



UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTÉ DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNÉE : 2021

2021 / TOU3 / 2085

THÈSE

**POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
SPÉCIALISÉ EN BIOLOGIE MÉDICALE**

Présentée et soutenue publiquement par

MAIRINIAC Pierre-Luc
Né le 5 novembre 1992 à Rodez

**LES LYMPHOMES À MUTATION *MYD88*, UNE ENTITÉ À PART ENTIÈRE :
ÉTUDE RÉTROSPECTIVE D'UNE COHORTE DE 2014 À 2020**

Le 27 octobre 2021

Directeurs de thèse : Dr. LARGEAUD Laëtitia, AHU
Dr. VERGEZ François, MCU-PH

JURY

Présidente : Pr. DE MAS Véronique, PU-PH

1^{er} assesseur : Pr. YSEBAERT Loïc, PU-PH

2^{ème} assesseur : Dr. VERGNOLLE Inès, PH

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1er octobre 2020

Professeurs Emérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. GAIRIN J.E.	Pharmacologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATToux K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
Mme DERAËVE C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC J.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme LARGEAUD L.	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S	Biophysique
Mme TRIBAUDEAU L.	Droit Pharmaceutique

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

M. François-Xavier TOUBLET	Chimie Thérapeutique
----------------------------	----------------------

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maîtres de la Faculté, je fais le serment :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances
- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité
- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession
- De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens
- De coopérer avec les autres professionnels de santé

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Véronique De Mas,

Je vous remercie d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse. Je tiens également à vous remercier sincèrement pour votre investissement dans la formation des internes en tant que chef de service du laboratoire d'hématologie du CHU de Toulouse. Votre gentillesse et bienveillance rendent les lectures de myélogrammes du lundi matin plus agréables que n'importe quel début de semaine.

A Monsieur le Professeur Loïc Ysebaert,

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en ayant accepté de participer à ce jury avec beaucoup de spontanéité et d'y apporter votre expertise en hématologie clinique.

A Madame le Docteur Inès Vergnolle,

Je te suis très reconnaissant d'avoir accepté de prendre part à ce jury. Je te remercie également pour les connaissances de cytologie que tu as pu me transmettre au cours de mon dernier stage au laboratoire d'hématologie.

A Monsieur le Docteur François Vergez,

Je suis très heureux d'avoir pu travailler sous ta direction. Ton dynamisme et ton engouement ont été deux facteurs précieux pour la rédaction de cette thèse. Je te remercie pour ton travail statistique et de relecture mais aussi ton expertise cytologique. L'enthousiasme et l'énergie que tu véhicules au quotidien est un plaisir pour tous les internes qui te côtoient.

A Madame le Docteur Laëtitia Largeaud,

Je suis sincèrement reconnaissant d'avoir pu rédiger la première thèse sous ta direction. J'espère que ce travail est à la hauteur de ton espérance et rend honneur à tes qualités de chercheuse. Tes connaissances et la grande curiosité que tu exprimes, inspirent l'admiration. Je tiens à te remercier chaleureusement de m'avoir encadré avec patience et pédagogie en supplément de toutes tes activités hospitalo-universitaires. Ton implication rigoureuse dans ce travail et ta simplicité m'ont été indispensables et resteront exemplaires.

Merci à tous les biologistes et techniciens du CHU de Toulouse pour votre enseignement durant tout mon internat. Merci également aux biologistes du CH de Rodez d'avoir participé à ma formation avec gentillesse et pédagogie, et pour le temps que vous m'avez libéré afin d'écrire ce manuscrit.

A mes amis,

Aux Clermontois, Simon et Louis, les compères de concours sans qui je n'aurais pu réussir ces deux étapes éprouvantes. Et aussi Clara, Thomas, Camille, Marie, Mathilde, Coralie et Anaïs. Nous avons débuté ensemble la vie étudiante, les soirées, les révisions, les partiels, les concours, ... Autant de souvenirs qui marquent une jeunesse réussie. J'aurai toujours plaisir de vous retrouver pour les prochaines occasions qui marqueront cette fois notre vie d'adulte.

A mes co-internes, Orancie, notre passion commune pour l'Aveyron nous a vite rapprochés et nous a permis de rapidement nouer notre amitié. Marine, Caroline, Delphine, Dorian, Julia, Alban, et Claire. Je n'ai malheureusement pas pu partager beaucoup de temps de travail avec vous durant mes stages en solitaire. Mais l'internat ce n'est justement pas que le travail, heureusement. De la soirée raclette jusqu'à cette série de thèses nous avons pu tisser un lien d'amitié et professionnel durable qui nous maintiendra en contact durant de longues années. Merci à tous de m'avoir accompagné de l'internat de Ranguel à cet Aligot – saucisse.

A mes co-internes plus vieux, Pauline, Hugo, Imane, Anaïs, Sabine, Sarah et Camille. Merci de m'avoir transmis vos connaissances avec patience et gentillesse. La formation d'internes repose essentiellement sur le partage et l'entraide et vous avez très bien su faire les deux. Mais il ne faut pas non plus oublier l'habilitation café et le diplôme baby-foot.

A mes co-internes plus jeunes, Emilie, Mathilde, Pauline, Suzanne, Benjamin, Germain, Apolline et Lucie F, merci d'être toujours indulgents quand je ne sais pas répondre à vos questions. J'essaye de faire au mieux, mais vous êtes déjà beaucoup trop forts pour moi. Lucie T, merci pour ton écoute et ta gentillesse, c'est une chance d'être amis.

Aux internes de Ranguel, Paul, merci pour tes conseils et la motivation que tu transmets, c'est un plaisir de partager ton amitié. Sylvain, Jamal, Alexiane, Marie, Anissa, Pauline et Adrien, pour tous les repas et soirées partagés dans le froid sibérien du plus bel internat de France et tous les autres bons moments de vélo, ski, concerts,

Aux internes Ruthénois, Louise et ta bonne humeur, Chloé et ta gentillesse naturelle, Benoit et ton humour frontal, Simon, Rafa, Marie, Hugo B, Eve, Gwen, Hugo C, Yue, Olivia, Vic. Merci d'avoir rendu ce semestre encore plus génial que je ne pouvais l'imaginer, j'espère vous avoir transmis un peu de ma passion pour l'Aveyron en échange. Le meilleur semestre de mon internat se clôture déjà. J'espère que nous continuerons cette aventure à Toulouse !

Aux Aveyronnais, Camille, Julien, Lucile, Jordan, Alexis et Justine, Damien et Marion, Antoine et Solenn. Voilà maintenant plus de 10 ans que vous suivez cette longue aventure qui arrive à sa fin. Avec vous je partage une amitié fondée sur des valeurs qui nous sont communes et c'est ainsi que nous sommes et resterons toujours liés malgré le temps et la distance. Nos retrouvailles du Nouvel An, en vacances et plus rarement au buron se reflètent maintenant comme des réunions de famille. Clémentine, après un superbe Erasmus à Maastricht, nous allons pouvoir reprendre les chocolats chauds à Toulouse.

A ma famille,

Nicolas, mon grand frère, exemple de motivation et de détermination. Ta personnalité et ton parcours sont de réelles sources d'inspiration pour moi. Merci pour toute la confiance que tu portes envers moi, et que je te rendrai indéfiniment. Tu es unique pour moi.

Mathilde, merci d'accompagner Nicolas dans toutes ses aventures et de le rendre épanoui au quotidien. Célestine, dernière petite merveille, puisse la science éveiller ta curiosité et ta soif de connaissance. Je vous souhaite tout le bonheur possible dans votre vie.

A mes parents, merci pour tout ce que vous avez fait pour moi, sans jamais compter ni vous préoccuper de vous. Merci pour l'éducation et les valeurs que vous m'avez transmises. Je vous serai toujours reconnaissant. Je n'aurais jamais pu réaliser ce parcours seul, sans votre présence et votre soutien continu, vous m'êtes indispensables. Ce diplôme est également le vôtre.

Table des matières

Liste des abréviations	9
Liste des figures.....	12
Liste des tableaux.....	15
A. Introduction.....	16
I. La lymphopoïèse B.....	16
1. Phase indépendante de l'antigène.....	16
2. Phase dépendante de l'antigène.....	19
II. Les immunoglobulines de l'immunité	22
1. Généralités et structure	22
2. Organisation des gènes d'immunoglobulines humaines	23
III. Les syndromes lymphoprolifératifs chroniques B.....	23
1. Généralités et origines	23
2. La leucémie lymphoïde chronique	26
3. Le lymphome B diffus à grande cellules.....	28
4. Les lymphomes de la zone marginale	29
5. Lymphome du manteau	30
IV. Lymphome lymphoplasmocytaire et macroglobulinémie de Waldenström	31
1. Généralités	31
2. Facteurs de risques et de prédisposition	32
3. Aspect biologique	33
4. Aspect clinique	36
V. Rôle de MYD88 dans l'hématopoïèse	38
1. Rôle de MYD88 dans la maturation myéloïde.....	38
2. Mutations de <i>MYD88</i> dans les lymphomes.....	40
3. Etude fonctionnelle de la mutation <i>MYD88 L265P</i> dans la MW	42
4. Etude fonctionnelle de la mutation <i>MYD88 L265P</i> dans d'autres LNH.....	43
VI. Rôle de CXCR4 dans la lymphopoïèse B	44
1. Voie de signalisation de CXCR4	44
2. Mutations de <i>CXCR4</i> et dérégulation de la voie de signalisation.....	46
VII. Prise en charge thérapeutique de la MW	46
1. Critères de traitements	46
2. Traitements de première ligne.....	47
3. Nouvelles approches thérapeutiques.	48
4. Approche thérapeutique de la MW selon le statut mutationnel des patients.....	49

B.	Patients et méthode.....	51
I.	Patients.....	51
II.	Recherche de la mutation <i>MYD88 L265P</i> et <i>CXCR4</i>	51
III.	Immunophénotypage.....	52
IV.	Statistiques	52
V.	Caractéristiques de la cohorte	52
C.	Résultats.....	53
I.	Les lymphomes B <i>MYD88</i> mutés	53
II.	Les lymphomes B avec un pic à IgM.....	57
III.	Impact de la mutation <i>CXCR4</i>	62
D.	Discussion	64
E.	Conclusion	67
F.	Bibliographie.....	69

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

Ag : Antigène

AKT : Protéine kinase B

ARN : Acide ribonucléique

BCR : B-Cell Receptor

Benda-R : Bendamustine - Rituximab

BTK : Tyrosine kinase de Bruton

BTK-I : Inhibiteur de la tyrosine kinase de Bruton

CD : Cluster de différenciation

CG : Centre germinatif

CKD-EPI : Chronic kidney disease epidemiology

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CSH : Cellule souche hématopoïétique

CXCL12 : CXC-chemokine ligand 12

CXCR4 : C-X-C chemokine recepteur type 4

CXCR4m : *CXCR4* muté

CXCR4wt : *CXCR4* non muté / sauvage

DD : Deathdomain

DFGe : Débit de filtration glomérulaire estimé

DRC : Dexaméthosone – rituximab – cyclophosphamide

EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique

ERK : Extracellular signal-regulated kinases

GRK : Protein-coupled receptor kinases

HCK : Kinase hématopoïétique

HMS : Hypermutation somatique

Ig : Immunoglobuline

IKK : Inhibitor of Kappa-B kinase

IL : Interleukine

INT : Région intermédiaire

IRAK : Interleukine-1 receptor associated kinase

IκB : Inhibitor of Kappa B

LB : Lymphocyte B
LDGCB : Lymphome B diffus à grandes cellules
LLC : Leucémie lymphoïde chronique
LNH : Lymphome non Hodgkinien
LPL : Lymphome lymphoplasmocytaire
LT : Lymphocyte T
LZM : Lymphome de la zone marginale
MAL : MYD88 adapter-like
MALT : Tissu lymphoïde associé aux muqueuses
MAPK : Mitogen-activated protein kinase
mTOR : Mammalian target of rapamycin
MW : Macroglobulinémie de Waldenström
MYD88 : Myeloid differentiation primary response 88
MYD88m : *MYD88* muté
MYD88wt : *MYD88* non muté / sauvage
NFκB : Nuclear factor-kappa B
NK : Natural killer
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAMPs : Pathogen associated molecular patterns
PD-1 : Programmed cell death protein 1
PD-L1 : Programmed cell death protein 1 ligand
PI : Inhibiteur du protéasome
PI3K : Phosphatidylinositol 3 kinase
PRRs : Pattern recognition receptors
RAG : Protéine activant la recombinaison
SARM : Sterile α motif and armadillo motif containing protein
SDF-1 : Stromal derived Factor-1
SLPC-B : Syndrome lymphoprolifératif chronique B
Sp1 : Specificity protein 1
STAT3 : Signal transducer and activator of transcription 3
TAB1/2 : TAK1-binding protein 1/2
TAK1 : TGFβ associated kinase 1
TIR : Toll IL-1 receptor

TLR : Récepteurs toll-like

TRAF6 : TumorNecrosis factor receptor associated factor 6

TRAM : TRIF-related adaptor molecule

TRIF : Toll/ IL-1R domain containing adaptor inducing IFN- β

Liste des figures

Figure 1 : Les stades successifs de maturation du LB suivant la recombinaison des gènes VDJ.....	18
Figure 2 : Première phase du développement des lymphocytes B mémoires.....	20
Figure 3 : Deuxième phase du développement des lymphocytes B	21
Figure 4 : Structure schématique d'une immunoglobuline.	23
Figure 5 : Ontogénie des lymphocytes et hémopathies malignes lymphoïdes B.....	25
Figure 6 : Frottis sanguin d'une LLC.....	27
Figure 7 : Frottis sanguin d'un lymphome B diffus à grandes cellules leucémisé.....	28
Figure 8 : Frottis sanguin d'un lymphome de la zone marginale.	30
Figure 9 : Frottis sanguin de lymphome du manteau	31
Figure 10 : Electrophorèse des protéines sériques et immunofixation d'un patient atteint de macroglobulinémie de Waldenström.....	33
Figure 11 : Frottis médullaire de patient atteint de macroglobulinémie de Waldenström.....	34
Figure 12 : Etapes de la maturation normale d'un lymphocyte B.....	35
Figure 13 : Représentation graphique de la survie globale de patients atteints de MW à partir du diagnostic selon leur statut mutationnel <i>MYD88</i> et <i>CXCR4</i>	36
Figure 14 : Organisation des domaines de <i>MYD88</i>	38
Figure 15 : Voie de signalisation NFκB médiée par <i>MYD88</i>	40
Figure 16 : Mutations récurrentes dans les DLBCL sur la séquence d'acides aminés de la protéine <i>MYD88</i>	41
Figure 17 : Fréquence de mutation <i>MYD88 L265P</i> selon les différents lymphomes	41
Figure 18 : Rôle de la mutation <i>MYD88 L265P</i> dans la MW.....	43
Figure 19 : La voie de transduction <i>CXCR4-CXCL12-CXCR7</i>	45
Figure 20 : Différentes approches thérapeutiques de la MW ciblant les voies de signalisation de <i>MYD88</i> et <i>CXCR4</i>	49
Figure 21 : Algorithme décisionnel du traitement des patients symptomatiques et naïfs atteints de la MW, basé sur le statut mutationnel <i>MYD88</i> et <i>CXCR4</i>	50
Figure 22 : Histogrammes représentant la répartition et la proportion des patients étudiés selon le lymphome diagnostiqué et le statut mutation <i>MYD88</i>	53
Figure 23 : Histogrammes représentant la distribution de l'âge et la quantification du pic d'immunoglobuline selon le statut mutationnel <i>MYD88</i> des patients.	54

Figure 24 : Histogrammes représentant la répartition des taux d'hémoglobine, de plaquettes, de leucocytes, de lymphocytes parmi les leucocytes et de lymphocytes CD19+ parmi les lymphocytes selon le statut mutationnel <i>MYD88</i> des patients.....	54
Figure 25 : Histogrammes représentant la répartition de lymphocytes médullaires et la présence de mastocytes à la lecture du myélogramme selon le statut mutationnel <i>MYD88</i> des patients.	55
Figure 26 : Histogrammes représentant la répartition du score de Matutes suivi de ses paramètres : la répartition des taux de lymphocytes CD19+CD5+, CD19+CD23+, CD19+FMC7+, CD19+CD79b+, parmi les lymphocytes CD19+ et le ratio des immunoglobulines de surface selon le statut mutationnel <i>MYD88</i> des patients.	56
Figure 27 : Histogrammes représentant la répartition des taux de lymphocytes CD19+CD10+, CD19+CD180+, CD19+CD200+, CD19+CD43+ et CD19+ROR+ parmi les lymphocytes CD19+ selon le statut mutationnel <i>MYD88</i> des patients.	56
Figure 28 : Histogrammes représentant la répartition et la proportion des patients étudiés selon le lymphome diagnostiqué et le statut mutationnel <i>MYD88</i>	57
Figure 29 : Histogrammes représentant la distribution de l'âge et de la quantification du pic d'immunoglobuline M selon le statut mutationnel <i>MYD88</i> des patients.....	58
Figure 30 : Histogrammes représentant : la répartition des taux d'hémoglobine, de plaquettes, de leucocytes, de lymphocytes parmi les leucocytes et de lymphocytes CD19+ parmi les lymphocytes selon le statut mutationnel <i>MYD88</i> des patients.....	58
Figure 31 : Histogrammes représentant la répartition de lymphocytes médullaires et la présence de mastocytes à la lecture du myélogramme selon le statut mutationnel <i>MYD88</i> des patients.	59
Figure 32 : Histogrammes représentant la répartition du Matutes suivi de ses paramètres ; la répartition des taux de lymphocytes CD19+CD5+, CD19+CD23+, CD19+FMC7+, CD19+CD79b+, parmi les lymphocytes CD19+ et le ratio des immunoglobulines de surface selon le statut mutationnel <i>MYD88</i> des patients.	60
Figure 33 : Histogrammes représentant la répartition des taux de lymphocytes CD19+CD10+, CD19+CD180+, CD19+CD200+, CD19+CD43+ et CD19+ROR+ parmi les lymphocytes CD19+ selon le statut mutationnel <i>MYD88</i> des patients.	60
Figure 34 : Histogrammes représentant la répartition des anomalies cytogénétiques : la délétion 6q (del6q), la trisomie 4 (tri4), la délétion 17p (del17p), la trisomie 12 (tri12), la délétion 13q (del13q) et la trisomie 18 (tri18) selon le statut mutationnel <i>MYD88</i>	61
Figure 35 : Histogrammes représentant la proportion de lymphocytes CD3+ parmi les lymphocytes, le ratio CD4/CD8 et la proportion de Natural Killers parmi les lymphocytes selon le statut mutationnel <i>MYD88</i> des patients.	62

Figure 36 : Histogrammes représentant la répartition des patients étudiés et la proportion des patients selon le lymphome diagnostiqué et le statut mutationnel <i>MYD88</i> et <i>CXCR4</i>	63
Figure 37 : Histogrammes représentant la répartition des taux d'hémoglobine, de plaquettes, et de lymphocytes médullaires et la quantification du pic IgM des patients selon leur statut mutationnel <i>MYD88</i> et <i>CXCR4</i>	63
Figure 38 : Histogrammes représentant la proportion de lymphocytes CD19+CD79b+ parmi les lymphocytes CD19+, le ratio d'immunoglobulines de surface et la proportion de lymphocytes CD19+FMC7+ parmi les lymphocytes CD19+ des patients, selon les statuts mutationnels <i>MYD88</i> et <i>CXCR4</i>	64

Liste des tableaux

Tableau 1 : Score de Matutes.....	27
Tableau 2 : Critères d'initiation du traitement chez les patients atteints de MW.....	47

A. Introduction

I. La lymphopoïèse B

Les lymphocytes B (LB) sont indispensables dans les mécanismes de l'immunité. L'ontogenèse des LB a pour objectif de générer un répertoire diversifié de LB périphériques. Ce processus se caractérise par deux phases principales, dépendantes ou non de la présence de l'antigène. La première phase se caractérise par la génération et la différenciation des LB à partir de cellules souches hématopoïétiques (CSH) dans la moelle osseuse, considérée comme un organe lymphoïde primaire. Elle est indépendante de l'antigène. La deuxième phase est constituée des processus de sélection et de maturation qui conduisent à la génération de plasmocytes ou de cellules B mémoires dans les organes lymphoïdes secondaires. Elle est dite dépendante de l'antigène.

1. Phase indépendante de l'antigène

Les CSH pluripotentes, localisées dans la moelle osseuse, vont se différencier en progéniteurs multipotents. Leur différenciation contribue à l'engagement de progéniteurs dans les lignées myéloïdes et lymphoïdes. Les progéniteurs lymphoïdes ont la capacité de se différencier en précurseurs de lymphocytes T, B, Natural Killer (NK) et de cellules dendritiques plasmocytoides (1). Les précurseurs des LB prolifèrent et se différencient sous l'influence de l'IL-7 par des processus spécifiques mettant en jeu la recombinaison V(D)J, des gènes des immunoglobulines (Ig) (Figure 1), eux-mêmes médiés par les recombinaisons RAG1 et RAG2 (Gènes Activant la Recombinaison) et l'expression de facteurs de transcription clés. Ces remaniements aboutissent à l'expression d'un récepteur à la surface cellulaire appelé B-Cell Receptor (BCR) (1). Les BCR caractérisent les LB et leurs procurent la propriété de reconnaître directement des peptides antigéniques en conformation native présents à la surface d'un agent pathogène et ainsi déclencher une réponse immunitaire.

Les précurseurs des LB passent donc successivement par différents stades de développement définis selon la réorganisation fonctionnelle du BCR (2). Durant le stade pro-B a lieu le réarrangement des gènes D-J de la chaîne lourde de l'immunoglobuline (stade pro-B précoce) puis celui des gènes V-DJ (stade pro-B tardif). Une fois le réarrangement de la chaîne lourde terminé, celle-ci s'associe à une pseudo-chaîne légère et donne naissance au pré-BCR au niveau de la membrane cellulaire. Cette étape définit le stade pré-B. A ce stade, les gènes V-J des chaînes légères κ ou λ (si le réarrangement en κ n'a pas abouti) se réarrangent et s'associent aux chaînes lourdes pour aboutir à un BCR équivalent à une IgM membranaire. Ce processus permet l'avancement de la différenciation au stade immature B.

Afin d'obtenir une réponse adaptée et dirigée contre le non-soi, des systèmes de tolérance centrale sont mis en place. Les LB immatures sont contre-sélectionnés lors d'une rencontre avec un antigène (Ag) du soi. Une affinité trop forte vis-à-vis d'un Ag du soi entraîne l'initiation d'un mécanisme d'apoptose de ces LB immatures auto-réactifs définissant la sélection négative (3), ces derniers représentant $\frac{3}{4}$ des LB immatures produits à ce stade (4). Pour éviter la mort de LB immature, un deuxième processus de ré-édition du BCR (BCR-editing) est possible par réarrangement du gène V de la chaîne légère (5).

A la fin de cette sélection, les LB immatures quittent la moelle osseuse pour rejoindre la circulation générale et atteindre les organes lymphoïdes secondaires (rate et ganglions). Ils deviennent ainsi des LB matures et naïfs (n'ayant pas rencontré d'Ag du non-soi) qui co-expriment une IgM et une IgD de surface (6).

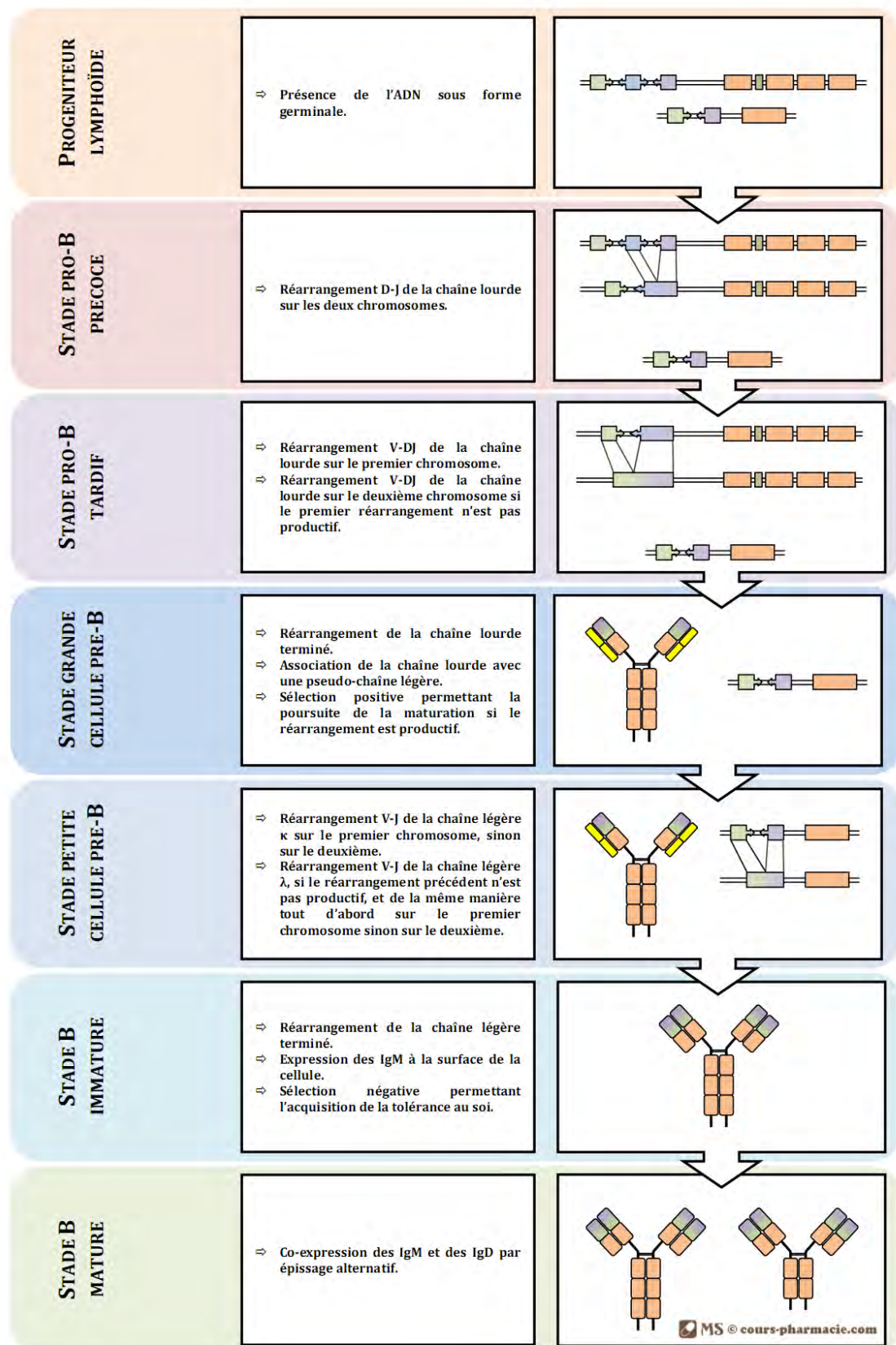


Figure 1 : Les stades successifs de maturation du LB suivant la recombinaison des gènes VDJ selon www.cours-pharmacie.com.

