obtenu par adjonction de molécules telles que le bortezomib, le lenalidomide (inhibiteurs de la voie de signalisation NFκB) ou l'ibrutinib (inhibiteur de la Bruton's tyrosine kinase) au traitement par R-CHOP classiquement administré parait supérieur dans le cas des LBDGC de type non-GC par rapport aux LBDGC de type GC dans plusieurs essais de phase I/II (80–82).

Cependant les grands essais thérapeutiques prospectifs restent à ce jour non concluants, remettant en question la pertinence de choisir cette dichotomie GC/non-GC pour la stratification des patients. A titre d'exemple, en 2017, l'équipe de P. Staiger a inclus prospectivement 452 échantillons de patients atteints de LBDGC dans un essai RICOVER60 randomisé visant à évaluer l'impact pronostique de l'origine cellulaire (COO, cell of origin). Dans cet essai, il n'a pas été mis en évidence de différence entre les patients GC et non-GC traités par R-CHOP, ni en terme de survie globale (OS, overall survival) (HR = 1.3 ; IC95% (0,8 ; 2,2), p = 0.36), ni en terme de survie sans progression (PFS, progression free survival) (HR = 1.4 ; IC95% (0,8 ; 2,3), p = 0.21) ou de survie sans événement (EFS, event free survival) (HR = 1.2 ; IC95% (0,8 ; 2,0), p = 0.36). De même, aucune différence n'a été observée en analyse multivariée adaptée selon l'IPI (83). D'autres études

visant à améliorer l'efficacité du R-CHOP en combinaison avec une autre molécule (telle le bortézomib, le lénalidomide ou l'ibrutinib) n'ont été concluantes, ni en terme d'amélioration de la survie sans événement (SSE), ni pour montrer une différence de bénéfice entre les groupes GC et non-GC (18,36,40).

Cependant, il convient de rappeler que l'intérêt de la détermination du profil GC/non-GC ne se limite pas à son potentiel impact pronostique. En effet la classification OMS révisée en 2017 insiste sur l'importance de distinguer deux entités lymphomateuses distinctes au sein des LBDGC, de par leurs caractéristiques biologiques, génétiques, et cliniques, aboutissant à des options thérapeutiques différentes.

2. Impact pronostique du statut MYC, BCL2 et BCL6

a. Réarrangements de MYC et BCL2 et/ou BCL6

Les gènes *MYC*, *BCL2* et *BCL6* sont le siège d'altérations chromosomiques récurrentes dans respectivement 5-15%, 20% et 30-40% des LBDGC. *MYC* est impliqué dans la prolifération cellulaire notamment en régulant le cycle cellulaire, la réplication de l'ADN et le métabolisme des cellules (84). Le réarrangement du gène *MYC/8q24* (*MYC-R*) dans les LBDGC peut être isolé ou associé à des réarrangements concomitants des gènes *BCL2* et/ou *BCL6*. Dans ce dernier cas, le lymphome est classé en lymphome B de haut grade avec réarrangements de *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6* (dit double/triple hit, DHL/THL) selon la nouvelle classification OMS 2017, de pronostic plus péjoratif que le LBDGC-NOS (85) avec un risque plus élevé de rechute neuroméningée nécessitant un traitement intensif (86-88). Si les lymphomes DHL/THL sont considérés aujourd'hui comme les lymphomes B les plus agressifs (89-91), la valeur pronostique du réarrangement impliquant seulement le gène *MYC* (sans réarrangement *BCL2* ou *BCL6* associé) est controversée. De plus, il semble que la nature du gène partenaire de *MYC* soit importante à déterminer. En effet le LBDGC avec réarrangement de type *MYC-IG* serait associé à un plus mauvais pronostic comparativement au LBDGC *MYC-non-IG* ou au LBDGC sans *MYC-R*. Le réarrangement du gène *BCL2* secondaire à la translocation t (14 ; 18) (*IGH-BCL2*) est également préférentiellement observé dans les LDGCB de type GC (15-20%) alors que le réarrangement du gène *BCL6* est

plus souvent observé dans le sous type non-GC (30%). Leur impact pronostique sans réarrangement *MYC* associé est lui aussi controversé avec des résultats discordants selon les études.

Enfin, la dérégulation de *MYC* et de *BCL2* peut être liée à d'autres mécanismes que les réarrangements chromosomiques, comme une amplification génique, une mutation, une dérégulation transcriptionnelle liée à une altération des microARNs (miR), ou encore par activation de la voie de signalisation NF- κ B (92), à l'origine d'un profil tumoral très agressif et à l'index mitotique élevé.

b. Surexpression protéique MYC et BCL2 : statut double expresseur

L'expression de la protéine MYC est détectée chez un plus grand nombre de patients encore (30%-50%) et est associée à une expression concomitante de BCL2 dans 20% à 35% des cas de LBDGC, pour la plupart de statut non-GC (88). La majorité des études utilisent pour l'expression de MYC un cut-off de 40% des cellules tandis que le cut-off pour BCL2 varie considérablement dans la littérature, un cut-off de 50% de positivité dans la population cellulaire étant le plus couramment appliqué (88). L'impact pronostique de l'expression isolée de la protéine BCL2 ou de la protéine MYC est variable selon les études, mais la valeur pronostique de l'expression de MYC devient significative de façon certaine quand elle est associée à une expression de la protéine BCL2. Certaines études ont montré que les LBDGC double-expresses ont un pronostic défavorable comparativement aux LBDGC non double-expresses tout en restant moins agressifs que les lymphomes B de haut grade avec réarrangements de *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6* (76,83,88). Ces observations suggèrent que la double expression de MYC et BCL2 devrait être considérée comme un élément pronostique dans les LBDGC-NOS, sans pour autant constituer une catégorie distincte dans la classification.

c. Autres biomarqueurs immuno-histochimiques

En plus de la classification basée sur la cellule d'origine, plusieurs études ont identifié des marqueurs protéiques spécifiques ayant une valeur pronostique pour les LBDGC traités par R-CHOP, tels que CD5, KI-67, FOXP1, HLA-I, p21 et CD40 (93-96).

Ainsi par exemple, l'expression de CD5 en immuno-histochimie serait un facteur de mauvais pronostic avec un taux de rechutes neuro-méningées élevé sous chimiothérapie (93).

3. Perspectives de nouvelles classifications pronostiques des LBDGC-NOS

A ce jour, les essais thérapeutiques visant à améliorer l'efficacité du R-CHOP en ciblant des altérations spécifiques du sous-type non-GC se sont tous révélés négatifs. De plus, 10 à 20% des LBDGC restent inclassés dans ce modèle dichotomique GC versus non-GC qui ne reflète de ce fait que partiellement la complexité des LBDGC. L'application de techniques de séquençage haut débit (Next Generation Sequencing, NGS), et particulièrement le séquençage d'exome entier (Whole Exome Sequencing, WES) a permis de décrire de manière plus précise le panel d'altérations génomiques des LBDGC incluant les mutations somatiques, les variations du nombre de copies d'un gène et les translocations chromosomiques. Ces nouvelles technologies de biologie moléculaire avec approches bio-informatiques intégrées permettent de mieux sous typer les LBDGC en proposant de nouveaux profils moléculaires ou biomarqueurs pronostiques et d'identifier d'éventuelles cibles thérapeutiques.

a. Analyse génomique intégrative et fonctionnelle des LBDGC-NOS

Les récentes études moléculaires et notamment celles réalisées par l'équipe de S. Dave par technique de séquençage WES, RNAseq, SNP array et de Gene Expression Profiling (par technologie Nanostring) ont identifié des mutations somatiques communes à tous les LBDGC mais également des profils d'altération géniques distincts et caractéristiques des sous-types GC et NGC (97). Les mutations somatiques récurrentes communes à ces deux sous-types de LBDGC portent sur des gènes dits drivers, ici au nombre de 150. Certains sont identifiés comme oncogènes car essentiels à la croissance cellulaire de la majorité des lignées (par exemple *MYC*, *RHOA*, *SF3B1*, *MTOR* ou *BCL2*). D'autres se comportent comme des suppresseurs de tumeurs (*TP53*, *MGA*, *PTEN*, *NF-kBIE*, *RB1* ou *NCOR1*). Parmi les gènes ainsi pointés, 9 sont spécifiques d'un sous-type moléculaire : l'inactivation d'*EBF1*, *IRF4*, *CARD11*, *MYD88* ou *IKBKB* est ainsi létale pour les lignées non-GC,

tandis que l'inactivation des gènes *ZBTB7A*, *XPO1*, *TGFBR2* et *PTPN6* est létale pour les lignées GC, offrant de ce fait des opportunités thérapeutiques distinctes. Les données d'expression obtenues par WES, SNP array et RNAseq ont permis d'identifier des anomalies génétiques et des signatures moléculaires associées à un mauvais pronostic comme l'altération du gène *RHOA* corrélée à une signature de type prolifération, et qui ont été validées par des études in vivo et dans un modèle murin. Au final, cette étude propose un nouveau modèle pronostique intégrant en plus du phénotype GC/non-GC, des analyses génomiques et transcriptomiques, pour détecter :

- les altérations génétiques de gènes drivers prédéfinis
- l'hyperexpression de *MYC/BCL2/BCL6*
- les réarrangements de *MYC*

ces deux dernières anomalies étant de pronostic plus péjoratif indépendamment de l'IPI, et nécessitant une révision du diagnostic pour passer en lymphome B de haut grade avec réarrangement le cas échéant (98).

b. Nouvelles classifications moléculaires des LBDGC-NOS par analyse intégrative des données biologiques

Depuis 2017, plusieurs équipes ont proposé des modèles de classification relativement similaires, basés sur l'intégration de données de WES/NGS, analyse de SNV et RNAseq pour établir des sous-groupes pronostiques en fonction des anomalies moléculaires détectées (97)(99)(100)(101) (**Figure 13**). Ces approches viennent enrichir notre compréhension de l'hétérogénéité des LBDGC et permettent de mieux stratifier les patients atteints de LBDGC.

R. Schmitz et son équipe proposent une classification en 4 sous-types au pronostic distinct et définis par :

1. MCD (un pronostic moins favorable) : basé sur la cooccurrence des mutations de *MYD88* et *CD79B*

2. BN2 (un pronostic plus favorable) : basé sur la fréquence élevée de fusions de *BCL-6* et de mutations de *NOTCH2*

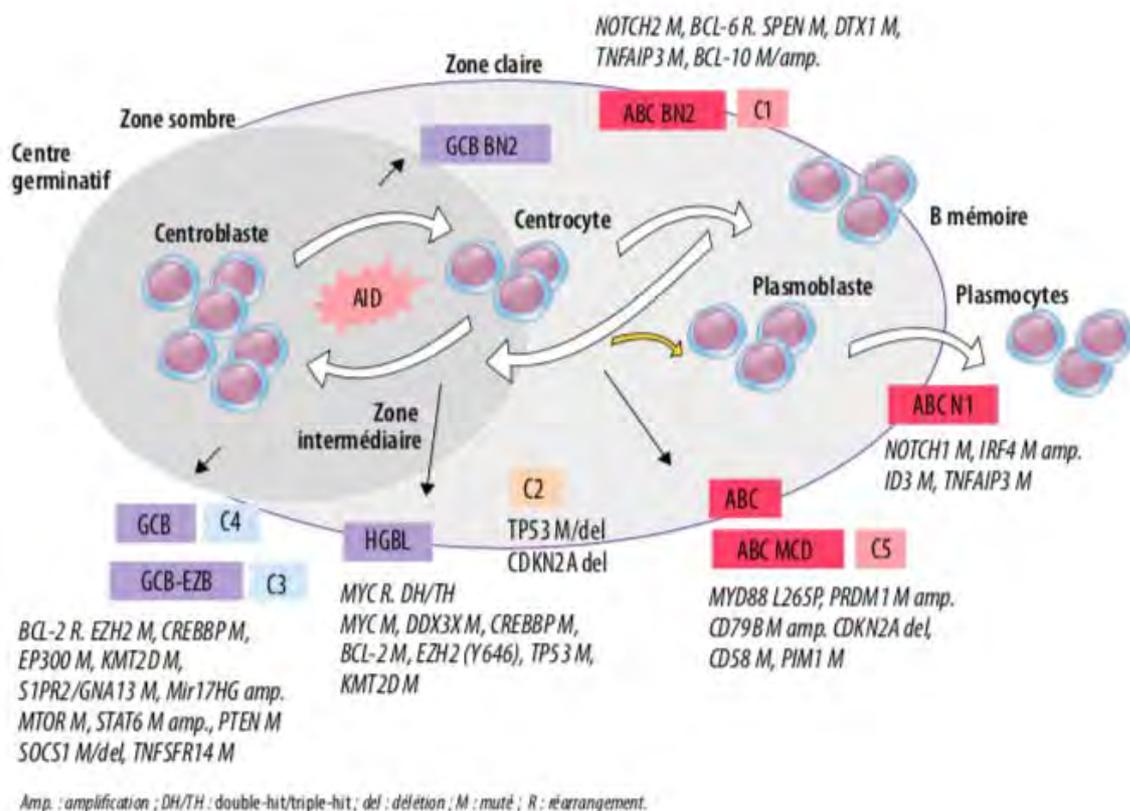
3. N1 (un pronostic moins favorable) : basé sur la présence de mutations de *NOTCH1*

4. EZB (un pronostic plus favorable) : basé sur la présence de mutations d'*EZH2* et de translocations de *BCL-2*.

L'étude de Chapuy et al. propose une classification en 5 clusters, de C1 à C5, définis par :

- **C1** : phénotype ABC, pronostic favorable, mutations de *NOTCH2* ;
- **C2** : sans lien avec les sous-types GCB/ABC, inactivation de *TP53* et de *CDKN2A*, instabilité génétique ;
- **C3** : GCB, pronostic défavorable, translocations de *BCL-2*, altérations de *PTEN* et de gènes impliqués dans l'épigénétique (*MLL2*, *CREBBP*, *EZH2*) ;
- **C4** : GCB, pronostic favorable, anomalies génétiques ciblant les voies BCR/PI3K, NFκB, RAS-JAK/STAT (*BRAF*, *STAT3*) ou les histones ;
- **C5** : ABC, de pronostic défavorable, gains de *BCL-2*, mutations de *MYD88* (*L265P*) /*CD79B*/*PIM1*/*PRDM1*.

Enfin C0 regroupait les cas de LBDGC sans anomalie récurrente ou minoritaire.



Référence	Reddy et al. Cell 2017	Schmitz et al. NEJM 2018	Chapuy et al. Nat Med 2018
Nombre de cas	1 001	574, enrichis en ABC et non classés	304
Méthodes moléculaires utilisées	WES, RNAseq, SNP array et profils d'expression génique (GEP, technologie NanoString*)	WES, séquençage ciblé de 372 gènes, RNAseq, analyse de CNV	WES, analyse de CNV, séquençage ciblé pour la détection des translocations
Sous-types identifiés	Identification de 150 gènes "drivers"	4 sous-types: <i>MCD, N1, EZB, BN2</i>	6 clusters: C0 à C5
Signification pronostique	Haut risque MYC + (translocation ou expression) Faible risque: GCB CD70 muté Gènes faible risque: NF1, SGK1 Gènes haut risque: CD79B, ZFAT, MYC (GCB ou ABC)	Haut risque: <i>MCD, N1</i> Faible risque: <i>EZB, BN2</i>	Faible risque: C0, C1, C4 Haut risque: C2, C3, C5 ABC haut risque: C1 ABC faible risque: C5
Limites du modèle	Modèle complexe difficilement transposable en routine; pas de cohorte de validation	Pas de FISH MYC; enrichissement en sous-type ABC; 50 % des patients non classés, pas de cohorte de validation et effectifs faibles pour les survies	Modèle complexe difficilement transposable en routine, pas de cohorte de validation

GEP: gene expression profile; WES: whole-exome sequencing; CNV: copy number variation.

Figure 13. Nouveaux modèles de classification moléculaire des LBDGC (d'après Jardin et al, Bases moléculaires des nouvelles classifications des LBDGC, 2019) (102).

Néanmoins, plusieurs limites à ces travaux ont été soulignées. Parmi elles on observe qu'une proportion de cas non négligeable n'entraîne dans aucun sous-groupe identifié. De plus il n'est pas envisageable à l'heure actuelle de transférer ces approches en pratique courante (100).

II. Objectifs du travail

Les objectifs principaux de l'étude étaient d'évaluer l'impact pronostique du profil GC/non-GC selon Hans en terme de survie dans une série de patients atteints de LBDGC-NOS et d'identifier des sous-groupes moléculaires aux pronostics distincts à l'aide de données de séquençage à haut débit de nouvelle génération.

III. Matériels et méthodes

A. Patients

1. Critères d'inclusion

Notre cohorte incluait rétrospectivement n = 143 patients primo-diagnostiqués pour un LBDGC en région Occitanie entre le 1^{er} Janvier 2015 et le 31 Décembre 2016. Les patients bénéficiant d'une prise en charge au sein d'un CH périphérique

bénéficiaient d'une relecture anatomo-pathologique par le réseau Lymphopath au sein de l'IUCT (Institut Universitaire du Cancer de Toulouse).

Ainsi la population de départ comprenait tous les patients diagnostiqués LBDGC-NOS, en accord avec les classifications OMS 2008 puis 2016.

2. Critères d'exclusion

Les patients ayant un ou plusieurs des critères suivants étaient exclus de l'analyse :

- statut GC/non-GC indéterminé après analyse immuno-histochimique selon l'algorithme de Hans
- LBDGC-NOS secondaire à la transformation d'un lymphome B indolent
- données de suivi manquantes
- histologie autre que LBDGC-NOS (lymphome de Burkitt, lymphome à grandes cellules du médiastin, lymphome plasmablastique).

3. Réunion de concertation pluri-disciplinaire

Chaque dossier a fait l'objet d'une discussion en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) au sein du département d'hématologie de l'IUCT. Les décisions prises en RCP, avec établissement d'un compte rendu préliminaire par la suite mis à jour, sont consignées sous forme d'un dossier communicant de cancérologie sur la plateforme du réseau régional de cancérologie d'Occitanie.

4. Recueil des données

Pour chaque patient, n paramètres étaient renseignés de manière rétrospective dans une base de données, regroupant des éléments cliniques, biologiques, morphologiques pré-, per- et post-chimiothérapeutiques ainsi que le suivi à long terme :

- Paramètres pré-thérapeutiques : âge, phénotype GC/non-GC, stade Ann Arbor (nombre de localisations et sites extra-ganglionnaires), aaIPI (associant stade Ann Arbor et LDH, PS)
- Détails des outils diagnostiques et du traitement : réalisation ou non d'un TDM-TEP, d'une biopsie ostéo-médullaire (BOM), prophylaxie

méningée, préphase, type de chimiothérapie reçue, nombre de cycles prévus et reçus, date de début (J1C1) et de fin de traitement

- Evaluation de la réponse chimiothérapeutique : rechute ou non et date de rechute le cas échéant, date d'évaluation en fin de traitement, état (rémission complète, partielle ou échec/progression de la maladie sous traitement)
- Données de suivi : date des dernières nouvelles, date de décès le cas échéant.

5. Suivi des patients

Le suivi minimal était de 2 ans, sans limitation maximale.

Les dates des dernières nouvelles ainsi que le statut vivant ou décédé, la survenue d'une récurrence, étaient obtenus via les dossiers papiers ou informatisés du réseau du CHU de Toulouse (ORBIS, DPI Oncopole), les appels et courriers électroniques aux médecins traitants et hématologues.

6. Critères de jugement pour l'analyse statistique

- La survie globale (OS) a été définie par le délai entre le début du traitement (chimio-thérapeutique) et le décès (toutes causes confondues) ou bien la date de dernières nouvelles (les données étant alors censurées).
- La survie sans progression (PFS) est définie par le délai entre la date de début de traitement et le décès (toutes causes confondues) ou la progression de la maladie (rechute). Les patients en vie à la date de dernières nouvelles et sans décès ni progression ont été censurés à la date de dernières nouvelles.

B. Méthodes

1. Analyse statistique

a. Objectifs

Les objectifs principaux de l'étude statistique ont porté sur :

- l'étude de la survie globale et de la survie sans progression dans une cohorte de patients atteints de LBDGC-NOS selon le statut GC/non-GC

- l'identification de sous-groupes moléculaires de LBDGC GC et non-GC selon l'évolution (rechute avant 2 ans versus en rémission à deux ans).

Les objectifs secondaires étaient :

- d'étudier l'association entre les sous-types GC/non-GC et les variables cliniques (âge, sexe, stade Ann Arbor, aaIPI)
- de comparer la survie globale des patients en fonction des variables cliniques (âge, sexe, stade Ann Arbor, aaIPI).

b. Méthode statistique

Les caractéristiques de la population ont été décrites par les statistiques usuelles. Les variables quantitatives ont été décrites par la médiane, le minimum, le maximum ainsi que le nombre de données manquantes ; les variables qualitatives par les fréquences, les pourcentages et le nombre de données manquantes de chaque modalité.

Le test du chi² ou Fisher exact a été utilisé pour comparer les variables catégorielles, et le test de Kruskal-Wallis pour les variables continues.

Les données de survie ont été résumées par la méthode de Kaplan-Meier et présentées avec leurs intervalles de confiance à 95%. Des analyses univariées et multivariées ont été effectuées à l'aide du test de Logrank et du modèle de risques proportionnels de Cox, les ratios de risques (HR) ont été estimés avec des intervalles de confiance de 95%.

Tous les tests sont bilatéraux et le seuil de significativité est fixé à 0.05. L'analyse statistique a été réalisée sous le logiciel STATA version 16 (Stata Corporation, College Station, TX, USA).

2. Analyse moléculaire par séquençage nouvelle génération (NGS)

a. Panel de gènes en NGS capture

Le panel mis en place et utilisé pour la technique par capture en NGS cible 67 gènes de 350kb (**Tableau 4**). Il correspond à des gènes d'intérêt d'après une revue de la littérature regroupant les études récentes autour de l'analyse NGS dans les LBDGC (103–109).

Tableau 4. Liste des gènes cibles du lymphopanel utilisé dans l'analyse courante des lymphomes et pour notre étude.