2. Phase dépendante de l'antigène

Lors de cette phase, les LB circulent entre les différents organes lymphoïdes secondaires jusqu'à rencontrer un Ag qu'ils vont pouvoir reconnaître par leur BCR. Après ce rapprochement Ag-LB, les LB activent leur capacité à présenter l'Ag à l'aide du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II présent à leur surface. Intervient alors des étapes de co-stimulation entre les LB et les lymphocytes T par diverses interactions ligand-récepteur (CD40, B7, CD11) et la production de cytokines (IL-2, IL-4, IL-10, ...) (7). Ce processus oriente la polarisation des lymphocytes T. De plus, l'intensité du rapprochement Ag-LB et l'expression des cytokines durant cette coopération déterminent l'avenir du LB. Une interaction Ag-LB intense entraîne la formation de plasmocytes extrafolliculaires, producteurs d'IgM et d'IgG de faible affinité envers l'Ag et à courte durée de vie (8). A l'inverse une interaction moindre différencie les LB en LB mémoires précoces ou en LB du centre germinatif. Ces derniers doivent migrer dans le follicule primaire pour initier les étapes de maturation au sein du centre germinatif (9) (Figure2).

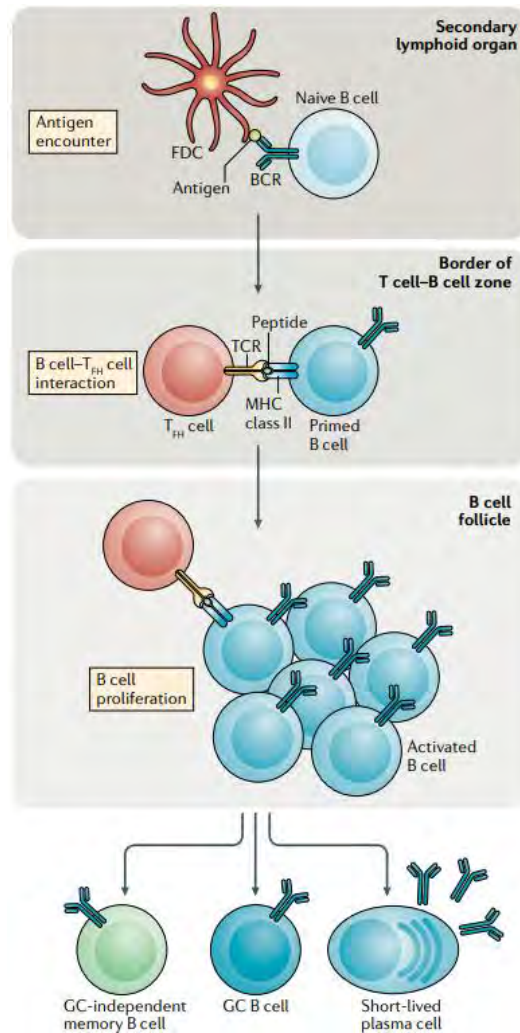


Figure 2 : Première phase du développement des lymphocytes B mémoires. Du contact Ag-LB naïf à la différenciation en plasmocyte de courte durée de vie, LB mémoire ou LB du CG. FDC : Cellule Dendritique Folliculaire, TCR : Récepteur des Cellules T. (10)

Premièrement, l'Ig exprimée à la surface de la cellule va subir un phénomène d'hypermutation somatique (HMS). Il correspond à la survenue de mutations ponctuelles, de délétions ou de duplications dans la séquence d'ADN codant pour les régions variables des chaînes lourdes et légères de l'Ig. Ces mutations surviennent à un taux de 1/1000 paires de bases par mitose, et peuvent être silencieuses, délétères ou positives. Ce phénomène a lieu dans la zone sombre des CG et permet de générer des LB avec une Ig de haute affinité pour l'Ag. A la fin de celui-ci, les LB sont soumis à une nouvelle sélection, mais cette fois, positive, face à l'Ag du non soi. La sélection se déroule dans la zone claire du CG, les LB ne reconnaissant pas suffisamment l'Ag sont alors éliminés par un mécanisme d'apoptose.

L'isotype des Ig est déterminé durant la commutation de classe (ou switch isotypique) qui est la deuxième étape de maturation des LB. Durant la commutation, le réarrangement irréversible du gène VDJ codant pour l'IgM lui permet de se rapprocher d'un nouveau segment codant pour les

domaines constants d'une classe d'Ig différente. La commutation est réalisable grâce aux séquences caractéristiques nommées régions S (pour Switch) en amont de chaque gène VDJ. Ainsi les LB matures expriment une des classes d'Ig (IgG, IgA et IgE).

A ce stade, les LB se différencient en plasmocytes producteurs d'anticorps (Ac) ou en LB mémoires puis retourneront dans la moelle osseuse ou dans la zone médullaire ganglionnaire (11) (Figure 3).

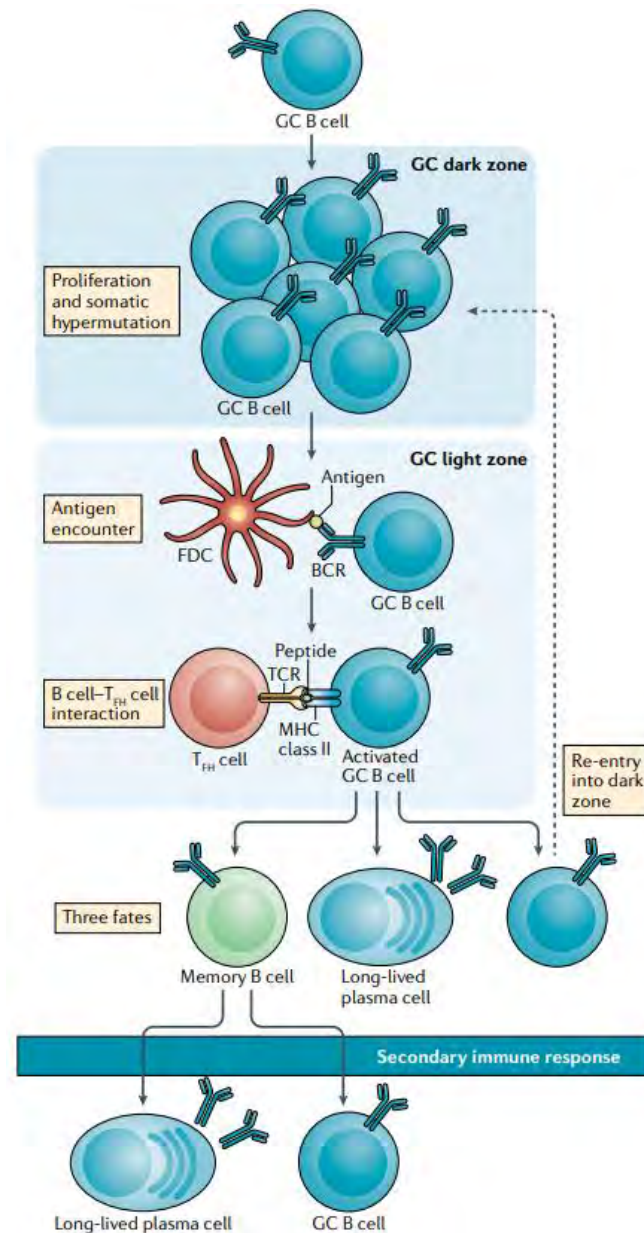


Figure 3 : Deuxième phase du développement des lymphocytes B. Maturation des cellules B du CG jusqu'à la différenciation en LB mémoire ou en plasmocyte (10).

II. Les immunoglobulines de l'immunité

1. Généralités et structure

Les Ig (IgM et IgD) sont des glycoprotéines présentes à la surface des LB, où elles jouent un rôle de récepteur spécifique d'Ag (BCR). Elles peuvent être sécrétées dans la circulation générale ou la lymphe (rôle d'Ac) par les plasmocytes.

Agencées en complexe hétéro-tétramerique, les Ig sont extrêmement polymorphiques au sein d'un même individu. Ce complexe est constitué de (Figure 4) :

- Deux chaînes lourdes H (Heavy), elles-mêmes constituées de deux régions
 - o Une région variable VH (Variable domain from Heavy chain) composée de 3 domaines hypervariables VH1, VH2 et VH3
 - o Une région constante CH (Constant domain from Heavy chain) composée d'un certain nombre de domaines selon l'isotype considéré.
- Deux chaînes légères L (Light) basées sur la même architecture :
 - o Une région variable VL (Variable domain from Light chain) composée de 3 domaines hypervariables VL1, VL2 et VL3
 - o Une région constante CL (Constant domain from Light chain) composée d'un seul domaine.

Les régions variables des chaînes lourdes et légères déterminent la spécificité antigénique des Ig. De l'autre côté, les régions constantes des chaînes lourdes assurent les fonctions effectrices et varient selon l'isotype.

Les chaînes sont maintenues ensemble par des ponts disulfures inter-chaînes ainsi que des liaisons non covalentes.

Il existe différents types de chaînes lourdes (gamma, alpha, mu, delta et epsilon) qui déterminent 5 classes d'Ig : IgG, IgA, IgM, IgD et IgE. Les IgG et IgA sont également subdivisées en plusieurs sous-classes.

Les chaînes légères peuvent être de deux types, Kappa (κ) ou Lambda (λ) et se différencient par leur région constante.

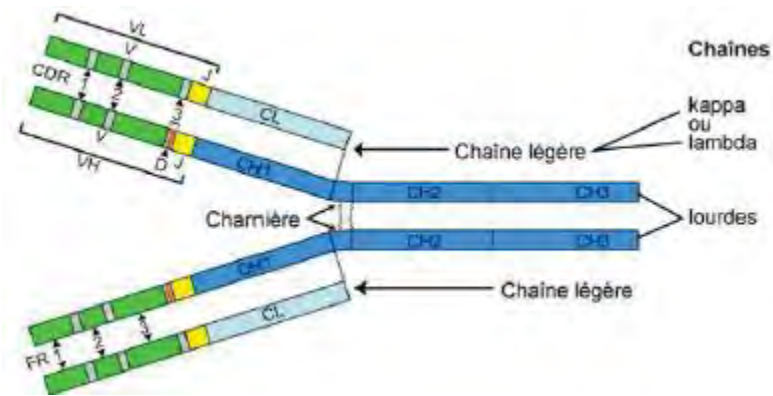


Figure 4 : Structure schématique d'une immunoglobuline composée d'une liaison de deux chaînes lourdes sur lesquelles sont liées deux chaînes légères (12).

Les IgM s'associent pour former une structure pentamérique de haut poids moléculaire. Les IgA sécrétatoires sont excrétées sous forme dimérique. Les IgM et IgA sont liées par une chaîne dite chaîne J (13). Les autres Ig restent monomériques.

2. Organisation des gènes d'immunoglobulines humaines

Le locus des gènes des chaînes lourdes (*IGH*) est situé sur le chromosome 14. Composé d'environ 70 segments, il regroupe les trois familles de gènes *V* (de variabilité), *D* (de diversité) et *J* (de jonction). Les régions constantes (*C*) sont composées de 9 gènes pour 9 sous-classes d'Ig.

Pour les chaînes légères, il existe deux loci. Les gènes des chaînes légères κ sont situés sur le chromosome 2 et comportent une trentaine de segments $V\kappa$ fonctionnels ainsi que 5 segments $J\kappa$ qui codent pour la partie variable de la chaîne légère. La partie constante est codée par un seul segment $C\kappa$. Les gènes des chaînes légères λ sont situés sur le chromosome 22 et comportent également une trentaine de segments $V\lambda$ ainsi que 4 segments $J\lambda$. Six gènes $C\lambda$ codent la partie constante. Il n'existe pas de segment *D* pour les chaînes légères kappa et lambda.

III. Les syndromes lymphoprolifératifs chroniques B

1. Généralités et origines

Les hémopathies lymphoïdes sont la conséquence d'anomalies de la lymphopoïèse entraînant une accumulation et une prolifération maligne d'une cellule clonale d'aspect cytologique plus ou moins matures. Cette prolifération tumorale se développe essentiellement au niveau ganglionnaire. La diffusion des cellules cancéreuses dans le compartiment sanguin correspond au passage à la phase

leucémique de la maladie. Certains syndromes lymphoprolifératifs chroniques B (SLPC-B) peuvent débiter directement par la phase leucémique.

L'origine cellulaire de différents lymphomes non Hodgkinien (LNH) peut être établie selon l'étude des marqueurs membranaires et l'état du réarrangement des gènes des Ig.

Les lymphomes B ont une origine qui peut être localisée précisément à un stade de la différenciation lymphocytaire B. A l'exception de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) qui peut trouver son origine avant ou dans le CG, après la rencontre avec l'Ag (Figure 5).

Parmi les lymphomes B classés par l'OMS, seul le lymphome du manteau et un sous-groupe de LLC ont pour équivalent non tumoral un LB pré-CG.

Le lymphome folliculaire et le lymphome B diffus à grandes cellules (LDGCB) dérivent d'un LB du CG. Le lymphome de Burkitt dérive d'une cellule B du CG à prolifération très rapide, le centroblaste.

L'entité des LLC se partage en deux sous-groupes. Les LLC dont le gène de la chaîne lourde des immunoglobulines (*IGH*) n'est pas muté (50% des cas) qui dérivent d'un LB naïf pré-CG. Et les LLC dont le gène *IGH* est muté, d'origine post-CG. Il a été mis en évidence de rares cas de LLC à gène *IGH* non muté et d'origine post-CG suggérant un remaniement ultérieur des gènes mutés (14).

Les lymphomes de la zone marginale (LZM) et le lymphome prolymphocytaire B possèdent une origine post-CG avec respectivement un blocage de maturation atteint au niveau du LB mémoire et de l'immunoblaste.

Enfin, les lymphomes lymphoplasmocytaires (LPL) avec le sous-groupe de la macroglobulinémie de Waldenström (MW) trouvent leur origine en post-ganglionnaire.

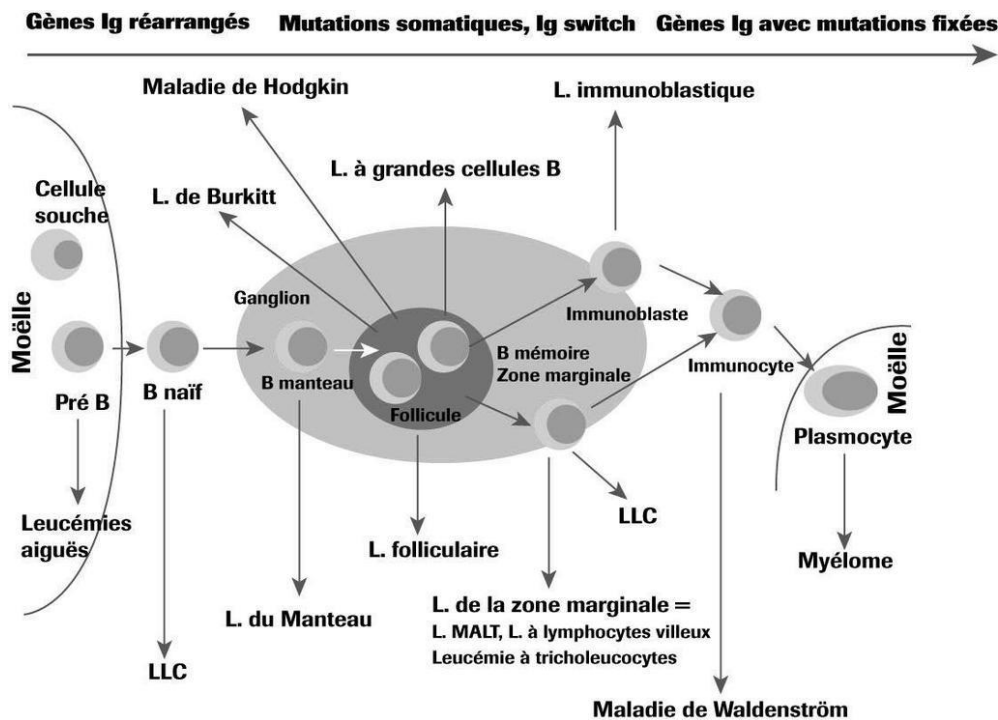


Figure 5 : Ontogénie des lymphocytes et hémopathies malignes lymphoïdes B (15)

La majorité des SLPC-B est due à une translocation chromosomique équilibrée entre deux chromosomes non-homologues qui engage un des loci des gènes des immunoglobulines et un proto-oncogène (gène normal qui participe à la régulation de la croissance et de la division cellulaire). Généralement, l'atteinte chromosomique a lieu pendant les nombreux remaniements des gènes d'Ig qui ont lieu tout du long de la lymphopoïèse B. La translocation va entraîner une dérégulation et une activation constitutive de ces gènes en oncogène et ainsi déclencher une prolifération de cellules malignes.

Trois périodes critiques de translocations peuvent être notées durant le réarrangement des gènes d'immunoglobulines :

- La recombinaison *VDJ* (stade précoce du développement du LB dans la moelle osseuse)
- L'HMS (stade intermédiaire dans le CG)
- Le switch isotypique (stade terminal de la différenciation dans le CG) (16).

Différents facteurs de risques sont mis en évidence dans le développement des SLPC-B :

- les infections chroniques
 - o bactériennes avec en principal acteur *Helicobacter pylori* responsable d'inflammation gastrique chronique
 - o virales avec l'Epstein-Barr virus, le virus de l'hépatite C et le virus de l'immunodéficience humaine

- l'exposition à des substances toxiques (solvants organiques, pesticides, dioxines, ...)
- l'immunodépression chronique (maladie auto-immune, contexte de greffe d'organe)
- les antécédents de chimiothérapie (17).

La clinique des SLPC-B est très hétérogène en raison de la diversité fonctionnelle des cellules lymphoïdes et de leur répartition anatomique ubiquitaire.

Cliniquement, certains lymphomes sont indolents, définis par un état général conservé, accompagné d'un syndrome tumoral (poly-adénopathies, splénomégalie, hépatomégalie, ...) et plus ou moins de complications (anémie, hyperviscosité, ...). Ainsi il est recommandé de réaliser un bilan chez les patients asymptomatiques associant une hyperlymphocytose, une ou plusieurs cytopénies et/ou une hypergammaglobulinémie. A contrario, les lymphomes agressifs ont une évolution subaiguë, où l'on retrouve fréquemment (17):

- des polyadénopathies superficielles, fermes, non douloureuses et non inflammatoires, de taille variable, persistantes pendant plus d'un mois
- une altération de l'état général avec apparition d'une fièvre, accompagnée de sueurs nocturnes et/ou d'une perte de poids inexpliquée. Cette association est appelée symptômes B.
- un syndrome compressif lié à la présence d'une masse ganglionnaire profonde
- un syndrome cave supérieur
- une dyspnée
- une dysphonie, dysphagie
- des douleurs abdominales
- un syndrome occlusif.

2. La leucémie lymphoïde chronique

La LLC est la leucémie la plus fréquente avec une incidence de 3,8 cas / 100 000 personnes et un sex-ratio H/F égal à 2 (18). L'âge médian au diagnostic est de 71 ans avec un taux d'incidence qui augmente avec celui-ci (19).

La LLC est définie par une accumulation sanguine de petits lymphocytes clonaux, à noyau arrondi et à chromatine mature dite « mottée ». Selon les recommandations de l'International Workshop on CLL (IWCLL), le diagnostic biologique repose sur la présence d'une hyperlymphocytose supérieure à 5G/L et des marqueurs membranaires particuliers, retrouvés sur deux examens espacés de 3 mois (20). Les LB de la LLC présentent des caractéristiques phénotypiques homogènes qui ont permis d'établir

un score dit de Matutes, décrit initialement par le Dr Estella Matutes en 1994 puis amélioré en 1997 (Tableau 1). Un score de 4 ou 5 oriente vers la LLC tandis qu'un score strictement inférieur à 3 oriente vers un SLPC-B différent. Un score à 3 ambigu évoque une LLC atypique (21).

Cotation	1	0
CD5	+	-
CD23	+	-
Expression de CD22 (ou CD79b)	Faible	Forte
FMC7	-	+
Expression d'une immunoglobuline de surface monotypique	Faible	Forte

Tableau 1 : Score de Matutes (21). L'interprétation des marqueurs et le calcul du score est réalisé par le biologiste.

La LLC est diagnostiquée le plus souvent de manière fortuite lors d'un hémogramme de routine révélant une hyperlymphocytose monomorphe. Il s'agit le plus fréquemment d'une maladie asymptomatique avec seulement 10% des LLC présentant une symptomatologie typique des SLPC-B associant les symptômes B.

L'analyse cytologique révèle une population de lymphocytes matures d'allure monomorphe accompagnée de cellules lysées caractéristiques appelées « ombres de Gümprécht ». Ce phénomène résulte de la fragilité de la membrane cytoplasmique des lymphocytes clonaux. (Figure 6.)

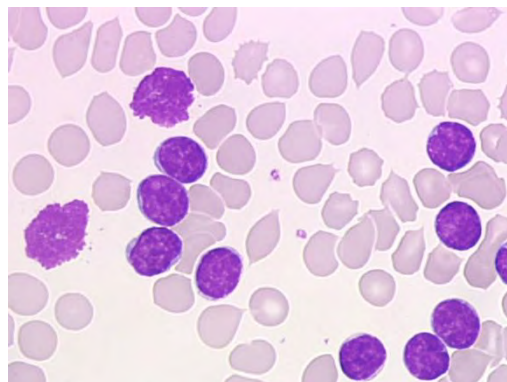


Figure 6 : Frottis sanguin d'une LLC. Les lymphocytes forment une population monomorphe de petites cellules, noyau à chromatine mature, d'aspect mottée et un rapport nucléo-cytoplasmique élevé, accompagnés d'ombres de Gümprécht.

Différentes anomalies cytogénétiques sont fréquemment retrouvées dans la LLC. La délétion 13q14, de bon pronostic, est retrouvée à hauteur de 50% des cas, sans être spécifique de la LLC. La délétion 11q22, de mauvais pronostic, est retrouvée dans 6 à 20% des LLC. La délétion 17p3.1 est retrouvée dans 10% des LLC. Cette délétion entraîne une perte d'expression du gène *TP53*, gène impliqué dans le processus d'apoptose. La recherche de la délétion 17p est fortement recommandée dans la prise

en charge thérapeutique car celle-ci attribue une résistance à la fludarabine (agent chimiothérapeutique souvent employé). La trisomie 12 et diverses autres anomalies cytogénétiques sont également observées (22).

L'étude du statut mutationnel des gènes *IGVH* participe au pronostic. En effet, les LLC présentant un statut *IGVH* mutés sont considérées de bon pronostic alors que les LLC au statut non muté sont de mauvais pronostic et présentent un risque supérieur de progression (23).

3. Le lymphome B diffus à grande cellules

Les LDGCB représentent environ 40% de l'ensemble des LNH. Environ 3000 à 4000 nouveaux cas de LDGCB sont diagnostiqués chaque année en France.

Le LDGCB est caractérisé par une multiplication incontrôlée de LB dans les ganglions lymphatiques et peuvent envahir la moelle osseuse, le sang (Figure 7) et la rate (24). Cette prolifération corrèle avec la présence de symptômes B et l'expansion des adénopathies (25).

La classification des syndromes lymphoprolifératifs B de l'OMS sépare les LDGCB en différents sous-types, les LDGCB à cellules B activées (ABC), les LDGCB à cellules B du centre germinatif (GCB) (de meilleur pronostic) et les LDGCB sans spécificité (9). Cette séparation est réalisée par l'étude de l'expression des gènes des cellules malignes. Ces lymphomes sont soit secondaires, survenant dans l'évolution d'un autre type de lymphome, soit « de novo », diagnostiqués sans antécédent connu de lymphome.

Le diagnostic est établi par l'étude anatomopathologique d'une biopsie ganglionnaire et par la tomographie par émission de positons (TEP-scan). (24)

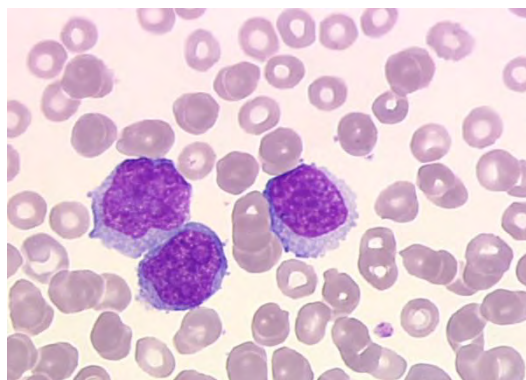


Figure 7 : Frottis sanguin d'un lymphome B diffus à grandes cellules leucémisé. Les cellules sont de grande taille, à rapport nucléocytoplasmique élevé, noyau parfois irrégulier, chromatine immature (parfois blastique et/ou nucléolée) et basophilie cytoplasmique marquée.

Dans la plupart des LDGCB, on retrouve un caryotype complexe avec fréquemment des réarrangements de la région 3q27 du gène *BCL6* (environ 30% des cas) et des gènes *BCL2* et *MYC* (respectivement 15% et 10% des cas) (26).

4. Les lymphomes de la zone marginale

L'OMS différencie trois sous-types distincts de LZM selon le site d'envahissement par les cellules clonales (27):

- 70% des cas: le lymphome des tissus associés aux muqueuses (lymphome du MALT)
- 20% des cas: le lymphome de la zone marginale splénique caractérisé cliniquement par une splénomégalie
- 10% des cas: le lymphome de la zone marginale ganglionnaire (nodal)

Ces trois sous-types ont comme point de départ commun le compartiment marginal de la rate et des ganglions lymphatiques (28).

Les LZM représentent 5 à 15% des LNH. En France, l'incidence en 2018 est estimée à 2790 nouveaux cas pour un âge médian au diagnostic de 70 ans (29).

Il existe par ailleurs trois autres entités provisoires dans la classification de l'OMS :

- Le lymphome splénique B inclassable
- Le lymphome à petites cellules B diffus de la pulpe rouge splénique
- La leucémie à tricholeucocytes variante

a. Lymphome splénique de la zone marginale

Le lymphome splénique de la zone marginale est défini par une infiltration de la pulpe blanche de la rate par de petits LB. Dans plus de 80% des cas, la moelle osseuse et le sang sont infiltrés par des cellules lymphomateuses (30).

Sur le plan clinico-biologique, les patients présentent le plus souvent une splénomégalie, une anémie ou une thrombopénie d'origine auto-immune ou de séquestration splénique. Il s'agit cependant d'une maladie relativement indolente souvent mise en évidence de manière fortuite. La présence d'adénopathies est rare mais évoque une dissémination lymphomateuse.

Le diagnostic relève d'une étude globale des anomalies, incluant la morphologie et l'immunophénotypage des lymphocytes, les anomalies génétiques, l'histologie de la moelle osseuse

et de la rate si possible. Dans 75% des cas, une splénomégalie et une hyperlymphocytose chronique sont associées (31).