ARID1A	CARD11	CDKN2B	EP300	ID3	KMT2B	PIM1	SOCS1	TNFRSF1B
ATM	CD274	CIITA	EZH2	IDH2	KMT2D	PLCG1	STAT3	TP53
B2M	CD28	CREBP	FBXW7	IGLL5	MEF2B	PLCG2	STAT5B	TRAF3
BCL2	CD58	CTNNB1	FOXO1	IRF4	MFHAS1	PRDM1	STAT6	VAV1
BCL6	CD79A	CXCR4	FYN	ITPKB	MYC	PTEN	TCF3	XPO1
BIRC3	CD79B	DDX3X	FYN	JAK1	MYD88	RELA	TET2	
BRAF	CDKN2A	DNMT3A	GNA13	JAK2	NOTCH1	RHOA	TNFAIP3	
BTK	CDKN2A	DUSP2	HIST1H1C	KMT2A	NOTCH2	SETD2	TNFRSF14	

b. Préparation des ADN tumoraux

L'analyse moléculaire est précédée d'un examen morphologique ayant pour but d'évaluer le pourcentage de cellules tumorales et la superficie de la tumeur sur chaque prélèvement fixé en paraffine (FFPE). L'extraction de l'ADN puis la qualification des échantillons (évaluation de la quantité et de la qualité de l'ADN par q-PCR) peuvent alors être réalisées. A partir de chaque échantillon fixé en paraffine et coupé en sections de 10 microns d'épaisseur, l'ADN tumoral est extrait à l'aide du kit Maxwell® 16 FFPE Plus LEV DNA Purification (Promega). Une quantité supérieure à 50 ng et de bonne qualité (fragment d'au moins 150 pb) est souhaitable pour pouvoir réaliser une technique NGS (110). L'ADN tumoral obtenu est fragmenté (250pb) de manière mécanique par sonication (sonicateur Covaris).

c. Séquençage

Une fois l'ADN extrait et fragmenté, s'enchaînent les grandes étapes du séquençage :

- préparation des bibliothèques par amplicon ou capture
- amplification de ces bibliothèques
- séquençage à proprement parler
- analyse bio-informatique des données

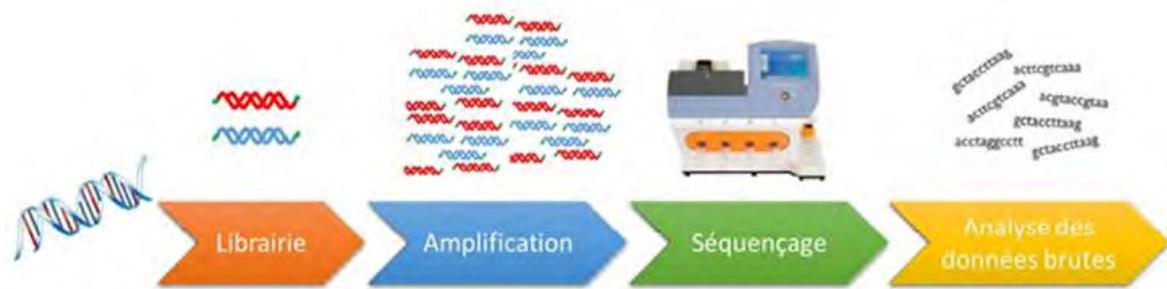


Figure 14. Principes généraux de la technique NGS.

Pour la constitution des librairies, qui consiste en un enrichissement des séquences d'ADN ciblé, nous avons utilisé la technique de capture. Il s'agit de la technique de choix, permettant la détection d'un plus grand nombre d'anomalies moléculaires que la technique par amplicon, souvent favorisée pour ses facilités d'implémentation.

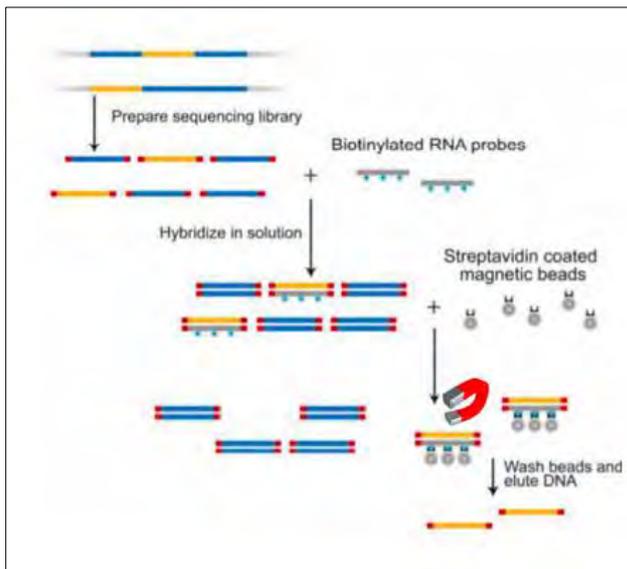


Figure 15. Technique de capture.

Après fragmentation (mécanique par sonication, en opposition à la fragmentation enzymatique), les segments d'ADN sont filtrés en s'hybridant à des séquences complémentaires des régions d'intérêts, disposées sur une plaque ou en milieu liquide. Les fragments d'ADN qui ne s'hybrident pas sont éliminés.

Après purification des fragments d'ADN enrichis, la banque obtenue peut être amplifiée grâce à des méthodes d'amplification clonale et de PCR pouvant être réalisées au sein du séquenceur (Technologie Illumina).

Les bibliothèques enrichies sont indexées par des codes-barres oligonucléotidiques (uniques par patient au sein d'un même séquençage) avant séquençage. Les produits d'amplification sont ensuite mélangés pour le séquençage. La méthode choisie pour l'étude est le séquençage par synthèse (Illumina TruSeq Custom Amplicon (TSCA dual strand, v1.5 chemistry)) utilisé en pratique courante au laboratoire de l'IUCT. Chaque fragment est d'abord cloné plusieurs fois afin d'amplifier le signal puis le brin complémentaire de chaque fragment cloné est synthétisé. À chaque incorporation d'un nucléotide, un signal est détecté par émission de fluorescence (**Figure 16**).

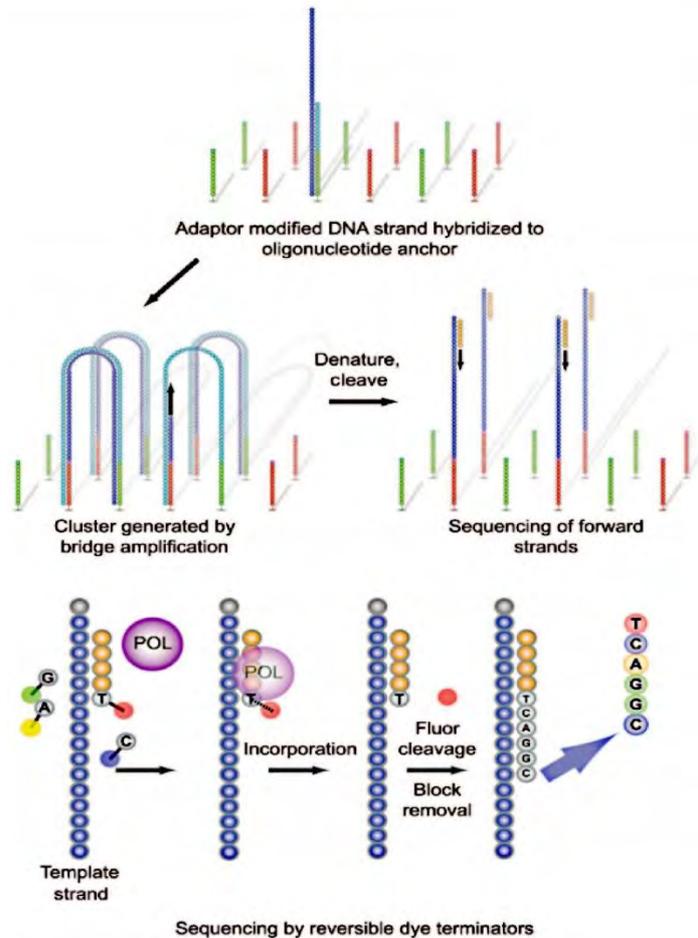


Figure 16. Séquençage Illumina :

Les brins d'ADN à séquencer sont immobilisés sur une puce par hybridation à une séquence d'ancrage. L'amplification « en ponts » génère ensuite des clusters qui seront dénaturés et clivés pour être enfin séquencés à l'aide d'un primer, d'une polymérase et de terminateurs de chaîne réversibles marqués par des fluorochromes. La fluorescence engendrée par l'incorporation d'un nucléotide est enregistrée sous forme d'une séquence prête à être analysée.

d. Analyse bio-informatique

Les séquences des fragments, qu'on appelle aussi des "reads", sont sauvegardées dans un fichier Fastq contenant les séquences et leurs scores de qualité (score Phred). Ce score évalue la confiance du séquençage. Afin d'obtenir la séquence complète de chaque gène, chaque segment est aligné sur le génome de référence GRCh38 (Genome Reference Consortium Human genome build 38). On obtient ainsi un fichier BAM associant à chaque read ses coordonnées génomiques.

Enfin, les pipelines d'analyse Oryci (v0.5.1) et Alamut visual (v2.11, Interactive-Biosoftware, Rouen, France) ont été utilisés pour déterminer, annoter et visualiser les variants détectés.

IV. Résultats

A. Sélection et caractéristiques cliniques des patients LBDGC-NOS

1. Sélection des patients : population initiale

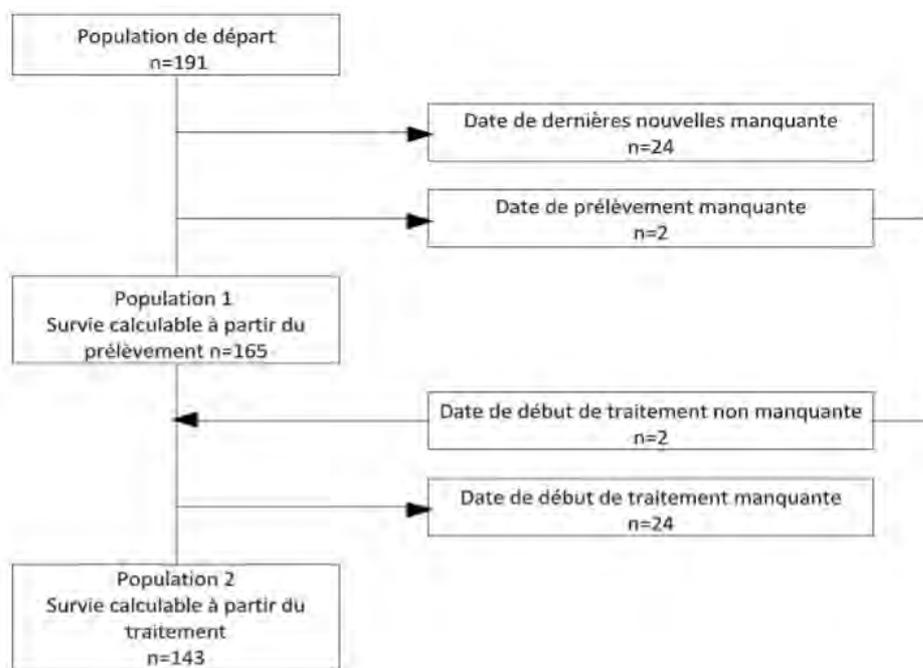


Figure 17. Flow chart.

Sur un total de départ de 191 patients et après élimination de 24 patients dont les dernières nouvelles étaient inaccessibles par nos moyens de recueil, deux choix de population d'étude s'offraient à nous. La population 1 incluait 24 patients dont les dates de début de traitement nous étaient inconnues. Notre étude de survie, étalée sur deux ans et se basant sur cette même date de début de traitement, nous avons jugé plus judicieux d'utiliser la population 2, n= 143.

2. Caractéristiques cliniques au diagnostic des patients LBDGC-NOS inclus

La population de 143 patients était constituée de 80 hommes (55,9%) et 63 femmes (44,1%). L'âge médian en début de traitement était de 67 ans (range 21.0 - 91.0) (**Tableau 5**). Trente-huit patients (27,9%) avaient un index IPI élevé (supérieur ou égal à 4) au diagnostic, et 45 (31,7%) présentaient au moins deux envahissements tumoraux extra-ganglionnaires. Les caractéristiques cliniques et biologiques des patients au diagnostic répertoriées selon le phénotype GC/non-GC

établi en IHC selon l'algorithme de Hans dans le **Tableau 5** ne montraient pas de différence significative notamment concernant le stade Ann Arbor (p=0.1083) et l'IPI (p=0.6883).

Tableau 5. Caractéristiques des patients en fonction du statut GC/NGC (LDH= Lactate Deshydrogénase, PS= Performance Status, BOM= Biopsie ostéo-médullaire).

	Total (n=143)	Phénotype		
		Non-GC (n=64)	GC (n=79)	
Sexe (n = 143)				p = 0.1036
Homme	80 (55.9%)	31 (48.4%)	49 (62.0%)	
Femme	63 (44.1%)	33 (51.6%)	30 (38.0%)	
Age (n = 143)				p = 0.6337
< 60 ans	44 (30.8%)	21 (32.8%)	23 (29.1%)	
>= 60 ans	99 (69.2%)	43 (67.2%)	56 (70.9%)	
Stade Ann Arbor (cl) (n = 141)				p = 0.1083
1-2	29 (20.6%)	17 (26.6%)	12 (15.6%)	
3-4	112 (79.4%)	47 (73.4%)	65 (84.4%)	
Missing		2	0	2
LDH (n = 139)				p = 0.1077
Normal	52 (37.4%)	19 (30.2%)	33 (43.4%)	
Elevé	87 (62.6%)	44 (69.8%)	43 (56.6%)	
Missing		4	1	3
PS (n = 139)				p = 0.8690
0-1	103 (74.1%)	47 (73.4%)	56 (74.7%)	
2-3-4	36 (25.9%)	17 (26.6%)	19 (25.3%)	
Missing		4	0	4
Score aaIPI (cl) (n = 136)				p = 0.5638
0-1	51 (37.5%)	22 (34.9%)	29 (39.7%)	
2-3	85 (62.5%)	41 (65.1%)	44 (60.3%)	
Missing		7	1	6
Score IPI (cl) (n= 136)				p = 0.6883
0-1	28 (20.6%)	15 (23.8%)	13 (17.8%)	
2-3	70 (51.5%)	31 (49.2%)	39 (53.4%)	
4-5	38 (27.9%)	17 (27.0%)	21 (28.8%)	
Missing		7	1	6
BOM envahie (n =28)				p = 0.1139
Non	19 (67.9%)	13 (81.3%)	6 (50.0%)	
Oui	9 (32.1%)	3 (18.8%)	6 (50.0%)	
Missing		115	48	67
PET SCAN (n = 141)				p = 0.8262
Non	12 (8.5%)	5 (7.9%)	7 (9.0%)	
Oui	129 (91.5%)	58 (92.1%)	71 (91.0%)	
Missing		2	1	1
Localisation extraganglionnaire (cl) (n = 142)				p = 0.2342
0-1	97 (68.3%)	47 (73.4%)	50 (64.1%)	
>=2	45 (31.7%)	17 (26.6%)	28 (35.9%)	
Missing		1	0	1

3. Prise en charge thérapeutique des patients inclus (n=143)

Le délai entre le prélèvement et le début du traitement était en médiane de 0.8 mois (p = 0.0870) (**Tableau 6**). Une chimiothérapie par R-CHOP (ou R-miniCHOP)

a été utilisée chez 121 patients (84,6%) tandis que les autres recevaient un protocole R-ACVBP (ou GACVBP) pour 13 d'entre eux (9,1%) ou un équivalent pour 9 d'entre eux (6,3%). La durée du traitement s'étalait sur 4,1 mois en médiane (range 0.0 : 15.5) avec pour 77 patients (54,2%) un total de 8 cycles reçus, et pour 49 patients (34,5%) un total de 6 cycles. Une prophylaxie méningée, par injection intra-thécale de méthotrexate ou administration de méthotrexate à haute dose, était administrée chez 76 patients (55,1%).

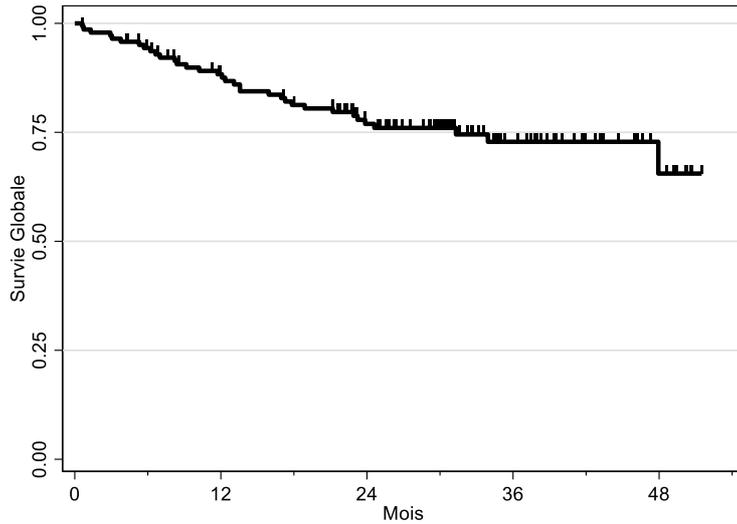
Tableau 6. Prise en charge thérapeutique des patients LBDGC-NOS (n=143) en fonction du statut GC/Non-GC.

	Total N = 143	Phénotype		p
		NGC N = 64	GC N = 79	
Age en début de traitement (n = 143)				p = 0.5574
Median	67.0	66.5	68.0	
(Range)	(21.0: 91.0)	(21.0: 88.0)	(26.0: 91.0)	
Délais prélèvement/début de traitement(m)(n = 141)				p = 0.0870
Median	0.8	0.6	1.0	
Missing	2	2	0	
Chimio reçue (n = 143)				p = 0.5002
RACVBP ou GACVBP	13 (9.1%)	8 (12.5%)	5 (6.3%)	
Rminichop ou RCHOP	121 (84.6%)	52 (81.3%)	69 (87.3%)	
Autre	9 (6.3%)	4 (6.3%)	5 (6.3%)	
Durée de Chimiothérapie (n = 143)				p = 0.4286
Median	4.1	3.9	4.4	
(Range)	(0.0: 15.5)	(0.7: 6.1)	(0.0: 15.5)	
Préphase (n = 142)				p = 0.6050
Non	92 (64.8%)	40 (62.5%)	52 (66.7%)	
Oui	50 (35.2%)	24 (37.5%)	26 (33.3%)	
Missing	1	0	1	
Prophylaxie méningée (n=138)				p = 0.9880
Non	62 (44.9%)	27 (45.0%)	35 (44.9%)	
Oui	76 (55.1%)	33 (55.0%)	43 (55.1%)	
Missing	5	4	1	

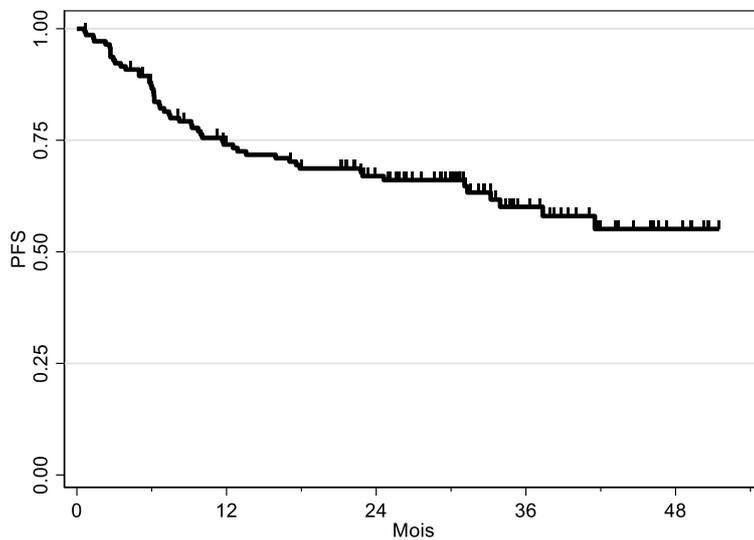
B. Survie globale et survie sans progression des patients NBDGC NOS inclus (n=143)

1. Etude de survie de la population totale

Le suivi médian s'étalait sur 30,9 mois (IC 95% 29.8 ; 34,3). Aux dernières nouvelles, on observait 34 décès soit 23,8 % des patients. Les courbes de Kaplan-Meyer pour l'OS et la PFS se trouvent en **Figure 18**.



A :



B :

Figure 18. Courbes de survie en pourcentage de la population totale en fonction du temps de suivi exprimé en mois. Les courts segments verticaux perpendiculaires à la courbe témoignent de chaque patient censuré, dont les données de suivi sont indisponibles au-delà du délai correspondant.

A. Survie globale.

B. Survie sans progression.

A 24 mois de suivi après initiation du traitement, la survie globale était de 76.94 % (IC 95% 68.63 ; 83.31).

Le nombre de patients sans progression était de 91 (63.6%) pour 52 évènements de rechute et/ou décès.

2. Etude de survie selon le profil GC/ non-GC des patients LBDGC-NOS

En analyse univariée, on observait une différence de survie globale (OS) significative en fonction du phénotype GC/non-GC déterminé selon Hans en IHC ($p = 0.0483$) avec une survie globale de 82.6% [IC 95% 71.3 ; 89.8] à 2 ans pour les LBDGC GC versus 70.1% dans le groupe [IC 95% 56.7 ; 80.1] non-GC ($p = 0.0483$) (**Tableau 7**). On observe également une différence significative de l'OS selon l'âge du patient (95.3% [IC 95% 82.5;98.8] de survie à 2 ans pour les moins de 60 ans versus 68.2% [IC 95% 57.1 ; 76.9] si ≥ 60 ans) ($p = 0.0001$) ; selon le taux de LDH (93.7% [IC 95% 81.7 ; 97.9] de survie à 2 ans si le taux de LDH est normal versus 66.3% [54.7 ; 75.6] si le taux est élevé) ($p = 0.0021$) ; et par extension selon l'IPI ($p = 0.0017$) avec une survie à 2 ans de 92.3% [IC 95% 72.6 ; 98.0], 78.5% [IC 95% 66.4 ; 86.7] et 57.9% [IC 95% 38.9 ; 72.9] pour un IPI de 0-1,2-3 et 4-5 respectivement. En revanche nous n'avons pas observé de différence significative de l'OS en fonction du sexe et du stade Ann Arbor.