A la lecture du frottis sanguin (Figure 8), on retrouve une hyperlymphocytose monomorphe, mais les atypies sont variables et souvent discrètes :

- Petits lymphocytes avec expansions cytoplasmiques polaires (lymphocytes villeux)
- Lymphocytes de taille moyenne à rapport nucléocytoplasmique intermédiaire et chromatine légèrement décondensée (aspect monocytoïde)
- Petits lymphocytes lymphoplasmocytoïdes
- Lymphocytes monomorphes sans atypie nette (32).

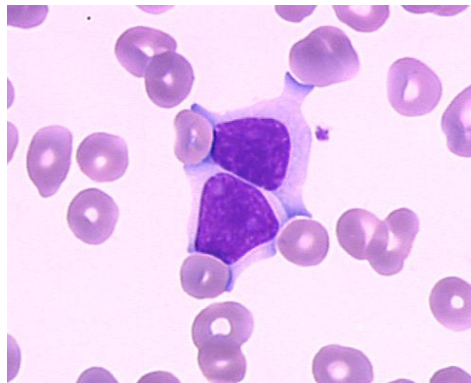


Figure 8 : Frottis sanguin d'un lymphome de la zone marginale. Les cellules sont de taille moyenne, à rapport nucléocytoplasmique intermédiaire, noyau régulier, chromatine mature.

Sur le plan cytogénétique, les anomalies les plus fréquentes sont des gains 3q et 12q et des délétions 7q (33).

b. Lymphome de la zone marginale ganglionnaire

Le lymphome de la zone marginale ganglionnaire représente moins de 1% des LNH (34). Les infiltrations médullaires et les phases circulantes sont rares. Les patients présentent des adénopathies localisées ou généralisées.

Le diagnostic repose sur une étude anatomopathologique de l'aire ganglionnaire atteinte.

5. Lymphome du manteau

Le lymphome du manteau représente 3 à 10% des LNH avec un âge médian au diagnostic de 68 ans et un sex-ratio H/F de 5 (35).

Cytologiquement, la phase leucémique représente plus de la moitié des cas avec cependant une hyperlymphocytose chez seulement 30 à 50% des patients (36). Le lymphome est défini majoritairement par une présence de cellules de taille moyenne, à rapport nucléo-cytoplasmique élevé, noyau très irrégulier cabossé présentant parfois des encoches et une chromatine légèrement décondensée (Figure 9). Et dans certaines formes dites blastoïdes (de pronostic plus défavorable), on peut observer des lymphocytes atypiques de grande taille avec une chromatine immature parfois nucléolée (32).

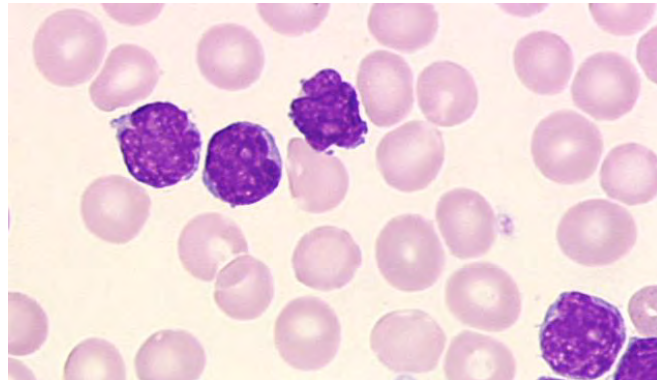


Figure 9 : Frottis sanguin de lymphome du manteau, cellules d'aspect classique.

Génétiquement, la translocation $t(11; 14)(q13; q32)$ aboutit à la surexpression de la cycline D1 par le chevauchement du gène *CCND1* codant pour cette cycline situé en 11q13 avec le gène des *IGHV* situé en 14q32. Cette translocation est retrouvée dans la quasi-totalité des cas (37). La surexpression de la cycline D1 entraîne une dérégulation de la lymphopoïèse synonyme de prolifération accrue. Ce dérèglement a lieu à un stade très précoce de la lymphomagenèse, dans la moelle osseuse. De plus, la perte de gènes suppresseurs de tumeurs (*ATM*, *CDKN21*, *TP53*) et/ou le gain de gènes oncogènes (*MYC*, *SYK*, *BCL2*) procurent aux cellules prolifératives un caractère malin. A noter que la translocation du gène *MYC* est corrélée à une survie plus courte des patients (38).

Le caryotype complète les études cytologique et immunophénotypique et permettent avec la clinique et l'histologie d'établir le diagnostic.

IV. Lymphome lymphoplasmocytaire et macroglobulinémie de Waldenström

1. Généralités

Le lymphome lymphoplasmocytaire est un SLPC-B caractérisé par une infiltration médullaire de cellules d'aspect lymphoplasmocytaire monomorphe, décrit morphologiquement sous la forme d'un

continuum de différenciation allant du lymphocyte mature au stade de plasmocyte. Cette infiltration peut également toucher les ganglions et la rate.

Les critères 2016 de l’OMS indiquent la macroglobulinémie de Waldenström (MW) comme un sous-ensemble de LPL associé à une gammopathie monoclonale à IgM et infiltrant la moelle osseuse (39).

La MW a été décrite en 1944 par le Professeur Jan G. Waldenström, qui a rapporté le cas de 2 patients présentant des épistaxis, une anémie, des adénopathies, une hypergammaglobulinémie, une vitesse de sédimentation élevée, une hyperviscosité, une absence de douleur osseuse, des cytopénies et une infiltration lymphocytaire de la moelle osseuse (40).

La MW est un lymphome relativement rare qui représente moins de 2% des hémopathies malignes avec une incidence de 3 à 4 millions d’habitants par an dans le monde. Au diagnostic, l’âge médian est de 70 ans avec un sex ratio H/F égal à 2 (41) (42). En deçà de cet âge, la survie médiane est de plus de 10 ans, puis chute à 6 ans pour les patients de 70 à 79 ans et à 4 ans pour les plus de 80 ans. La mortalité est imputable à l’hémopathie dans 28% des cas (43).

L’association lymphoplasmocyte - IgM qui définit la MW, est présente dans environ 90% des LPL. Il existe plus rarement des LPL non sécrétant ou sécrétant des IgA ou des IgG. Inversement, la présence d’une gammopathie monoclonale à IgM, quelle que soit son amplitude, ne constitue pas un critère diagnostic strict de la MW. Celle-ci pouvant être retrouvée dans différentes maladies, telles que les gammopathies monoclonales de signification indéterminée (MGUS), les LZM et les LLC.

2. Facteurs de risques et de prédisposition

Les patients atteints de MGUS à IgM présentent un risque 46 fois supérieur à la population normale de développer une MW (44) pour un risque annuel de 1 à 1,5% (45).

Comme pour les autres SLPC-B, une stimulation antigénique chronique est associée à un risque accru de MW. On retrouve ainsi diverses conditions de stimulation répétée allant des maladies auto-immunes (sclérodermie, lupus érythémateux, polyarthrite rhumatoïde, syndrome de Sjögren, ...) aux maladies infectieuses (hépatite C, herpès zona, grippe, ...) (46) (47) (48) (49). Ces stimulations antigéniques suggèrent l’implication d’un bouleversement du système immunitaire comme prémices du processus de développement de la MW en favorisant la survenue d’évènements mutationnels tumoraux (50).

Des formes familiales ont été rapportées : les parents au premier degré des patients atteints de MW présentent un risque 20 fois plus élevé de développer une MW et presque 5 fois plus de risque de développer un autre SLPC-B (51).

Une étude d’association pangénomique de la MW a identifié deux loci indépendants qui sont associés au risque de cette maladie, 6p25.3 (proche d’*IRF4* et d’*EXOC2*) et 14p32.13 (proche de

TCL1). Ces deux allèles à risque sont observés à une faible fréquence chez les témoins (environ 2-3%) et se retrouvent en excès chez les cas atteints. Ils expliquent ainsi 4% du risque familial de la MW (52).

3. Aspect biologique

La caractérisation de l'IgM dans la MW est essentielle. Celle-ci est mise en évidence par une technique d'électrophorèse des protéines sériques (EPP). Un pic monoclonal dans la zone des γ -globulines est observé puis typé par une technique d'immunofixation (Figure 10). Cet IgM appelée macroglobuline se présente sous la forme d'un pentamère.

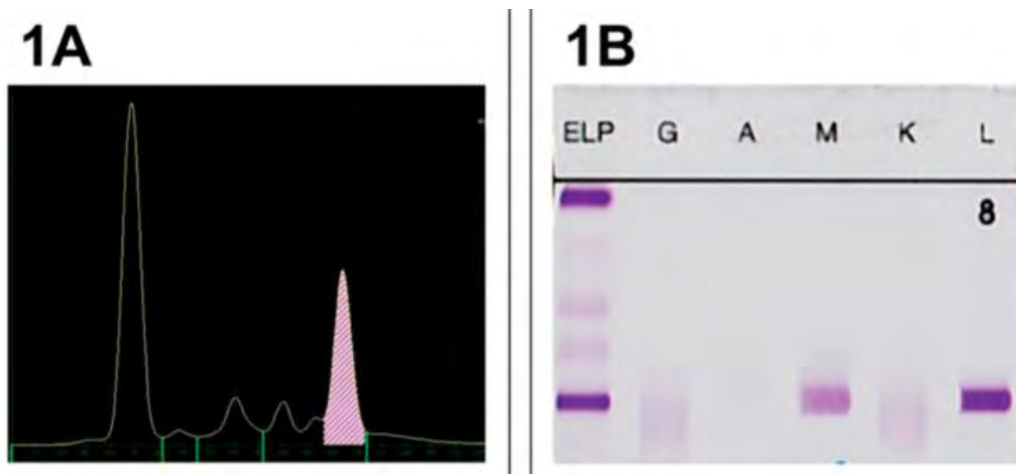


Figure 10 : Electrophorèse des protéines sériques (1A) et immunofixation (1B) d'un patient atteint de macroglobulinémie de Waldenström. Le tracé densitométrique de l'EPP montre un pic dans la région des gammaglobulines. L'immunofixation du sérum montrant des bandes monoclonales d'IgM et de chaîne légère λ (53).

Sur l'hémogramme, une thrombopénie et une anémie généralement normocytaire et normochrome peuvent être identifiées suggérant que l'infiltration médullaire des cellules clonales diminue le fonctionnement de l'hématopoïèse normale. On note aussi fréquemment la présence de rouleaux érythrocytaires dus à l'hyperviscosité sanguine. Généralement l'hyperlymphocytose est modérée ou absente. Cytologiquement, une population lymphocytaire mature au rapport nucléocytoplasmique élevé et au noyau excentré définissant les lymphoplasmocytes peut être observée (32).

Sur le myélogramme, on retrouve un infiltrat médullaire presque constant mais d'intensité très variable (Figure 11). La morphologie est la même que sur le frottis sanguin mais s'associe fréquemment à la présence d'un contingent plasmocytaire et d'un nombre augmenté de mastocytes (Figure 11) (32).

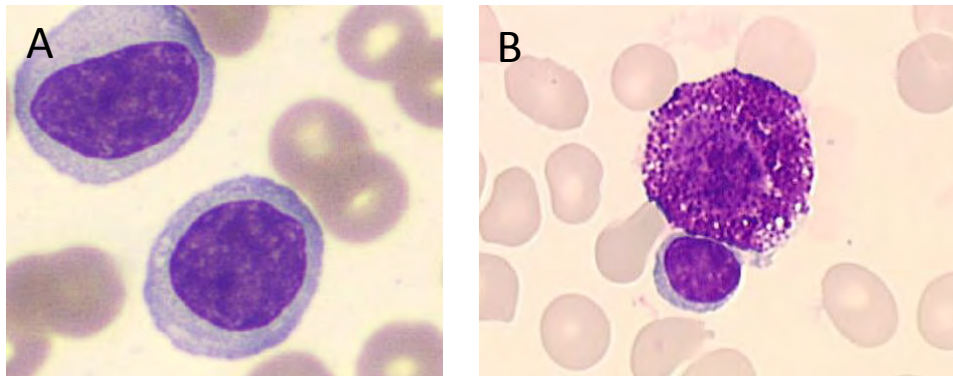


Figure 11 : Frottis médullaire de patient atteint de macroglobulinémie de Waldenström, lymphocytes et lymphoplasmocytes (A), mastocyte (B).

L'étude des marqueurs phénotypiques par une analyse en cytométrie de flux est au diagnostic de la MW.

Les cellules clonales de la MW sont caractérisées par l'expression en surface des marqueurs cellulaires pan B (CD19, CD20 et CD22) et l'expression monoclonale d'une IgM de surface limitée à l'expression de chaîne légère kappa ou lambda (54) (majoritairement kappa avec un ratio à 5) (55). Par comparaison avec les LB matures normaux, les clones de la MW expriment plus faiblement le CD22 et de manière équivalente le CD20 et l'immunoglobuline de surface.

Les clones expriment également CD25 et FMC7 dans respectivement 66 et 77% des cas. CD25 est exprimé de façon homogène, à l'inverse, FMC7 est retrouvé de façon hétérogène sur les cellules clonales. Un profil d'expression CD22 faible associé à un CD25 fort est évocateur de la MW mais n'est pas spécifique de celle-ci (également retrouvé dans certains LZM et LLC).

L'absence d'expression du CD103 et du CD10 dans la MW est constante et permet d'éliminer le diagnostic de la leucémie à tricholeucocytes et le lymphome folliculaire. CD5 et CD23 sont très rarement et de façon hétérogène exprimés par les clones de la MW. CD11b et CD11c ne sont pas exprimés ou bien avec une faible intensité. CD23 et CD5 sont détectés dans moins de 20% des cas. CD38 est retrouvé chez 50% des MW avec un niveau d'expression plus faible que celui retrouvé sur les progéniteurs B et les plasmocytes. Et enfin, les marqueurs CD79b, CD81, CD24, HKA-DR et BCL2 sont fréquemment exprimés (54).

Ainsi, un phénotype caractéristique de la MW a été mis en évidence en étudiant les profils d'une cohorte de patients. L'association d'expression est la suivante : CD22 faible, CD23-, CD25+, CD27+, IgM+, CD5-, CD10-, CD11c-, CD103- (56).

Cependant, ce panel phénotypique ne permet pas de différencier la MW de certains LZM.

L'analyse du statut mutationnel des gènes de la région variable des patients atteints de MW a mis en évidence deux notions intéressantes (57). Premièrement la présence d'une mutation somatique des gènes *VH* et deuxièmement l'absence totale de commutation isotypique des cellules clonales. Il est donc suggéré que ces dernières sont des LB bloqués dans le processus de maturation après le passage dans le CG mais avant le stade de plasmocyte (Figure 12). On peut donc avancer qu'il s'agit d'une cellule B post-germinale ayant les caractéristiques des cellules B « mémoires ».

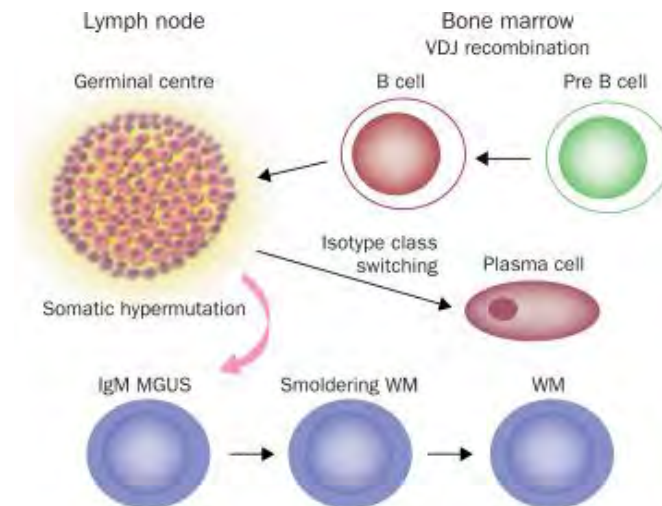


Figure 12 : Etapes de la maturation normale d'un lymphocyte B. L'hypothèse est que le clone de la MW a subi le processus d'HMS dans les ganglions lymphatiques sans commutation de classe (58).

Génétiquement, la recherche de la mutation *MYD88 L265P* sur un prélèvement médullaire est recommandée pour établir le diagnostic de la MW. 80 à 90% des patients atteints de la MW présentent cette mutation (59) (60).

Les sujets *MYD88* mutés ont une infiltration médullaire et des taux d'IgM plus élevés que les sujets non mutés. Cependant, la survie globale des sujets mutés est plus longue avec une mortalité 10 fois moins élevée par rapport aux sujets non mutés (61) (Figure 13).

Les mutations du gène *CXCR4* (C-X-C chemokine receptor type 4) constituent le deuxième groupe de variant le plus fréquemment identifié dans la MW après la mutation *MYD88 L265P* avec un taux de 29% de sujets mutés (62). Le séquençage du génome de patients atteints d'hémopathies autre que la MW rapporte que de rares cas d'altération de *CXCR4*, celle-ci constitue donc une caractéristique de la MW (63), sans impact sur la mortalité (69) (Figure 13). D'autres mutations récurrentes des gènes *ARID1A* et de *CD79 (A et B)* ont également été rapportées (64). Les mutations de *TP53* sont rares (2-3%) et sont associées à une survie diminuée (65).

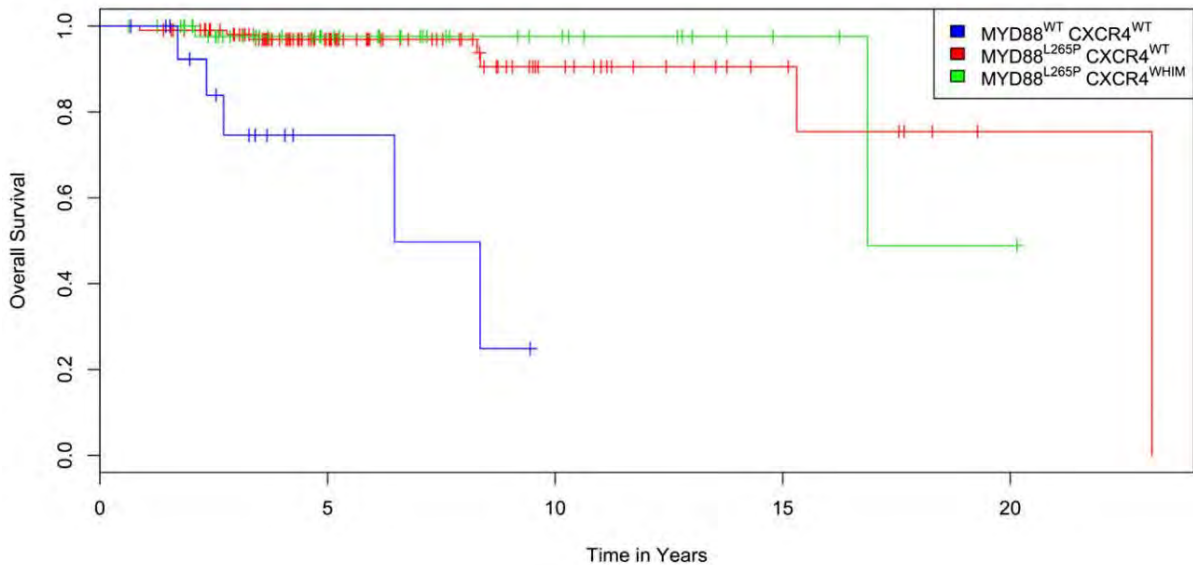


Figure 13 : Représentation graphique de la survie globale de patients atteints de MW à partir du diagnostic selon leur statut mutationnel *MYD88* et *CXCR4* (*MYD88*_{wt} : *MYD88* non muté, *MYD88* *L265P* : *MYD88* muté, *CXCR4*_{wt} : *CXCR4* non muté, *CXCR4*_{whim} : *CXCR4* muté (*CXCR4m*)) (69).

De nombreuses anomalies cytogénétiques sont décrites. Aucune n'est spécifique de la MW. On retrouve cependant la trisomie 4 plus fréquemment que dans les autres SLPC-B (66). On retrouve de manière moins spécifiques, la délétion (6q) et la translocation (9 ;14)(p16 ;q32) dans 50% des cas, le gain 6p (17%), la trisomie 3 (10%), les délétions 13q et 17p (10%) et la trisomie 4 totale ou partielle (8%) (67). Malheureusement, les cellules clonales de la MW sont difficilement analysables cytogénétiquement du fait de leur faible index mitotique. Les altérations du nombre de copies ont révélé que la délétion 6q affecte des gènes de régulation de NF-κB, de la Bruton tyrosine kinase, de *BCL2* et de la signalisation apoptotique (68).

4. Aspect clinique

La plupart des patients sont asymptomatiques ou bien présentent des signes d'asthénie (lié à l'anémie) (69). Les signes cliniques, quand ils sont présents, combinent les signes communs aux autres SLPC-B et des manifestations spécifiques de la tumeur (infiltration et gammopathie monoclonale).

Parmi les signes communs, on retrouve les symptômes B : asthénie, perte de poids, sueurs nocturnes et fièvre.

L'infiltration médullaire du clone lymphoplasmocytaire entraîne un dysfonctionnement des capacités hématopoïétiques de la moelle. Cela provoque des cytopénies telles que l'anémie (associée à une asthénie, dyspnée, tachycardie, pâleur) et parfois une leuco/neutropénie (associée à un risque

infectieux), une thrombopénie (associée à un risque hémorragique, épistaxis, gingivorragies). La migration des cellules clonales entraîne des adénopathies, splénomégalie et hépatomégalie (70).

L'IgM monoclonale sécrétée par le clone lymphoplasmocytaire est responsable de divers symptômes du fait de ses propriétés :

Immunologiques, aboutissant à :

- des neuropathies périphériques ; l'activité auto-anticorps agit contre les antigènes du système nerveux périphérique par une action démyélinisante (70). L'exemple le plus fréquent est la polyneuropathie chronique et symétrique à anticorps anti-MAG, présente dans 50% des neuropathies liées à la MW (71).
- des anémies hémolytiques auto-immunes à agglutinine froide, présentes dans 10 à 15% des cas de MW. L'IgM se lie comme un auto-anticorps sur les antigènes à la surface des érythrocytes qui seront lysés par le système du complément (72).
- des cryoglobulines de type II composées de deux isotypes d'immunoglobulines : l'IgM monoclonale qui acquiert une activité de type facteur rhumatoïde et une IgG polyclonale aux caractéristiques proche d'un antigène du facteur rhumatoïde. Ainsi l'IgM interagit avec l'IgG et génère un cryoprécipité souvent à l'origine de vascularites de la micro-circulation (70) (73).
- un syndrome hémorragique. L'IgM agit dans ce cas comme un anti-facteur de la coagulation tels que le facteur VIII ou le facteur de Willebrand et ainsi entrainer un déficit acquis. L'IgM peut aussi interagir avec les thrombocytes et être responsable de thrombopathies acquises (74).

Ou physico-chimiques, menant à :

- un syndrome d'hyperviscosité survenant chez 30% des patients, généralement lorsque le taux sérique d'IgM dépasse 30g/L (75). Ce syndrome comprend des saignements des muqueuses, des troubles visuels et des céphalées. Des manifestations neurologiques plus graves peuvent apparaître comme une confusion, des déficits neurologiques focaux voire des accidents vasculaires cérébraux.
- une amylose AL caractérisée par des dépôts d'IgM qui se forment au sein de la micro-vascularisation et qui entraînent des neuropathies périphériques et/ou une insuffisance rénale entre autres (53).
- une cryoglobulinémie de type I avec la précipitation de l'IgM monoclonale à une température inférieure à 37°C. Elle serait responsable d'ulcère cutané, arthralgies, syndrome de Raynaud, ...(76).

V. Rôle de MYD88 dans l'hématopoïèse

MYD88 (Myeloid Differentiation primary response 88) est une protéine clé, indispensable à la signalisation des récepteurs toll-like (TLR) et de l'interleukine 1 (IL1). Ces deux récepteurs sont impliqués dans la reconnaissance des motifs moléculaires des agents pathogènes et des cytokines pro-inflammatoires produites lors d'une infection. Il a ainsi été suggéré que MYD88 est un régulateur important de la première ligne de défense contre les agents infectieux, y compris la différenciation et la maturation des cellules myéloïdes.

1. Rôle de MYD88 dans la maturation myéloïde

MYD88 a été décrit pour la première fois en 1990 comme un gène promoteur de la différenciation myéloïde induite (77). Il est localisé en position p22 du chromosome 3 chez l'Homme (3p22.2). Celui-ci code pour une protéine adaptatrice de 296 acides aminés qui est composée d'une région courte N-terminal suivie d'un deathdomain (DD), d'une région intermédiaire (INT) et d'un domaine Toll IL-1 Receptor (TIR) C-terminal (Figure 14).

En 1994, l'étude de sa séquence protéique a mis en évidence l'homologie de son domaine cytoplasmique avec le récepteur Toll chez la *Drosophila* (78) et le récepteur à l'IL-1 chez les mammifères (79). Ainsi le domaine TIR de MYD88 interagit avec les TLR mais également d'autres protéines possédant ce même domaine, telle que la protéine adaptatrice MAL. Tandis que le DD est impliqué dans la signalisation en aval et permet la liaison avec les protéines de la famille IRAK (Interleukine-1 receptor-associated kinase). Cette protéine MYD88 se retrouve sous forme condensée au sein du cytoplasme (80).

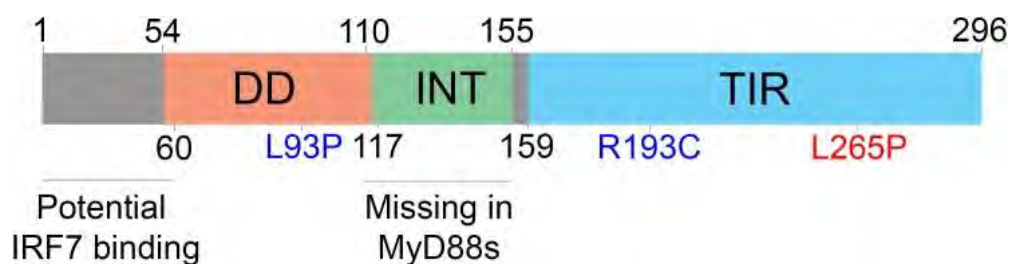


Figure 14 : Organisation des domaines de MYD88 ; Domaines fonctionnels : « Deathdomain » (DD) en N terminal, le domaine intermédiaire (INT), et le domaine « Toll-IL-1 receptor » (TIR) en C terminal (81).

Les TLR qui interagissent avec le domaine TIR sont des glycoprotéines transmembranaires de type I localisées au niveau des membranes cytoplasmiques et des endosomes. Ils sont majoritairement situés sur les cellules folliculaires dendritiques et les macrophages.

Tous les TLR possèdent trois régions principales :

- un domaine extracellulaire, constitué de répétitions riches en leucine en tandem
- une hélice transmembranaire
- un domaine cytoplasmique correspondant au domaine TIR des TLR.