Le groupe GC ($n = 79$) comptait 14 décès au terme de notre suivi indiquant une survie globale de 82.6 % versus 20 décès dans le groupe non-GC ($n = 64$) avec une survie globale de 70.1 %. Le hazard ratio (HR) correspondant est évalué à 0,51 [IC 95% 0.26 ; 1.01] pour le groupe GC en comparaison avec le groupe non-GC, en faveur de l'effet protecteur du phénotype GC.

Tableau 7. Analyses univariées sur la survie globale.

	Evt / N	S(t=24)	[95%CI]	
Age en début de traitement (cl) :				
< 60 ans	2 / 43	95.3% [82.5;98.8]	1.00	p = 0.0001
>= 60 ans	32 / 100	68.2% [57.1;76.9]	9.70 [2.32;40.62]	
Sexe :				
Homme	17 / 80	80.7% [69.4;88.1]	1.00	p = 0.4531
Femme	17 / 63	72.3% [58.7;82.0]	1.29 [0.66;2.53]	
Phénotype 1 :				
NGC	20 / 64	70.1% [56.7;80.1]	1.00	p = 0.0483
GC	14 / 79	82.6% [71.3;89.8]	0.51 [0.26;1.01]	
PS :				
0-1	22 / 103	79.9% [70.2;86.7]	1.00	p = 0.0621
2-3-4	12 / 36	65.5% [45.8;79.4]	1.93 [0.95;3.91]	
LDH :				
Normal	5 / 52	93.7% [81.7;97.9]	1.00	p = 0.0021
Elevé	29 / 87	66.3% [54.7;75.6]	3.97 [1.54;10.27]	
Stade Ann Arbor :				
01-févr	4 / 29	85.0% [64.8;94.1]	1.00	p = 0.1974
03-avr	30 / 112	74.6% [64.9;82.0]	1.96 [0.69;5.57]	
Localisation extraganglionnaire :				
0-1	21 / 97	78.4% [68.2;85.7]	1.00	p = 0.4008
>=2	13 / 45	73.2% [56.6;84.2]	1.34 [0.67;2.68]	
Score IPI :				
0-1	2 / 28	92.3% [72.6;98.0]	1.00	p = 0.0017
2-3	16 / 70	78.5% [66.4 ;86.7]	3.39 [0.78 ;14.73]	
4-5	16 / 38	57.9% [38.9;72.9]	7.84 [1.80 ;36.14]	

Les courbes de survie globale observées dans les deux groupes phénotypiques témoignaient d'un indice de décroissance initial plus élevé chez les patients non-GC en comparaison de celui des patients GC (**Figure 19**).

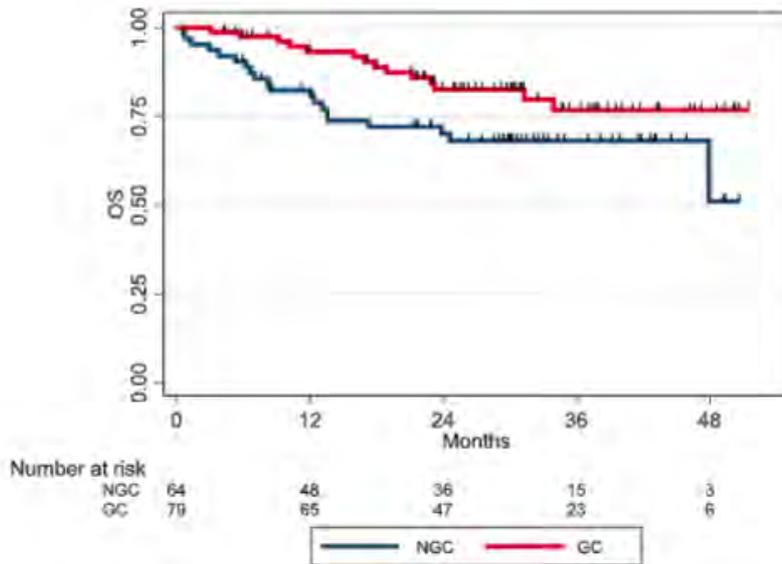


Figure 19. Survie globale en fonction du profil GC et non-GC des LBDGC-NOS (n=79 GC et n=64 non-GC).

Concernant la survie sans progression (PFS), les mêmes facteurs ressortaient significatifs (âge, taux de LDH, IPI) avec en plus le performance status (PS) mais les profils GC et non-GC déterminés selon Hans ne montraient pas de différence significative sur la PFS (**Tableau 8**). Il n'a pas non plus été observé de différence significative concernant le hazard ratio calculé pour le groupe GC en comparaison du groupe témoin non-GC.

Tableau 8. Analyses univariables sur la survie sans progression.

	Evt / N	S(t=24) [95%CI]	HR [95%CI]	
Age en début de traitement (cl) :				p < 0.0001
< 60 ans	5 / 43	90.7% [77.1;96.4]	1.00	
>= 60 ans	47 / 100	56.0% [45.2;65.5]	5.63 [2.24;14.19]	
Sexe :				p = 0.3431
Homme	26 / 80	73.6% [62.0;82.2]	1.00	
Femme	26 / 63	58.5% [45.0;69.8]	1.30 [0.75;2.24]	
Phénotype :				p = 0.2539
NGC	26 / 64	61.6% [48.3;72.4]	1.00	
GC	26 / 79	71.5% [59.6;80.4]	0.73 [0.42;1.26]	
PS :				p = 0.0093
0-1	32 / 103	72.2% [62.1;80.0]	1.00	
02/03/04	18 / 36	54.4% [36.6;69.2]	2.12 [1.19;3.78]	
LDH :				p < 0.0001
Normal	8 / 52	89.3% [76.2;95.4]	1.00	
Elevé	43 / 87	54.3% [43.1;64.2]	4.05 [1.90;8.64]	
Stade Ann Arbor :				p = 0.7311
01-févr	10 / 29	66.1% [44.9;80.8]	1.00	
03-avr	42 / 112	66.9% [57.1;74.9]	1.13 [0.57;2.25]	
Localisation extraganglionnaire :				p = 0.9772
0-1	35 / 97	65.9% [55.1;74.7]	1.00	
>=2	17 / 45	68.1% [52.0;79.7]	1.01 [0.56;1.80]	
Score IPI :				p = 0.0002
0-1	5 / 28	84.2% [63.2;93.8]	1.00	
2-3	22 / 70	70.2% [57.7;79.7]	1.96 [0.74 ;5.18]	
4-5	23 / 38	49.0% [32.2;63.8]	4.94 [1.87;13.02]	

Les courbes de PFS montraient pour le groupe GC un infléchissement linéaire avant 12 mois puis en marches d'escalier jusqu'à 24 mois, conservant néanmoins une pente globale d'angle constant (**Figure 20**). La courbe du groupe non-GC quant à elle présentait dans un premier temps un infléchissement franc puis secondairement une phase de plateau entre 12 et 24 mois, témoignant de nombreuses rechutes et décès dans les premiers mois suivant la fin de la chimiothérapie contrairement aux cas GC pour lesquels la probabilité de survenue de tels évènements reste plus constante au cours du suivi.

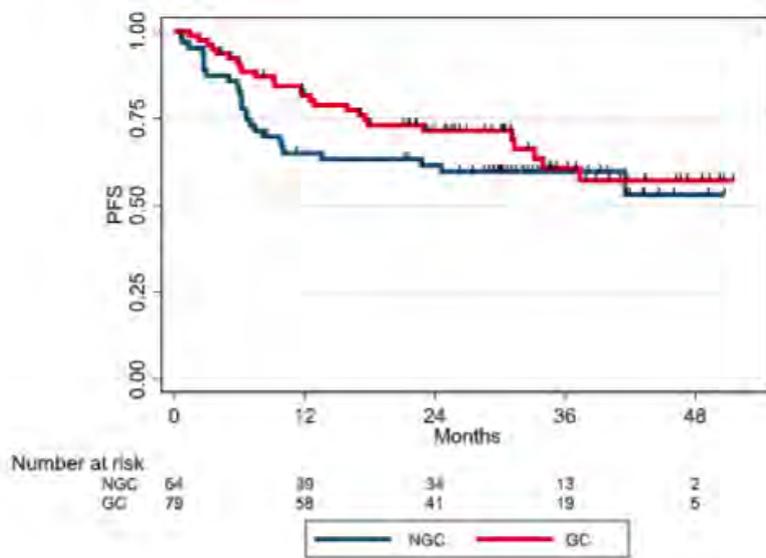


Figure 20. Survie sans progression en fonction du profil GC et non-GC des LBDGC-NOS (n=79 GC et n= 64 non-GC).

En analyses multivariées et sur l'ensemble des patients, le phénotype GC/non-GC ajusté sur le score IPI restait significativement lié à l'OS. Concernant le phénotype GC le hazard ratio (HR) calculé était de 0,43 (IC 95% 0.22 ; 0.86, p = 0.0174) ce qui en fait un facteur protecteur.

Tableau 9. Analyses multivariées : survie globale (OS), phénotype et score IPI (n=136, 34 évènements).

	HR	IC95%	p
Phénotype			
Non-GC	1.00		
GC	0.43	[0.22 ; 0.86]	0.0174
Score IPI			
0-1	1.00		
2-3	3.88	[0.89 ; 16.96]	0.0712
4-5	9.70	[2.20 ; 42.70]	0.0026

Conformément à ce résultat, en PFS le HR pour le groupe GC était de 0.59 (IC 95% 0.33 ; 1.03, p = 0.0626), suggérant un risque moindre de rechute ou décès malgré une significativité limitée (**Tableau 10**).

Tableau 10. Analyses multivariées : survie sans progression (PFS), phénotype et score IPI (n=136, 50 évènements).

	HR	IC95%	p
Phénotype			
NGC	1.00		
GC	0.59	[0.33 ; 1.03]	0.0626
Score IPI			
0-1	1.00		
2-3	2.17	[0.81 ; 5.76]	0.1213
4-5	5.64	[2.12 ; 15.02]	0.0005

C. Analyse morphologique des patients LBDGC-NOS

1. Sélection des cas en vue de l'analyse morphologique et moléculaire

Parmi ces cas, nous avons sélectionné de manière rétrospective, en fonction de la quantité de matériel tumoral disponible, 39 prélèvements de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE), répartis équitablement en patients GC et en patients non-GC. En effet, comme expliqué ci-avant, chaque cas avait bénéficié d'une analyse immuno-histochimique et le statut COO était déterminé selon l'algorithme de Hans (9).

Parmi les 39 cas sélectionnés, 5 cas ont été exclus en raison d'un d'ADN de trop faible quantité ou de qualité altérée et 2 cas ont dû également être exclus en raison d'une couverture insuffisante des exons ciblés pour le séquençage. Au total 32 patients LBDGC dont 16 GC et 16 non-GC ont été sélectionnés pour l'étude biologique incluant 15 patients (6 LBDGC GC et 9 non-GC) en rémission complète à 2 ans du début du traitement et 17 patients (10 LBDGC GC et 7 non-GC) en rechute ou étant décédés avant deux ans.

2. Analyses morphologiques et immuno-histochimiques des cas LBDGC-NOS sélectionnés

L'ensemble des lames des 32 cas de LBDGC a été numérisé à l'aide du scanner de lames 3DHISTECH de la plateforme ImagIn du laboratoire de Pathologie.

L'analyse histologique a permis de répertorier les principaux variants morphologiques observés dans notre cohorte de patients sélectionnés. Parmi les 32 cas, on comptait notamment 10 variants centroblastiques purs, 10 variants

centro et immunoblastiques, 2 variants immunoblastiques purs et 2 variants anaplasiques (**Figures 21 à 24**).

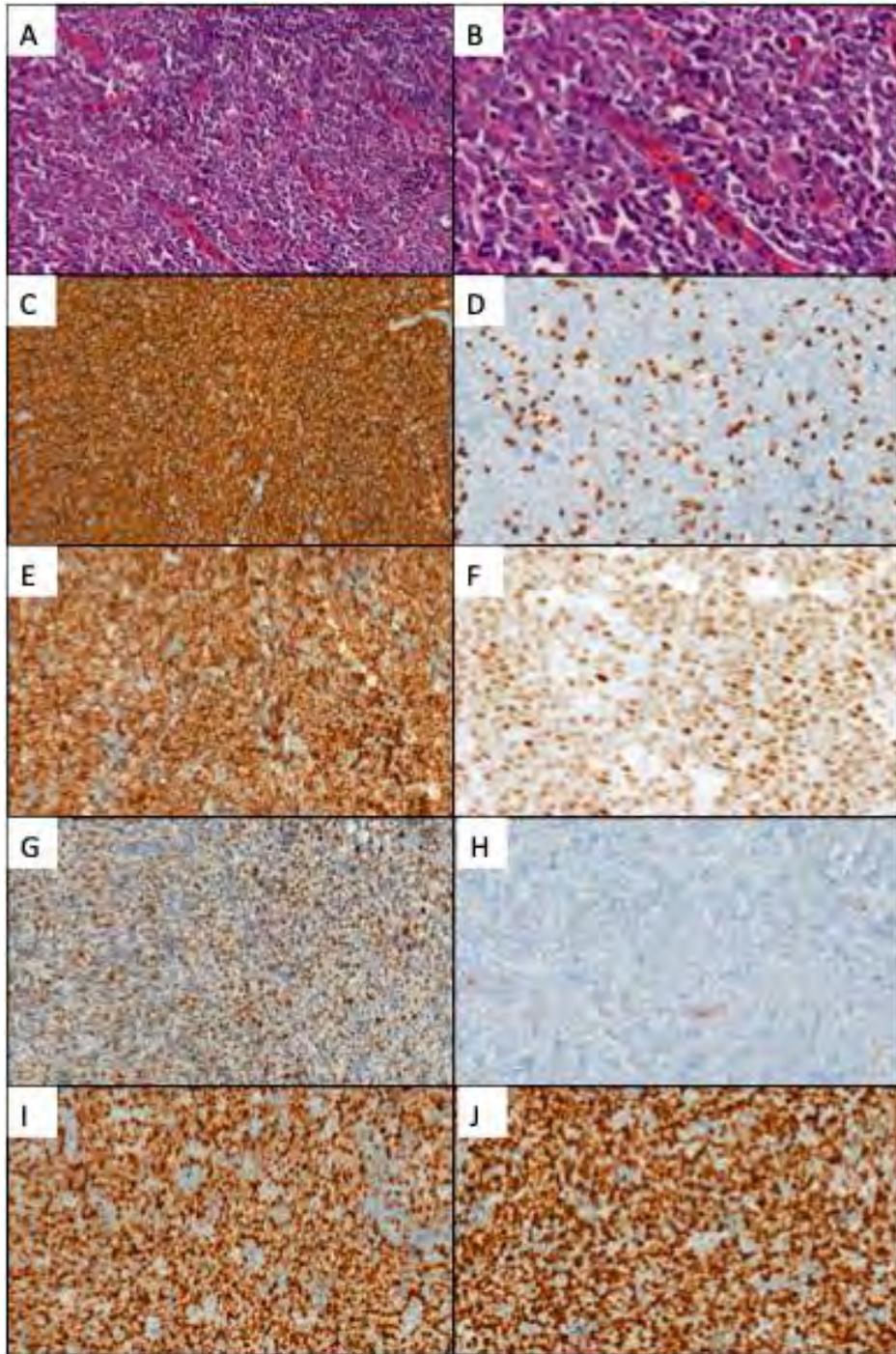


Figure 21. Aspects microscopiques de LBDGC non-GC.

A. (HE au grossissement x200) **et B.** (HE au grossissement x400) : les cellules tumorales mesurent deux à trois fois la taille des lymphocytes, leur noyau est clair, fréquemment pluri-nucléolé, entouré d'un cytoplasme peu abondant.

C. IHC anti-CD20 (grossissement x200) : expression forte et diffuse.

D. IHC anti-CD3 (grossissement x200) : négative dans la prolifération tumorale, elle souligne l'infiltrat T réactionnel, faible.

E. IHC anti-BCL2 (grossissement x200) : positive (>50% des cellules tumorales), diffuse.

F. IHC anti-MYC (grossissement x400) : positive (>40% des cellules tumorales), diffuse.

G. IHC anti-BCL6 (grossissement x200) : positive de façon hétérogène.

H. IHC anti-CD10 (grossissement x200) : négative.

I. IHC anti-MUM1 (grossissement x200) : positive.

J. Index de prolifération Ki-67 évalué à 90% (grossissement x200).

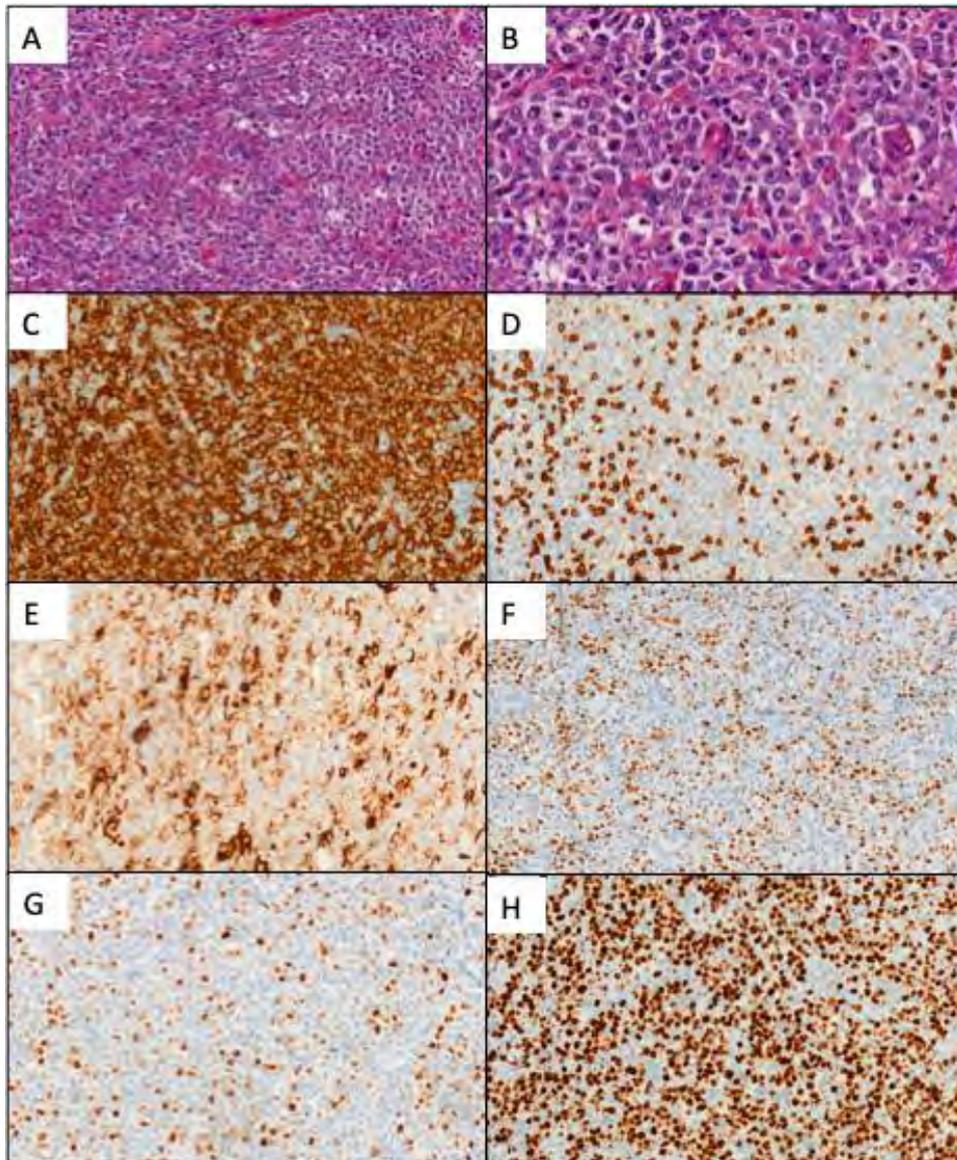


Figure 22. Aspects microscopiques de LBDGC GC.

A. (HE au grossissement x200) et **B.** (HE au grossissement x400) : les cellules tumorales sont d'apparence polymorphe, de grande taille, avec des contours irréguliers, un noyau uni- ou pluri-nucléolé d'allure centroblastique auxquelles se mêlent quelques immunoblastes.

C. IHC anti-CD20 (grossissement x200) : expression forte et diffuse.

D. IHC anti-CD3 (grossissement x200) : négative dans la prolifération tumorale, elle souligne l'infiltrat T réactionnel, modéré.

E. IHC anti-CD10 (grossissement x200) : positive, diffuse.

F. IHC anti-BCL6 (grossissement x200) : positive de façon hétérogène.

G. IHC anti-MUM1 (grossissement x200) : positive dans moins de 30% des cellules tumorales

H. Index de prolifération Ki-67 évalué à 90% (grossissement x200).

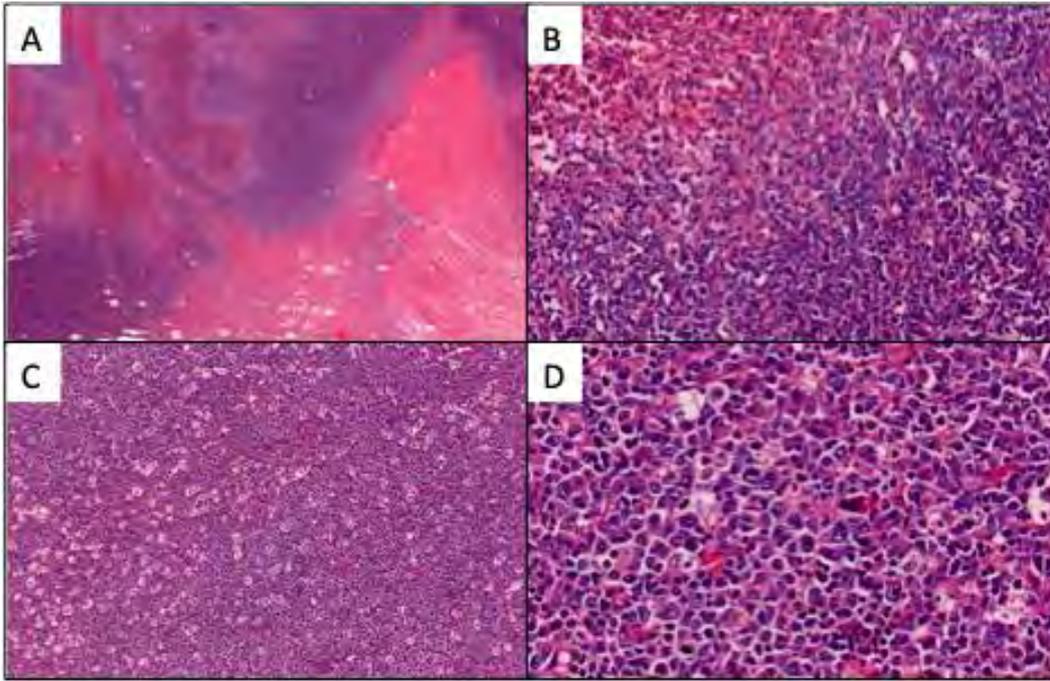


Figure 23. Aspect microscopique d'un LBDGC non-GC.