Les TLR jouent un rôle primordial dans la réponse immunitaire innée en reconnaissant les motifs moléculaires associés aux pathogènes les Pathogen Associated Molecular Patterns (PAMPs). A titre d'exemple, les PAMPs peuvent correspondre à des molécules bactériennes comme des lipoprotéines, des lipopolysaccharides, la flagelline, des régions d'ADN riches en bases non méthylées mais également des molécules virales comme l'ARN (acide ribonucléique) simple ou double brin. Les PAMPs sont reconnus par les récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires, Pattern Recognition Receptors (PRRs). Parmi les PRRs, on retrouve donc les TLR mais aussi les récepteurs cytoplasmiques « leucine-rich repeats » (NLRs), et « retinoic acid-inducible gene-1 (RIG-I) like receptors » (27).

Il a été identifié dix types de TLR (TLR1- TLR10) capables de se lier aux différents PAMPs. A l'exception de TLR3, leur voie de signalisation dépend de MYD88 (82).

En se liant aux PAMPs par leur domaine extracellulaire, les TLR s'activent et se dimérisent en homodimères (à l'exception de TLR2 qui se dimérise en hétérodimère avec TLR1 ou TLR6). Une fois TLR activé, il rend son domaine TIR accessible à une protéine adaptatrice contenant aussi un domaine TIR. Cinq protéines adaptatrices sont décrites dans la signalisation du TLR :

- MYD88
- MAL (MYD88 adapter-like)
- TRIF (Toll/IL-1R domain-containing adaptor-inducing IFN- β)
- TRAM (TRIF-related adaptor-molecule)
- SARM (sterile α -motif and armadillo motif-containing protein) (83).

Après avoir été recruté via son domaine TIR, MYD88 se dimérise et active par phosphorylation les protéines IRAK4 et IRAK2 ou IRAK1. Ils composent ainsi une structure appelée le Myddosome (84).

S'en suit alors une cascade d'activation (Figure 15) impliquant les protéines TRAF6 (Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated factor 6), TAK1 (TGF β Activated Kinase 1), TAB1/2, et le complexe hétérotrimérique I κ B (Inhibitor of Kappa-B Kinase, composé des sous unités I κ B α , I κ B β et I κ B γ). L'activation de ce complexe hétérotrimérique entraîne la phosphorylation d'I κ B (Inhibitor of Kappa B), qui au repos, séquestre deux sous-unités : p65 et p50. Cette phosphorylation va dégrader I κ B et ainsi libérer p65 et p50 qui vont former le complexe NF κ B. Ce dernier va pénétrer dans le noyau,

activant ainsi la transcription de gènes cibles anti-apoptotiques et/ou des cytokines inflammatoires (59).

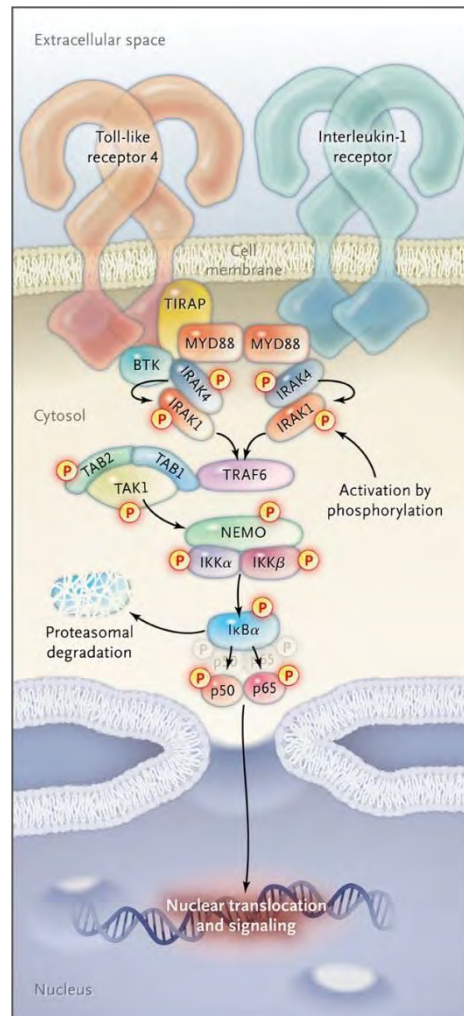


Figure 15 : Voie de signalisation NFκB médiée par MYD88 (59)

Des mutations autosomiques récessives de *MYD88* ont été repérées (*MYD88R196C*, *MYD88C93P*, *MYD88E52del*, ...) (85) (86) (87). Les patients touchés par ces mutations présentaient une lymphopoïèse B et une réponse immunitaire normales, ce qui peut conduire à l'hypothèse que *MYD88* n'est pas indispensable à la différenciation lymphocytaire B. Cependant, une accumulation de cellules auto-induites a été observée chez ces patients, suggérant que la protéine adaptatrice *MYD88* est impliquée dans le processus de régulation de la lymphopoïèse B. (85) (88).

2. Mutations de *MYD88* dans les lymphomes

Différentes mutations ont été fréquemment retrouvées sur le gène codant pour *MYD88* lors des cas de lymphomes B diffus à grandes cellules (Figure 16). La mutation la plus fréquente survient sur l'exon 5 du gène *MYD88* : c.794T>C, consiste en une substitution d'une thymine par une cytosine

entraînant le remplacement d'une leucine en proline sur la position 265 (L265P) de la séquence protéique. Celle-ci modifie la structure tridimensionnelle de la protéine au niveau du domaine TIR entraînant la formation du complexe avec IRAK1 et IRAK4 sans régulation en aval. Ceci résulte à une activation du facteur de transcription NF- κ B de manière constitutive et entraîne ainsi la survie et la prolifération des cellules tumorales (89).

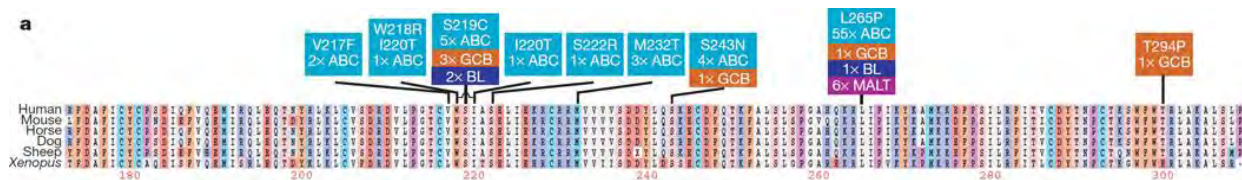


Figure 16 : Mutations récurrentes dans les DLBCL sur la séquence d'acides aminés de la protéine MYD88 (3).

En 2018, la fréquence d'apparition de la mutation *MYD88* L265P a été étudiée dans les différents syndromes lymphoprolifératifs chroniques B (Figure 17) (90)

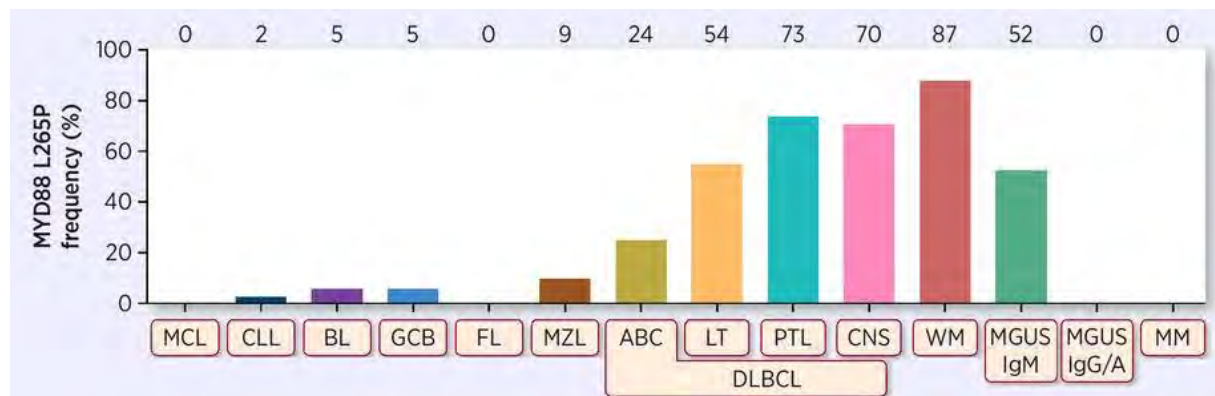


Figure 17 : Fréquence de mutation *MYD88* L265P selon les différents lymphomes (99). Lymphome à cellules du manteau ; CLL : leucémie lymphocytaire chronique ; BL : lymphome de Burkitt ; GCB : DLBCL à cellule B du centre germinale ; FL : lymphome folliculaire ; MZL : lymphome de la zone marginale ; ABC : DLBCL à cellules B activées ; LT : DLBCL cutané primitif, type jambe ; PTL : DLBCL testiculaire primitif ; CNS : DLBCL du système nerveux central ; WM : macroglobulinémie de Waldenström ; MGUS : gammopathie monoclonale sans signe de gravité ; MM : myélome multiple (90).

Cette étude met en évidence la présence de la mutation *MYD88* L265P principalement dans les lymphomes ayant pour origine cellulaire les lymphocytes B activés.

Cette mutation est identifiée dans 95% des cas de LPL mais également dans la LLC (5% des cas) ou le LZM (5% des cas) et également dans les MGUS (50 à 80% des cas). Elle a également été retrouvée dans de nombreux cas de DLBCL dont les origines ganglionnaires sont très hétérogènes. Cependant on retrouverait un point commun chez toutes ces pathologies à *MYD88* muté. Elles auraient toutes comme origine une cellule B mémoire post-CG (91) (92) (93) (94) (9) (95).

3. Etude fonctionnelle de la mutation *MYD88 L265P* dans la MW (Figure 18)

Des études ont montré qu'en présence d'inhibiteurs d'homodimérisation de MYD88 et d'inhibiteurs d'IRAK1/4, l'activation de la voie NFκB est diminuée (60) (61).

Sur les cellules mutées *MYD88 L265P*, une inhibition de MYD88 a entraîné une diminution de la phosphorylation IκBα et de leur survie (96). A l'inverse une surexpression de la forme mutée augmente la survie cellulaire. Durant ces études, une augmentation de la phosphorylation de la tyrosine kinase de Bruton (BTK) a été mise en évidence, et est décrite comme co-effectrice de MYD88, dans les cellules *MYD88 L265P*. Le rôle de la BTK a été initialement décrit dans un déficit immunitaire rare caractérisé par un blocage des cellules B à un stade pré B et est également impliquée dans la transduction du signal de la voie des TLR (97).

La protéine adaptatrice mutée *MYD88 L265P* interagit également avec TRAF6 et forme un complexe avec IRAK conduisant à l'activation de la kinase TAK1 qui permet ensuite une activation constitutive de la voie NFκB. Ce phénomène entraîne une augmentation de la synthèse des cytokines pro-inflammatoires IL6 et d'IL10. Une inhibition de TAK1, par l'5Z-7-oxozeaenol, montre un blocage de cette voie ainsi qu'une diminution de la prolifération, de la survie cellulaire et de la sécrétion de cytokines (98).

La surexpression de la kinase hématopoïétique (HCK) est également induite pour la mutation *MYD88 L265P*. Celle-ci appartient à la famille des kinases Src et joue un rôle dans l'activation d'autres voies de signalisation intracellulaire (PI3K (Phosphatidylinositol 3 kinase) /AKT (Protéine kinase B) ou MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) /ERK (Extracellular signal-regulated kinases)) (99) (100). Un inhibiteur d'HCK (A416259) est connu pour présenter une activité anti-proliférative dans la MW (101).

Une surexpression constitutive du facteur de transcription Sp1 (Specificity Protein 1) est démontrée dans la MW. Un traitement par inhibiteur de Sp1 entraîne une diminution de l'expression de BTK (102).

Pour résumé, *MYD88 L265P* entraîne l'activation de la voie de signalisation NFκB via différents processus et participe ainsi à l'augmentation de la survie et de la prolifération des cellules mutées. De plus l'identification de mutations de *MYD88* dans les MGUS suggère que ces mutations sont à considérer comme un évènement primaire.

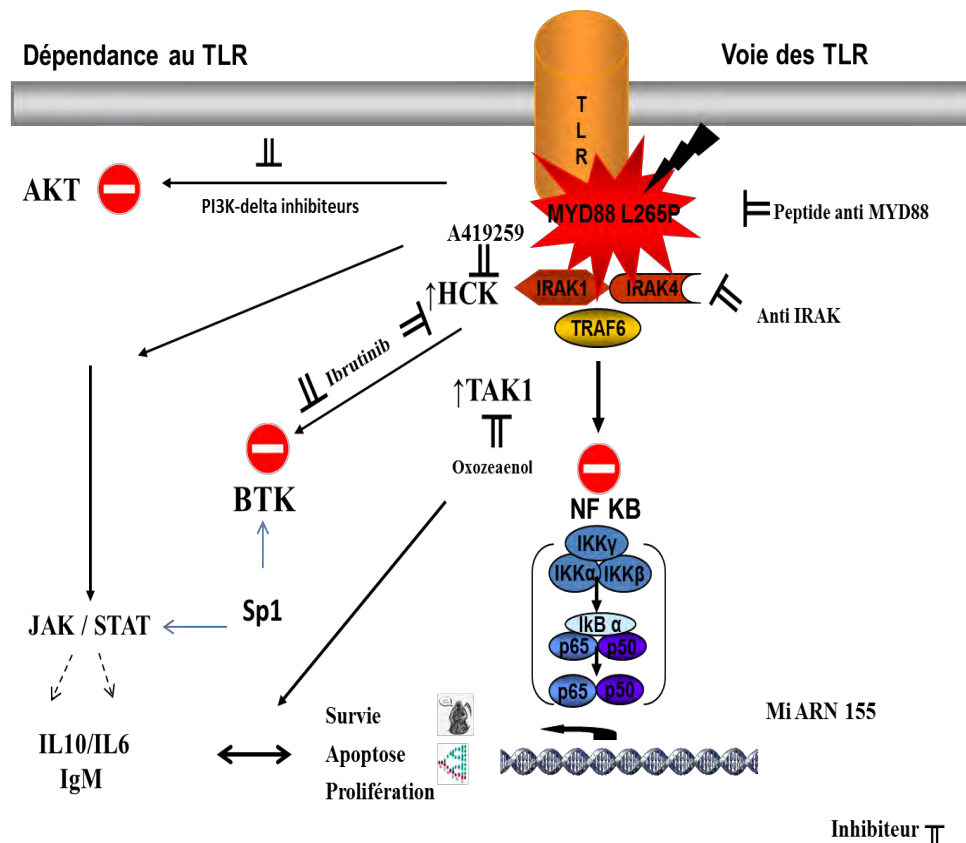


Figure 18 : Rôle de la mutation *MYD88 L265P* dans la MW (103)

4. Etude fonctionnelle de la mutation *MYD88 L265P* dans d'autres LNH

a. Lymphome B diffus à grandes cellules

Plusieurs études ont mis en évidence une fréquence élevée de la mutation *MYD88 L265P* dans les LDGCB. Souvent présente à l'état hétérozygote, elle est trouvée chez 29% des sujets atteints de LDGCB à cellule B activée (type ABC) (3), 36% des LDGCB du système nerveux central (104) et 69% des LDGCB primitifs cutanés de la jambe (91). Il est à noter que l'expression d'IgM est un marqueur de certains LDGCB (105). Les LDBGC agressifs mutés *MYD88* montrent souvent une morphologie associée à une différenciation plasmocytaire et expriment le marqueur de différenciation plasmocytaire IRF4. L'expression de la protéine *MYD88* intracytoplasmique a également été étudiée, celle-ci est surexprimée dans 39% des cas alors que la mutation était présente chez seulement 6,5% des sujets de l'étude. La surexpression est associée à l'âge avancé des patients, à des rechutes majoritaires et à une survie plus courte, mais n'est pas significativement associée à la présence de la mutation *MYD88 L265P* (106). Les modèles murins montrant une activation continue de *MYD88* dans le lignage B développe des lymphomes B agressifs similaires au LDBGC-ABC (107) (108) (109).

b. Leucémie lymphoïde chronique

La mutation *MYD88 L265P* a été identifiée chez 2,9% de patients atteints de LLC. Les patients mutés sont plus jeunes et à un stade plus avancé de la maladie. Cependant, il n'existe pas de différences significatives au niveau de la survie et de la progression (110).

La présence de cette mutation est significativement associée au statut muté des *IGVH*. De plus, tous les patients mutés *MYD88 L265P* présentent une délétion 13q au caryotype (111).

c. Lymphome de la zone marginale

Selon les études, la mutation *MYD88 L265P* est retrouvée chez 6 à 21% des patients présentant un LZM splénique (111) (112) (113) (114), 9% des patients présentant un LZM du MALT (3).

Aucun patient muté *MYD88 L265P* n'a été retrouvé sur une étude prospective de patients atteints de LZM ganglionnaire (115).

VI. Rôle de CXCR4 dans la lymphopoïèse B

1. Voie de signalisation de CXCR4

CXCR4 (ou CD184) est un récepteur transmembranaire couplé aux protéines G qui est retrouvé de façon ubiquitaire sur les cellules de l'organisme (116). Le gène codant pour CXCR4 est localisé sur le chromosome 2 en q21 (117).

CXCR4 possède un seul ligand, la cytokine chimiotactique (chimiokine) nommée CXCL12 (CXC-chemokine ligand 12) ou SDF-1 (Stromal Derived Factor-1). Cette dernière participe au recrutement des cellules CXCR4+ (et CXCR7+) dans les tissus cibles (118).

L'interaction ligand-récepteur (Figure 19) entraîne une modification de la conformation de CXCR4 et l'activation de sa protéine G se dissociant en une sous-unité α monomérique et une sous unité $\beta\gamma$ hétérodimérique.

Le monomère α inhibe la formation d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) via l'activation de l'adénylate cyclase (AC), celle-ci participe au chimiotactisme et à la prolifération cellulaire, en parallèle de l'activation de la voie de ERK1/2.

L'hétérodimère $\beta\gamma$ induit un flux calcique intracellulaire via la voie de PLC jouant un rôle dans la migration et le chimiotactisme cellulaire. Et active également la voie PI3K/AKT/mTOR (mammalian target of rapamycin) déterminante dans la survie cellulaire.

À partir de l'interaction CXCL12/CXCR7, ce dernier induit un signal via les β -arrestines, active la voie des MAPK et inhibe la signalisation aux protéines G. De plus CXCR7 entraîne un signal médié par ERK1/2 engagés dans la survie cellulaire.

A la fin de ces cascades d'activations, un phénomène de désensibilisation se déclenche. CXCR4 se découple de sa protéine G par une phosphorylation médiée par la GRK (protein-coupled receptor kinases). Les β -arrestines sont alors mobilisées et empêchent une nouvelle liaison protéine G-CXCR4 par internalisation de ce dernier dans les lysosomes.

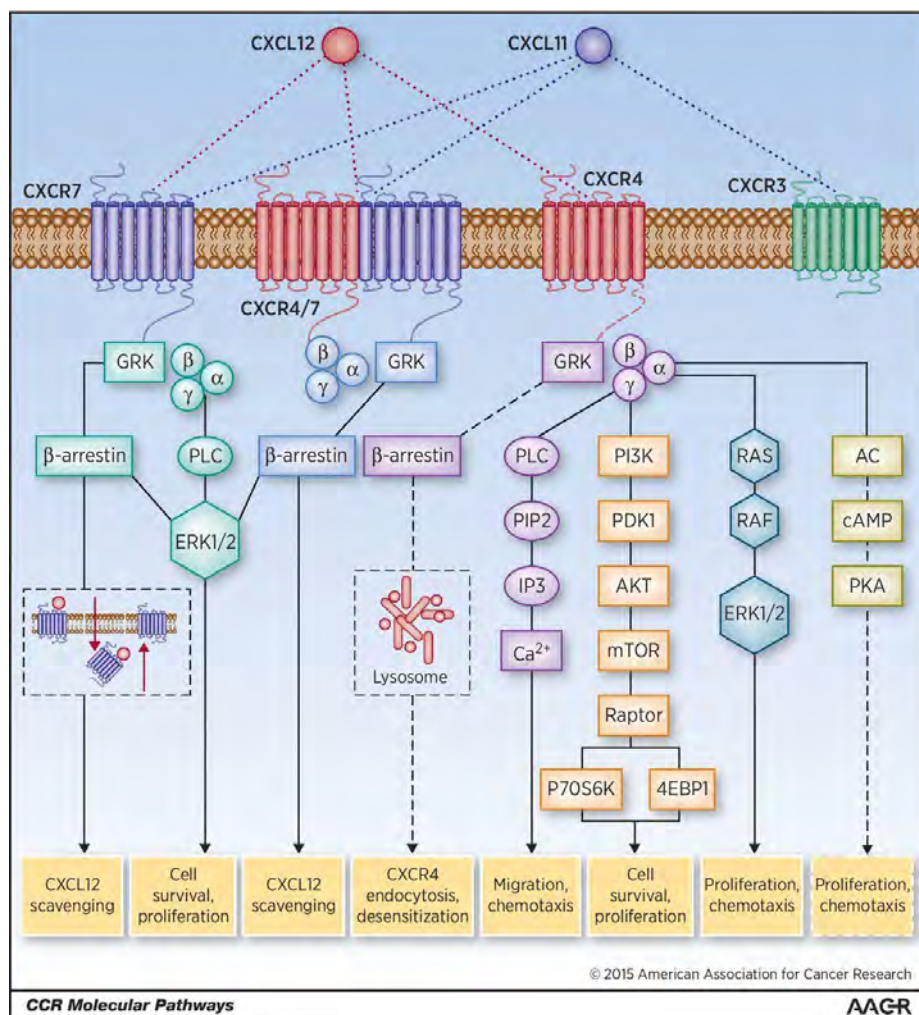


Figure 19 : La voie de transduction CXCR4-CXCL12-CXCR7 (119). Les voies activatrices sont représentées par des traits pleins, les voies inhibitrices par des lignes en pointillés.

L'interaction CXCR4-CXCL12 est un élément phare dans la domiciliation et la rétention des progéniteurs hématopoïétiques CD34+ dans la moelle, la lymphopoïèse B et les processus de réparation et régénération cellulaire (120) (121) (122). CXCL12 agit à la fois sur les lymphocytes T et B en exerçant un rôle de facteur chimiotactique (121) (123). L'axe CXCL12-CXCR4 participe au processus de maintien des précurseurs B précoces (cellules préB et proB) mais également des cellules matures tels que les plasmocytes dans des niches spécifiques allant de la moelle osseuse aux tissus lymphoïdes secondaires (121) (124). Au cours de la lymphopoïèse, CXCR4 contribue aussi à la répartition des différentes sous populations cellulaires au sein de ces mêmes niches (125).

2. Mutations de *CXCR4* et dérégulation de la voie de signalisation

Plus d'une trentaine de mutations de *CXCR4* différentes ont été identifiées à ce jour dans la MW (61). Celles-ci sont retrouvées presque exclusivement chez les patients atteints de MW et déjà porteurs de mutation *MYD88*. Cette caractéristique introduit la nature sous-clonale des mutations de *CXCR4* suggérant qu'elles seraient acquises après celles de *MYD88*. On ne rapporte que de rares cas de LZM mutés *CXCR4* (126).

Deux types de mutations de *CXCR4* sont relevés, tous deux dans le domaine C terminal. Les mutations de *CXCR4* peuvent être de type non-sens ou par décalage du cadre de lecture générant un codon stop prématurément (127).

Sur le plan clinico-biologique, les patients *CXCR4m* présentent une infiltration médullaire plus importante, un taux d'IgM plasmatique plus élevé et d'avantage de syndrome d'hyperviscosité. Les mutations de *CXCR4* ne présentent cependant pas de risque pronostique (61). Les mutations de *CXCR4* peuvent être considérées comme des mutations à gain de fonction car ces mutations entraînent le maintien du récepteur à la surface des cellules (103). La voie de signalisation de *CXCR4* est alors activée de manière constitutive. Les voies en aval des MAPK, PI3K et de BTK ont ainsi été trouvées activées chez les patients *CXCR4m*. (63) (128).

VII. Prise en charge thérapeutique de la MW

1. Critères de traitements

Les critères de traitement sont définis selon le Second International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia (129). Ils associent des critères biologiques et cliniques (Tableau 2).

Au diagnostic, 25% des patients sont asymptomatiques. Une surveillance est alors recommandée sachant que la MW peut rester stable plusieurs années. Pour environ 10% des patients, une prise en charge n'est pas nécessaire dans les 10 ans qui suivent le diagnostic (130).

Critères cliniques	Critères biologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Fièvre récurrente, sueur nocturne, perte de poids, fatigue - Syndrome d'hyperviscosité - Adénopathie symptomatique ou volumineuse (≥ 5 cm de diamètre maximum) - Hépatomégalie et/ou splénomégalie symptomatiques - Organomégalie symptomatique et/ou infiltration d'un organe ou d'un tissu - Neuropathie périphérique due à la MW 	<ul style="list-style-type: none"> - Cryoglobulinémie symptomatique - Anémie à agglutinine froide - Anémie hémolytique auto-immune et/ou thrombopénie - Néphropathie liée à la MW - Amyloïdose liée à la MW - Hémoglobine ≤ 10 g/dL - Taux de plaquette < 100 G/L

Tableau 2 : Critères d'initiation du traitement chez les patients atteints de MW (129).

2. Traitements de première ligne

Cependant certains patients asymptomatiques au diagnostic évoluent et certains patients sont directement symptomatiques au diagnostic. La mise en place d'un traitement est alors nécessaire. Le rituximab, anticorps monoclonal chimérique dirigé contre la molécule de surface CD20, constitue l'élément central du traitement (131). Le CD20 étant un marqueur spécifique des lymphocytes B dès le stade pré-B jusqu'au lymphocyte mûr, il représente une cible idéale pour les traitements des SLPC-B. Son utilisation est recommandée en association avec d'autres molécules afin d'augmenter le taux de réponse.

L'association de choix actuelle est composée du rituximab, de cyclophosphamide et de la dexaméthasone (DRC) (132). Le cyclophosphamide est un agent alkylant qui interagit en formant des liaisons covalentes sur l'ADN (Acide désoxyribonucléique) de cellules engagées dans un cycle mitotique. La dexaméthasone est un puissant corticoïde utilisé principalement pour son effet immunosuppresseur et anti-inflammatoire. Cette association est bien tolérée et atteint un taux de réponse globale (incluant les réponses complètes, partielles et mineures) de 83% (133). La bendamustine, autre agent alkylant, peut également être associé au rituximab en première ligne ainsi que pour les patients déjà précédemment traités (134).

Diverses autres molécules ont également prouvées leur efficacité. Le bortézomib, inhibiteur du protéasome (PI), substituant le cyclophosphamide dans l'association DRC a montré un taux de

réponse majeure de 68% (135). La fludarabine et la cladribine, analogues nucléosidiques des bases puriques peuvent également être utilisées. La fludarabine associée au rituximab a montré un taux de réponse globale de 95% (136).

La plasmaphérèse est utilisée chez les patients symptomatiques associant un syndrome d'hyperviscosité et/ou une forme sévère de syndrome des agglutinines froides ou de cryoglobulines (137).

3. Nouvelles approches thérapeutiques.

La fréquence élevée de mutation *MYD88* au sein des patients atteints de MW a mis en évidence de nouvelles cibles thérapeutiques. Il est probable que le traitement de la MW puisse être amélioré en ciblant les voies de signalisation de MYD88 (Figure 20).

Parmi ceux-ci, l'inhibition du BTK est le plus développé. L'ibrutinib est déjà approuvé pour le traitement des patients symptomatiques. Il n'est cependant pas curatif de la MW, et la prochaine étape logique est d'utiliser les inhibiteurs de BTK (BTK-I) en combinaison avec d'autres agents (138).

L'inhibition de l'IRAK et de l'HCK s'est avérée prometteuse sur le plan préclinique, mais aucune donnée clinique n'est disponible pour le moment (138).

D'autres options thérapeutiques seraient envisageable telles que la thérapie dirigée contre CXCR4 (Figure 20). L'ulocuplumab est un anticorps monoclonal IgG humain qui a montré une efficacité préclinique dans le traitement de la LLC (139). Celui-ci est dirigé directement contre CXCR4. Une combinaison ulocuplumab-ibrutinib pourrait avoir une synergie intéressante chez les patients atteints de MW avec un statut *CXCR4m*.

Des études ont montré une certaine efficacité des inhibiteurs de PI3K (copanlisib, duvelisib), protéine impliquée dans voie de signalisation de CXCR4, dans différents SLPC-B (140) (141).

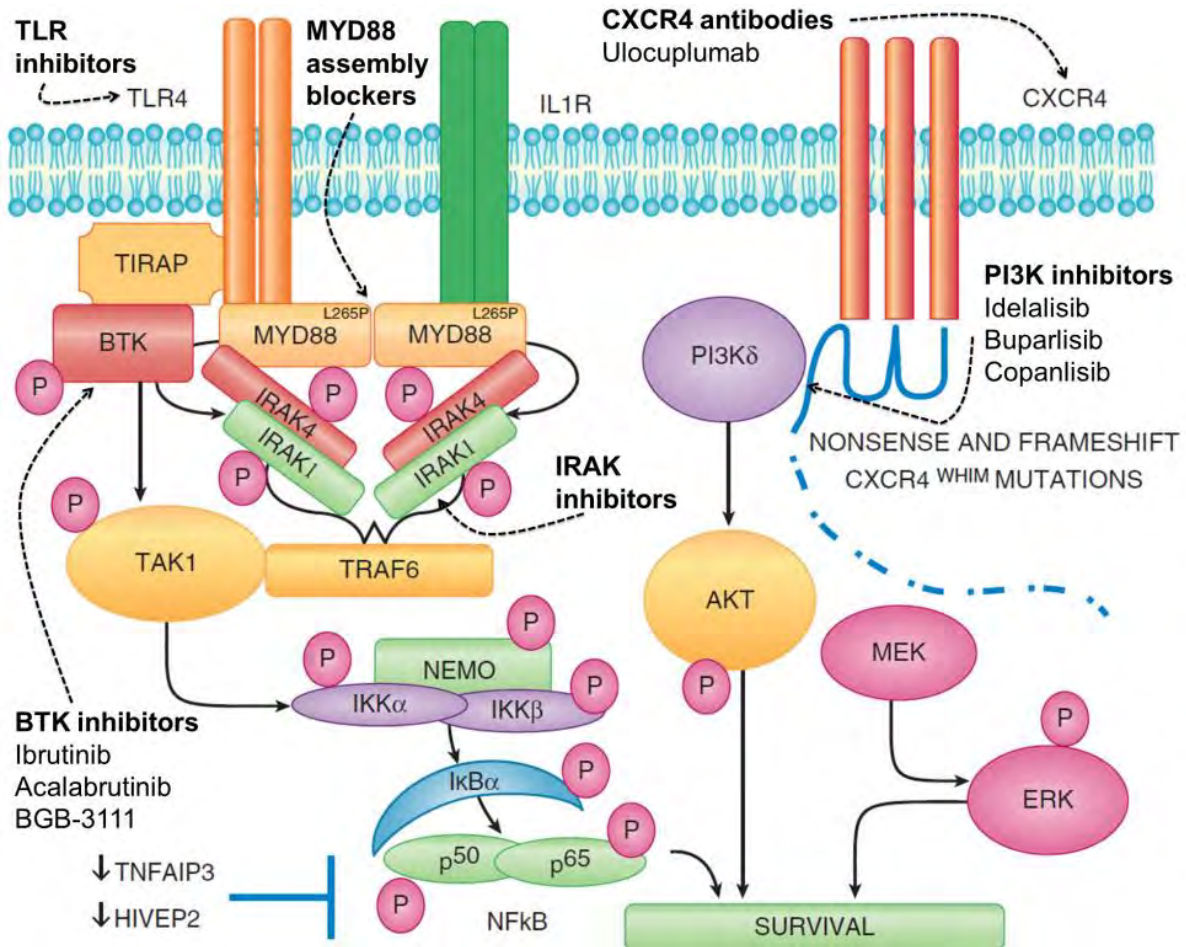


Figure 20 : Différentes approches thérapeutiques de la MW ciblant les voies de signalisation de MYD88 et CXCR4 (138).

4. Approche thérapeutique de la MW selon le statut mutationnel des patients

L'étude des mutations de *MYD88* et *CXCR4* dans la MW a porté un intérêt au développement des médicaments, tels que les BTK-I et anti-CXCR4. Les réponses aux traitements couramment et nouvellement étudiés pour traiter la MW, sont affectées par le statut mutationnel de *MYD88* et/ou *CXCR4*. Ainsi des algorithmes décisionnels ont été établis selon les résultats de nombreuses études comparatives afin de guider les cliniciens dans la prise en charge des patients symptomatiques (Figure 21).

Pour les patients *MYD88m* et *CXCR4wt*, l'ibrutinib, BTK-I s'est avéré peu convaincant chez les patients symptomatiques atteints d'amylose (142). Les associations rituximab-bendamustine (Benda-R) (143) et DRC sont ainsi des alternatives pour les patients très symptomatiques (144). Un traitement par PI peut être utilisé en cas de neuropathies liées à la maladie ou au traitement initial (145).

Pour les patients à double mutation *MYD88* et *CXCR4*, le traitement doit tenir compte de la nécessité d'obtenir une réponse rapide ou non (61). Le rituximab devrait être évité chez les patients ayant un taux d'IgM supérieur à 4 g/L (132), au profit de la plasmaphérèse. Pour les patients nécessitant une réponse rapide, la bendamustine ou un traitement à base de PI peuvent être envisagés. Pour les autres patients, l'association BTK-I - rituximab obtient une réponse majeure plus rapide que l'ibrutinib seul (146) (147).

Pour les patients au statut mutationnel sauvage *MYD88* et *CXCR4*, l'association Benda-R ou une thérapie à base de PI peuvent être envisagées avec de bonnes réponses attendues (148) (149). L'association DRC reste une alternative en cas d'intolérance.

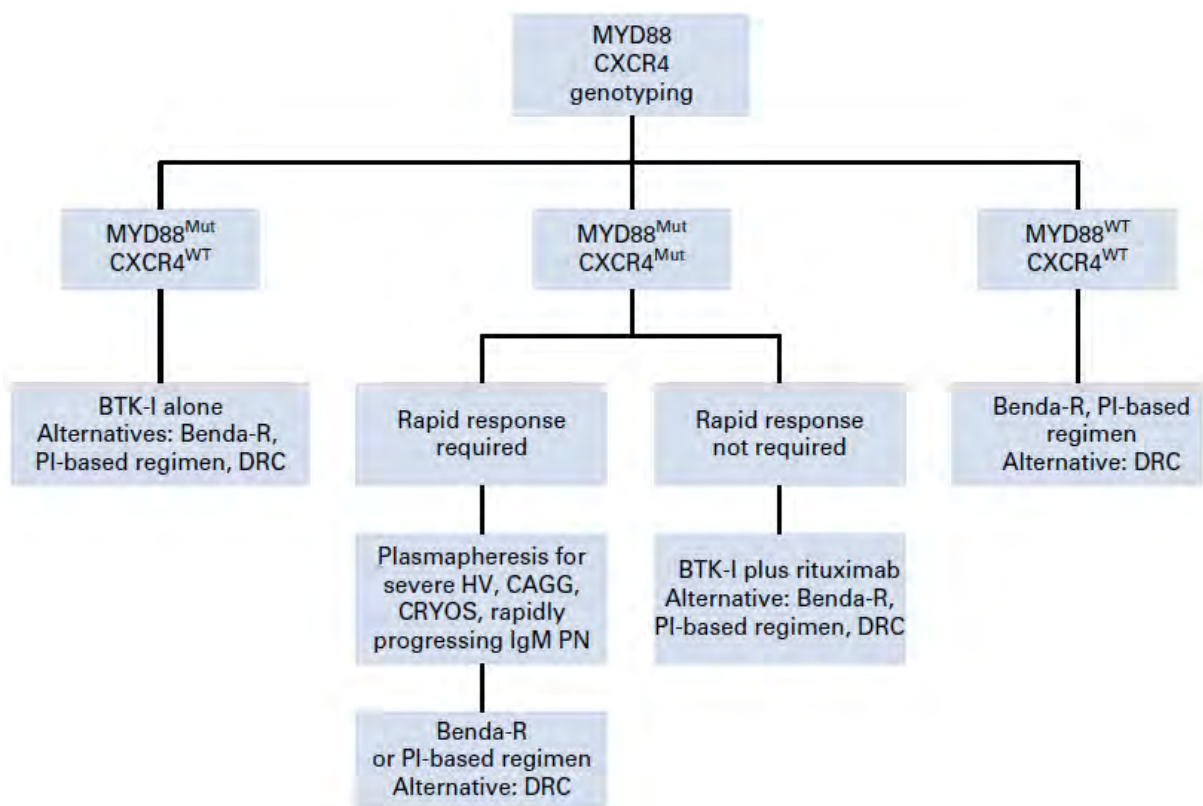


Figure 21 : Algorithme décisionnel du traitement des patients symptomatiques et naïfs atteints de la MW, basé sur le statut mutationnel *MYD88* et *CXCR4* (134)

OBJECTIF DE LA THESE :

Notre hypothèse de travail est que les lymphomes mutés pour *MYD88* partagent des caractéristiques permettant de les regrouper en une entité physiopathologique distincte.

Afin de tester notre hypothèse, nous avons réalisé une étude rétrospective chez les patients atteints de lymphome et pour lesquels une recherche de la mutation *MYD88* a été réalisée. A partir de cette cohorte, nous avons séparé les patients selon leur statut mutationnel *MYD88*, muté ou sauvage, indépendamment du diagnostic hématologique initial. Une étude comparative des deux groupes a permis d'identifier des caractéristiques phénotypiques et biologiques propres aux lymphomes mutés *MYD88*. De plus, nous avons également réalisé cette étude en comparant avec le statut *CXCR4* muté des patients atteints de MW.

B. Patients et méthode

I. Patients

Entre le 1^{er} janvier 2014 et le 31 décembre 2020, la recherche de la mutation *MYD88 L265P* a été réalisée chez 163 patients. Parmi ceux-ci, 102 ont été diagnostiqués *MYD88 L265P* et suivis au CHU de Toulouse et ont bénéficié d'un immunophénotypage du clone lymphomateux. Le diagnostic retenu pour chaque patient est celui qui est validé au cours des réunions de concertation pluridisciplinaire. Les données biologiques au diagnostic ont été colligées : hémogramme (taux d'hémoglobine, volume globulaire moyen, numérations des globules blancs, plaquettaire et lymphocytaire), morphologie des lymphocytes, électrophorèse des protéines sériques avec quantification du pic monoclonal si présent, taux de la β 2-microglobuline, créatininémie et DFGe (débit de filtration glomérulaire estimé) selon le CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology), cytologie médullaire et caryotype.

II. Recherche de la mutation *MYD88 L265P* et *CXCR4*

La première étape vise à isoler les cellules mononuclées des prélèvements médullaires par gradient de densité (Ficoll). Les cellules sont ensuite lysées et une extraction d'ADN est réalisée. Les ADN doivent ensuite être dilués à 150ng/ μ L. Les librairies sont préparées selon le protocole d'AmpliSeq (Agilent) avec des amorces spécifiques permettant d'amplifier l'exon 2 de *CXCR4* et l'exon 5 de *MYD88*.

Plusieurs étapes d'amplification et de purification sont nécessaires pour la préparation des librairies. Celles-ci sont ensuite séquencées sur le MiSeq (Illumina). Les mutations sont identifiées par les variant caller FreeBayes et Mutect2. La sensibilité de la technique AmpliSeq est calculée en fonction de la fréquence allélique du control négatif (PBL) (bruit de fond). Les mutations sont rapportées lorsque la fréquence allélique est supérieure à 3 fois la fréquence allélique du contrôle négatif.

III. Immunophénotypage

Un volume de 100 µL de sang total EDTA (Ethylène Diamine Tétra-Acétique) est additionné à un mélange d'anticorps couplés à des fluorochromes et incubé à température ambiante pendant 30 minutes à l'abri de la lumière. Puis, ce mélange est centrifugé 5 minutes à 1500 tours/minutes. L'ajout de 2 mL de tampon de lyse au culot cellulaire permet de lyser les globules rouges. Ce tampon est obtenu en diluant au 1/10ième la solution BD FACS lysing solution 10X. Le culot cellulaire et la solution de lyse sont incubés 10 minutes à l'abri de la lumière à température ambiante, puis centrifugés 5 minutes à 1500 tours/minutes. Puis, 2 mL de Cell Wash sont ajoutés au culot cellulaire et une nouvelle centrifugation est effectuée dans les mêmes conditions que précédemment. Les cellules lavées sont remises en suspension dans 250 µL de Cell Wash. L'acquisition est réalisée sur au moins 40 000 évènements sur un cytomètre NAVIOS® (BECKMAN COULTER®), puis l'analyse des données est effectuée à l'aide du logiciel Kaluza®.

IV. Statistiques

Les comparaisons ont été effectuées à l'aide du test de Mann-Whitney ou du test de Kruskal-Wallis pour les variables continues et du test exact de Fisher pour les variables catégorielles avec GraphPad Prism. Les résultats des tests statistiques sont exprimés graphiquement : * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

V. Caractéristiques de la cohorte

Au moment de la recherche de mutation *MYD88 L265P* au laboratoire du CHU de Toulouse, un total de 163 patients a été étudié pour un âge moyen de 74 ans [33-99 ans]. Il existe une prédominance masculine avec un sex-ratio de 2,13.

L'immunophénotypage lymphocytaire a été réalisé sur 56 prélèvements sanguins et 107 prélèvements médullaires.

C. Résultats

I. Les lymphomes B *MYD88* mutés

Au total, nous avons étudiés 163 patients diagnostiqués avec un lymphome B. Etat défini par une population lymphocytaire clonale représentant au moins 1% des lymphocytes totaux par cytométrie en flux. Parmi cette population, nous avons établi deux groupes en séparant les patients mutés *MYD88m* (n=102) et les patients non mutés *MYD88wt* (n=61).

Parmi les patients testés, la mutation *MYD88 L265P* a été retrouvée à hauteur de 77% dans les LPL (n=98), 23% dans les LDGCB (n=22), 22% dans les LZM (n=9), 10% dans les LLC (n=10) et aucune dans les LCM (n=1) (Figure 22).

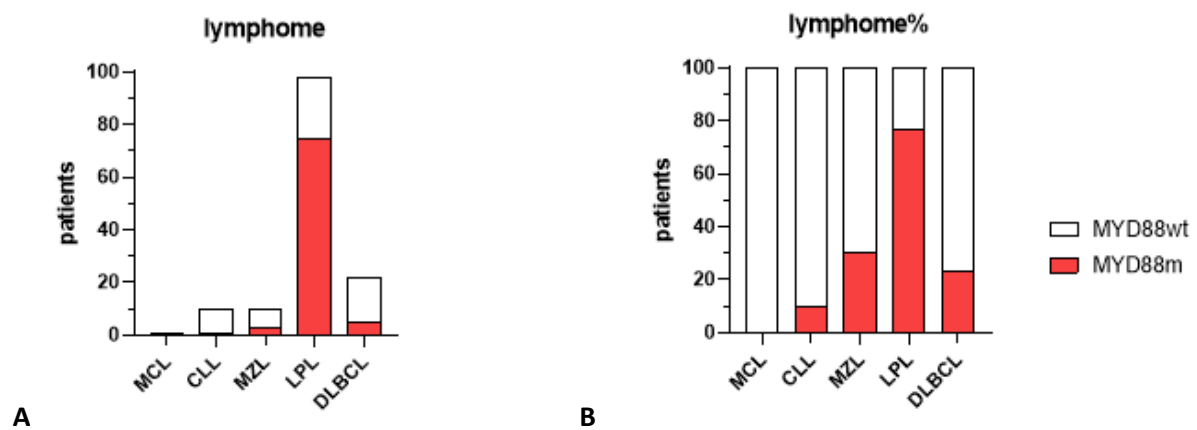


Figure 22 : Histogrammes représentant la répartition (A) et la proportion (B) des patients étudiés selon le lymphome diagnostiqué et le statut mutation *MYD88* (MCL : Lymphome à cellule du manteau, CLL : Leucémie lymphoïde Chronique, MZL : Lymphome de la zone marginale, LPL : Lymphome lympho-plasmocytaire, DLBCL : Lymphome B diffus à grande cellule).

Au diagnostic, la mutation *MYD88* ne corrèle pas avec l'âge des patients et la taille du pic monoclonal, s'il était retrouvé à l'EPP (Figure 23).

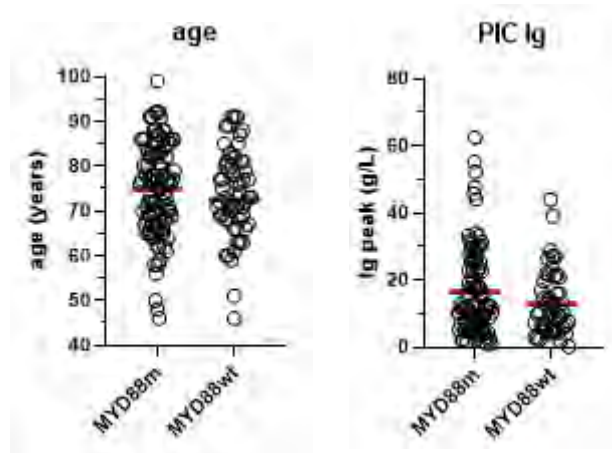


Figure 23 : Histogrammes représentant la distribution de l'âge (à gauche) et la quantification du pic d'immunoglobuline (à droite) selon le statut mutationnel *MYD88* des patients.

Parmi les valeurs de la numération, le taux d'hémoglobine est significativement plus diminué chez les patients *MYD88m* par comparaison aux patients *MYD88wt* (respectivement 10,5g/dL vs 11,9g/dL ; $p=0,0004$). La comparaison du nombre de plaquettes, de leucocytes et de lymphocytes ne montre pas de différences entre les 2 conditions (Figure 24).

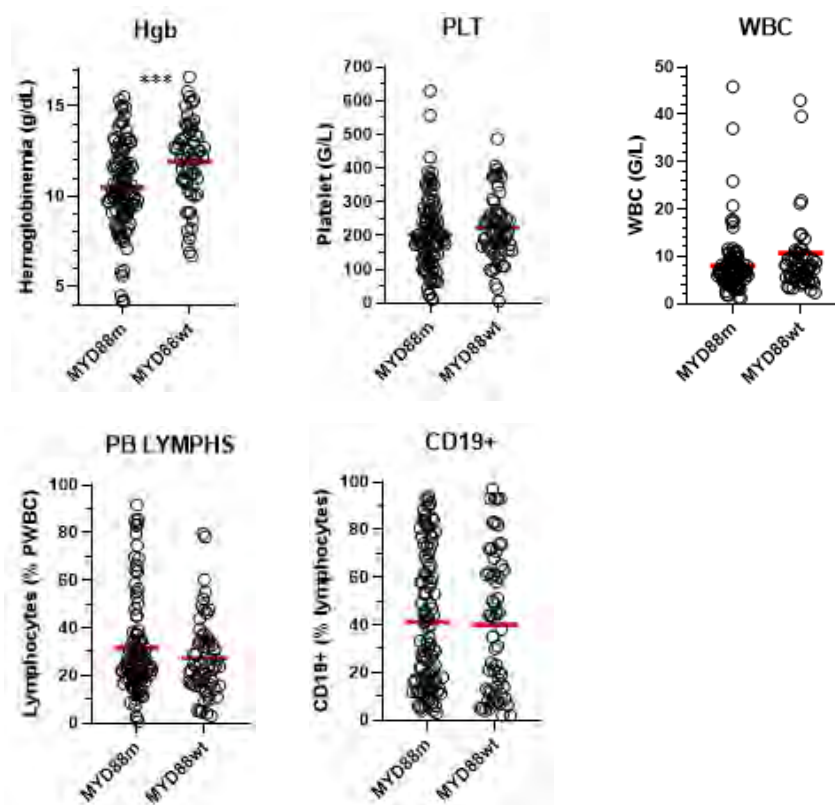


Figure 24 : Histogrammes représentant de gauche à droite la répartition des taux d'hémoglobine (Hgb), de plaquettes (PLT), de leucocytes (WBC), de lymphocytes parmi les leucocytes (PB LYMPHS) et de lymphocytes CD19+ parmi les lymphocytes (CD19+) selon le statut mutationnel *MYD88* des patients.

Pour les analyses médullaires (Figure 25), il est retrouvé un pourcentage significativement plus élevé de lymphocytes chez les patients *MYD88m* (moyennes à 36,3% vs 24,7% ; $p=0,0051$) suggérant un

tropisme médullaire de ceux-ci. De plus, la présence de mastocytes est plus souvent détectée dans les prélèvements médullaires des patients *MYD88m* (34% vs 18%) sans atteindre la significativité statistique ($p=0,067$).

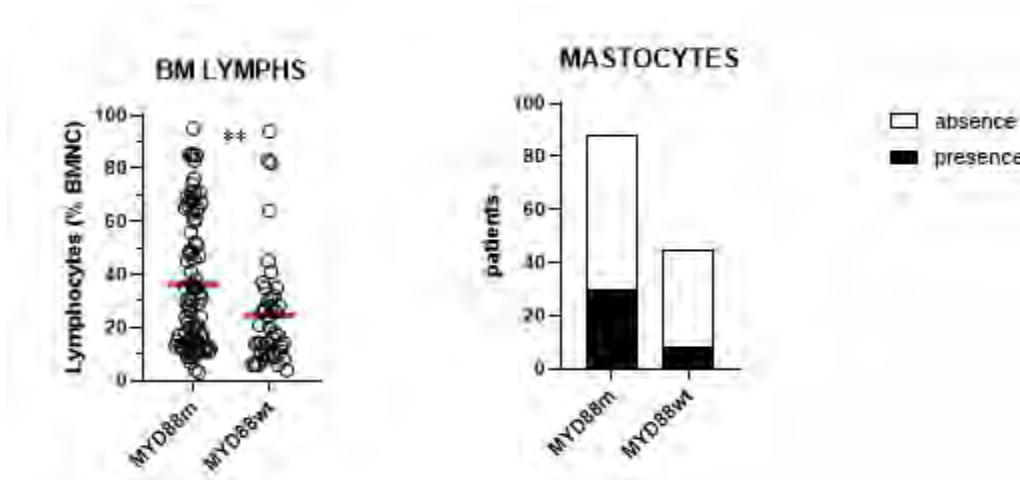


Figure 25 : Histogrammes représentant la répartition de lymphocytes médullaires (BM LYMPHS) (à gauche) et la présence de mastocytes à la lecture du myélogramme (à droite) selon le statut mutationnel *MYD88* des patients.

L'étude des marqueurs phénotypiques du score de Matutes (Figure 26) révèle une diminution d'expression du CD5 (moyennes à 17,0 vs 29,3 ; $p = 0,012$) et du CD23 (27,7 vs 44,4 ; $p = 0,0007$) chez les patients *MYD88m*, mais aussi une expression plus forte du CD79b (83,7 vs 62,4 ; $p < 0,0001$) et de l'immunoglobuline de surface (86,8 vs 50,2 ; $p = 0,00670.01$). Ainsi, nous avons dans le groupe des patients *MYD88m* un score de Matutes plus fréquemment à 1 ou 2, tandis que dans le groupe de patients non mutés, un score égal à 3 est majoritaire.

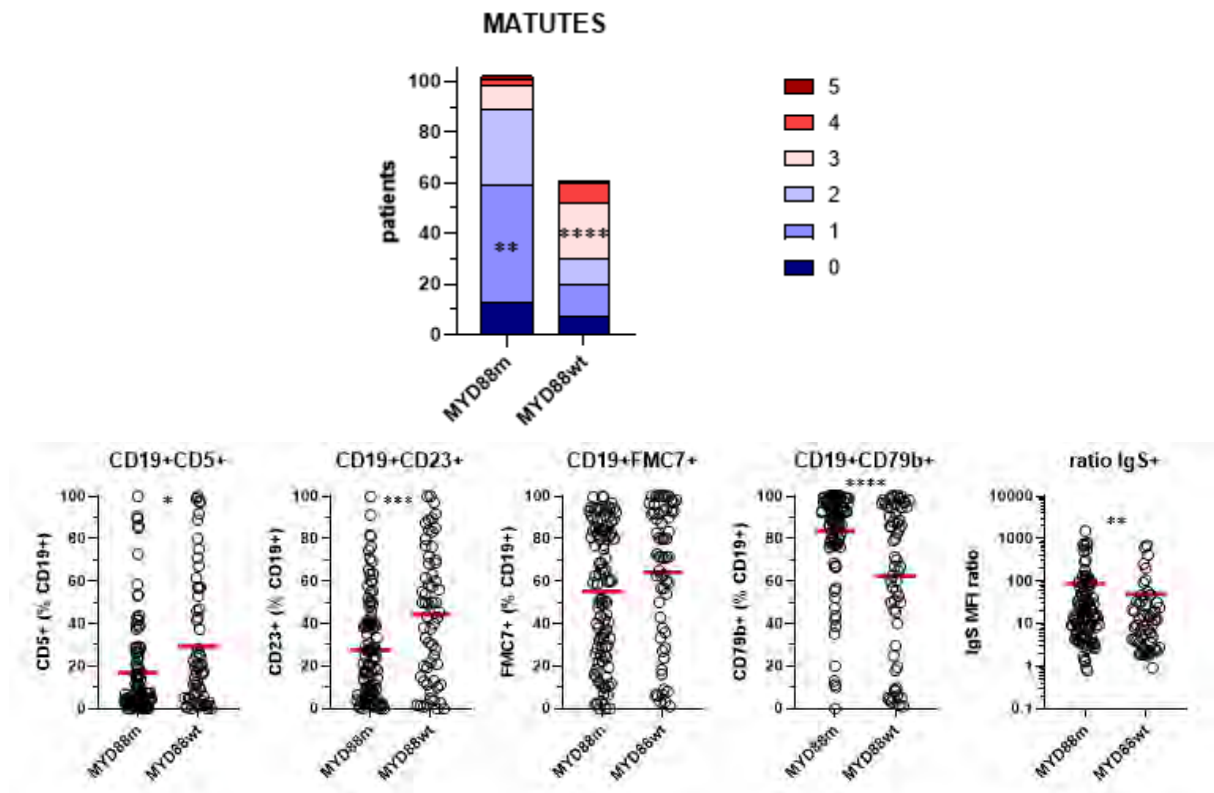


Figure 26 : Histogrammes représentant la répartition du score de Matutes suivi de ses paramètres ; de gauche à droite : la répartition des taux de lymphocytes CD19+CD5+, CD19+CD23+, CD19+FMC7+, CD19+CD79b+, parmi les lymphocytes CD19+ et le ratio des immunoglobulines de surface selon le statut mutationnel *MYD88* des patients.