A. (HE au grossissement x20) et **B.** (HE au grossissement x200) : à faible grossissement sont observées de vastes plages de nécrose avec contours « en carte de géographie ».

C. (HE au grossissement x200) : aspect en ciel étoilé.

D. (HE au grossissement x400) : cellules tumorales d'allure immunoblastique ponctuées de corps apoptotiques et de macrophages à corps tingibles.

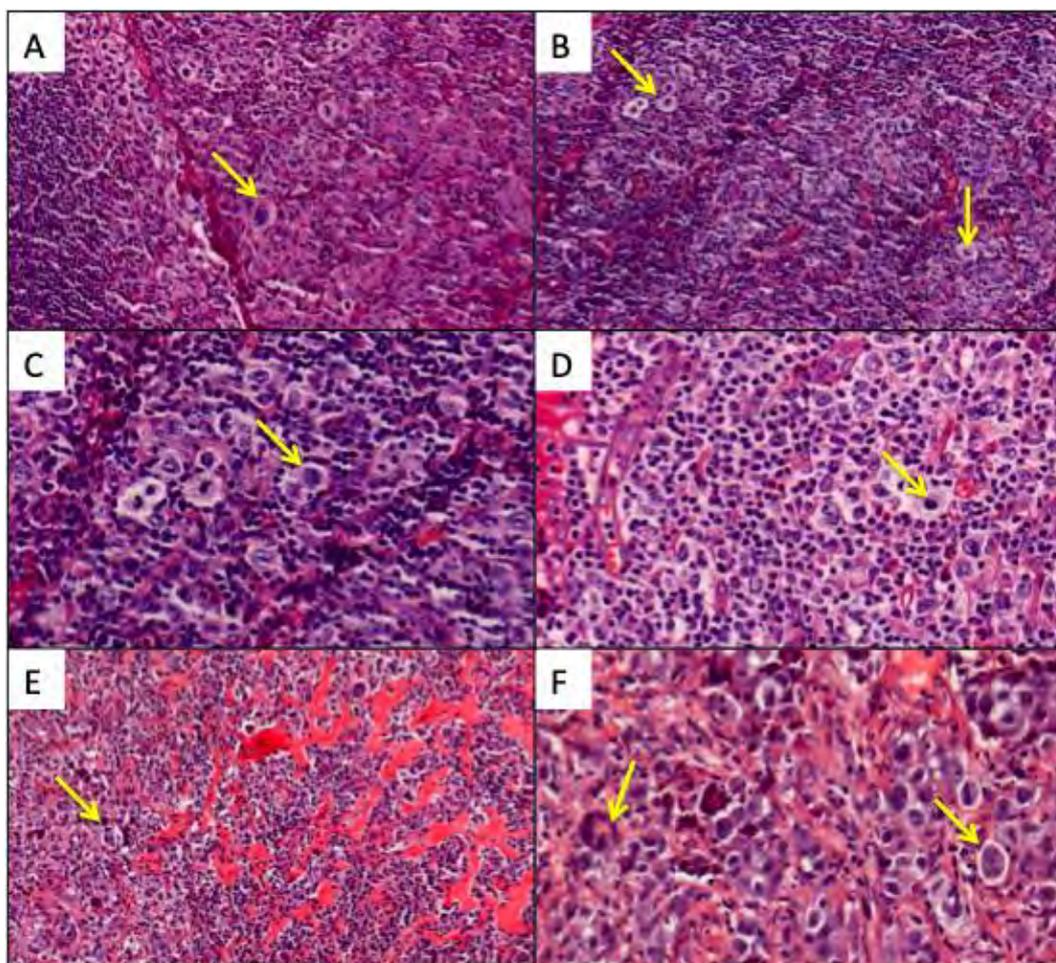


Figure 24. Aspect microscopique d'un LBDGC non-GC, de profil morphologique anaplasique.

A. (HE au grossissement x200) et **B.** (HE au grossissement x200) A faible grossissement on note l'aspect pléomorphe de la prolifération, comportant des cellules de très grande taille. Les flèches jaunes pointent les cellules anaplasiques.

C. (HE au grossissement x400) et **D.** (HE au grossissement x400) A plus fort grossissement sont observées de nombreuses mitoses et des cellules d'aspect très atypique, hodgkinoïdes/reed-sternbergoïdes.

E. (HE au grossissement x200) Il n'est pas rare d'observer, comme sur ce cliché, des bandes scléreuses au sein de la prolifération.

F. (HE au grossissement x400) Au fort grossissement, les cellules se disposent ici de façon plus ou moins cohésive, mimant par place un carcinome indifférencié. Les atypies observées sont majeures, à types de multi-nucléations, noyaux plurilobés.

Les caractéristiques cliniques, immuno-histochimiques et cyto-génétiques sont résumées dans le **Tableau 11a**.

Tableau 11a. Caractéristiques cliniques, immuno-histochimiques et cyto-génétiques des 32 cas séquencés (ND= non défini, réac= réactionnel).

Cas	Sexe	Age	Ann Arbor	aalPI	Hans	Evolution	morphologie	CD10	Bcl2	Bcl6	Ki67	MUM1 >30%	microenvironnement	nécrose
1	H	67	4	1	GC	+	ND	+	+	faible	40%	faible (<30%)	lymphocytes T réac	plages
2	F	26	4	2	GC	+	anaplasique	-	ND	+	85%	faible (<30%)	polymorphe	non
3	F	69	2	0	GC	+	centroblastique	+	ND	+	90%	faible (<30%)	lymphocytes T réac	non
4	H	68	4	1	GC	+	centro et immunoblastique	-	ND	+	90%	-	lymphocytes T réac	plages
5	H	56	2	0	GC	+	centro et immunoblastique	-	+	+	60%	-	lymphocytes T réac	non
6	H	27	4	2	GC	+	centro et immunoblastique	+	ND	ND	90%	ND	lymphocytes T réac	non
7	F	70	4	3	GC	-	ND	-	ND	+	90%	+	lymphocytes réac dans stroma hyalin	non
8	F	63	4	2	GC	-	centro et immunoblastique	+	ND	+	90%	faible (<30%)	lymphocytes T réac	non
9	H	82	4	3	GC	-	centroblastique	+	+	ND	ND	ND	lymphocytes T réac	non
10	H	61	4	2	GC	-	centroblastique	-	ND	-	70%	+	lymphocytes T réac	plages
11	H	80	4	1	GC	-	centro et immunoblastique	+	+	ND	90%	ND	lymphocytes T réac + polynucléaires	non
12	H	82	4	2	GC	-	centroblastique	+	+	+	90%	-	lymphocytes T réac	non
13	H	57	4	2	GC	-	ND	+	faible	faible	50%	-	lymphocytes réac dans stroma hyalin	plages
14	H	72	4	2	GC	-	ND	+	-	+	80%	-	lymphocytes T réac	corps apoptotiques
15	F	61	4	2	GC	-	ND	+	+	+	90%	+	lymphocytes T réac	non
16	H	82	4	1	GC	-	centroblastique	faible	+	+	ND	faible (<30%)	lymphocytes T réac	non
17	F	80	4	2	NGC	-	ND	-	+	+	ND	+	lymphocytes T réac + plasmocytes	non
18	H	84	4	3	NGC	-	centroblastique	-	+	-	80%	faible (<30%)	lymphocytes T réac	plages
19	H	80	4	2	NGC	-	centroblastique	-	ND	+	80%	+	lymphocytes T réac	non
20	F	64	2	1	NGC	-	centro et immunoblastique	-	+	+	70%	+	macrophages à corps tingibles	corps apoptotiques
21	H	61	4	2	NGC	-	centroblastique	-	ND	-	70%	+	lymphocytes T réac	plages
22	F	76	4	2	NGC	-	anaplasique	-	ND	faible	80%	+	lymphocytes T réac	corps apoptotiques
23	H	84	4	3	NGC	-	différenciation plasmocytaire	-	faible	-	70%	+	lymphocytes T réac	corps apoptotiques
24	F	72	1	0	NGC	+	immunoblastique	-	+	+	80%	+	macrophages à corps tingibles	non
25	F	85	2	1	NGC	+	centro et immunoblastique	-	-	+	90%	+	lymphocytes T réac	plages
26	F	48	2	0	NGC	+	centro et immunoblastique	-	-	faible	80-90%	+	lymphocytes T réac	non
27	H	32	4	2	NGC	+	centroblastique	-	+	+	90%	+	lymphocytes T réac	non
28	H	32	3	1	NGC	+	centroblastique	-	+	+	80%	+	lymphocytes T réac	non
29	F	33	4	2	NGC	+	ND	-	ND	+	90%	+	lymphocytes T réac	non
30	H	69	3	2	NGC	+	centro et immunoblastique	-	+	faible	60-70%	+	zones riches en T (CD3+)	non
31	F	52	1	0	NGC	+	centro et immunoblastique	-	+	-	60%	+	lymphocytes T réac	foyers
32	H	68	4	1	NGC	+	immunoblastique	-	+	+	90%	+	lymphocytes T réac	plages

La répartition des variants morphologiques centroblastiques et centro-immunoblastiques semble similaire entre les deux sous-types GC (n=16) et non-GC (n=16) (**Tableau 11b**). En revanche, on observe deux variants strictement immunoblastiques et un variant à différenciation plasmocytaire appartenant exclusivement au groupe des non-GC.

Tableau 11b. Comparaison des caractéristiques histologiques et immuno-histochimiques des 16 cas GC et des 16 cas non-GC sélectionnés.

	GC (n=16)	Non GC (n=16)	P
Morphologie			
centroblastique	45,4% (n=5/11 testés)	35,7% (n=5/14 testés)	0,70
immunoblastique	0%	14,3% (n=2/14 testés)	0,49
IHC			
BCL2 > 50%	77% (n=7/9 testés)	75% (n=9/12 testés)	1
MYC > 40%	100% (n=2/2 testés)	0% (n=0/1 testés)	0,33
Ki67	Moyenne de 78,9 % (valeurs de 40% à 90%)	Moyenne de 70,6 % (valeurs de 60% à 90%)	1

D. Analyse moléculaire par séquençage nouvelle génération (NGS)

1. Profils mutationnels associés aux LBDGC-NOS sélectionnés (n=32)

Dans la cohorte de patients (n=32), l'analyse par séquençage NGS ciblé à l'aide du lymphopanel de 67 gènes a identifié 368 altérations sur 51 gènes parmi les 67 testés. Les mutations de type faux-sens étaient de loin les plus fréquentes, constituant 242 sur 368 altérations (66%), devant les mutations de site d'épissage, 53 sur 368 altérations (22%) et les mutations non-sens, 30 sur 368 altérations (12%). Tous nos cas présentaient des altérations non synonymes se traduisant à l'échelle cellulaire par un changement dans la séquence d'acides aminés pouvant être à l'origine d'une protéine tronquée ou dysfonctionnelle. Au minimum on relevait deux altérations pour le patient 27, et au maximum 41 altérations pour le patient 22 (**Annexe 1**). La moyenne du nombre de mutations par patient était de 4,4.

Parmi les 67 gènes testés, *IGLL5* et *KMT2D* étaient les plus fréquemment mutés, dans plus de 50% des cas (**Figure 25**). *PIM1* était muté dans 30% des cas (n=10). Les mutations des gènes *BCL2*, *CREBBP* et *SOCS1* étaient retrouvées dans 25% des cas (n=8), suivies par les mutations des gènes *B2M* et *TNFRSF14* dans 22% (n=7)

des cas. Enfin, 19% des cas (n=6) présentaient des mutations des gènes *ATM*, *CD79B*, *CIITA*, *EZH2*, *HIST1H1C* et *PRDM1*.

Onze gènes parmi les 67 du panel n'étaient mutés que chez 1 patient sur les 32 analysés.

A noter l'absence totale de mutation détectée dans 16 gènes du panel (volontairement exclus des représentations graphiques suivantes et de l'annexe 2) tels que *FYN*, *STAT5B*, *VAV1*, plus classiquement altérés dans les lymphomes T.

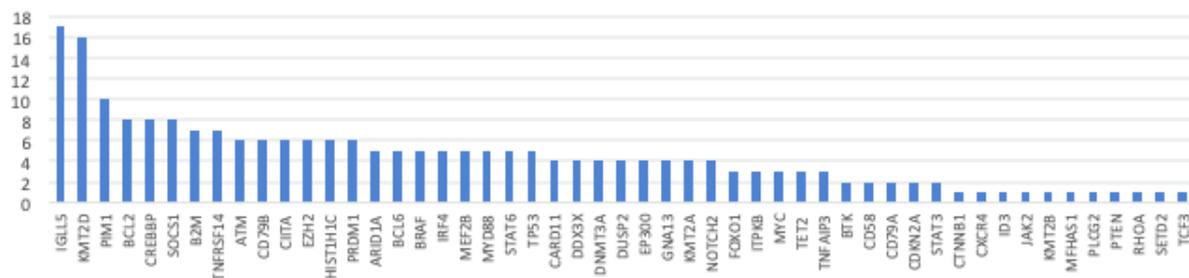


Figure 25. Nombre de patients mutés pour chaque gène séquencé.

2. Voies de signalisation impactées dans les LBDGC-NOS sélectionnés (n=32)

A partir des données de séquençage, nous avons caractérisé les voies de signalisations fonctionnelles possiblement altérées par les mutations détectées dans l'ensemble des échantillons en nous appuyant sur les bases de données concernant les voies biologiques (ex KEGG pathway) (103–106,108).

Cette analyse montre une prépondérance d'altérations dans les mécanismes épigénétiques (28%) essentiellement liées aux mutations des gènes *KMT2D*, *IGLL5* et *CREBBP*, suivies de près par les gènes impliqués dans la réponse immunitaire (20%), dans la voie de signalisation apoptotique impliquant le plus souvent le gène *BCL2* (15%) et dans la voie de signalisation NFκB (13%) avec notamment des mutations de *PIM1* (**Figure 26**).

Les altérations de la voie JAK/STAT, dans laquelle *SOCS1* occupe une place majeure, représentent 7% des cas. Enfin, on retrouve des dérégulations des voies de signalisation impliquant le BCR (6%) ou les MAPK (4%) et la voie NOTCH (2%). Les voies de signalisation autres, mettant en jeu *CXCR4* par exemple, ne comptent que pour 1% des mutations totales dans notre cohorte.

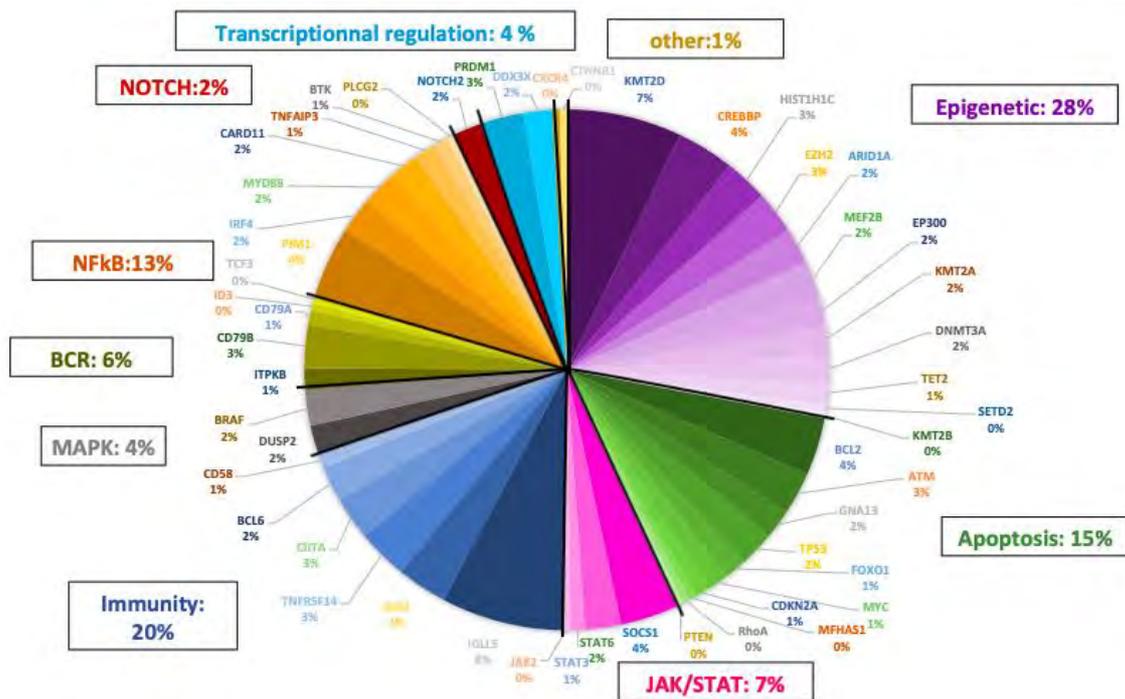


Figure 26. Voies de signalisations altérées pour l'ensemble des cas séquencés : répartition en pourcentage du nombre de patients mutés par gène pour chaque voie de signalisation par rapport au nombre total de gènes mutés dans la population analysée.

Les résultats observés dans la **Figure 26** ont évalué la fréquence d'altérations des voies de signalisation en prenant en compte le nombre de cas mutés par gène. Cette méthode d'analyse permet d'éviter les écueils de majoration liés à la fréquence d'altérations d'un gène. En effet certains gènes peuvent être mutés plusieurs fois chez le même patient, tout en n'étant que rarement altérés dans l'ensemble de la population et majorent ainsi la fréquence d'altérations de la voie de signalisation dans laquelle le gène est impliqué. Ainsi *PIM1*, muté 17 fois chez un de nos cas (**Annexe 1**), représente 13% des mutations totales observées dans notre étude, alors qu'il n'est muté que chez 4% de la population analysée. De même *IGLL5* représente 12% des mutations totales en n'étant muté que chez 8% de nos patients (**Figure 27**).

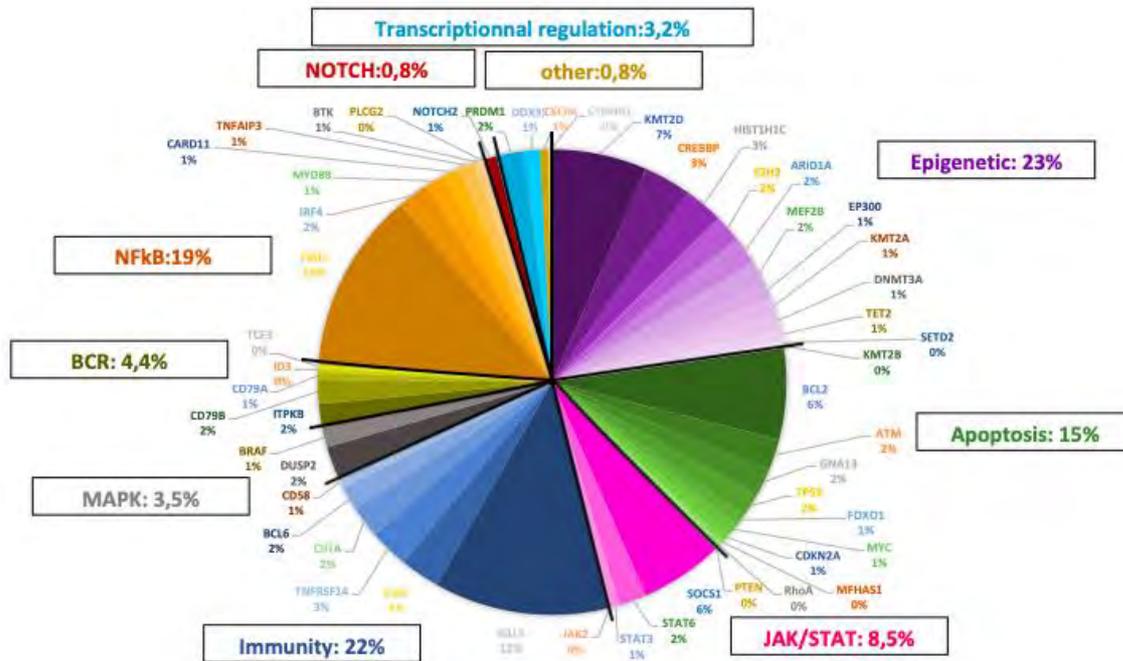


Figure 27. Voies de signalisation altérées pour l'ensemble des cas séquencés : répartition en pourcentage du **nombre de mutations** observées pour chaque voie de signalisation par rapport au nombre total de mutations dans la population analysée.

3. Impact clinique des mutations détectées dans les LBDGC-NOS sélectionnés (n=32)

La fréquence des mutations détectées a été corrélée avec les données cliniques des cas inclus dans notre cohorte comprenant 17 patients en rechute ou étant décédés avant 2 ans et 15 patients en rémission à 2 ans post-traitement. Chez les patients ayant rechuté/étant décédés dans les deux ans post-traitement, les gènes les plus mutés étaient *KMT2D* (70%), *IGLL5* (53%), *PIM1* (41,2%), *BCL2* (35,3%), *CREBBP* (35,3%), *TNFRSF14* (35,3%), suivis de *ARID1A* (29,4%), *PRDM1* (23,5%), *B2M* (23,5%), *ATM* (23,5%) et *EP300* (23,5%) (**Tableau 12**). On observe une différence significative pour les mutations de *KMT2D* et d'*ARID1A* avec une fréquence plus élevée de mutations dans le groupe ayant rechuté comparativement au groupe en rémission à 2 ans (respectivement index de significativité p=0.03 et p=0.04). Une tendance seulement est retrouvée pour les mutations des gènes *PIM1*, *TNFRSF14*, *BCL2*, *MYC*, à cause vraisemblablement du faible effectif de patients sélectionnés pour l'étude.