Nous avons également investigué d'autres marqueurs phénotypiques couramment utilisés dans le typage des lymphomes B. Les patients *MYD88m* ont des niveaux d'expression plus élevés de CD10 (8,4 vs 3,4 ; $p=0,0016$), CD200 (53,6 vs 41,1 ; $p=0,027$) et CD43 (33,1 vs 28,1 ; $p=0,022$). Les marqueurs ROR et CD180 ne présentent pas d'expression significativement différente entre les 2 groupes (Figure 27).

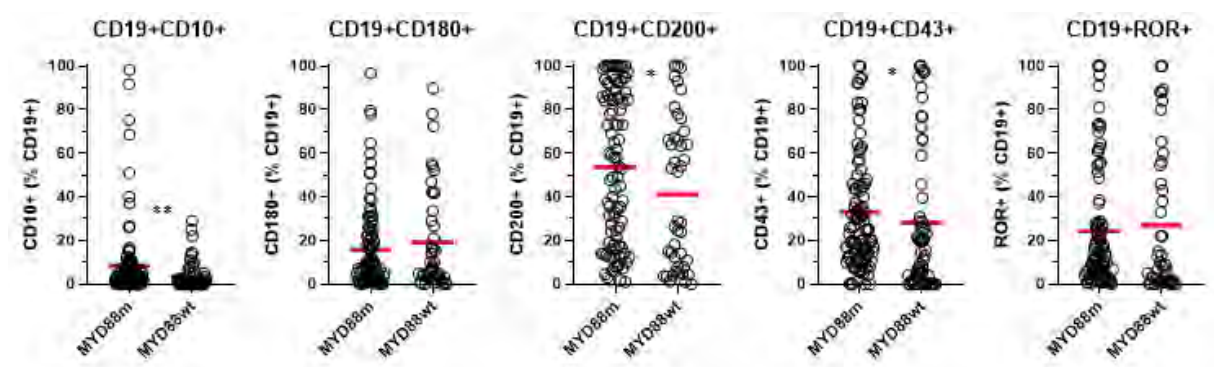


Figure 27 : Histogrammes représentant de gauche à droite la répartition des taux de lymphocytes CD19+CD10+, CD19+CD180+, CD19+CD200+, CD19+CD43+ et CD19+ROR+ parmi les lymphocytes CD19+ selon le statut mutationnel *MYD88* des patients.

II. Les lymphomes B avec un pic à IgM

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés aux lymphomes pour lesquels un pic à IgM avait été quantifié à l'EPP. Ceux-ci représentent la majorité des lymphomes testés dans notre étude (n=117 soit 71,8% de la cohorte) et constituent un challenge diagnostique au laboratoire d'hématologie du CHU de Toulouse. Parmi ces patients, nous avons distingué les patients *MYD88m* (n=84) et les patients *MYD88wt* (n=33).

Parmi ces lymphomes à pic IgM, nous retrouvons une grande majorité de LPL (n=80) avec un taux de mutation *MYD88 L265P* de 80%. Suivi des LZM (n=5) mutés à 20%, LDGCB (n=7) muté à 43%. Les patients atteints de LLC (n=4) et LCM (n=1) conservent un génotype sauvage (Figure 28).

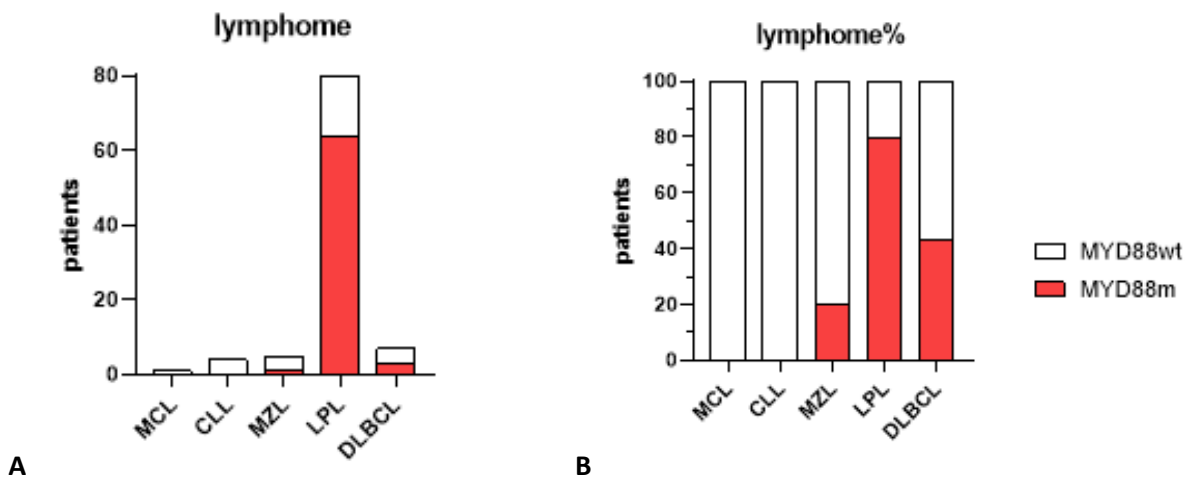


Figure 28 : Histogrammes représentant la répartition (A) et la proportion (B) des patients étudiés selon le lymphome diagnostiqué et le statut mutationnel *MYD88*.

Sur cette nouvelle cohorte, nous retrouvons les mêmes résultats statistiques que sur la précédente. A savoir, il n'y a pas de différence significative concernant sur l'âge des patients, la taille du pic d'immunoglobuline, le taux de plaquettes, de globules blancs, de lymphocytes circulants et de lymphocytes CD19+ (Figures 29 et 30). Le taux d'hémoglobine est toujours statistiquement inférieur chez les patients *MYD88m* (10,3 vs 11,9 ; p=0,0015) (Figure 30).

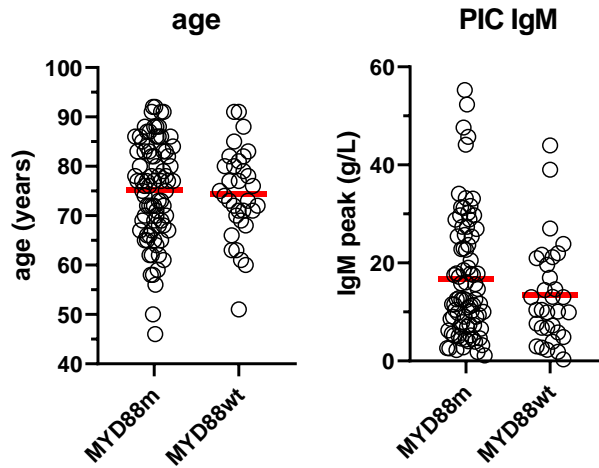


Figure 29 : Histogrammes représentant la distribution de l'âge (à gauche) et de la quantification du pic d'immunoglobuline M (à droite) selon le statut mutationnel *MYD88* des patients.

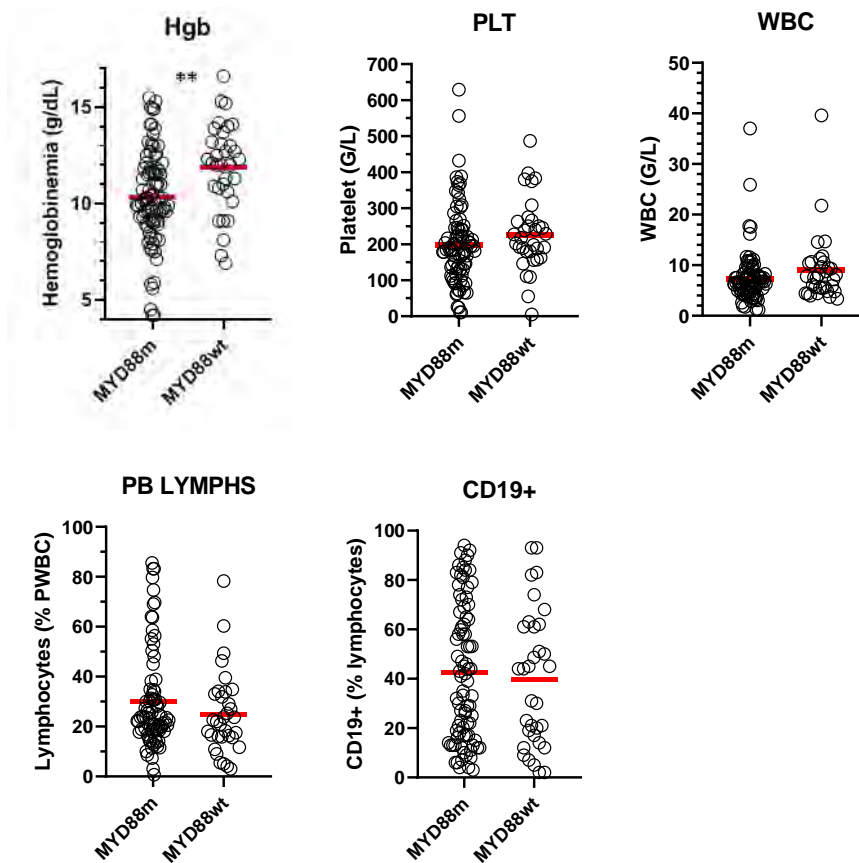


Figure 30 : Histogrammes représentant de gauche à droite : la répartition des taux d'hémoglobine (Hgb), de plaquettes (PLT), de leucocytes (WBC), de lymphocytes parmi les leucocytes (PB LYMPHS) et de lymphocytes CD19+ parmi les lymphocytes (CD19+) selon le statut mutationnel *MYD88* des patients.

Sur les prélèvements médullaires, nous ne retrouvons plus de différence significative de la numération des lymphocytes. Les mastocytes sont toujours plus souvent détectés sur les

myélogrammes des patients *MYD88m* (36% vs 19%) mais sans atteindre la significativité statistique ($p=0,097$) (Figure 31).

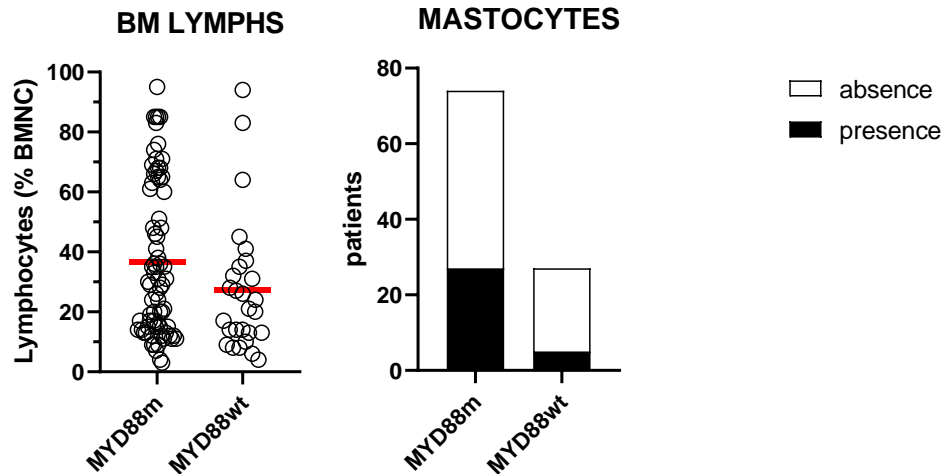


Figure 31 : Histogrammes représentant la répartition de lymphocytes médullaires (à gauche) et la présence de mastocytes à la lecture du myélogramme (à droite) selon le statut mutationnel *MYD88* des patients.

Sur les analyses des marqueurs phénotypiques de Matutes, nous retrouvons les mêmes proportions avec une diminution d'expression des marqueurs CD5, CD23 et FMC7 chez les patients *MYD88m*, tandis que CD79b (86,6 vs 57,9 ; $p=0,01$) et les immunoglobulines de surfaces (82,2 vs 45,8 ; $p=0,003$) sont d'avantages exprimés (Figure 32), pour aboutir à un score majoritaire de 1 chez les patients *MYD88m* ($p=0,02$) et de 3 chez les patients *MYD88wt* ($p=0,0002$).

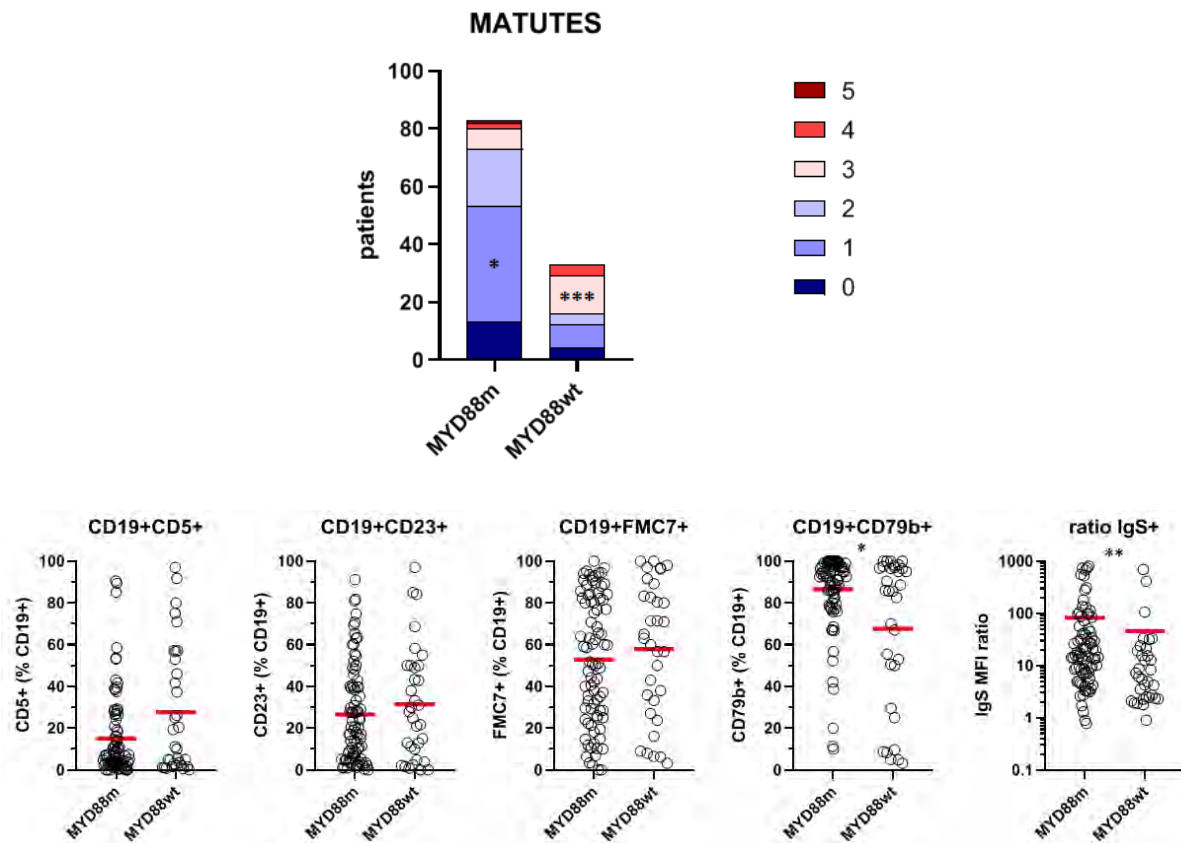


Figure 32 : Histogrammes représentant la répartition du Matutes suivi de ses paramètres ; de gauche à droite : la répartition des taux de lymphocytes CD19+CD5+, CD19+CD23+, CD19+FMC7+, CD19+CD79b+, parmi les lymphocytes CD19+ et le ratio des immunoglobulines de surface selon le statut mutationnel *MYD88* des patients.

Concernant les autres marqueurs membranaires (CD10, CD180, CD200, CD43, ROR), nous n'avons pas retrouvé de différence d'expression (Figure 33).

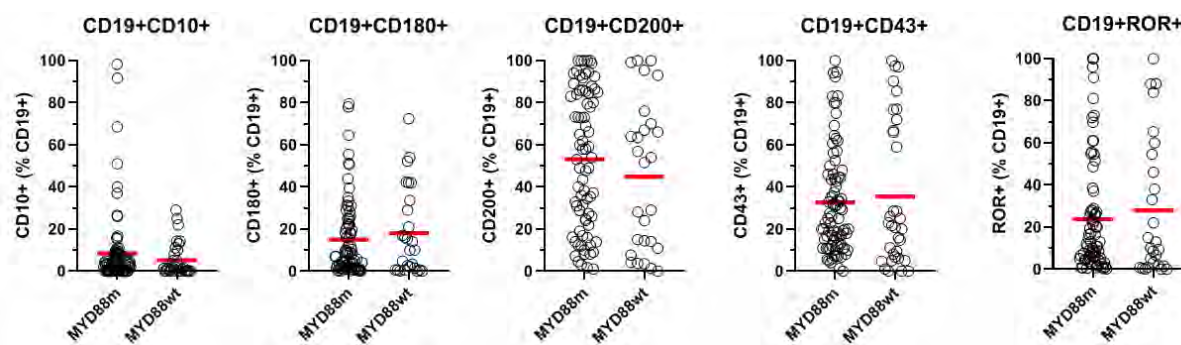


Figure 33 : Histogrammes représentant de gauche à droite : la répartition des taux de lymphocytes CD19+CD10+, CD19+CD180+, CD19+CD200+, CD19+CD43+ et CD19+ROR+ parmi les lymphocytes CD19+ selon le statut mutationnel *MYD88* des patients.

L'étude des anomalies cytogénétiques retrouvées les plus fréquemment chez les patients atteints de MW n'a pas relevé de différences significatives entre les deux groupes étudiés, bien que nous

constations une proportion plus grande de délétions 6q et 17p et de trisomie 18 chez les patients *MYD88m* (Figure 34).

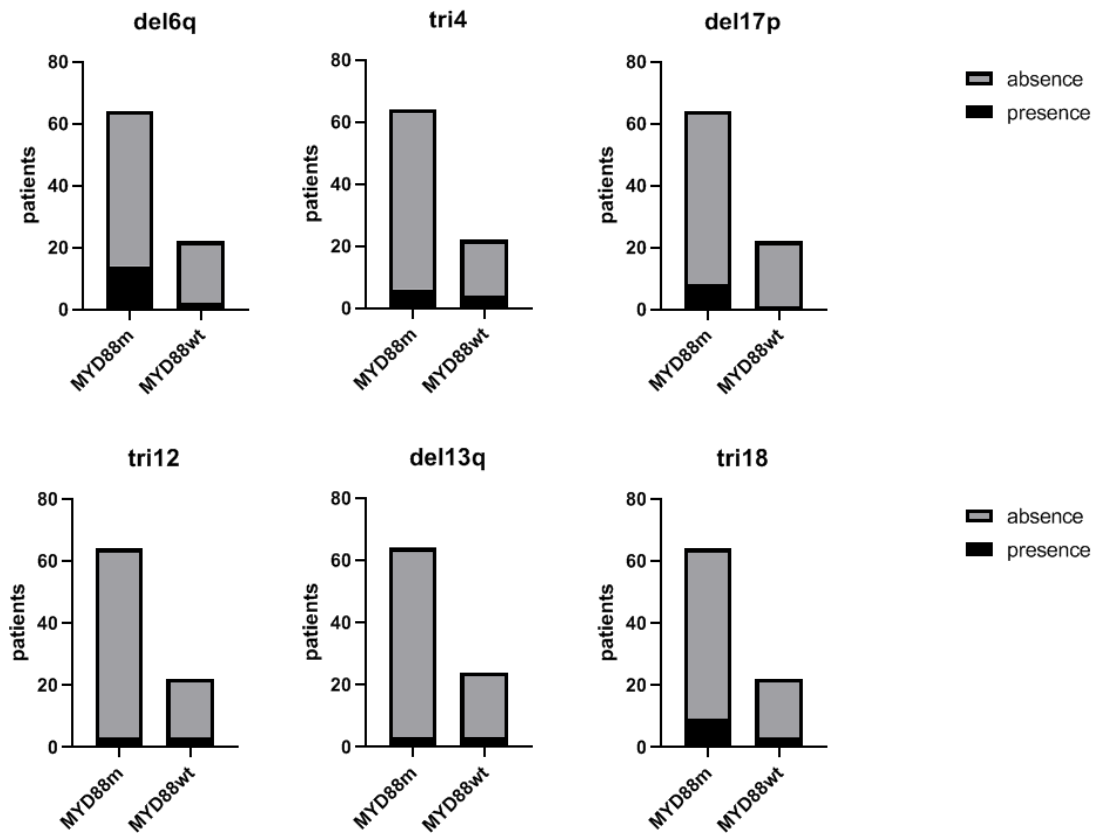


Figure 34 : Histogrammes représentant la répartition des anomalies cytogénétiques, de gauche à droite : la délétion 6q (del6q), la trisomie 4 (tri4), la délétion 17p (del17p), la trisomie 12 (tri12), la délétion 13q (del13q) et la trisomie 18 (tri18) selon le statut mutationnel *MYD88*.

Nous avons également comparé la proportion de lymphocytes T, le ratio T CD4/ CD8 et la proportion de cellules NK car *MYD88* est impliqué dans la réponse inflammatoire et permet d'augmenter la synthèse de cytokines pro-inflammatoires. Cependant, il n'a pas été montré de différence significative sur leur proportion parmi les lymphocytes dans la moelle ou la circulation sanguine entre les deux groupes étudiés (Figure 35).

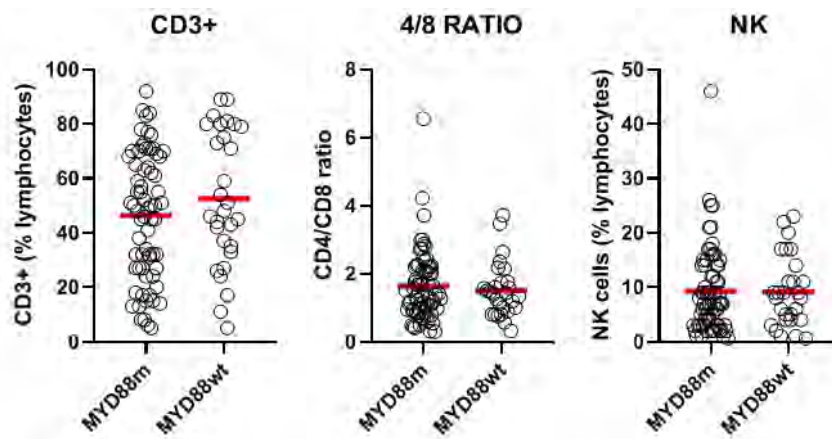


Figure 35 : Histogrammes représentant de gauche à droite, la proportion de lymphocytes CD3+ parmi les lymphocytes, le ratio CD4/CD8 et la proportion de Natural Killers parmi les lymphocytes selon le statut mutationnel *MYD88* des patients.

III. Impact de la mutation *CXCR4*

Les mutations de *CXCR4* sont fréquemment identifiées dans les MW. Les données du statut de *CXCR4* chez les patients est généré lors d'une recherche de mutation de *MYD88*. Nous nous sommes alors questionnés sur les anomalies phénotypiques des cellules doubles mutés *MYD88/CXCR4*. *CXCR4* joue un rôle dans la rétention médullaire des lymphocytes, il nous a paru essentiel d'étudier la relation de cette mutation dans notre cohorte.

Pour cela nous avons étudiés trois groupes selon le statut mutationnel des patients :

- *MYD88* et *CXCR4* non mutés (*MYD88wt CXCR4wt*)
- *MYD88* muté et *CXCR4* non mutés (*MYD88m CXCR4wt*)
- *MYD88* et *CXCR4* mutés (*MYD88m CXCR4m*)

A savoir, aucun patient ne présente de mutation de *CXCR4* sans mutation *MYD88* préalable.

Dans notre cohorte, nous avons retrouvé 18 patients avec une mutation de *CXCR4* soit un taux de 15%. Chez les patients atteints de lymphome lymphoplasmocytaire, le profil double muté (*MYD88m* et *CXCR4m*) représente 17,5% des cas (n=14), le profil *MYD88m CXCR4wt* 62,5% (n=50) et le profil sauvage (*MYD88wt CXCR4wt*) 20% (n=16) (Figure 36).

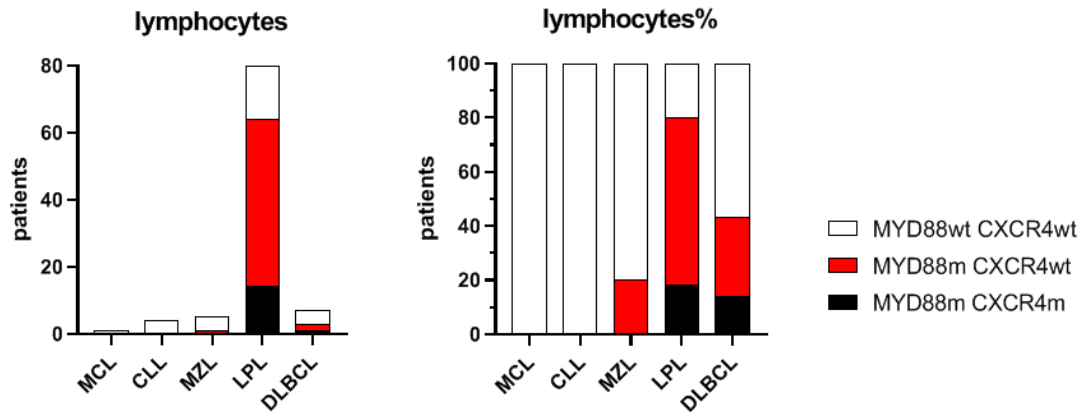


Figure 36 : Histogrammes représentant la répartition des patients étudiés (à gauche) et la proportion des patients (à droite) selon le lymphome diagnostiqué et le statut mutationnel *MYD88* et *CXCR4*.

Nous notons des niveaux sanguins d'hémoglobine (9,6 vs 10,7 et 11,9g/dL ; $p=0,04$) et de plaquettes (151 vs 209 et 225G/L ; $p=0,04$) plus bas chez les patients doubles mutés et un envahissement médullaire plus important (51 vs 32 et 27% ; $p=0,01$) que les patients simples mutés (Figure 37).

La taille du pic IgM des patients doubles mutés est supérieure à celle des autres groupes sans atteindre la significativité avec une moyenne à 20,5 g/L (Figure 37).