Chez les patients en rémission à 2 ans post-traitement, les gènes les plus mutés étaient *IGLL5* (53,3%), *BCL2* (53,3%), *CREBBP* (53,3%), *SOCS1* (46,6%), *CIITA* (40%), *CD79B* (40%), suivis de *BRAF* (33,3%) et *BCL6* (33,3%). Seules les mutations du gène *SOCS1* retrouvées chez 7 patients sur 8 ($p=0.01$) et à moindre degré les mutations du gène *CD79B* observées chez 6 patients sur 8 (corrélation restant non significative avec pour cause le faible effectif) sont plus fréquemment observées chez les patients en rémission à 2 ans comparativement aux patients ayant rechuté.

Tableau 12. Fréquence de gènes mutés selon l'évolution à deux ans post-traitement (en rouge : mutations associées à un risque de rechute, en vert : mutation associée à un faible risque de rechute).

Gene muté	% de cas mutés dans le groupe Rechute/décès (n=17)	% de cas mutés dans le groupe rémission (n=15)	p value = (indice de significativité)
HELLS	52% (n=9)	53,3% (n=8)	1
PTEN	5,9% (n=1)	0% (n=0)	0,32
PIM1	41,2% (n=7)	20% (n=3)	0,27
BCL2	35,3% (n=6)	53,3% (n=8)	0,48
CREBBP	35,3% (n=6)	53,3% (n=8)	0,48
SOCS1	5,9% (n=1)	6,7% (n=1)	0,81
B2M	23,5% (n=4)	20% (n=3)	1
TNFRSF14	35,3% (n=6)	5,6% (n=1)	0,09
EZH2	17,6% (n=3)	20% (n=3)	1
HIST1H1C	17,6% (n=3)	20% (n=3)	1
ATM	23,5% (n=4)	20% (n=3)	1
CITA	17,6% (n=3)	40% (n=6)	0,24
CD79B	11,8% (n=2)	40% (n=6)	0,11
PRDM1	23,5% (n=4)	20% (n=3)	1
BRAF	17,6% (n=3)	33,3% (n=5)	0,42
PTEN	5,9% (n=1)	0% (n=0)	0,32
BCL6	11,8% (n=2)	33,3% (n=5)	0,21
TP53	17,6% (n=3)	13,3% (n=2)	1
MEF2B	17,6% (n=3)	13,3% (n=2)	1
STAT6	17,6% (n=3)	13,3% (n=2)	1
IRF4	17,6% (n=3)	13,3% (n=2)	1
MYO8B	17,6% (n=3)	13,3% (n=2)	1
DOX3X	11,8% (n=2)	13,3% (n=2)	1
DUSP2	11,8% (n=2)	13,3% (n=2)	1
EP300	23,5% (n=4)	0%	0,10
GNA13	11,8% (n=2)	13,3% (n=2)	1
CARD11	11,8% (n=2)	13,3% (n=2)	1
DNMT3A	5,9% (n=1)	20% (n=3)	0,32
MOTCH2	11,8% (n=2)	13,3% (n=2)	1
DMT2A	17,6% (n=3)	5,6% (n=1)	0,60
FOXO1	5,9% (n=1)	13,3% (n=2)	0,38
MYC	17,6% (n=3)	0%	0,13
TRKB	0%	20% (n=3)	0,09
TEF2	11,8% (n=2)	5,6% (n=1)	1
TNFAIP1	11,8% (n=2)	5,6% (n=1)	1
CD79A	5,9% (n=1)	5,6% (n=1)	1
BTX	5,9% (n=1)	5,6% (n=1)	1
CDSN	0%	13,3% (n=2)	0,21
CDKN2A	0%	13,3% (n=2)	0,21
STAT3	5,9% (n=1)	5,6% (n=1)	1
CXCR4	0%	5,6% (n=1)	0,47
IDA	5,9% (n=1)	0%	1
MEFAS1	5,9% (n=1)	0%	1
PLD2	5,9% (n=1)	0%	1
RHDA	5,9% (n=1)	0%	1
SETD1	5,9% (n=1)	0%	1
TCF3	5,9% (n=1)	0%	1
CTNNB1	5,9% (n=1)	0%	1
JAK2	5,9% (n=1)	0%	1
KMT2B	5,9% (n=1)	0%	1
PTEN	0%	5,6% (n=1)	0,47

La corrélation entre la fréquence des altérations des voies de signalisation et le suivi clinique montre une prédominance d'altérations des voies JAK/STAT et du BCR chez les LBDGC-NOS d'évolution favorable comparativement aux cas ayant rechuté ou décédés (activation de la voie JAK/STAT dans 22% versus 10,3% des cas et activation de la signalisation du BCR dans 17% versus 8% des cas). A l'inverse, les altérations des modificateurs de l'épigénétique et à un moindre degré celles impliquées dans la signalisation apoptotique semblent être associées à un pronostic plus défavorable étant respectivement retrouvées dans 63% et 31% des patients ayant rechuté ou étant décédés contre 43% et 26% chez les patients en rémission complète à 2 ans.

4. Profil mutationnel selon le statut GC/non-GC des LBDGC-NOS

a. Types et fréquences des mutations selon le statut GC/non-GC des LBDGC-NOS

L'analyse de la fréquence des gènes mutés dans les groupes GC et non-GC à l'aide du test exact de Fisher, réservé aux petits effectifs, montre une augmentation significative du nombre de mutations des gènes *KMT2D* ($p=0,03$), *BCL2* ($p=0,04$), *CREBBP* ($p=0,04$), *BRAF* ($p=0,04$) dans les LBDGC de phénotype GC comparativement au groupe non-GC (**Tableau 13**). Par ailleurs, les gènes *IGLL5* et *EZH2* sont plus fréquemment mutés chez les patients GC (respectivement à 62,5% et 31,3%) comparativement au groupe non-GC (à 43,8% et 6,25%) ainsi que les gènes *ARID1A*, *BCL6* et *TP53* mutés à 80% chez des patients GC sans qu'il n'ait été retrouvé de différence significative à cause du faible effectif de la population étudiée. De manière intéressante, les gènes *BRAF*, *DDX3X*, *DUSP2*, *EP300*, *FOXO1* et *CD79A* sont exclusivement mutés chez les patients du groupe GC. Enfin les gènes *PRDM1* ($p= 0.02$) et *MYD88* ne sont mutés que chez les patients non-GC et on observe une prédominance des mutations *CD79B* et *NOTCH2* retrouvées dans plus de 80% des cas de phénotype non-GC.

Tableau 13. Mutations observées dans les groupes GC et non-GC (en vert : mutations significativement liées au statut GC, en rose : mutation significativement liée au statut non-GC).

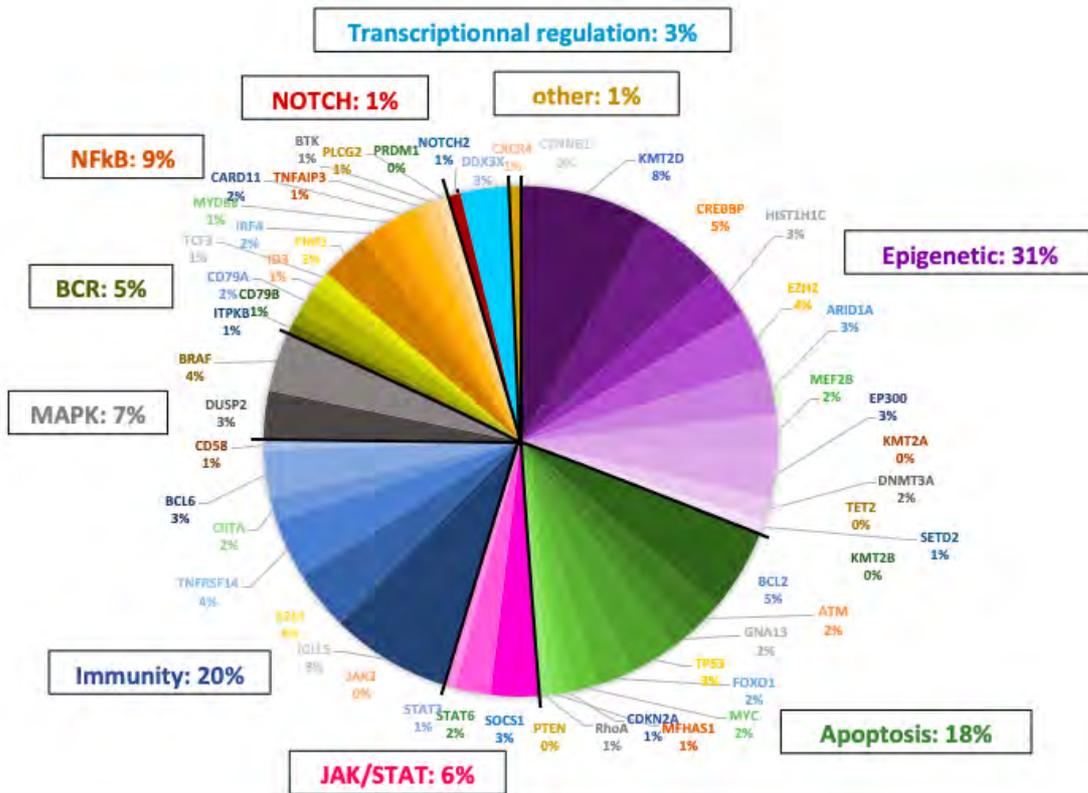
	GC (n=16)	Non GC (n=16)	P
Mutations			
IGLL5	62,5% (n=10/16 testés)	43,8% (n=7/16 testés)	0,48
MTOR	62,5% (n=10/16 testés)	25% (n=4/16 testés)	0,31
PIM1	25% (n=4/16 testés)	37,5% (n=6/16 testés)	0,70
PLC1	62,5% (n=10/16 testés)	6,25% (n=1/16 testés)	0,04
CDKN2B	18,8% (n=3/16 testés)	0,25% (n=1/16 testés)	0,34
SOCS1	25% (n=4/16 testés)	25% (n=4/16 testés)	1
B2M	31,3% (n=5/16 testés)	12,5% (n=2/16 testés)	0,39
TNFRSF14	31,3% (n=5/16 testés)	12,5% (n=2/16 testés)	0,39
EZH2	31,3% (n=5/16 testés)	6,25% (n=1/16 testés)	0,17
HIST1H1C	25% (n=4/16 testés)	12,5% (n=2/16 testés)	0,65
ATM	18,8% (n=3/16 testés)	18,8% (n=3/16 testés)	1
CIITA	12,5% (n=2/16 testés)	25% (n=4/16 testés)	0,65
CD79B	6,25% (n=1/16 testés)	31,3% (n=5/16 testés)	0,17
PRDM14	0%	37,5% (n=6/16 testés)	0,22
IKK1	6,25% (n=1/16 testés)	0%	0,34
ARID1A	25% (n=4/16 testés)	6,25% (n=1/16 testés)	0,33
BCL6	25% (n=4/16 testés)	6,25% (n=1/16 testés)	0,33
TP53	25% (n=4/16 testés)	6,25% (n=1/16 testés)	0,33
MEF2B	18,8% (n=3/16 testés)	12,5% (n=2/16 testés)	1
STAT6	18,8% (n=3/16 testés)	12,5% (n=2/16 testés)	1
IRF4	12,5% (n=2/16 testés)	18,8% (n=3/16 testés)	1
MYD88	6,25% (n=1/16 testés)	25% (n=4/16 testés)	0,33
DDX3X	25% (n=4/16 testés)	0%	0,10
DUSP2	25% (n=4/16 testés)	0%	0,10
EP300	25% (n=4/16 testés)	0%	0,10
GNA13	12,5% (n=2/16 testés)	12,5% (n=2/16 testés)	1
CARD11	12,5% (n=2/16 testés)	12,5% (n=2/16 testés)	1
DNMT3A	12,5% (n=2/16 testés)	12,5% (n=2/16 testés)	1
NOTCH2	6,25% (n=1/16 testés)	18,8% (n=3/16 testés)	0,60
KMT2A	0%	25% (n=4/16 testés)	0,10
FOXO1	18,8% (n=3/16 testés)	0%	0,23
MYC	12,5% (n=2/16 testés)	6,25% (n=1/16 testés)	1
PTK8	6,25% (n=1/16 testés)	12,5% (n=2/16 testés)	1
TET2	0%	18,8% (n=3/16 testés)	0,23
TNFAIP3	6,25% (n=1/16 testés)	12,5% (n=2/16 testés)	1

L'analyse du profil mutationnel par voies de signalisation montre une prédominance d'altérations des modificateurs épigénétiques et de gènes impliqués dans l'apoptose dans le groupe GC en comparaison avec le groupe non-GC (**Figure 28. A**). A titre d'exemple, presque un tiers des cas (31%) du groupe GC présente des mutations impliquées dans les mécanismes épigénétiques, alors que cette dérégulation n'est retrouvée que dans 24% des cas non-GC. Les mutations récurrentes de *DUSP2* et *BRAF* se traduisent par une altération de la voie MAPK

dans 7% des cas GC tandis que cette voie de signalisation n'a pas été retrouvée altérée chez les non-GC.

En revanche, les voies NF κ B, JAK/STAT, BCR et NOTCH sont plus souvent altérées dans les LBDGC de type non-GC, touchant respectivement 20%, 9%, 8% et 3% des cas contre 9%, 6%, 5% et 1% des cas GC (**Figure 28. B**).

A :



B :

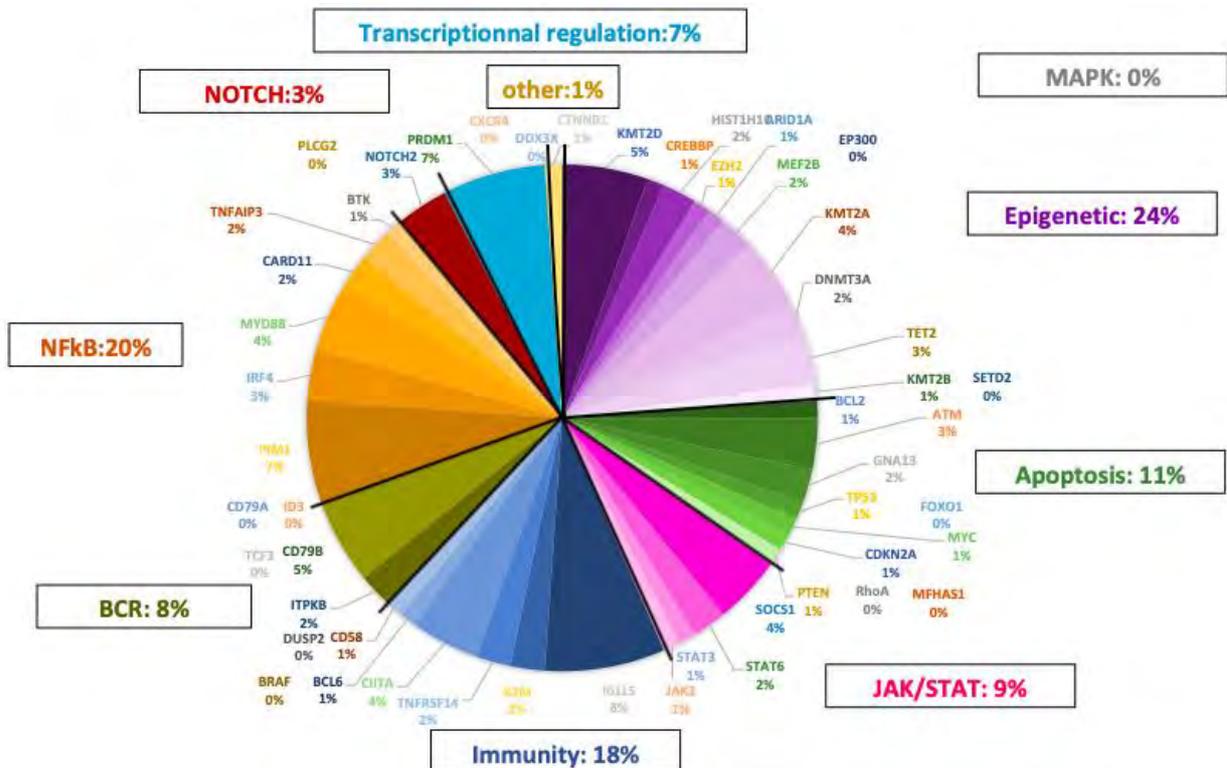


Figure 28. Voies de signalisations altérées : répartition en pourcentage du nombre de patients mutés par gène pour chaque voie de signalisation par rapport au nombre total de gènes mutés dans la population analysée.

A. Pour les patients de phénotype GC.

terme de nombre de gènes mutés apparaît significative dans le seul groupe GC- versus NGC+, comprenant le plus grand nombre de gène mutés ($p=0.047$).

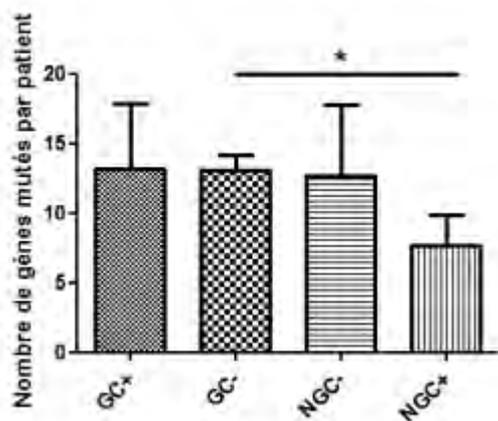


Figure 30. Nombre de gènes mutés par patient en fonction du phénotype et de l'évolution à deux ans post-traitement.

Le test exact de Fisher a permis de souligner une différence significative pour les mutations du gène *BCL2* dans le groupe GC-, présentes chez 6 des 10 cas GC- ($p=0,01$), par rapport aux trois autres groupes GC+, NGC+ et NGC- confondus (2/22). De même la mutation du gène *KMT2D* au sein de ce même groupe GC-, présente chez tous les patients semble caractéristique des LBDGC GC d'évolution défavorable ($p=0,0003$).

En revanche, le gène *SOCS1* ressortait significativement plus muté dans le groupe GC+ ($p=0,023$) par rapport à l'ensemble des autres groupes.

L'analyse de la répartition des altérations des voies de signalisation a montré une plus grande fréquence d'altérations des modificateurs de l'épigénétique dans le groupe GC- comparativement aux autres sous-groupes. On remarque une différence significative d'altérations des mécanismes épigénétiques entre les groupes GC- et GC+ (36% versus 21%, $p=0,03$) et entre les groupes GC- et NGC+ (36% versus 22%, $p=0,04$) liée au plus grande nombre de cas mutés pour les gènes *KMT2D*, *IGLL5* et *CREBBP* dans le groupe GC-. Parallèlement, le groupe NGC- présente plus d'altérations que le groupe NGC+ dans l'épigénétique et la voie NFκB (respectivement 27% versus 22% et 22% versus 18%) et à l'inverse moins de mutations dans les gènes impliqués dans la signalisation BCR et dans l'immunité respectivement 5% versus 10% et 15% versus 22%) (**Figure 31**).

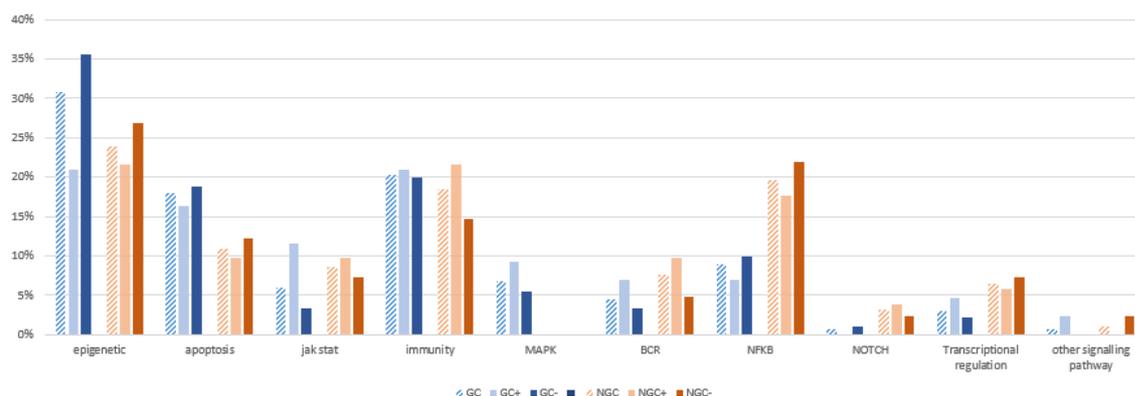


Figure 31. Pourcentage du nombre de patients mutés par gène pour chaque voie de signalisation en fonction du phénotype et de l'évolution à deux ans post-traitement.

c. Comparaison des profils mutationnels des LBDGC-NOS GC versus ceux des lymphomes B de haut grade avec réarrangements *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6*

En reprenant les données de l'étude de séquençage de 20 lymphomes B de haut grade avec réarrangements *MYC* et/ou *BCL2* et/ou *BCL6* menée en 2018 par le Dr S. Evrard (15), nous avons pu comparer la fréquence et le type de mutations pour chacun des 15 gènes les plus fréquemment altérés dans notre étude (**Figure 32**). Pour ce faire, nous avons sélectionné 18 des 20 cas étudiés en 2018 et classés en sous type GC selon l'algorithme de Hans. Cette analyse montre qu'en dehors du gène *FOXO1* muté équitablement en fréquence dans le sous-groupe GC+ et le sous type DHL/THL, les gènes *SOCS1* et *BRAF* sont plus fréquemment mutés dans le sous-groupe GC+ comparativement au sous type agressif DHL/THL. Par ailleurs, le sous-groupe GC+ présente un plus faible taux de mutations des gènes *KMT2D*, *BCL2* et *CREBBP* que les DHL/THL. Parallèlement, le profil mutationnel du sous-groupe GC- n'est également pas comparable au sous type agressif DHL/THL montrant plus de mutations *KMT2D* (100% versus 56%) et de fréquentes altérations d'*EP300*, *TNFRSF14*, *B2M*. Enfin, le groupe des DHL/THL présente le taux le plus important de mutations de *CREBBP* et de *MYC* comparativement aux GC+ et aux GC-.

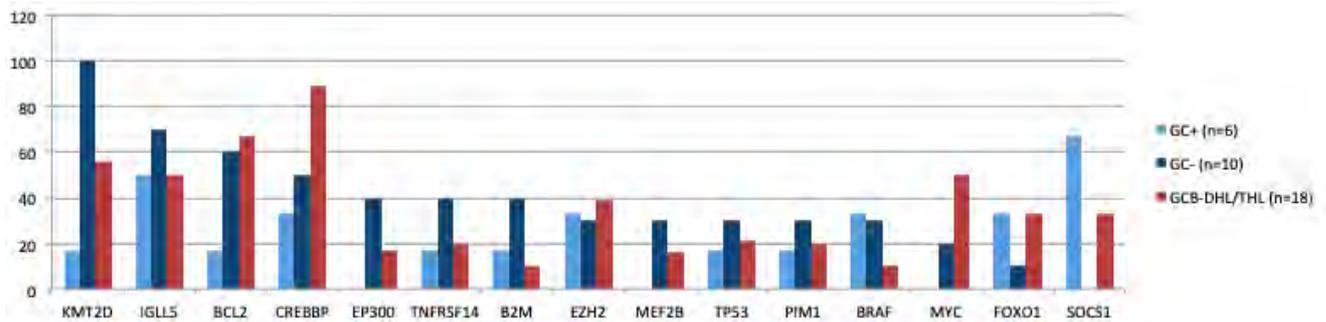


Figure 32 : Pourcentage du nombre de patients mutés par gène pour les groupes GC+ et GC- en comparaison avec un groupe de patients DH/TH.

V. Discussion et perspectives

Le LBDGC représente 40% des LNH de l'adulte et plus de 60% des lymphomes agressifs (111). Malgré des progrès thérapeutiques considérables ciblant les cellules tumorales, une fraction significative des patients rechute ou ne répond pas au traitement standard à base de R-CHOP, suggérant une importante hétérogénéité biologique des LBDGC. Cette hétérogénéité tumorale des LBDGC initialement illustrée par le profil Cell-of-Origin avec le LBDGC GC d'une part et le LBDGC ABC/non-GC d'autre part est aujourd'hui complexifiée par l'intégration de nouvelles données moléculaires. Les sous-types GC et non-GC sont maintenant reconnus par la classification OMS 2017 (2), qui préconise leur détermination par des techniques de biologie moléculaire, ou à défaut, par immunohistochimie.

Dans notre étude, nous avons utilisé l'algorithme IHC de Hans pour caractériser le statut GC et non-GC. Le gold standard pour la détermination du COO reste l'approche transcriptomique (GEP)(112). Cependant cette technique est d'application moins aisée en routine diagnostique car elle requiert du matériel congelé et reste plus fastidieuse et coûteuse que la méthode de Hans. Plus récemment l'introduction de la technique Nanostring (76) permettant de déterminer le COO sur FFPE à l'aide d'un panel restreint de gènes a révolutionné l'approche méthodologique pour l'étude du COO dans les LBDGC. L'étude récente d'Abdulla et al (113) a de plus souligné la faible concordance (de l'ordre de 58%) entre Hans et la technique Nanostring pour classer les LBDGC de sous-type non-GC. Par ailleurs, la classification de Hans ne permet pas l'individualisation des cas dits « inclassifiables » en GEP, dont l'évolution est controversée dans la littérature.

Néanmoins si cette dichotomie a largement dominé le débat concernant l'hétérogénéité des LBDGC, elle reste paradoxalement, en 2019, relativement inopérante en clinique, avec un impact très marginal voire inexistant dans la stratégie thérapeutique.

La présente corrélation des statuts GC et non-GC avec les données cliniques confirme la valeur pronostique de la cellule d'origine (COO) dans les LBDGC, avec une survie globale plus faible pour les patients de sous type non-GC comparativement au sous-groupe GC, indépendamment de l'IPI. Ces résultats sont en accord avec les conclusions des essais initiés par l'équipe de Rosenwald et al en 2002 et se poursuivant indépendamment de la détermination moléculaire des sous-types GC/non-GC (45,46). Il n'a cependant pas été observé de différence significative concernant la survie sans progression entre les deux groupes.

Nos courbes de survie sans progression semblent montrer une tendance nette aux rechutes des profils non-GC dans la première année suivant l'initiation du traitement, pour ensuite se stabiliser comme l'indique le plateau observé après 12 mois. A l'inverse, la courbe représentant la survie sans progression, de même que la survie globale des patients GC conserve une allure descendante d'angle constant bien qu'en marches d'escaliers jusqu'à un net infléchissement autour de 30 mois de suivi. Ceci pourrait se traduire par une tendance aux rechutes globalement plus tardive des cas GC, appuyant les conclusions de plusieurs études selon lesquelles les LBDGC rechutent rarement après 2 ans (114,115), et sont de phénotype GC le cas échéant (115,116). Selon Jong et al. (116), ces rechutes tardives seraient liées principalement à des transformations clonales des LBDGC GC. Plusieurs cohortes ont par ailleurs montré le pronostic moins sombre des rechutes tardives (115,117) comparées à celles survenant pendant ou dans les deux ans suivant la chimiothérapie combinée au rituximab. Elles concernent essentiellement des malades aux caractéristiques pronostiques initiales favorables (117). Pour ces patients, on observe généralement une bonne réponse à la chimiothérapie de rattrapage. Ces éléments pourraient expliquer la différence d'OS, meilleure pour les GC (HR=0.43, IC 0.22 ; 0.86, p = 0.0174), tandis que la PFS n'est pas significativement supérieure dans notre analyse pour le groupe GC versus le groupe non-GC (HR=0.59, IC 0.33 ; 1.03, p = 0.0626). En effet, bien que la survie après rechute post-chimiothérapie ne soit pas connue comme étant influencée par

le statut COO (118), la différence de survie globale à long terme entre les groupes GC/non-GC peut être indirectement liée au fait que les rechutes surviennent plus tard dans le cas des GC. Néanmoins, au-delà de 24 mois l'interprétation des courbes de Kaplan Meyer dans notre étude doit être prudente et réservée compte tenu du nombre important de censures, représentées par les traits verticaux et correspondant à la date de dernières nouvelles des patients dès lors perdus de vue. Par ailleurs on peut expliquer la présence d'une différence significative selon le phénotype en survie globale seulement, par la survie nettement inférieure après rechute des non-GC en comparaison des GC avant le développement à grande échelle de traitements tels que le lenalidomide (40) ou les CAR-T cells (119). Ces derniers ont en effet considérablement amélioré la survie des patients en rechute, et particulièrement ceux de phénotype non-GC, réduisant l'écart existant entre les survies globales de chaque groupe phénotypique. On peut ainsi admettre que pour un taux de rechute à peu près équivalent, la survie globale soit significativement réduite pour les patients non-GC.

Enfin, compte tenu des résultats plus ou moins récents de la littérature qui montrent globalement une différence tant en terme de PFS qu'en OS entre les patients GC et non-GC (113,120,121), l'hypothèse la plus probable concernant l'absence de significativité pour les différences de survie sans progression est le manque de puissance de notre étude, limitée quant au nombre de patients et surtout quant à la durée de leur suivi. En effet, nous ne disposons pas du recul nécessaire pour analyser les données de suivi à plus de deux ans post-traitement et les perdus de vue ont été nombreux.

Les facteurs cliniques de valeur pronostique significative en analyse univariée étaient l'âge du patient, le taux de LDH et l'IPI, chacun d'entre eux étant effectivement connu pour son impact pronostique dans les LBDGC (23,26,113,122).

Au total, bien que la plupart des LBDGC soient en rémission après 6 à 8 cycles de chimiothérapie, environ un tiers des patients ont rechuté et/ou sont décédés dans les deux ans à compter de la première cure de chimiothérapie.

Les 32 cas sélectionnés pour l'étude morphologique, immuno-histochimique et moléculaire ont été inclus sur la base d'un matériel FFPE de quantité disponible

suffisante, ce qui pourrait constituer un biais de sélection. Cependant, les caractéristiques cliniques et de survie les concernant étaient relativement comparables à celles des patients étudiés dans d'autres cohortes de LBDGC (76,123). Sur le plan histologique, notre étude montre une variabilité de l'aspect morphologique indépendamment du statut GC/non-GC avec une plus forte proportion de variants immunoblastiques ou à différenciation plasmocytaire dans le groupe des non-GC, en accord avec la littérature (124). Les travaux concernant l'impact pronostique de l'aspect cytologique sont cependant contradictoires. Des études rapportent une valeur pronostique négative de la morphologie immunoblastique (124), mais ces résultats sont controversés par manque de reproductibilité. Certains auteurs rapportent un impact pronostic négatif de la nécrose tumorale sur la survie des LBDGC, indépendamment de l'IPI (125,126). Dans notre étude 25% des cas analysés renfermaient de larges plages nécrotiques, néanmoins répartis de manière équitable entre les groupes d'évolution favorable ou défavorable. Cependant les 4 cas présentant de nombreux corps apoptotiques de profil non-GC (sauf un) ont tous rechuté ou sont morts dans les 2 ans suivant le traitement.

De nombreux biomarqueurs ont été décrits dans les LBDGC comme la surexpression de BCL2 associée à une faible réponse thérapeutique et à une survie globale et sans progression diminuée (127). Le taux d'expression en immunohistochimie de BCL2 par les LBDGC varie selon les études, entre 47 et 84% (128,129). Son interprétation est délicate car BCL2 est souvent exprimé par les cellules du microenvironnement. De plus elle est fonction de l'anticorps utilisé reconnaissant différents épitopes. Ainsi de nombreux cas faux-négatifs ont effectivement été rapportés avec l'anticorps monoclonal de souris 124, en comparaison avec les plus communément utilisés anticorps monoclonaux de lapin E17 et SP66 (130). Une forte positivité diffuse et homogène de BCL2 est observée dans 50% des LBDGC et serait étroitement liée à la présence d'une translocation t(14;18)(q32;q21.3) intéressant le gène *BCL2* présente dans 20-30% des LBDGC GC, tandis que chez les non-GC elle résulterait le plus souvent d'un gain ou amplification ou d'une activation des voie de signalisation BCR/ NFκB (20% des LBDGC non-GC) (76). Dans notre étude, 16 cas sur 21 testés pour BCL2 étaient

positifs de manière diffuse. Seul un cas a été secondairement analysé en FISH et présentait un réarrangement du gène *BCL2*. De même une forte expression de *MYC* est corrélée à un devenir plus sombre (90,98) selon certains auteurs bien que sa valeur pronostique soit incertaine de par le manque de reproductibilité dans son évaluation et les difficultés à établir un cutt-off précis et consensuel. De plus, d'après la méta-analyse de Li et al (131) réalisée en 2018, il semblerait que la co-expression de *MYC* et *BCL2* ait une valeur pronostique supérieure à une surexpression isolée de *MYC* ou *BCL2* (respectivement, HR=2.58, p=0.275 versus HR=1.96, p=0.280 et HR=1.65, p=0.243). Cette surexpression de *MYC* est observée dans 40 % des LBDGC, le plus souvent due à un réarrangement ou une amplification de *MYC* (présents respectivement dans 2-16% et 7% des cas) dans les LBDGC de type GC, ou à une activation de la voie de signalisation BCR/NFκB dans le cas des non-GC. Les conséquences cliniques des réarrangements de *MYC* pourraient par ailleurs être liées aux réarrangements des gènes *BCL2* et/ou *BCL6* que l'on retrouve de façon concomitante dans les DHL/THL. Dans notre étude retrospective réalisée sur des cas LBGC diagnostiqués avant la généralisation de la recherche des réarrangements *MYC*, *BCL2* et *BCL6* par FISH, seuls 6 cas avaient bénéficié d'une recherche de réarrangement par FISH au moment du diagnostic avec un seul cas réarrangé *MYC* sans autre réarrangement associé et un cas réarrangé seulement pour *BCL2*, les 4 autres cas étant négatifs. Par ailleurs, l'index de prolifération évalué par Ki-67 est également connu comme fortement associé à une diminution de la survie globale dans les LNH, cependant selon les études la corrélation entre le pourcentage de cellules en cycle et la survie des patients atteints de LBDGC reste contradictoire (127,132-134). De plus, les LBDGC présentant une translocation de *MYC* ont tendance à fortement exprimer l'index de prolifération Ki-67 en IHC. Toutefois ce critère reste variable et ne doit pas être un outil de sélection des cas à tester en technique FISH. Dans notre étude l'index de prolifération Ki-67 variait de 40% à 90% avec une répartition homogène dans chaque catégorie GC-, GC+, NGC-, NGC+ et n'a pas montré d'impact pronostique.

Grâce au développement des nouvelles technologies moléculaires, le paysage mutationnel des LBDGC a émergé ces dix dernières années, révélant des altérations génétiques spécifiques à l'origine de sa lymphomagenèse dont la valeur

pronostique reste à déterminer. En comparant les facteurs prédictifs de risques les plus connus des LBDGC aux récents modèles génomiques d'évaluation des risques de rechute, plusieurs auteurs ont souligné une plus grande performance des modèles moléculaires vis à vis des index cliniques (IPI), chromosomiques (statut réarrangé pour *MYC/BCL2*) et phénotypiques (cellule d'origine COO) (97). Des altérations génomiques communes ou spécifiques à chaque sous-type phénotypique GC et non-GC ont été identifiées et regroupées en fonction de la voie de signalisation impactée (135). Certains gènes ont récemment été identifiés comme associés à un pronostic défavorable parmi lesquels *TP53*, *FOXP1* et *MYD88* (136–138). Le rôle pronostique de ces marqueurs moléculaires occupe une place de plus en plus grande à l'ère du séquençage haut débit. Cependant il faut un nombre considérable d'analyses moléculaires pour continuer d'enrichir les algorithmes de nouveaux biomarqueurs et confirmer l'impact des gènes déjà incriminés. En effet, certains biomarqueurs comme par exemple les mutations de *MYD88*, rapportées dans plusieurs travaux comme ayant un impact pronostique péjoratif, font l'objet de résultats contradictoires dans la littérature (139–141). Indépendamment du statut GC/non-GC, l'analyse de la fréquence et de la distribution des gènes mutés entre les patients décédés ou ayant rechuté versus ceux en rémission montre une fréquence plus élevée de mutations des gènes impliqués dans l'épigénétique comme *KMT2D* et *ARID1A*, résultats restant à confirmer sur une cohorte plus large. L'étude et la comparaison des altérations des voies de signalisation chez les patients ayant rechuté ou étant décédés dans les 2 ans post-traitement versus celles des patients en rémission complète soulignent par ailleurs cette prédominance des mutations impactant les voies épigénétiques (63% des patients mutés versus 43%) et de l'apoptose (31% de patients mutés versus 26%), connues pour être associées à un pronostic défavorable chez les patients lymphomateux (108,142). Dans la littérature, les altérations des mécanismes impliqués dans l'épigénétique sont classiquement décrites comme étant les plus courantes dans les LBDGC, avec dans 40% des cas pour origine l'inactivation des acétyl-transférases *EP300* et *CREBBP*. Les mécanismes épigénétiques participent ainsi à la lymphomagénèse en empêchant par exemple l'inactivation du proto-oncogène *BCL6*, et l'activation du gène suppresseur de tumeur *TP53* (59). Le répresseur de transcription *BCL6* codé par un gène

potentiellement cible de réarrangements ou de mutations, est souvent dérégulé dans les LBDGC. Sa dérégulation peut être également due à une altération de son propre système d'autorégulation, d'une mutation d'un de ses gènes régulateurs tels *IRF4* (49) ou *MEF2B* (57), ou bien de la perte de fonctions secondaires à une dérégulation des acétyl-transférases CREBBP, EP300 ou des méthyl-transférases KMT2D et EZH2 (57). Plusieurs de nos cas présentaient effectivement des mutations de ces gènes et souvent de façon concomitante. Le gène *KMT2D* (aussi connu sous le nom de *MLL2*) était le plus muté dans notre étude totale (50% des cas) et chez les cas ayant rechuté/décédés à deux ans (70%), fidèlement aux résultats de l'analyse de Juskevicius et al (143). Ce gène qui code pour une histone méthyl-transférase, agit comme un gène suppresseur de tumeur majeur dans les LBDGC et sa mutation constitue 30% des altérations impliquant la voie épigénétique dans ces tumeurs (59,105). Le gène *EZH2* est le deuxième gène codant pour une histone méthyl-transférase retrouvé le plus muté dans les cancers et plus particulièrement dans 22 % des LBDGC de type GC (67). Notre étude confirmait ce résultat, avec un taux de mutation total de 19%, atteignant 33 % dans le groupe GC (5 sur les 6 cas mutés). De plus, 5 des 8 patients mutés pour *CREBBP*, étant essentiellement des GC (7/8 cas), ainsi que nos 4 cas mutés pour *EP300*, tous de phénotype GC, sont morts ou ont rechuté à 2 ans post-traitement.

La tumorigénèse des LBDGC, dérivés du GC, résulte aussi de l'activité illégitime de l'AID (activation-induced cytidine deaminase) à l'origine de ces processus d'hypermutation somatique (SHM) et de commutation de classe (CSR) en dehors des locis variables (V-regions) immunoglobuliniques (144). Les proto-oncogènes tels que *BCL2*, *PIM1*, *BCL6*, *PAX5* et *RHOH* sont des cibles fréquentes des mécanismes d'hypermutation somatique (145) (103). *BCL2* est décrit comme l'un des gènes les plus fréquemment mutés dans les LBDGC GC (76), à l'origine d'une dérégulation d'expression de la protéine anti-apoptotique BCL2. Le gène *BCL2* était muté chez 8 de nos 32 patients (25%), préférentiellement dans le groupe GC- (6 GC- sur les 8 mutés au total soit 75%) et semblait comme le montrent de nombreux essais, constituer un facteur pronostique non négligeable. Dix patients soit presque un tiers de l'effectif total étaient mutés pour *PIM1*. *PIM1* est une sérine-thréonine kinase impliquée dans la régulation de la survie, le cycle

cellulaire, la transcription et la résistance aux traitements. La surexpression du gène *PIM1* chez les patients atteints de LBDGC est corrélée à un pronostic péjoratif (146). *PIM1* joue également un rôle dans l'activation de la voie NFκB impliquée dans le contrôle de la prolifération cellulaire, l'inflammation, la sécrétion cytokinique ou encore l'angiogénèse. Une étude récente a observé que la mutation de *PIM1* était plus fréquente chez les LBDGC de type non-GC et montrait le rôle de celle-ci dans la résistance aux traitements par Ibrutinib, un inhibiteur de la BTK (Bruton's tyrosine kinase) (147). Dans notre étude, 6 des 10 patients mutés pour *PIM1* étaient effectivement de phénotype non-GC et conformément aux données de la littérature, le sous-groupe non-GC présentait une altération fréquente de la voie de signalisation NFκB (18,65,66). Cette activation de la voie NFκB est également souvent due aux mutations des gènes *MYD88* et *CD79B* habituellement retrouvées dans respectivement 31% et 23% des LBDGC non-GC (38) et observées dans 16% et 19% des cas de notre étude sans pouvoir confirmer leur impact pronostique étant donné le faible effectif de la population étudiée. La mutation de *BLIMP1/PRDM1* classiquement décrite comme entraînant l'incapacité des cellules tumorales activées à se différencier en plasmocytes (73) a été exclusivement mise en évidence chez 6 des 16 patients non-GC analysés (37,5%).

Enfin, le gène *SOCS1* (Suppressor of cytokine signaling 1) code pour un inhibiteur connu de la voie JAK/STAT, empêchant par phosphorylation la dégradation protéasomique de JAK (146). Les mutations de *SOCS1* sont connues pour être associées à une meilleure survie dans le cas des LBDGC (143,148,149) de même que dans les LH et les lymphomes B primitifs du médiastin (149). *SOCS1* était muté chez 25% des patients équitablement répartis entre les groupes phénotypiques GC et non-GC. Sept patients sur 8 sont en rémission à 2 ans, confirmant les conclusions de l'équipe de Juskevicius (143) quant au potentiel caractère protecteur de la mutation de *SOCS1* dans les LBDGC. Leur analyse de survie rapportait une différence en terme de PFS, meilleure chez les cas mutés pour *SOCS1* (p=0.022).

Outre les caractéristiques propres à la tumeur, le rôle du microenvironnement dans l'évolution des LBDGC est aujourd'hui bien connu (45). Lenz et al ont démontré par une analyse multivariée à partir de trois profils de signature

d'expression génique distincts, que la survie après chimiothérapie par R-CHOP des LBDGC est influencée par les cellules immunitaires, la fibrose et l'angiogénèse qui constituent le microenvironnement tumoral. Dans notre étude, la distribution des sous populations immunitaires n'a pas été spécifiquement évaluée ; néanmoins l'étude du profil mutationnel a identifié des mutations de gènes impliqués dans l'immunité comme *IGLL5*, *B2M*, *TNFRSF14* suggérant que la tumeur développe des mécanismes d'immuno-échappement quel que soit le sous type GC ou non-GC. C'est aussi le cas de *CD58*, bien que rarement muté dans notre analyse. Conformément aux précédentes études, nous avons retrouvé un taux de mutation non négligeable de *B2M*, indépendamment du groupe phénotypique et du pronostic à deux ans (61). L'inactivation des gènes codant pour la β 2-microglobuline (β 2m) et pour le récepteur CD58 provoque un échappement des cellules tumorales à la reconnaissance anti-tumorale médiée par les lymphocytes T. *TNFRSF14* appartient à la superfamille des récepteurs TNF et agit comme un suppresseur de tumeur en rendant les lymphocytes B plus immunogènes par le biais de multiples ligands spécifiques, et plus sensibles à l'apoptose induite par le système FAS/FAS-L (150). Dans notre étude, des mutations de *TNFRSF14* ont été retrouvées chez 7 patients dont 5 de phénotype GC. Six d'entre eux ont rechuté ou sont décédés dans les deux ans suivant le traitement, ce qui confirme les données de la littérature concernant l'impact délétère des mutations du gène *TNFRSF14* dans les LBDGC-GC (103). Enfin, *IGLL5*, homologue de *IGLL1*, jouant un rôle critique dans le développement des cellules B, est rapporté muté de façon récurrente dans les LBDGC (100,106). Bien que ses fonctions précises restent à établir, *IGLL5* a été identifié comme un gène suppresseur de tumeur par des approches d'editing génomique de type CRISPR-Cas9, utilisées par l'équipe de S. Dave (97).