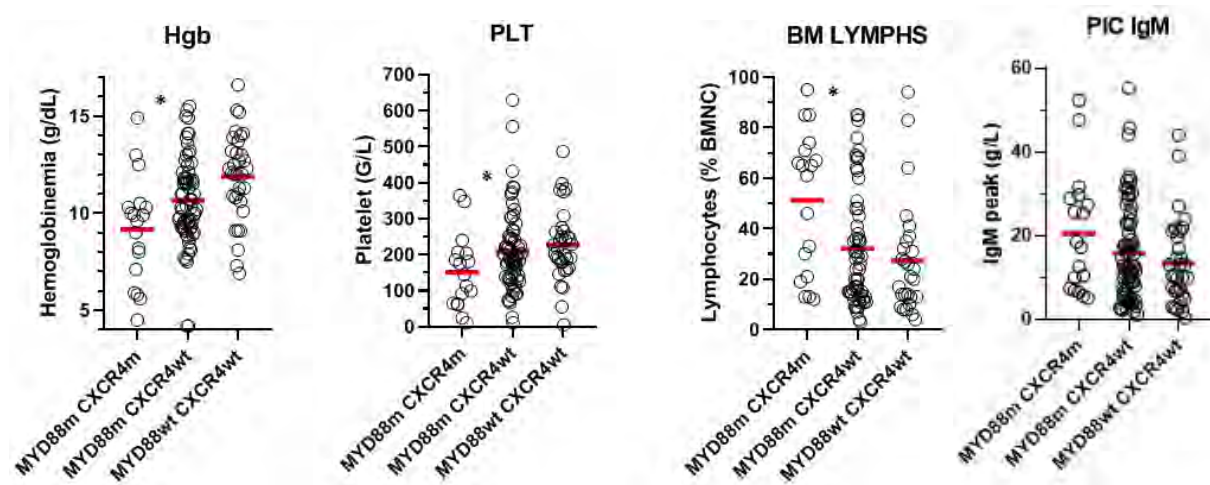


Figure 37 : Histogrammes représentant de gauche à droite : la répartition des taux d'hémoglobine, de plaquettes, et de lymphocytes médullaires et la quantification du pic IgM des patients selon leur statut mutationnel *MYD88* et *CXCR4*.

L'étude des marqueurs immunophénotypiques révèle que les patients doubles mutés conservent une expression élevée de CD79b mais perdent la forte expression de l'immunoglobuline de surface. Associé à cela, les patients doubles mutés perdent également l'expression de FMC7 (36,8 vs 57,3 et 57,9% ; $p=0,01$) (Figure 38), isoforme du cholestérol membranaire dépendant du CD20 par rapport aux patients simples mutés *MYD88*.

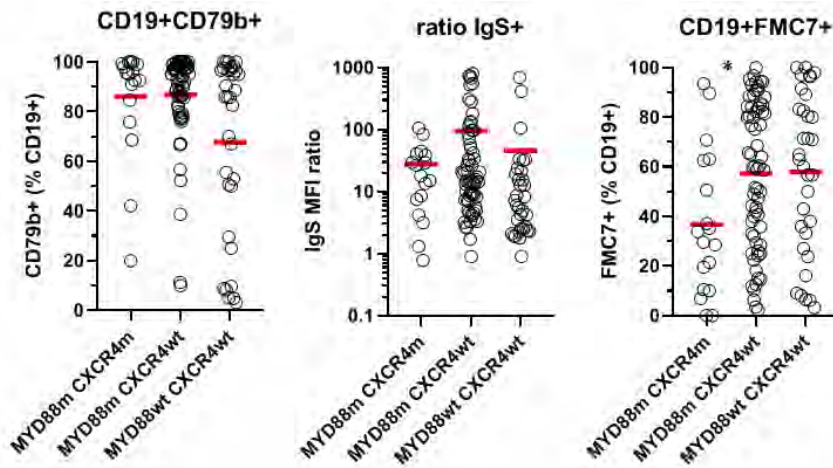


Figure 38 : Histogrammes représentant de gauche à droite, la proportion de lymphocytes CD19+CD79b+ parmi les lymphocytes CD19+, le ratio d'immunoglobulines de surface et la proportion de lymphocytes CD19+FMC7+ parmi les lymphocytes CD19+ des patients, selon les statuts mutationnels *MYD88* et *CXCR4*.

D. Discussion

Nous avons travaillé sur une cohorte de 163 patients pour lesquels une recherche de mutation du gène codant pour la protéine *MYD88* a été prescrite au CHU de Toulouse. Parmi toutes ces demandes, le laboratoire de biologie moléculaire a retrouvé 102 échantillons mutés *MYD88 L265P*, soit une proportion de 63% patients mutés dans la cohorte, pour une moyenne d'âge de 74 ans comparables aux résultats décrits dans la littérature.

Concernant les patients suivis pour un LPL, la proportion de mutation augmente à 77%. Ce qui fait de la mutation un critère sensible pour cette maladie. La proportion reste cependant inférieure à celle retrouvée dans la littérature, à hauteur de 90% (59). De plus nous retrouvons des proportions non négligeables de mutation *MYD88* chez les patients atteints de LZM et de LDGCB (respectivement 22 et 33%), et donc en contrepartie n'en fait pas un critère spécifique. Cette différence peut entraîner une difficulté diagnostique chez certains patients à pic IgM et atteints de lymphome, et donne un intérêt à regrouper les patients *MYD88m* dans une entité distincte. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés dans un deuxième temps, uniquement aux patients sécrétant un pic IgM monoclonal, ce qui a réduit la cohorte à 117 patients et 72% de positivité à *MYD88m*, sans nous intéresser au diagnostic hématologique posé. À la vue de ces résultats, la proportion de patients diagnostiqués pour un LPL sans mutation de *MYD88* identifiée pose la question sur les autres paramètres non pris en compte pour établir le diagnostic de LPL. De plus la proportion de *MYD88* mutés chez les patients LZM soulève également cette question. Des discussions interdisciplinaires

pourraient permettre de confirmer ou d'infirmer ces diagnostics sur d'autres paramètres clinico-biologiques.

Nous avons montré que les mutations de *MYD88* impactaient significativement sur différents critères biologiques. On retrouve chez les patients *MYD88m*, par comparaison aux patients *MYD88wt*, un taux d'hémoglobémie inférieur. Différence qui peut être expliquée par la présence d'une quantité supérieure de lymphocytes dans la moelle des patients *MYD88m* pouvant altérer l'hématopoïèse normale. L'IgM monoclonale peut également être incriminée. Présente en quantité supérieure chez les patients *MYD88m*, sans atteindre la significativité, celle-ci est responsable de nombreux effets clinico-biologiques sur les patients, dont l'anémie hémolytique auto-immune. Il serait intéressant d'étendre notre étude biologique avec des critères cliniques afin d'évaluer s'il existe une augmentation d'apparition de signes cliniques chez les patients *MYD88m*.

L'analyse des marqueurs cytologiques intervenants dans le score de Matutes nous montre un score significativement différent entre les deux groupes. Les patients *MYD88m* présentent un score majoritairement à 1/5 tandis que les patients *MYD88wt* scorent majoritairement à 3/5. Tout d'abord, une différence, bien que non significative est observable sur l'expression de deux marqueurs. Pour le CD5, une expression moyenne est retrouvée à 15,0% vs 27,7% et pour le CD23 une moyenne de 26,5% vs 31,5%, respectivement pour les patients *MYD88m* et les patients *MYD88wt*. Avec un seuil à 30% de positivité, nous pouvons supposer que la différence de score de Matutes s'établit, au moins en partie, sur ces deux marqueurs. Enfin, et de façon fortement significative, on observe une expression élevée pour deux autres paramètres des patients *MYD88m*, le CD79b et l'immunoglobuline de surface. Ces derniers participent à l'architecture du BCR qui est le récepteur d'Ag des LB. Il permet de déclencher la réponse immunitaire. Ces résultats suggèrent que les patients *MYD88m* ont une expression supérieure du BCR à la surface des cellules clonales et potentiellement une activation plus importante médiée par cette voie. Cela impliquerait une augmentation de l'activité de la tyrosine kinase SYK qui active la fonction du facteur de transcription STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3) et de la protéine kinase B AKT. Ces deux derniers sont connus pour jouer un rôle dans la différenciation, le développement cellulaire et l'apoptose. De plus STAT3 peut être phosphorylé après la liaison de cytokines sur leur récepteur telles que l'IL6 ou l'IL21 (150) (151) (152). Ces cytokines présentent une concentration augmentée chez les patients atteints de MW. Il existe une relation entre la phosphorylation de STAT3 et l'expression de la protéine programmed cell death protein 1 (PD-1). Il a déjà été démontré que l'axe de PD-1 / PD-1 ligand (PD-L1) est associé à un pronostic différent selon les mécanismes de régulations de la voie d'activation (153). Au départ, des anticorps monoclonaux anti PD-1 (nivolumab, pembrolizumab) ou PD-L1 (atezolizumab) ont été développés pour le traitement de certains cancers tels que le mélanome.

L'augmentation de la phosphorylation de STAT3 aboutit à une surexpression de PD-L1 à la surface des cellules mutées *MYD88*. PD-L1 peut également être sécrété sous une forme soluble. Ce mécanisme aboutit à l'anergie des lymphocytes T du microenvironnement médullaire (154). Cependant une étude de phase 1 associant un anticorps anti-PD-1 et un inhibiteur de BTK a mis en évidence un risque d'hémolyse et de réactions aux transfusions augmenté chez 2 patients atteints de MW inclus dans cette étude (155).

La mutation *CXCR4*, connue pour être la seconde plus présente chez les patients atteints de MW a été retrouvée chez 18 patients de notre cohorte, pour un taux de 17,5% de patients *CXCR4m* et diagnostiqué MW. Cette proportion est inférieure à celle généralement retrouvée dans la littérature avec une proportion autour de 30% selon les études. Tous nos patients *CXCR4m* sont *MYD88m*.

Les patients doubles mutés *MYD88* et *CXCR4* ont des taux d'hémoglobine et de plaquettes plus bas que les patients simples mutés *MYD88* et non mutés avec des moyennes respectives à 9,6g/dL et 151 G/L. Nous avons également mis en évidence un envahissement médullaire des lymphocytes plus important chez les patients doubles mutés, avec une proportion moyenne de 51%. *CXCR4* est décrit comme une protéine contribuant aux signaux de survie cellulaire et de domiciliation cellulaire dans des niches telles que la moelle osseuse et les organes lymphoïdes secondaires. Nous confirmons ainsi l'augmentation de l'activité de *CXCR4* chez les patients *CXCR4m* déjà rapportée dans la littérature. L'envahissement médullaire important chez les patients *CXCR4m* provoque un effet néfaste plus intense sur l'hématopoïèse de ces patients. Les patients avec mutation de *CXCR4* ont montré une baisse de la sensibilité à l'ibrutinib. À la vue de nos résultats sur la faible expression de l'IgM de surface chez les patients doubles mutés par rapport aux patients simplement mutés *MYD88*, la question de la signalisation médiée via *CXCR4* et de façon préférentielle par rapport au BCR se pose et pourrait expliquer la diminution de la sensibilité aux inhibiteurs de BTK. Est-ce que la signalisation par *CXCR4* entraîne une sécrétion de l'IgM plutôt que son expression à la surface des lymphoplasmocytes? Le suivi de l'apparition de clone *CXCR4m* pourrait être recommandé chez les patients au profil mutationnel sauvage.

Le marqueur CD79b chez les patients *CXCR4m* est exprimé à la même intensité que chez les patients *MYD88m CXCR4wt* mais la forte expression de l'immunoglobuline de surface est perdue (153).

Les patients *CXCR4m* perdent l'expression du marqueur FMC7. FMC7 est un épitope du CD20. Ce dernier est fortement exprimé chez tous les LB à partir du stade pré-B de la lymphopoïèse avec une diminution d'expression au cours de la différenciation. Il a été montré que l'expression du CD20 prédit généralement celle de FMC7 mais les niveaux d'expressions ne sont pas strictement corrélés. Le cholestérol membranaire joue un rôle important dans la conformation du CD20 et l'expression du

FMC7. Des cellules malignes B CD20+ avec un FMC7 faible ont un faible taux de cholestérol membranaire (156). De plus les lignées avec une forte fluidité membranaire ont un potentiel métastatique plus élevé. Ainsi, la diminution d'expression de FMC7 chez les patients *CXCR4m* peut nous renseigner sur l'agressivité, la composition lipidique des cellules B malignes ou leur avancement en différenciation vers le stade plasmocytaire. En parallèle, il a été montré l'importance du cholestérol dans la conformation et la fonction de CXCR4 et les radeaux lipidiques membranaires pourraient jouer un rôle régulateur dans la signalisation du CXCL12 (157). Une extraction du cholestérol membranaire des LT par traitement chimique *in vitro* a montré une inhibition de la liaison de CXCL12 sur CXCR4, diminuant ainsi son expression. Cette étude montre un intérêt thérapeutique pour les patients *CXCR4m* avec un envahissement médullaire des LB chez qui un tel traitement pourrait diminuer l'expression de CXCR4.

E. Conclusion

Le but de notre étude était de caractériser les lymphomes à mutation *MYD88* et d'arriver à une définition biologique de cette entité, notamment dans le sous-groupe des lymphomes à IgM.

Dans une cohorte de 117 patients atteints d'un lymphome à IgM, la mutation *MYD88* a été identifiée dans 80% des LPL mais également dans une petite proportion de LZM et de LDGCB. En regroupant les patients *MYD88m*, quel que soit leur diagnostic hématologique, nous avons identifié un certain nombre de paramètres significativement différents des patients au profil *MYD88* sauvage. Biologiquement, le taux d'hémoglobine des patients *MYD88m* est plus bas mais les résultats les plus discriminants portent sur le profil immunophénotypique. Le score de Matutes retrouvé majoritairement chez les patients *MYD88m* est de 1 point contre un score à 3 points pour les patients *MYD88wt*. Cette différence peut s'expliquer par une expression plus forte des marqueurs CD79b et de l'immunoglobuline de surface, deux constituants du BCR.

Deuxièmement, nous nous sommes intéressés à la mutation de *CXCR4*. Celle-ci a été retrouvée chez 15% des patients de notre cohorte et 17,5% des cas de LPL. La mutation de *CXCR4* n'est identifiée que chez des patients *MYD88m* avec une proportion de 21%. Nous avons mis en évidence pour les patients doubles mutés *MYD88* et *CXCR4*, une diminution significative du taux d'hémoglobine et du nombre de plaquettes par rapport aux patients simples mutés *MYD88*. Une infiltration médullaire lymphocytaire plus importante est également retrouvée chez ces patients. Sur le profil immunophénotypique des patients *CXCR4m*, une caractéristique a été relevée. Les patients perdent l'expression du FMC7 par rapport aux patients simples mutés *MYD88*. Ils expriment aussi moins

fortement leur immunoglobuline de surface et en parallèle ont une tendance à être plus excréteur d'IgM.

En conclusion, nous avons identifié certaines différences biologiques significatives chez les patients atteints d'un SLPC-B selon leur statut mutationnel *MYD88* et *CXCR4*. Il serait intéressant d'inclure à cette étude des critères cliniques et anatomopathologiques afin de préciser l'identité propre des lymphomes *MYD88m*. Une réorganisation de la classification des SLPC-B selon la biologie moléculaire permettrait sur le long terme une meilleure harmonisation avec la prise en charge basée de plus en plus sur la recherche de mutations identifiées comme des cibles thérapeutiques.

F. Bibliographie

1. Janeway CA, Murphy KP, Weaver CT, Masson PL. Immunobiologie de Janeway. 4e éd. Louvain-la-Neuve (Belgique) [Paris]: De Boeck supérieur; 2018.
2. Clark MR, Mandal M, Ochiai K, Singh H. Orchestrating B cell lymphopoiesis through interplay of IL-7 receptor and pre-B cell receptor signalling. *Nat Rev Immunol.* févr 2014;14(2):69- 80.
3. 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.
4. Wardemann H, Yurasov S, Schaefer A, Young JW, Meffre E, Nussenzweig MC. Predominant autoantibody production by early human B cell precursors. *Science.* 5 sept 2003;301(5638):1374- 7.
5. Gay D, Saunders T, Camper S, Weigert M. Receptor editing: an approach by autoreactive B cells to escape tolerance. *J Exp Med.* 1 avr 1993;177(4):999- 1008.
6. Sabouri Z, Perotti S, Spierings E, Humburg P, Yabas M, Bergmann H, et al. IgD attenuates the IgM-induced anergy response in transitional and mature B cells. *Nat Commun.* 10 nov 2016;7:13381.
7. Richard Y, Galanaud P. Signaux de la coopération T-B et production d'anticorps. *médecine/sciences.* 1995;11(5):691.
8. Paus D, Phan TG, Chan TD, Gardam S, Basten A, Brink R. Antigen recognition strength regulates the choice between extrafollicular plasma cell and germinal center B cell differentiation. *J Exp Med.* 17 avr 2006;203(4):1081- 91.
9. 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.
10. Akkaya M, Kwak K, Pierce SK. B cell memory: building two walls of protection against pathogens. *Nat Rev Immunol.* avr 2020;20(4):229- 38.
11. Küppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. *Nat Rev Cancer.* avr 2005;5(4):251- 62.
12. Eclache V, Baran-Marszak F. Intérêt de la cytogénétique et de la biologie moléculaire pour le diagnostic des syndromes lymphoprolifératifs B. *Rev Francoph Lab.* mai 2013;2013(452):49- 59.
13. Max EE, Korsmeyer SJ. Human J chain gene. Structure and expression in B lymphoid cells. *J Exp Med.* 1 avr 1985;161(4):832- 49.
14. Ghia EM, Jain S, Widhopf GF, Rassenti LZ, Keating MJ, Wierda WG, et al. Use of IGHV3-21 in chronic lymphocytic leukemia is associated with high-risk disease and reflects antigen-driven, post-germinal center leukemogenic selection. *Blood.* 15 mai 2008;111(10):5101- 8.
15. Garban F, Zelek L, Sotto J-J. Guide pratique des hémopathies malignes. Paris: MMI Éditions; 2001.

16. Küppers R. Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. *Nat Rev Cancer*. avr 2005;5(4):251- 62.
17. Reyes F. Les lymphomes malins non hodgkiniens. Montrouge: J. Libbey Eurotext; 2000. (Collection FMC hématologie).
18. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood*. 11 nov 2010;116(19):3724- 34.
19. Li Y, Wang Y, Wang Z, Yi D, Ma S. Racial differences in three major NHL subtypes: descriptive epidemiology. *Cancer Epidemiol*. févr 2015;39(1):8- 13.
20. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute–Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 15 juin 2008;111(12):5446- 56.
21. Matutes E, Catovsky D. The Value of Scoring Systems for the Diagnosis of Biphennotypic Leukemia and Mature B-Cell Disorders. *Leuk Lymphoma*. janv 1994;13(sup1):11- 4.
22. Nguyen-Khac F, Borie C, Callet-Bauchu E, Eclache V, Struski S. Cytogenetics in the management of chronic lymphocytic leukemia: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Ann Biol Clin (Paris)*. sept 2016;74(5):561- 7.
23. Cymbalist F. LLC: physiopathologie, diagnostic et approche thérapeutique. *Rev Francoph Lab*. mai 2013;2013(452):61- 71.
24. Société Française d'Hématologie. Le lymphome diffus à grandes cellules [Internet]. 2009. Disponible sur: https://sfh.hematologie.net/sites/sfh.hematologie.net/files/medias/documents/lymphomediffus_agdescellules.pdf
25. Hans CP. 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.
26. Lefebvre C, Callet-Bauchu E, Chapiro E, Nadal N, Penther D, Antoine-Poirel H. Cytogenetics in the management of lymphomas and lymphoproliferative disorders in adults and children: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Ann Biol Clin (Paris)*. sept 2016;74(5):568- 87.
27. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 19 mai 2016;127(20):2375- 90.
28. Thieblemont C, Felman P, Callet-Bauchu E, Traverse-Glehen A, Salles G, Coiffier B, et al. Splenic marginal-zone lymphoma: a distinct clinical and pathological entity. *Lancet Oncol*. févr 2003;4(2):95- 103.
29. Defossez Gautier, Le Guyader-Peyrou Sandra, Uhry Zoé, Grosclaude Pascale, Colonna Marc, Dantony Emmanuelle, Delafosse Patricia, Molinié Florence, Woronoff Anne-Sophie, Bouvier Anne-Marie, Bossard Nadine, Remontet Laurent, Monnereau Alain. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018

- [Internet]. 2019. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/cancers/cancer-du-sein/documents/rapport-synthese/estimations-nationales-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-france-metropolitaine-entre-1990-et-2018-volume-1-tumeurs-solides-etud>
30. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Salles G, Coiffier B, Felman P, Berger F. Splenic diffuse red pulp small-B cell lymphoma: toward the emergence of a new lymphoma entity. *Discov Med.* avr 2012;13(71):253- 65.
 31. WYRWAS M. Evaluation du panel d'exploration cytométrique des syndromes lymphoprolifératifs B matures. Une cohorte de patients du CHU de Nancy. 2015.
 32. Rieu J-B. Cytologie des hémopathies malignes - Anomalies sanguines et médullaires. JOHN LIBBEY EUROTTEXT. 2021. (Hors collection).
 33. Matutes E, Oscier D, Montalban C, Berger F, Callet-Bauchu E, Dogan A, et al. Splenic marginal zone lymphoma proposals for a revision of diagnostic, staging and therapeutic criteria. *Leukemia.* mars 2008;22(3):487- 95.
 34. Lymphome de la zone marginale. *Hématologie.* sept 2010;16(spec3):49- 52.
 35. Le Gouill S. Le lymphome à cellules du manteau : du diagnostic aux perspectives thérapeutiques. *Rev Médecine Interne.* sept 2010;31(9):615- 20.
 36. Baseggio L, Felman P. Diagnostic des lymphocytoses hors LLC-typique. *Rev Francoph Lab.* mai 2013;2013(452):93- 102.
 37. Bruneau J, Canioni D, Jo Molina T. Révision 2016/2017 de la classification OMS des hémopathies lymphoïdes matures : ce qui va changer dans la pratique quotidienne. *Rev Francoph Lab.* janv 2017;2017(488):39- 48.
 38. Eclache V, Baran-Marszak F. Intérêt de la cytogénétique et de la biologie moléculaire pour le diagnostic des syndromes lymphoprolifératifs B. *Rev Francoph Lab.* mai 2013;2013(452):49- 59.
 39. Tomowiak C, Poulain S, Debiais C, Guidez S, Leleu X. Maladie de Waldenström. *Presse Médicale.* juill 2019;48(7- 8):832- 41.
 40. Ghobrial IM, Witzig TE. Waldenström macroglobulinemia. *Curr Treat Options Oncol.* juin 2004;5(3):239- 47.
 41. Ansell SM, Kyle RA, Reeder CB, Fonseca R, Mikhael JR, Morice WG, et al. Diagnosis and Management of Waldenström Macroglobulinemia: Mayo Stratification of Macroglobulinemia and Risk-Adapted Therapy (mSMART) Guidelines. *Mayo Clin Proc.* sept 2010;85(9):824- 33.
 42. Yin X, Chen L, Fan F, Yan H, Zhang Y, Huang Z, et al. Trends in Incidence and Mortality of Waldenström Macroglobulinemia: A Population-Based Study. *Front Oncol.* 2020;10:1712.
 43. Castillo JJ, Olszewski AJ, Kanan S, Meid K, Hunter ZR, Treon SP. Overall survival and competing risks of death in patients with Waldenström macroglobulinaemia: an analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results database. *Br J Haematol.* avr 2015;169(1):81- 9.

44. Hanzis C, Ojha RP, Hunter Z, Manning R, Lewicki M, Brodsky P, et al. Associated malignancies in patients with Waldenström's macroglobulinemia and their kin. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* févr 2011;11(1):88- 92.
45. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Remstein ED, Offord JR, Larson DR, et al. Long-term follow-up of IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood.* 15 nov 2003;102(10):3759- 64.
46. Koshiol J, Gridley G, Engels EA, McMaster ML, Landgren O. Chronic immune stimulation and subsequent Waldenström macroglobulinemia. *Arch Intern Med.* 22 sept 2008;168(17):1903- 9.
47. Giordano TP, Henderson L, Landgren O, Chiao EY, Kramer JR, El-Serag H, et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma and lymphoproliferative precursor diseases in US veterans with hepatitis C virus. *JAMA.* 9 mai 2007;297(18):2010- 7.
48. Smedby KE, Hjalgrim H, Askling J, Chang ET, Gregersen H, Porwit-MacDonald A, et al. Autoimmune and chronic inflammatory disorders and risk of non-Hodgkin lymphoma by subtype. *J Natl Cancer Inst.* 4 janv 2006;98(1):51- 60.
49. Vajdic CM, Landgren O, McMaster ML, Slager SL, Brooks-Wilson A, Smith A, et al. Medical history, lifestyle, family history, and occupational risk factors for lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström's macroglobulinemia: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr.* août 2014;2014(48):87- 97.
50. Kurosaki T, Kometani K, Ise W. Memory B cells. *Nat Rev Immunol.* mars 2015;15(3):149- 59.
51. Kristinsson SY, Björkholm M, Goldin LR, McMaster ML, Turesson I, Landgren O. Risk of lymphoproliferative disorders among first-degree relatives of lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinemia patients: a population-based study in Sweden. *Blood.* 15 oct 2008;112(8):3052- 6.
52. McMaster ML, Berndt SI, Zhang J, Slager SL, Li SA, Vajdic CM, et al. Two high-risk susceptibility loci at 6p25.3 and 14q32.13 for Waldenström macroglobulinemia. *Nat Commun.* 10 oct 2018;9(1):4182.
53. Naderi N, Yang DT. Lymphoplasmacytic Lymphoma and Waldenström Macroglobulinemia. *Arch Pathol Lab Med.* 1 avr 2013;137(4):580- 5.
54. Gascue A, Merino J, Paiva B. Flow Cytometry. *Hematol Oncol Clin North Am.* oct 2018;32(5):765- 75.
55. San Miguel JF, Vidriales MB, Ocio E, Mateo G, Sánchez-Guijo F, Sánchez ML, et al. Immunophenotypic analysis of Waldenström's macroglobulinemia. *Semin Oncol.* avr 2003;30(2):187- 95.
56. Paiva B, Montes MC, García-Sanz R, Ocio EM, Alonso J, de Las Heras N, et al. Multiparameter flow cytometry for the identification of the Waldenström's clone in IgM-MGUS and Waldenström's Macroglobulinemia: new criteria for differential diagnosis and risk stratification. *Leukemia.* janv 2014;28(1):166- 73.
57. Sahota SS, Forconi F, Ottensmeier CH, Provan D, Oscier DG, Hamblin TJ, et al. Typical Waldenström macroglobulinemia is derived from a B-cell arrested after cessation of somatic mutation but prior to isotype switch events. *Blood.* 15 août 2002;100(4):1505- 7.

58. Schreuder MI, van den Brand M, Hebeda KM, Groenen PJTA, van Krieken JH, Scheijen B. Novel developments in the pathogenesis and diagnosis of extranodal marginal zone lymphoma. *J Hematop.* déc 2017;10(3- 4):91- 107.
59. Treon SP, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. MYD88 L265P Somatic Mutation in Waldenström's Macroglobulinemia. *N Engl J Med.* 30 août 2012;367(9):826- 33.
60. Poulain S, Roumier C, Decambron A, Renneville A, Herbaux C, Bertrand E, et al. MYD88 L265P mutation in Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood.* 30 mai 2013;121(22):4504- 11.
61. Treon SP, Cao Y, Xu L, Yang G, Liu X, Hunter ZR. Somatic mutations in MYD88 and CXCR4 are determinants of clinical presentation and overall survival in Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood.* 1 mai 2014;123(18):2791- 6.
62. Hunter ZR, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. The genomic landscape of Waldenstrom macroglobulinemia is characterized by highly recurring MYD88 and WHIM-like CXCR4 mutations, and small somatic deletions associated with B-cell lymphomagenesis. *Blood.* 13 mars 2014;123(11):1637- 46.
63. Roccaro AM, Sacco A, Jimenez C, Maiso P, Moschetta M, Mishima Y, et al. C1013G/CXCR4 acts as a driver mutation of tumor progression and modulator of drug resistance in lymphoplasmacytic lymphoma. *Blood.* 26 juin 2014;123(26):4120- 31.
64. Treon SP, Xu L, Guerrero ML, Jimenez C, Hunter ZR, Liu X, et al. Genomic Landscape of Waldenström Macroglobulinemia and Its Impact on Treatment Strategies. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 avr 2020;38(11):1198- 208.
65. Poulain S, Roumier C, Bertrand E, Renneville A, Caillault-Venet A, Doye E, et al. *TP53* Mutation and Its Prognostic Significance in Waldenström's Macroglobulinemia. *Clin Cancer Res.* 15 oct 2017;23(20):6325- 35.
66. Lefebvre C, Callet-Bauchu E, Chapiro E, Nadal N, Penther D, Antoine-Poirel H. Cytogenetics in the management of lymphomas and lymphoproliferative disorders in adults and children: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Ann Biol Clin (Paris).* sept 2016;74(5):568- 87.
67. Monge J, Braggio E, Ansell SM. Genetic factors and pathogenesis of Waldenström's macroglobulinemia. *Curr Oncol Rep.* oct 2013;15(5):450- 6.
68. Hunter ZR, Yang G, Xu L, Liu X, Castillo JJ, Treon SP. Genomics, Signaling, and Treatment of Waldenström Macroglobulinemia. *J Clin Oncol.* 20 mars 2017;35(9):994- 1001.
69. Björkholm M, Johansson E, Papamichael D, Celsing F, Matthews J, Lister TA, et al. Patterns of clinical presentation, treatment, and outcome in patients with Waldenstrom's macroglobulinemia: a two-institution study. *Semin Oncol.* avr 2003;30(2):226- 30.
70. Leblond V, Tournilhac O, Morel P. Maladie de Waldenström ou macroglobulinémie. *EMC - Hématologie.* janv 2006;1(2):1- 10.
71. Nobile-Orazio E. IgM paraproteinaemic neuropathies. *Curr Opin Neurol.* oct 2004;17(5):599- 605.

72. Poulain S, Wemeau M, Balkaran S, Hivert B, Hautecoeur A, Rossignol J, et al. Macroglobulinémie de Waldenström. *Rev Médecine Interne*. mai 2010;31(5):385- 94.
73. Winfield JB. Cryoglobulinemia. *Hum Pathol*. avr 1983;14(4):350- 4.
74. Eby CS. Bleeding and thrombosis risks in plasma cell dyscrasias. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2007;158- 64.
75. Crawford J, Cox EB, Cohen HJ. Evaluation of hyperviscosity in monoclonal gammopathies. *Am J Med*. juill 1985;79(1):13- 22.
76. Trejo O, Ramos-Casals M, López-Guillermo A, García-Carrasco M, Yagüe J, Cervera R, et al. Hematologic malignancies in patients with cryoglobulinemia: association with autoimmune and chronic viral diseases. *Semin Arthritis Rheum*. août 2003;33(1):19- 28.
77. Lord KA, Hoffman-Liebermann B, Liebermann DA. Nucleotide sequence and expression of a cDNA encoding MyD88, a novel myeloid differentiation primary response gene induced by IL6. *Oncogene*. juill 1990;5(7):1095- 7.
78. Gay NJ, Keith FJ. Drosophila Toll and IL-1 receptor. *Nature*. mai 1991;351(6325):355- 6.
79. Hultmark D. Macrophage Differentiation Marker MyD88 Is a Member of the Toll/IL-1 Receptor Family. *Biochem Biophys Res Commun*. févr 1994;199(1):144- 6.
80. Nishiya T, Kajita E, Horinouchi T, Nishimoto A, Miwa S. Distinct roles of TIR and non-TIR regions in the subcellular localization and signaling properties of MyD88. *FEBS Lett*. 10 juill 2007;581(17):3223- 9.
81. Deguine J, Barton GM. MyD88: a central player in innate immune signaling. *F1000prime Rep*. 2014;6:97.
82. Takeda K, Akira S. TLR signaling pathways. *Semin Immunol*. févr 2004;16(1):3- 9.
83. Tassia MG, Whelan NV, Halanych KM. Toll-like receptor pathway evolution in deuterostomes. *Proc Natl Acad Sci*. 3 juill 2017;114(27):7055- 60.
84. Lin S-C, Lo Y-C, Wu H. Helical assembly in the MyD88-IRAK4-IRAK2 complex in TLR/IL-1R signalling. *Nature*. 17 juin 2010;465(7300):885- 90.
85. Picard C, Casanova J-L, Puel A. Infectious diseases in patients with IRAK-4, MyD88, NEMO, or I κ B α deficiency. *Clin Microbiol Rev*. juill 2011;24(3):490- 7.
86. von Bernuth H, Picard C, Puel A, Casanova J-L. Experimental and natural infections in MyD88- and IRAK-4-deficient mice and humans. *Eur J Immunol*. déc 2012;42(12):3126- 35.
87. von Bernuth H, Picard C, Jin Z, Pankla R, Xiao H, Ku C-L, et al. Pyogenic bacterial infections in humans with MyD88 deficiency. *Science*. 1 août 2008;321(5889):691- 6.
88. Netea MG, Wijmenga C, O'Neill LAJ. Genetic variation in Toll-like receptors and disease susceptibility. *Nat Immunol*. 18 mai 2012;13(6):535- 42.

89. Nguyen-Khac F, Borie C, Callet-Bauchu E, Eclache V, Struski S. Cytogenetics in the management of chronic lymphocytic leukemia: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Ann Biol Clin (Paris)*. sept 2016;74(5):561- 7.
90. Yu X, Li W, Deng Q, Li L, Hsi ED, Young KH, et al. *MYD88* L265P Mutation in Lymphoid Malignancies. *Cancer Res*. 15 mai 2018;78(10):2457- 62.
91. Pham-Ledard A, Cappellen D, Martinez F, Vergier B, Beylot-Barry M, Merlio J-P. *MYD88* Somatic Mutation Is a Genetic Feature of Primary Cutaneous Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Leg Type. *J Invest Dermatol*. août 2012;132(8):2118- 20.
92. Camilleri-Broët S, Crinière E, Broët P, Delwail V, Mokhtari K, Moreau A, et al. A uniform activated B-cell-like immunophenotype might explain the poor prognosis of primary central nervous system lymphomas: analysis of 83 cases. *Blood*. 1 janv 2006;107(1):190- 6.
93. Bödör C, Alpár D, Marosvári D, Galik B, Rajnai H, Bártai B, et al. Molecular Subtypes and Genomic Profile of Primary Central Nervous System Lymphoma. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1 févr 2020;79(2):176- 83.
94. Cheah CY, Wirth A, Seymour JF. Primary testicular lymphoma. *Blood*. 23 janv 2014;123(4):486- 93.
95. Venturutti L, Melnick AM. The dangers of déjà vu: memory B cells as the cells of origin of ABC-DLBCLs. *Blood*. 12 nov 2020;136(20):2263- 74.
96. Yang G, Zhou Y, Liu X, Xu L, Cao Y, Manning RJ, et al. A mutation in *MYD88* (L265P) supports the survival of lymphoplasmacytic cells by activation of Bruton tyrosine kinase in Waldenström macroglobulinemia. *Blood*. 15 août 2013;122(7):1222- 32.
97. Ponader S, Burger JA. Bruton's tyrosine kinase: from X-linked agammaglobulinemia toward targeted therapy for B-cell malignancies. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 juin 2014;32(17):1830- 9.
98. Ansell SM, Hodge LS, Secreto FJ, Manske M, Braggio E, Price-Troska T, et al. Activation of TAK1 by *MYD88* L265P drives malignant B-cell Growth in non-Hodgkin lymphoma. *Blood Cancer J*. 14 févr 2014;4:e183.
99. Chng WJ, Schop RF, Price-Troska T, Ghobrial I, Kay N, Jelinek DF, et al. Gene-expression profiling of Waldenstrom macroglobulinemia reveals a phenotype more similar to chronic lymphocytic leukemia than multiple myeloma. *Blood*. 15 oct 2006;108(8):2755- 63.
100. Gutiérrez NC, Ocio EM, de Las Rivas J, Maiso P, Delgado M, Fermiñán E, et al. Gene expression profiling of B lymphocytes and plasma cells from Waldenström's macroglobulinemia: comparison with expression patterns of the same cell counterparts from chronic lymphocytic leukemia, multiple myeloma and normal individuals. *Leukemia*. mars 2007;21(3):541- 9.
101. Yang G, Buhrlage SJ, Tan L, Liu X, Chen J, Xu L, et al. HCK is a survival determinant transactivated by mutated *MYD88*, and a direct target of ibrutinib. *Blood*. 23 juin 2016;127(25):3237- 52.
102. Fulciniti M, Amodio N, Bandi RL, Munshi M, Yang G, Xu L, et al. *MYD88*-independent growth and survival effects of Sp1 transactivation in Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood*. 24 avr 2014;123(17):2673- 81.

103. Poulain S. Caractérisation génomique des mutations du gène CXCR4 dans la maladie de Waldenstrom. 2016.
104. Montesinos-Rongen M, Godlewska E, Brunn A, Wiestler OD, Siebert R, Deckert M. Activating L265P mutations of the MYD88 gene are common in primary central nervous system lymphoma. *Acta Neuropathol (Berl)*. déc 2011;122(6):791- 2.
105. Ruminy P, Etancelin P, Couronné L, Parmentier F, Rainville V, Mareschal S, et al. The isotype of the BCR as a surrogate for the GCB and ABC molecular subtypes in diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. avr 2011;25(4):681- 8.
106. Choi J-W, Kim Y, Lee J-H, Kim Y-S. MYD88 expression and L265P mutation in diffuse large B-cell lymphoma. *Hum Pathol*. juill 2013;44(7):1375- 81.
107. Jo T, Nishikori M, Kogure Y, Arima H, Sasaki K, Sasaki Y, et al. LUBAC accelerates B-cell lymphomagenesis by conferring resistance to genotoxic stress on B cells. *Blood*. 6 août 2020;136(6):684- 97.
108. Knittel G, Liedgens P, Korovkina D, Seeger JM, Al-Baldawi Y, Al-Maarri M, et al. B-cell-specific conditional expression of Myd88p.L252P leads to the development of diffuse large B-cell lymphoma in mice. *Blood*. 2 juin 2016;127(22):2732- 41.
109. Sewastianik T, Guerrera ML, Adler K, Dennis PS, Wright K, Shanmugam V, et al. Human MYD88L265P is insufficient by itself to drive neoplastic transformation in mature mouse B cells. *Blood Adv*. 12 nov 2019;3(21):3360- 74.
110. Puente XS, Pinyol M, Quesada V, Conde L, Ordóñez GR, Villamor N, et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*. 5 juin 2011;475(7354):101- 5.
111. Wang L, Lawrence MS, Wan Y, Stojanov P, Sougnez C, Stevenson K, et al. SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 29 déc 2011;365(26):2497- 506.
112. Yan Q, Huang Y, Watkins AJ, Kocialkowski S, Zeng N, Hamoudi RA, et al. BCR and TLR signaling pathways are recurrently targeted by genetic changes in splenic marginal zone lymphomas. *Haematologica*. avr 2012;97(4):595- 8.
113. Jiménez C, Sebastián E, Chillón MC, Giraldo P, Mariano Hernández J, Escalante F, et al. MYD88 L265P is a marker highly characteristic of, but not restricted to, Waldenström's macroglobulinemia. *Leukemia*. août 2013;27(8):1722- 8.
114. Varettoni M, Arcaini L, Zibellini S, Boveri E, Rattotti S, Riboni R, et al. Prevalence and clinical significance of the MYD88 (L265P) somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia and related lymphoid neoplasms. *Blood*. 28 mars 2013;121(13):2522- 8.
115. Gachard N, Parrens M, Soubeyran I, Petit B, Marfak A, Rizzo D, et al. IGHV gene features and MYD88 L265P mutation separate the three marginal zone lymphoma entities and Waldenström macroglobulinemia/lymphoplasmacytic lymphomas. *Leukemia*. janv 2013;27(1):183- 9.
116. Werner L, Guzner-Gur H, Dotan I. Involvement of CXCR4/CXCR7/CXCL12 Interactions in Inflammatory bowel disease. *Theranostics*. 2013;3(1):40- 6.

117. Caruz A, Samsom M, Alonso JM, Alcamí J, Baleux F, Virelizier JL, et al. Genomic organization and promoter characterization of human CXCR4 gene. *FEBS Lett.* 17 avr 1998;426(2):271 - 8.
118. Ngo HT, Leleu X, Lee J, Jia X, Melhem M, Runnels J, et al. SDF-1/CXCR4 and VLA-4 interaction regulates homing in Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood.* 1 juill 2008;112(1):150 - 8.
119. Scala S. Molecular Pathways: Targeting the CXCR4-CXCL12 Axis--Untapped Potential in the Tumor Microenvironment. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 oct 2015;21(19):4278 - 85.
120. Anders H-J, Romagnani P, Mantovani A. Pathomechanisms: homeostatic chemokines in health, tissue regeneration, and progressive diseases. *Trends Mol Med.* mars 2014;20(3):154 - 65.
121. Bleul CC, Schultze JL, Springer TA. B lymphocyte chemotaxis regulated in association with microanatomic localization, differentiation state, and B cell receptor engagement. *J Exp Med.* 2 mars 1998;187(5):753 - 62.
122. Burger JA, Kipps TJ. CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment. *Blood.* 1 mars 2006;107(5):1761 - 7.
123. Blachly JS, Baiocchi RA. Targeting PI3-kinase (PI3K), AKT and mTOR axis in lymphoma. *Br J Haematol.* oct 2014;167(1):19 - 32.
124. Guinamard R, Signoret N, Ishiai M, Marsh M, Kurosaki T, Ravetch JV, et al. B cell antigen receptor engagement inhibits stromal cell-derived factor (SDF)-1 α chemotaxis and promotes protein kinase C (PKC)-induced internalization of CXCR4. *J Exp Med.* 3 mai 1999;189(9):1461 - 6.
125. Nie Y, Waite J, Brewer F, Sunshine M-J, Littman DR, Zou Y-R. The role of CXCR4 in maintaining peripheral B cell compartments and humoral immunity. *J Exp Med.* 1 nov 2004;200(9):1145 - 56.
126. Xu L, Hunter ZR, Tsakmaklis N, Cao Y, Yang G, Chen J, et al. Clonal architecture of CXCR4 WHIM-like mutations in Waldenström Macroglobulinaemia. *Br J Haematol.* mars 2016;172(5):735 - 44.
127. Poulain S, Roumier C, Venet-Caillault A, Figeac M, Herbaux C, Marot G, et al. Genomic Landscape of CXCR4 Mutations in Waldenström Macroglobulinemia. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 mars 2016;22(6):1480 - 8.
128. Cao Y, Hunter ZR, Liu X, Xu L, Yang G, Chen J, et al. The WHIM-like CXCR4(S338X) somatic mutation activates AKT and ERK, and promotes resistance to ibrutinib and other agents used in the treatment of Waldenstrom's Macroglobulinemia. *Leukemia.* janv 2015;29(1):169 - 76.
129. Dimopoulos MA, Kastritis E, Owen RG, Kyle RA, Landgren O, Morra E, et al. Treatment recommendations for patients with Waldenström macroglobulinemia (WM) and related disorders: IWWM-7 consensus. *Blood.* 28 août 2014;124(9):1404 - 11.
130. Kyle RA, Treon SP, Alexanian R, Barlogie B, Björkholm M, Dhodapkar M, et al. Prognostic markers and criteria to initiate therapy in Waldenstrom's macroglobulinemia: consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenstrom's Macroglobulinemia. *Semin Oncol.* avr 2003;30(2):116 - 20.

131. Dimopoulos MA, Zervas C, Zomas A, Hamilos G, Gika D, Efstathiou E, et al. Extended rituximab therapy for previously untreated patients with Waldenström's macroglobulinemia. *Clin Lymphoma*. déc 2002;3(3):163- 6.
132. Leblond V, Kastritis E, Advani R, Ansell SM, Buske C, Castillo JJ, et al. Treatment recommendations from the Eighth International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia. *Blood*. 8 sept 2016;128(10):1321- 8.
133. Dimopoulos MA, Anagnostopoulos A, Kyrtsolis M-C, Zervas K, Tsatalas C, Kokkinis G, et al. Primary treatment of Waldenström macroglobulinemia with dexamethasone, rituximab, and cyclophosphamide. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 août 2007;25(22):3344- 9.
134. Rummel M, Kaiser U, Balsler C, Stauch M, Brugger W, Welslau M, et al. Bendamustine plus rituximab versus fludarabine plus rituximab for patients with relapsed indolent and mantle-cell lymphomas: a multicentre, randomised, open-label, non-inferiority phase 3 trial. *Lancet Oncol*. janv 2016;17(1):57- 66.
135. Gavriatopoulou M, Kastritis E, Dimopoulos MA. Ibrutinib for rituximab-refractory Waldenström macro-globulinemia. *Oncotarget*. 27 févr 2018;9(16):12536- 7.
136. Treon SP, Branagan AR, Ioakimidis L, Soumerai JD, Patterson CJ, Turnbull B, et al. Long-term outcomes to fludarabine and rituximab in Waldenström macroglobulinemia. *Blood*. 16 avr 2009;113(16):3673- 8.
137. Treon SP. How I treat Waldenström macroglobulinemia. *Blood*. 6 août 2015;126(6):721- 32.
138. Castillo JJ, Hunter ZR, Yang G, Treon SP. Novel approaches to targeting MYD88 in Waldenström macroglobulinemia. *Expert Rev Hematol*. août 2017;10(8):739- 44.
139. Kashyap MK, Kumar D, Jones H, Amaya-Chanaga CI, Choi MY, Melo-Cardenas J, et al. Ulocuplumab (BMS-936564 / MDX1338): a fully human anti-CXCR4 antibody induces cell death in chronic lymphocytic leukemia mediated through a reactive oxygen species-dependent pathway. *Oncotarget*. 19 janv 2016;7(3):2809- 22.
140. Balakrishnan K, Peluso M, Fu M, Rosin NY, Burger JA, Wierda WG, et al. The phosphoinositide-3-kinase (PI3K)-delta and gamma inhibitor, IPI-145 (Duvelisib), overcomes signals from the PI3K/AKT/S6 pathway and promotes apoptosis in CLL. *Leukemia*. sept 2015;29(9):1811- 22.
141. Patnaik A, Appleman LJ, Tolcher AW, Papadopoulos KP, Beeram M, Rasco DW, et al. First-in-human phase I study of copanlisib (BAY 80-6946), an intravenous pan-class I phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, in patients with advanced solid tumors and non-Hodgkin's lymphomas. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. oct 2016;27(10):1928- 40.
142. Pika T, Hegenbart U, Flodrova P, Maier B, Kimmich C, Schönland SO. First report of ibrutinib in IgM-related amyloidosis: few responses, poor tolerability, and short survival. *Blood*. 18 janv 2018;131(3):368- 71.
143. Castillo JJ, Gustine JN, Meid K, Dubeau TE, Severns P, Xu L, et al. Response and survival for primary therapy combination regimens and maintenance rituximab in Waldenström macroglobulinaemia. *Br J Haematol*. avr 2018;181(1):77- 85.

144. Kastritis E, Gavriatopoulou M, Kyrtsolis M-C, Roussou M, Hadjiharissi E, Symeonidis A, et al. Dexamethasone, rituximab, and cyclophosphamide as primary treatment of Waldenström macroglobulinemia: final analysis of a phase 2 study. *Blood*. 10 sept 2015;126(11):1392- 4.
145. Gavriatopoulou M, García-Sanz R, Kastritis E, Morel P, Kyrtsolis M-C, Michalis E, et al. BDR in newly diagnosed patients with WM: final analysis of a phase 2 study after a minimum follow-up of 6 years. *Blood*. 26 janv 2017;129(4):456- 9.
146. Treon SP, Tripsas CK, Meid K, Warren D, Varma G, Green R, et al. Ibrutinib in previously treated Waldenström's macroglobulinemia. *N Engl J Med*. 9 avr 2015;372(15):1430- 40.
147. Treon SP, Gustine J, Meid K, Yang G, Xu L, Liu X, et al. Ibrutinib Monotherapy in Symptomatic, Treatment-Naïve Patients With Waldenström Macroglobulinemia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 sept 2018;36(27):2755- 61.
148. Laribi K, Poulain S, Willems L, Merabet F, Le Calloch R, Eveillard JR, et al. Bendamustine plus rituximab in newly-diagnosed Waldenström macroglobulinaemia patients. A study on behalf of the French Innovative Leukaemia Organization (FILO). *Br J Haematol*. juill 2019;186(1):146- 9.
149. Paludo J, Abeykoon JP, Shreders A, Ansell SM, Kumar S, Ailawadhi S, et al. Bendamustine and rituximab (BR) versus dexamethasone, rituximab, and cyclophosphamide (DRC) in patients with Waldenström macroglobulinemia. *Ann Hematol*. août 2018;97(8):1417- 25.
150. Hatzimichael EChR, Christou L, Bai M, Kolios G, Kefala L, Bourantas KL. Serum levels of IL-6 and its soluble receptor (sIL-6R) in Waldenström's macroglobulinemia: IL-6 and sIL-6R in WM. *Eur J Haematol*. janv 2001;66(1):1- 6.
151. Hodge LS, Ziesmer SC, Yang ZZ, Secreto FJ, Gertz MA, Novak AJ, et al. IL-21 in the bone marrow microenvironment contributes to IgM secretion and proliferation of malignant cells in Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood*. 1 nov 2012;120(18):3774- 82.
152. ElSawa SF, Novak AJ, Ziesmer SC, Almada LL, Hodge LS, Grote DM, et al. Comprehensive analysis of tumor microenvironment cytokines in Waldenstrom macroglobulinemia identifies CCL5 as a novel modulator of IL-6 activity. *Blood*. 17 nov 2011;118(20):5540- 9.
153. Badoual C, Combe P, Gey A, Granier C, Roussel H, De Guillebon É, et al. Signification et intérêt clinique de l'expression de PD-1 et PDL-1 dans les tumeurs. *médecine/sciences*. juin 2013;29(6- 7):570- 2.
154. Jalali S, Price-Troska T, Paludo J, Villasboas J, Kim H-J, Yang Z-Z, et al. Soluble PD-1 ligands regulate T-cell function in Waldenstrom macroglobulinemia. *Blood Adv*. 14 août 2018;2(15):1985- 97.
155. Kidder GW, Montgomery CW. Oxygenation of frog gastric mucosa in vitro. *Am J Physiol*. déc 1975;229(6):1510- 3.
156. Polyak MJ, Ayer LM, Szczepek AJ, Deans JP. A cholesterol-dependent CD20 epitope detected by the FMC7 antibody. *Leukemia*. juill 2003;17(7):1384- 9.
157. Nguyen DH, Taub D. CXCR4 Function Requires Membrane Cholesterol: Implications for HIV Infection. *J Immunol*. 15 avr 2002;168(8):4121- 6.

LES LYMPHOMES À MUTATION MYD88, UNE ENTITÉ À PART ENTIÈRE : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE D'UNE COHORTE DE 2014 À 2020

Présentée et soutenue publiquement par : MAIRINIAC P-L.

Directeurs de thèse : LARGEAUD L. AHU, Hématologie cellulaire et génétique des hémopathies
VERGEZ F. MCU-PH, Hématologie cellulaire et génétique des hémopathies

RÉSUMÉ

Les syndromes lymphoprolifératifs chroniques B sécréteurs d'IgM représentent un défi diagnostique au sein du laboratoire d'hématologie de l'Institut Universitaire du Cancer de Toulouse. La mutation MYD88 est retrouvée à une proportion de 80-90% dans les lymphomes lymphoplasmocytaires, mais également dans quelques cas de lymphomes de la zone marginale et de lymphomes B diffus à grandes cellules.

Ce travail a pour objectif d'identifier les caractéristiques propres aux lymphomes *MYD88* mutés (*MYD88m*). Nous avons recueilli rétrospectivement les données cytologiques, phénotypiques, moléculaires et génétiques d'une cohorte de 117 patients atteints d'un lymphome B à IgM.

Nous avons mis en évidence un taux d'hémoglobine plus bas chez les patients *MYD88m*, et une expression plus forte du marqueur CD79b et de l'immunoglobuline de surface, deux composants du BCR. Nous avons également mis en évidence une perte d'expression du marqueur FMC7 chez les patients *CXCR4* mutés, ce qui pourrait être un marqueur de différenciation plasmocytaire.

Au total, notre étude dresse les contours d'une nouvelle entité lymphomateuse *MYD88m* qui devront être consolidés sur une plus grande cohorte et des études cliniques.

MYD88-MUTATED LYMPHOMAS, AN ENTITY IN ITS OWN RIGHT: RETROSPECTIVE STUDY OF A COHORT FROM 2014 TO 2020

IgM-secreting chronic B lymphoproliferative syndromes represent a diagnostic challenge in the hematology laboratory of the Toulouse University Cancer Institute. The MYD88 mutation is found in 80-90% of lymphoplasmacytic lymphomas, but also in some cases of marginal zone lymphomas and diffuse large cell B lymphomas.

The aim of this work is to identify the specific features of MYD88 mutated lymphomas (*MYD88m*). We retrospectively collected cytological, phenotypic, molecular and genetic data from a cohort of 117 patients with IgM B lymphoma.

We found lower hemoglobin levels in *MYD88m* patients, and higher expression of the CD79b marker and immunoglobulin surface, both components of the BCR. We also demonstrated a loss of expression of the FMC7 marker in *CXCR4* mutated patients, which could be a marker of plasma cell differentiation.

Overall, our study outlines a new *MYD88m* lymphomatous entity that will need to be consolidated in a larger cohort and clinical studies.

MOTS-CLÉS : *MYD88*, Waldenström, IgM, *CXCR4*, lymphoplasmocyte, SLPC-B

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Diplôme d'Etudes Spécialisées de Biologie Médicale

INTITULÉ ET ADRESSE DU LABORATOIRE : Hématologie - Pôle biologie - Institut Universitaire du Cancer de Toulouse - Oncopole - 1, avenue Irène Joliot-Curie - 31059 Toulouse