Se basant sur les nouvelles classifications moléculaires fondées sur l'intégration des données WES et RNAseq et CNV (100), nous avons tenté de séparer nos patients à partir des résultats de NGS ciblé (**Annexe 2**). Treize de nos 32 patients demeuraient inclassés et l'un d'entre eux ne présentait aucune des mutations requises pour être intégré au modèle de Schmitz et al. Une grande majorité (13/19) des cas était classée dans le sous-groupe EZB, 4 d'entre eux seulement

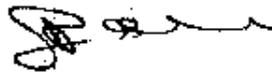
(21%) ayant évolué favorablement à 2 ans contrairement à ce qui était attendu. A l'inverse les 6 cas MCD, de pronostic plutôt défavorable selon les auteurs, étaient pour la moitié d'entre eux en rémission complète à 2 ans. Concernant le groupe BN2, il manquait pour la majorité des patients la recherche du statut réarrangé de *BCL2* évalué par FISH, qui en constitue le critère essentiel. Aucun cas n'a pu être classé en sous-type N1, BN2 ou A53, ce qui nous ramène aux limites du NGS ciblé. En effet, bien qu'il soit fondé sur une liste de 67 gènes connus pour être impliqués dans la lymphomagénèse des LBDGC, le *lymphopanel* utilisé en pratique courante à l'IUCT ne peut constituer une base exhaustive pour étudier l'ensemble des gènes potentiellement impliqués dans la progression de la maladie.

VI. Conclusion

Les LBDGC constituent les tumeurs hématopoïétiques les plus fréquentes et la moitié des patients atteints peuvent être guéris par les traitements standards d'immunochimiothérapie. Cependant environ 30% sont réfractaires à ce traitement ou rechutent plus tard, suggérant une grande hétérogénéité biologique sous-jacente. Les profils d'expression génomique du COO ont permis d'appréhender cette hétérogénéité en définissant deux grands sous types GC et non-GC/ABC. Toutefois, l'hétérogénéité tumorale des LBDGC ne peut pas se résumer à cette dichotomie, et à ce jour les grands essais thérapeutiques visant à améliorer l'efficacité du R-CHOP en ciblant des altérations plus spécifiques du sous-type non-GC se sont révélés négatifs. Récemment, grâce à l'apport de nouvelles technologies de séquençage, de nouveaux sous-groupes de LBDGC aux pronostics distincts émergent. Notre étude souligne la diversité du paysage mutationnel global des LBDGC-NOS mais également au sein des sous-types GC et non-GC. Elle met en évidence l'apport du NGS ciblé en pratique courante dans l'évaluation pronostique des LBDGC-NOS combiné au statut GC/non-GC. Le défi actuel consisterait à caractériser les conséquences fonctionnelles des anomalies détectées. Pour cela, l'approche traditionnelle correspondant à la caractérisation individuelle de chaque gène et de ses mutations est complétée par l'émergence d'études moléculaires et fonctionnelles intégratives grâce auxquelles il devient possible de connecter l'action des gènes impliqués afin d'élargir la connaissance

des processus tumoraux, rentabiliser les études génomiques des tumeurs et envisager des thérapeutiques ciblées adaptées.

Vu permis d'imprimer
Le Doyen de la Faculté
de Médecine Toulouse - Purpan



Didier CARRIÉ

Professeur Pierre BROUSSET
Directeur du Département de Pathologie
Institut Universitaire du Cancer
Toulouse Oncopôle
1, av. Irène Joliot-Curie 31059 Toulouse cedex 9
Tél 05 31 15 61 41

VII. Références bibliographiques

1. inca. inca-guidelymphomenonhodg-2019-interactif.pdf [Internet]. 2017 [cité 10 août 2020]. Disponible sur:

<https://www.francelymphomeespoir.fr/files/publications/documents/attachments/inca-guidelymphomenonhodg-2019-interactif.pdf>

2. 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., éditeurs. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017. 585 p. (World Health Organization classification of tumours).

3. Leeksa OC, de Miranda NF, Veelken H. Germline mutations predisposing to diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Cancer J*. 17 2017;7(2):e532.

4. Stewart BW, Wild C, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, éditeurs. World cancer report 2014. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2014. 630 p.

5. Smith A, Howell D, Patmore R, Jack A, Roman E. Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network. *Br J Cancer*. 22 nov 2011;105(11):1684-92.

6. Tilly H, Gomes da Silva M, Vitolo U, Jack A, Meignan M, Lopez-Guillermo A, et al. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. sept 2015;26 Suppl 5:v116-125.

7. Gutiérrez-García G, Cardesa-Salzmann T, Climent F, González-Barca E, Mercadal S, Mate JL, et al. Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Blood*. 5 mai 2011;117(18):4836-43.

8. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. févr 2000;403(6769):503-11.

9. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 1 janv 2004;103(1):275-82.

10. de Jong D, Rosenwald A, Chhanabhai M, Gaulard P, Klapper W, Lee A, et al. Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications--a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *J Clin Oncol*. 1 mars 2007;25(7):805-12.

11. Scott DW, Wright GW, Williams PM, Lih C-J, Walsh W, Jaffe ES, et al. Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Blood*. 20 févr 2014;123(8):1214-7.
12. McPhail ED, Maurer MJ, Macon WR, Feldman AL, Kurtin PJ, Ketterling RP, et al. Inferior survival in high-grade B-cell lymphoma with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements is not associated with MYC/IG gene rearrangements. *Haematologica*. 1 nov 2018;103(11):1899-907.
13. 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;19(9):1013-24.
14. Sha C, Barrans S, Cucco F, Bentley MA, Care MA, Cummin T, et al. Molecular High-Grade B-Cell Lymphoma: Defining a Poor-Risk Group That Requires Different Approaches to Therapy. *J Clin Oncol*. 20 2019;37(3):202-12.
15. Evrard SM, Péricart S, Grand D, Amara N, Escudié F, Gilhodes J, et al. Targeted next generation sequencing reveals high mutation frequency of CREBBP, BCL2 and KMT2D in high-grade B-cell lymphoma with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements. *Haematologica*. 2019;104(4):e154-7.
16. Ennishi D, Jiang A, Boyle M, Collinge B, Grande BM, Ben-Neriah S, et al. Double-Hit Gene Expression Signature Defines a Distinct Subgroup of Germinal Center B-Cell-Like Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 20 2019;37(3):190-201.
17. Sha C, Barrans S, Care MA, Cunningham D, Tooze RM, Jack A, et al. Transferring genomics to the clinic: distinguishing Burkitt and diffuse large B cell lymphomas. *Genome Medicine*. 1 juill 2015;7(1):64.
18. Davies A, Cummin TE, Barrans S, Maishman T, Mamot C, Novak U, et al. Gene-expression profiling of bortezomib added to standard chemoimmunotherapy for diffuse large B-cell lymphoma (REMoDL-B): an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. mai 2019;20(5):649-62.
19. Mationg-Kalaw E, Tan LHC, Tay K, Lim ST, Tang T, Lee YYL, et al. Does the proliferation fraction help identify mature B cell lymphomas with double- and triple-hit translocations? *Histopathology*. déc 2012;61(6):1214-8.
20. 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*. 20 sept 2014;32(27):3059-67.
21. Zelenetz AD, Abramson JS, Advani RH, Andreadis CB, Byrd JC, Czuczman MS, et al. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: non-Hodgkin's lymphomas. *J Natl Compr Canc Netw*. mars 2010;8(3):288-334.
22. International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 30 1993;329(14):987-94.

23. Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, Fitzgerald C, Gill K, Hoskins P, et al. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood*. 1 mars 2007;109(5):1857-61.
24. Zhou Z, Sehn LH, Rademaker AW, Gordon LI, LaCasce AS, Crosby-Thompson A, et al. An enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI) for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the rituximab era. *Blood*. 6 févr 2014;123(6):837-42.
25. Bonnet C, Prijck BD, Lejeune M. Prise en charge du lymphome B diffus à grandes cellules en 2012. *Revue Médicale Suisse*. 2012;9.
26. Ziepert M, Hasenclever D, Kuhnt E, Glass B, Schmitz N, Pfreundschuh M, et al. Standard International prognostic index remains a valid predictor of outcome for patients with aggressive CD20+ B-cell lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol*. 10 mai 2010;28(14):2373-80.
27. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol*. 10 févr 2007;25(5):579-86.
28. Borel C, Lamy S, Compaci G, Récher C, Jeanneau P, Nogaro JC, et al. A longitudinal study of non-medical determinants of adherence to R-CHOP therapy for diffuse large B-cell lymphoma: implication for survival. *BMC Cancer*. 15 avr 2015;15:288.
29. Coiffier B, Lepage E, Brière J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et al. CHOP Chemotherapy plus Rituximab Compared with CHOP Alone in Elderly Patients with Diffuse Large-B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 24 janv 2002;346(4):235-42.
30. Fu K, Weisenburger DD, Choi WWL, Perry KD, Smith LM, Shi X, et al. Addition of Rituximab to Standard Chemotherapy Improves the Survival of Both the Germinal Center B-Cell-Like and Non-Germinal Center B-Cell-Like Subtypes of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *JCO*. 1 oct 2008;26(28):4587-94.
31. Coiffier B, Thieblemont C, Van Den Neste E, Lepeu G, Plantier I, Castaigne S, et al. Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. *Blood*. 23 sept 2010;116(12):2040-5.
32. Roschewski M, Staudt LM, Wilson WH. Diffuse large B-cell lymphoma—treatment approaches in the molecular era. *Nat Rev Clin Oncol*. janv 2014;11(1):12-23.
33. Hutchings M, Barrington SF. PET/CT for therapy response assessment in lymphoma. *J Nucl Med*. mai 2009;50 Suppl 1:21S-30S.
34. Casasnovas R-O, Ysebaert L, Thieblemont C, Bachy E, Feugier P, Delmer A, et al. FDG-PET-driven consolidation strategy in diffuse large B-cell lymphoma: final results of

a randomized phase 2 study. *Blood*. 14 2017;130(11):1315-26.

35. Vitolo U, Trněný M, Belada D, Burke JM, Carella AM, Chua N, et al. Obinutuzumab or Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone in Previously Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *JCO*. 1 nov 2017;35(31):3529-37.

36. Younes A, Sehn LH, Johnson P, Zinzani PL, Hong X, Zhu J, et al. Randomized Phase III Trial of Ibrutinib and Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone in Non-Germinal Center B-Cell Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 20 mai 2019;37(15):1285-95.

37. Crump M, Neelapu SS, Farooq U, Van Den Neste E, Kuruvilla J, Westin J, et al. Outcomes in refractory diffuse large B-cell lymphoma: results from the international SCHOLAR-1 study. *Blood*. 19 oct 2017;130(16):1800-8.

38. Morin RD, Assouline S, Alcaide M, Mohajeri A, Johnston RL, Chong L, et al. Genetic Landscapes of Relapsed and Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphomas. *Clin Cancer Res*. 01 2016;22(9):2290-300.

39. Maurer MJ, Ghesquières H, Jais J-P, Witzig TE, Haioun C, Thompson CA, et al. Event-Free Survival at 24 Months Is a Robust End Point for Disease-Related Outcome in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With Immunochemotherapy. *JCO*. 1 avr 2014;32(10):1066-73.

40. Nowakowski GS, Chiappella A, Witzig TE, Spina M, Gascoyne RD, Zhang L, et al. ROBUST: Lenalidomide-R-CHOP versus placebo-R-CHOP in previously untreated ABC-type diffuse large B-cell lymphoma. *Future Oncol*. juill 2016;12(13):1553-63.

41. Advani RH, Chen H, Habermann TM, Morrison VA, Weller EA, Fisher RI, et al. Comparison of conventional prognostic indices in patients older than 60 years with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP in the US Intergroup Study (ECOG 4494, CALGB 9793): consideration of age greater than 70 years in an elderly prognostic in: Prognostic Indices in Elderly DLBCL Treated with R-CHOP. *British Journal of Haematology*. 5 août 2010;151(2):143-51.

42. Lee H, Kim YR, Kim S-J, Park Y, Eom H-S, Oh SY, et al. Clinical outcomes in patients with diffuse large B cell lymphoma with a partial response to first-line R-CHOP chemotherapy: prognostic value of secondary International Prognostic Index scores and Deauville scores. *Ann Hematol*. nov 2017;96(11):1873-81.

43. Gisselbrecht C, Glass B, Mounier N, Singh Gill D, Linch DC, Trneny M, et al. Salvage regimens with autologous transplantation for relapsed large B-cell lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol*. 20 sept 2010;28(27):4184-90.

44. Friedberg JW. Relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011;2011:498-505.

45. Tarella C, Gueli A, Delaini F, Rossi A, Barbui AM, Gritti G, et al. Rate of Primary Refractory Disease in B and T-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma: Correlation with Long-

Term Survival. Bertolini F, éditeur. PLoS ONE. 25 sept 2014;9(9):e106745.

46. Rovira J, Valera A, Colomo L, Setoain X, Rodríguez S, Martínez-Trillos A, et al. Prognosis of patients with diffuse large B cell lymphoma not reaching complete response or relapsing after frontline chemotherapy or immunochemotherapy. *Ann Hematol.* mai 2015;94(5):803-12.

47. Liu YJ, Zhang J, Lane PJ, Chan EY, MacLennan IC. Sites of specific B cell activation in primary and secondary responses to T cell-dependent and T cell-independent antigens. *Eur J Immunol.* déc 1991;21(12):2951-62.

48. Victora GD, Nussenzweig MC. Germinal Centers. *Annual Review of Immunology.* 2012;30(1):429-57.

49. Basso K, Dalla-Favera R. Germinal centres and B cell lymphomagenesis. *Nat Rev Immunol.* mars 2015;15(3):172-84.

50. 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.* nov 2012;13(11):1083-91.

51. Basso K, Dalla-Favera R. Roles of BCL6 in normal and transformed germinal center B cells. *Immunol Rev.* mai 2012;247(1):172-83.

52. Polo JM, Dell'Oso T, Ranuncolo SM, Cerchietti L, Beck D, Da Silva GF, et al. Specific peptide interference reveals BCL6 transcriptional and oncogenic mechanisms in B-cell lymphoma cells. *Nat Med.* déc 2004;10(12):1329-35.

53. Chromosomal translocations cause deregulated BCL6 expression by promoter substitution in B cell lymphoma. [Internet]. [cité 5 avr 2020]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC394745/>

54. Pasqualucci L, Migliazza A, Basso K, Houldsworth J, Chaganti RSK, Dalla-Favera R. Mutations of the BCL6 proto-oncogene disrupt its negative autoregulation in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 15 avr 2003;101(8):2914-23.

55. 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.* oct 2013;14(10):1084-92.

56. Duan S, Cermak L, Pagan JK, Rossi M, Martinengo C, di Celle PF, et al. FBXO11 targets BCL6 for degradation and is inactivated in diffuse large B-cell lymphomas. *Nature.* 5 janv 2012;481(7379):90-3.

57. Pasqualucci L, Dominguez-Sola D, Chiarenza A, Fabbri G, Grunn A, Trifonov V, et al. Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma. *Nature.* 10 mars 2011;471(7337):189-95.

58. Cattoretta G, Pasqualucci L, Ballon G, Tam W, Nandula SV, Shen Q, et al. Deregulated BCL6 expression recapitulates the pathogenesis of human diffuse large B

cell lymphomas in mice. *Cancer Cell*. mai 2005;7(5):445-55.

59. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, Goya R, Mungall KL, Corbett RD, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature*. 27 juill 2011;476(7360):298-303.

60. Riemersma SA, Jordanova ES, Schop RF, Philippo K, Looijenga LH, Schuurin E, et al. Extensive genetic alterations of the HLA region, including homozygous deletions of HLA class II genes in B-cell lymphomas arising in immune-privileged sites. *Blood*. 15 nov 2000;96(10):3569-77.

61. Challa-Malladi M, Lieu YK, Califano O, Holmes AB, Bhagat G, Murty VV, et al. Combined genetic inactivation of β 2-Microglobulin and CD58 reveals frequent escape from immune recognition in diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell*. 13 déc 2011;20(6):728-40.

62. Loss of major histocompatibility class II gene and protein expression in primary mediastinal large B-cell lymphoma is highly coordinated and related to poor patient survival. - Abstract - Europe PMC [Internet]. [cité 7 avr 2020]. Disponible sur: <https://europepmc.org/article/pmc/pmc1895840>

63. Frisan T, Levitsky V, Masucci MG. Variations in proteasome subunit composition and enzymatic activity in B-lymphoma lines and normal B cells. *Int J Cancer*. 15 déc 2000;88(6):881-8.

64. Schuetz JM, Johnson NA, Morin RD, Scott DW, Tan K, Ben-Nierah S, et al. BCL2 mutations in diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. juin 2012;26(6):1383-90.

65. Pfeifer M, Grau M, Lenze D, Wenzel S-S, Wolf A, Wollert-Wulf B, et al. PTEN loss defines a PI3K/AKT pathway-dependent germinal center subtype of diffuse large B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 23 juill 2013;110(30):12420-5.

66. Lenz G, Wright GW, Emre NCT, Kohlhammer H, Dave SS, Davis RE, et al. Molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma arise by distinct genetic pathways. *Proc Natl Acad Sci USA*. 9 sept 2008;105(36):13520-5.

67. Morin RD, Johnson NA, Severson TM, Mungall AJ, An J, Goya R, et al. Somatic mutations altering EZH2 (Tyr641) in follicular and diffuse large B-cell lymphomas of germinal-center origin. *Nat Genet*. févr 2010;42(2):181-5.

68. Béguelin W, Popovic R, Teater M, Jiang Y, Bunting KL, Rosen M, et al. EZH2 is required for germinal center formation and somatic EZH2 mutations promote lymphoid transformation. *Cancer Cell*. 13 mai 2013;23(5):677-92.

69. Muppidi JR, Schmitz R, Green JA, Xiao W, Larsen AB, Braun SE, et al. Loss of signalling via G α 13 in germinal centre B-cell-derived lymphoma. *Nature*. 11 déc 2014;516(7530):254-8.

70. Lenz G, Davis RE, Ngo VN, Lam L, George TC, Wright GW, et al. Oncogenic

CARD11 mutations in human diffuse large B cell lymphoma. *Science*. 21 mars 2008;319(5870):1676-9.

71. Davis RE, Ngo VN, Lenz G, Tolar P, Young RM, Romesser PB, et al. Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature*. 7 janv 2010;463(7277):88-92.

72. Ngo VN, Young RM, Schmitz R, Jhavar S, Xiao W, Lim K-H, et al. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature*. 3 févr 2011;470(7332):115-9.

73. Mandelbaum J, Bhagat G, Tang H, Mo T, Brahmachary M, Shen Q, et al. BLIMP1 is a tumor suppressor gene frequently disrupted in activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell*. 14 déc 2010;18(6):568-79.

74. Care MA, Cocco M, Laye JP, Barnes N, Huang Y, Wang M, et al. SPIB and BATF provide alternate determinants of IRF4 occupancy in diffuse large B-cell lymphoma linked to disease heterogeneity. *Nucleic Acids Res*. 1 août 2014;42(12):7591-610.

75. Iqbal J, Greiner TC, Patel K, Dave BJ, Smith L, Ji J, et al. Distinctive patterns of BCL6 molecular alterations and their functional consequences in different subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. nov 2007;21(11):2332-43.

76. Scott DW, Mottok A, Ennishi D, Wright GW, Farinha P, Ben-Neriah S, et al. Prognostic Significance of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Cell of Origin Determined by Digital Gene Expression in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue Biopsies. *J Clin Oncol*. 10 sept 2015;33(26):2848-56.

77. Barrans SL, Crouch S, Care MA, Worrillow L, Smith A, Patmore R, et al. Whole genome expression profiling based on paraffin embedded tissue can be used to classify diffuse large B-cell lymphoma and predict clinical outcome. *British Journal of Haematology*. 2012;159(4):441-53.

78. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI, et al. The Use of Molecular Profiling to Predict Survival after Chemotherapy for Diffuse Large-B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 20 juin 2002;346(25):1937-47.

79. Roschewski M, Staudt LM, Wilson WH. Diffuse large B-cell lymphoma—treatment approaches in the molecular era. *Nat Rev Clin Oncol*. janv 2014;11(1):12-23.

80. Offner F, Samoiloova O, Osmanov E, Eom H-S, Topp MS, Raposo J, et al. Frontline rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone with bortezomib (VR-CAP) or vincristine (R-CHOP) for non-GCB DLBCL. *Blood*. 15 oct 2015;126(16):1893-901.

81. Mathews Griner LA, Guha R, Shinn P, Young RM, Keller JM, Liu D, et al. High-throughput combinatorial screening identifies drugs that cooperate with ibrutinib to kill activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 11 févr 2014;111(6):2349-54.

82. Nowakowski GS, LaPlant B, Habermann TM, Rivera CE, Macon WR, Inwards DJ, et al. Lenalidomide can be safely combined with R-CHOP (R2CHOP) in the initial

chemotherapy for aggressive B-cell lymphomas: phase I study. *Leukemia*. déc 2011;25(12):1877-81.

83. Staiger AM, Ziepert M, Horn H, Scott DW, Barth TFE, Bernd H-W, et al. Clinical Impact of the Cell-of-Origin Classification and the MYC/ BCL2 Dual Expresser Status in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated Within Prospective Clinical Trials of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol*. 1 août 2017;35(22):2515-26.

84. Eilers M, Eisenman RN. Myc's broad reach. *Genes Dev*. 15 oct 2008;22(20):2755-66.

85. Dunleavy K. Double-hit lymphomas: current paradigms and novel treatment approaches. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 5 déc 2014;2014(1):107-12.

86. Akyurek N, Uner A, Benekli M, Barista I. Prognostic significance of MYC, BCL2, and BCL6 rearrangements in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone plus rituximab. *Cancer*. 1 sept 2012;118(17):4173-83.

87. Snuderl M, Kolman OK, Chen Y-B, Hsu JJ, Ackerman AM, Dal Cin P, et al. B-cell lymphomas with concurrent IGH-BCL2 and MYC rearrangements are aggressive neoplasms with clinical and pathologic features distinct from Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. mars 2010;34(3):327-40.

88. Rosenthal A, Younes A. High grade B-cell lymphoma with rearrangements of MYC and BCL2 and/or BCL6: Double hit and triple hit lymphomas and double expressing lymphoma. *Blood Rev*. 2017;31(2):37-42.

89. Kanungo A, Medeiros LJ, Abruzzo LV, Lin P. Lymphoid neoplasms associated with concurrent t(14;18) and 8q24/c-MYC translocation generally have a poor prognosis. *Mod Pathol*. janv 2006;19(1):25-33.

90. Le Gouill S, Talmant P, Touzeau C, Moreau A, Garand R, Juge-Morineau N, et al. The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/c-MYC rearrangement. *Haematologica*. oct 2007;92(10):1335-42.

91. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, Connors JM, Ben-Neriah S, Rogic S, et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol*. 1 oct 2012;30(28):3452-9.

92. Swerdlow SH. Diagnosis of « double hit » diffuse large B-cell lymphoma and B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and Burkitt lymphoma: when and how, FISH versus IHC. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 5 déc 2014;2014(1):90-9.

93. Miyazaki K, Yamaguchi M, Suzuki R, Kobayashi Y, Maeshima AM, Niitsu N, et al. CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma: a retrospective study in 337 patients

treated by chemotherapy with or without rituximab. *Ann Oncol.* juill 2011;22(7):1601-7.

94. Song G, Ni H, Zou L, Wang S, Tian F, Liu H, et al. Expression of CD40 is a positive prognostic factor of diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP (rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone). *Onco Targets Ther.* 23 juin 2016;9:3799-805.

95. Winter JN, Li S, Aurora V, Variakojis D, Nelson B, Krajewska M, et al. Expression of p21 Protein Predicts Clinical Outcome in DLBCL Patients Over Age 60 Treated with R-CHOP but not CHOP: A prospective ECOG and SWOG correlative study of E4494. *Clin Cancer Res.* 15 avr 2010;16(8):2435-42.

96. Salles G, de Jong D, Xie W, Rosenwald A, Chhanabhai M, Gaulard P, et al. Prognostic significance of immunohistochemical biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma: a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *Blood.* 30 juin 2011;117(26):7070-8.

97. Reddy A, Zhang J, Davis NS, Moffitt AB, Love CL, Waldrop A, et al. Genetic and Functional Drivers of Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Cell.* 5 oct 2017;171(2):481-494.e15.

98. Horn H, Ziepert M, Becher C, Barth TFE, Bernd H-W, Feller AC, et al. MYC status in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 21 mars 2013;121(12):2253-63.

99. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, Johnson CA, Phelan JD, Wang JQ, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine.* 12 avr 2018;378(15):1396-407.

100. Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ, Kim J, Kamburov A, Redd RA, et al. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nat Med.* 2018;24(5):679-90.

101. Miao Y, Medeiros LJ, Li Y, Li J, Young KH. Genetic alterations and their clinical implications in DLBCL. *Nat Rev Clin Oncol.* 2019;16(10):634-52.

102. Jardin F. Bases moléculaires des nouvelles classifications des lymphomes B diffus à grandes cellules. 2019;8.

103. Lohr JG, Stojanov P, Lawrence MS, Auclair D, Chapuy B, Sougnez C, et al. Discovery and prioritization of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) by whole-exome sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA.* 6 mars 2012;109(10):3879-84.

104. Morin RD, Mungall K, Pleasance E, Mungall AJ, Goya R, Huff RD, et al. Mutational and structural analysis of diffuse large B-cell lymphoma using whole-genome sequencing. *Blood.* 15 août 2013;122(7):1256-65.

105. Pasqualucci L, Trifonov V, Fabbri G, Ma J, Rossi D, Chiarenza A, et al. Analysis of the coding genome of diffuse large B-cell lymphoma. *Nat Genet.* 31 juill 2011;43(9):830-7.
106. de Miranda NFCC, Georgiou K, Chen L, Wu C, Gao Z, Zaravinos A, et al. Exome sequencing reveals novel mutation targets in diffuse large B-cell lymphomas derived from Chinese patients. *Blood.* 16 oct 2014;124(16):2544-53.
107. Zhang J, Grubor V, Love CL, Banerjee A, Richards KL, Mieczkowski PA, et al. Genetic heterogeneity of diffuse large B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 22 janv 2013;110(4):1398-403.
108. Dubois S, Viailly P-J, Mareschal S, Bohers E, Bertrand P, Ruminy P, et al. Next-Generation Sequencing in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Highlights Molecular Divergence and Therapeutic Opportunities: a LYSA Study. *Clin Cancer Res.* 15 2016;22(12):2919-28.
109. Juskevicius D, Jucker D, Klingbiel D, Mamot C, Dirnhofer S, Tzankov A. Mutations of CREBBP and SOCS1 are independent prognostic factors in diffuse large B cell lymphoma: mutational analysis of the SAKK 38/07 prospective clinical trial cohort. *J Hematol Oncol [Internet].* 17 mars 2017 [cité 28 juill 2020];10. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5356266/>
110. Gros A. Séquençage Haut Débit, outil incontournable de biologie moléculaire. :36.
111. Laurent C, Baron M, Amara N, Haioun C, Dandoit M, Maynadié M, et al. Impact of Expert Pathologic Review of Lymphoma Diagnosis: Study of Patients From the French Lymphopath Network. *J Clin Oncol.* 20 juin 2017;35(18):2008-17.
112. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature.* févr 2000;403(6769):503-11.
113. Abdulla M, Hollander P, Pandzic T, Mansouri L, Ednersson SB, Andersson P, et al. Cell-of-origin determined by both gene expression profiling and immunohistochemistry is the strongest predictor of survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Hematol.* janv 2020;95(1):57-67.
114. Baral E, Schacter BA, Dalal BI. Late recurrence of aggressive non-Hodgkin's lymphoma: Case report. *Annals of Oncology.* mai 1991;2(5):382.
115. Mercadal S, Climent F, Domingo-Doménech E, Oliveira A, Romagosa V, de Sevilla AF, et al. Clinical Characteristics and Risk of Relapse for Patients with Stage I-II Diffuse Large B-cell Lymphoma Treated in First Line with Immunochemotherapy. *Clin Med Insights Blood Disord.* 14 nov 2013;6:23-7.
116. de Jong D, Glas AM, Boerrigter L, Hermus M-C, Dalesio O, Willemse E, et al. Very late relapse in diffuse large B-cell lymphoma represents clonally related disease and is marked by germinal center cell features. *Blood.* 1 juill 2003;102(1):324-7.

117. Vose JM, Weisenburger DD, Loberiza FR, Arevalo A, Bast M, Armitage J, et al. Late relapse in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *British Journal of Haematology*. 2010;151(4):354-8.
118. Farooq U, Maurer MJ, Thompson CA, Thanarajasingam G, Inwards DJ, Micallef I, et al. Clinical heterogeneity of diffuse large B cell lymphoma following failure of front-line immunochemotherapy. *Br J Haematol*. 2017;179(1):50-60.
119. Chavez JC, Bachmeier C, Kharfan-Dabaja MA. CAR T-cell therapy for B-cell lymphomas: clinical trial results of available products. *Ther Adv Hematol* [Internet]. 15 avr 2019 [cité 13 août 2020];10. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6466472/>
120. Meyer PN, Fu K, Greiner TC, Smith LM, Delabie J, Gascoyne RD, et al. Immunohistochemical Methods for Predicting Cell of Origin and Survival in Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With Rituximab. *JCO*. 10 janv 2011;29(2):200-7.
121. Staiger AM, Ziepert M, Horn H, Scott DW, Barth TFE, Bernd H-W, et al. Clinical Impact of the Cell-of-Origin Classification and the *MYC* / *BCL2* Dual Expresser Status in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated Within Prospective Clinical Trials of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group. *JCO*. 1 août 2017;35(22):2515-26.
122. Park JH, Yoon DH, Kim DY, Kim S, Seo S, Jeong Y, et al. The highest prognostic impact of LDH among International Prognostic Indices (IPIs): an explorative study of five IPI factors among patients with DLBCL in the era of rituximab. *Ann Hematol*. oct 2014;93(10):1755-64.
123. Copie-Bergman C, Cuillière-Dartigues P, Baia M, Briere J, Delarue R, Canioni D, et al. *MYC*-IG rearrangements are negative predictors of survival in DLBCL patients treated with immunochemotherapy: a GELA/LYSA study. *Blood*. 26 nov 2015;126(22):2466-74.
124. Ott G, Ziepert M, Klapper W, Horn H, Szczepanowski M, Bernd H-W, et al. Immunoblastic morphology but not the immunohistochemical GCB/nonGCB classifier predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma in the RICOVER-60 trial of the DSHNHL. *Blood*. 2 déc 2010;116(23):4916-25.
125. Song M-K, Chung J-S, Shin D-Y, Lim S-N, Lee G, Choi J-C, et al. Tumor necrosis could reflect advanced disease status in patients with diffuse large B cell lymphoma treated with R-CHOP therapy. *Ann Hematol*. 1 janv 2017;96(1):17-23.
126. Adams HJA, de Klerk JMH, Fijnheer R, Dubois SV, Nievelstein RAJ, Kwee TC. Prognostic value of tumor necrosis at CT in diffuse large B-cell lymphoma. *Eur J Radiol*. mars 2015;84(3):372-7.
127. Tang Y-L, Zhou Y, Cheng L-L, Su Y-Z, Wang C-B. *BCL2*/Ki-67 index predict survival in germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma. *Oncology Letters*. sept 2017;14(3):3767-73.

128. de Leval L, Harris NL. Variability in immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its clinical relevance. *Histopathology*. déc 2003;43(6):509-28.
129. Iqbal J, Neppalli VT, Wright G, Dave BJ, Horsman DE, Rosenwald A, et al. BCL2 expression is a prognostic marker for the activated B-cell-like type of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 20 févr 2006;24(6):961-8.
130. Kendrick SL, Redd L, Muranyi A, Henricksen LA, Stanislaw S, Smith LM, et al. BCL2 antibodies targeted at different epitopes detect varying levels of protein expression and correlate with frequent gene amplification in diffuse large B-cell lymphoma. *Hum Pathol*. oct 2014;45(10):2144-53.
131. Li L, Li Y, Que X, Gao X, Gao Q, Yu M, et al. Prognostic significances of overexpression MYC and/or BCL2 in R-CHOP-treated diffuse large B-cell lymphoma: A Systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*. 19 avr 2018;8(1):6267.
132. Li Z-M, Huang J-J, Xia Y, Zhu Y-J, Zhao W, Wei W-X, et al. High Ki-67 expression in diffuse large B-cell lymphoma patients with non-germinal center subtype indicates limited survival benefit from R-CHOP therapy. *Eur J Haematol*. juin 2012;88(6):510-7.
133. Hasselblom S, Ridell B, Sigurdardottir M, Hansson U, Nilsson-Ehle H, Andersson P-O. Low rather than high Ki-67 protein expression is an adverse prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. août 2008;49(8):1501-9.
134. Mk S, Js C, Jj L, Dh Y, Is K, Dh S, et al. High Ki-67 expression in involved bone marrow predicts worse clinical outcome in diffuse large B cell lymphoma patients treated with R-CHOP therapy. *Int J Hematol*. 12 déc 2014;101(2):140-7.
135. Pasqualucci L, Dalla-Favera R. The Genetic Landscape of Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Semin Hematol*. avr 2015;52(2):67-76.
136. Xu-Monette ZY, Wu L, Visco C, Tai YC, Tzankov A, Liu W, et al. Mutational profile and prognostic significance of TP53 in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP: report from an International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood*. 8 nov 2012;120(19):3986-96.
137. Fernández-Rodríguez C, Bellosillo B, García-García M, Sánchez-González B, Gimeno E, Vela MC, et al. MYD88 (L265P) mutation is an independent prognostic factor for outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. oct 2014;28(10):2104-6.
138. Trinh DL, Scott DW, Morin RD, Mendez-Lago M, An J, Jones SJM, et al. Analysis of FOXO1 mutations in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2 mai 2013;121(18):3666-74.
139. Dubois S, Viailly P-J, Bohers E, Bertrand P, Ruminy P, Marchand V, et al. Biological and Clinical Relevance of Associated Genomic Alterations in MYD88 L265P and non-L265P-Mutated Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Analysis of 361 Cases. *Clinical Cancer Research*. 1 mai 2017;23(9):2232.

140. Yu S, Luo H, Pan M, Palomino LA, Song X, Wu P, et al. High frequency and prognostic value of MYD88 L265P mutation in diffuse large B-cell lymphoma with R-CHOP treatment. *Oncol Lett.* févr 2018;15(2):1707-15.
141. Fogliatto L, Grokoski KC, Strey YM, Vanelli T, Fraga CG da S, Barra MB, et al. Prognostic impact of MYD88 mutation, proliferative index and cell origin in diffuse large B cell lymphoma. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2019;41(1):50-6.
142. K K, A E, I D, P J, D M-G, F N, et al. Integrating genomic alterations in diffuse large B-cell lymphoma identifies new relevant pathways and potential therapeutic targets [Internet]. Vol. 32, *Leukemia*. *Leukemia*; 2018 [cité 28 juill 2020]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28804123/>
143. Juskevicius D, Lorber T, Gsponer J, Perrina V, Ruiz C, Stenner-Liewen F, et al. Distinct genetic evolution patterns of relapsing diffuse large B-cell lymphoma revealed by genome-wide copy number aberration and targeted sequencing analysis. *Leukemia*. déc 2016;30(12):2385-95.
144. Pasqualucci L, Bhagat G, Jankovic M, Compagno M, Smith P, Muramatsu M, et al. AID is required for germinal center-derived lymphomagenesis. *Nat Genet.* janv 2008;40(1):108-12.
145. Pasqualucci L, Neumeister P, Goossens T, Nanjangud G, Chaganti RSK, Küppers R, et al. Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature*. juill 2001;412(6844):341-6.
146. Mahadevan D, Spier C, Della Croce K, Miller S, George B, Riley C, et al. Transcript profiling in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified, and diffuse large B-cell lymphoma identifies distinct tumor profile signatures. *Mol Cancer Ther.* déc 2005;4(12):1867-79.
147. Kuo H-P, Ezell SA, Hsieh S, Schweighofer KJ, Cheung LW, Wu S, et al. The role of PIM1 in the ibrutinib-resistant ABC subtype of diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Cancer Res.* 1 nov 2016;6(11):2489-501.
148. Schif B, Lennerz JK, Kohler CW, Bentink S, Kreuz M, Melzner I, et al. SOCS1 mutation subtypes predict divergent outcomes in diffuse large B-Cell lymphoma (DLBCL) patients. *Oncotarget.* janv 2013;4(1):35-47.
149. Steidl C, Gascoyne RD. The molecular pathogenesis of primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood.* 8 sept 2011;118(10):2659-69.
150. Costello RT, Mallet F, Barbarat B, Schiano de Colella J-M, Sainty D, Sweet RW, et al. Stimulation of non-Hodgkin's lymphoma via HVEM: an alternate and safe way to increase Fas-induced apoptosis and improve tumor immunogenicity. *Leukemia*. déc 2003;17(12):2500-7.

VIII. Annexes

Annexe 1 : Représentation heatmap des altérations géniques séquencées chez les 32 patients analysés.

Dans la première colonne sont énumérés par ordre alphabétique les gènes séquencés en WES. Pour chaque gène la dernière colonne référence le nombre de patients mutés avec entre parenthèses le pourcentage correspondant par rapport à la population totale.

La première et la deuxième ligne référencient et classent les 32 patients analysés. La dernière ligne correspond pour chaque patient au nombre total de gènes mutés sur le total des 51 gènes séquencés.

Les couleurs dans chaque case représentent le type de mutation (non sens, région d'épissage, perte d'un codon start, perte ou gain d'un codon stop, insertion ou délétion sans décalage du cadre de lecture, insertion ou délétion avec décalage du cadre de lecture). Dans le cas où plusieurs mutations de types différents sont observées, chaque case peut être divisée en plusieurs sous-cases.

Le chiffre dans chaque sous-case exprime le nombre de mutations pour le type de mutation et le gène correspondant.

	GC+						GC-										NGC-							NGC+							TOTAL N (%)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		31	32						
ARID1A								1			1	1	1			1					2																		5 (16)
ATM				1						1					1		1				2	1														1		6 (19)	
B2M	1								2		1		1			2									1	1									1		7 (22)		
BCL2					6			3		2	1	1	2	3	1							1																8 (25)	
BCL6	1			1	1								1			1									1												5 (16)		
BRAF			1	1				1		1					1																							5 (16)	
BTK								1																											1		2 (6)		
CARD11									1						1																				1	1	4 (13)		
COS8					1																																2 (6)		
CD79A					1										1																						2 (6)		
CD79B					1															1			1														6 (19)		
CDKN2A					1																															1	2 (6)		
CIITA				1											1	1				1	1	1														6 (19)			
CREBBP	1	2						1	1	1	1	1	1	1	1	1										1										8 (25)			
CTNNB1																				1																	1 (3)		
CXCR4					2																																	1 (3)	
DOX3X				1	1				1			1																									4 (13)		
DNMT3A	1			1																		1															4 (13)		
DUSP2	1			3	1	1			1						1																						4 (13)		
EP300								1		1				1		1																					4 (13)		
EZH2				1		1							1	1						1																	6 (19)		
FOXO1				1	1			1																													3 (9)		
GNA13								1															1												1	1	4 (13)		
HIST1H1C	1				5				1				1							1																1	6 (19)		
ID3													1																								1 (3)		
IGLL5			2	6	1			1	2			1	5	1		2	1	3	2																		17 (53)		
IRF4								1					1																								5 (16)		
ITPKB					2																																3 (9)		
JAK2																					1																1 (3)		
KMT2A																					1	1														1	4 (13)		
KMT2B																																					1 (3)		
KMT2D				2				1	1	1	1	2	1	1	1	1	1				1															1	16 (50)		
MEF2B													1	1			1	1																			5 (16)		
MIFAS1													1																								1 (3)		
MYC												1	1																								3 (9)		
MYD88	1																				1																5 (16)		
NOTCH2														1							1																4 (13)		
PIM1					1				1	1					3						1	1	2	4	4	1										10 (31)			
PLCG2					1																																1 (3)		
PRDM1																																					6 (19)		
PTEN																																					1 (3)		
RHOA			1																																		1 (3)		
SETD2																																					1 (3)		
SOCS1	1	2		4	1	1	1	1	3	1																											8 (25)		
STAT3															1																						2 (6)		
STAT6		2							1			1																									5 (16)		
TCF3													1																								1 (3)		
TET2																																					3 (9)		
TNFAIP3								1																													3 (9)		
TNFRSF14				1				1		1			1																								7 (22)		
TP53						1		1							1	1																					5 (16)		
TOTAL	4	11	3	29	26	6	13	10	12	9	13	20	14	9	15	16	5	10	18	8	3	41	4	3	10	4	2	6	24	6	6	8							

Annexe 2 : Classification des 32 cas analysés selon Schmitz et al (d'après Schmitz et al, N Engl J Med 2018), en orange clair les cas inclassables, en orange sombre le cas ne comportant aucun critère mutationnel spécifique de la classification.

		MCD					N1				A53	BN2				EZB								Schmidt					
		MYD 88	PRDM1	CD58	CD79A/B	PIM1	CDKN2A	TNFAIP3	IRF4	NOTCH1	ID3	TP53	NOTCH2	BCL6	TNFAIP3	TET2	ID3	DUSP2	BCL2	EZH2	TNFRSF14	GNA13	KMT2D		STAT6	SOCS1	EP300	PTEN	CREBBP
1	GC+	x											x															x	
2	GC+																x						x	x				x	EZB
3	GC+																												
4	GC+												x				x		x	x			x						EZB
5	GC+			x	x	x	x										x								x				MCD
6	GC+										x									x					x				
7	GC-							x	x		x			x						x	x					x			EZB
8	GC-															x	x					x							EZB
9	GC-					x														x		x				x			EZB
10	GC-					x												x				x							EZB
11	GC-																	x		x		x	x						EZB
12	GC-							x		x			x					x	x			x							EZB
13	GC-										x	x							x	x						x			EZB
14	GC-			x																		x							
15	GC-					x							x									x				x			EZB
16	GC-										x							x	x			x							EZB
17	NGC-					x						x																	
18	NGC-	x	x		x	x		x						x	x														MCD
19	NGC-	x				x														x			x						MCD
20	NGC-		x																		x								
21	NGC-																												
22	NGC-	x	x		x	x		x										x				x	x	x					MCD
23	NGC-																												
24	NGC-		x																										
25	NGC+	x									x		x		x								x			x	x		EZB
26	NGC+											x																	
27	NGC+				x																								
28	NGC+		x		x																		x						MCD
29	NGC+						x	x				x		x								x		x					EZB
30	NGC+				x																								
31	NGC+					x																			x				
32	NGC+		x			x	x																				x		MCD

APPORTS DE L'ANALYSE MOLECULAIRE DANS L'EVALUATION PRONOSTIQUE DU LYMPHOME B DIFFUS À GRANDES CELLULES

RESUME :

Le lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC-NOS) est le plus fréquent des lymphomes agressifs de l'adulte. Malgré des progrès thérapeutiques, 30% des patients (pts) rechutent ou ne répondent pas au traitement standard, suggérant une grande hétérogénéité biologique. Cette hétérogénéité initialement illustrée par le profil Cell-of-Origin (COO) définissant les LBDGC centrogerminatifs (CG) et non-GC est aujourd'hui complexifiée par les données moléculaires issues du NGS. Notre objectif était d'évaluer l'impact pronostique du profil COO dans une cohorte LBDGC-NOS dont la moitié rechute à 2 ans et d'identifier des sous-groupes moléculaires aux pronostics distincts par technique NGS. Outre la confirmation d'une meilleure survie chez les pts GC, nos résultats montrent que malgré un profil moléculaire distinct entre les LBDGC GC et non-GC, les LBDGC en rechute partagent, indépendamment du COO, une fréquence plus élevée d'altérations moléculaires des gènes impliqués dans les mécanismes épigénétiques ou de l'apoptose.

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Médecine spécialisée clinique – anatomie et cytologie pathologiques

MOTS-CLES : Lymphome B diffus à grandes cellules – profil COO - sous-type GC/non-GC – séquençage ciblé à haut débit (NGS) – biomarqueurs pronostiques – classification moléculaire

Université Toulouse III-Paul Sabatier - Faculté de médecine Toulouse-Purpan, 37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directrice de thèse : Pr. Camille LAURENT