

UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

ANNEE 2013

**THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE**

Le lymphome de la zone marginale ganglionnaire, un diagnostic d'exclusion.

A propos de 24 cas.

Présentée et soutenue publiquement le 5 avril 2013

Au Pôle Formation de la Faculté

Par Anne-Sophie DELPLANQUE-LEMAIRE

Jury

Président: Monsieur le Professeur Xavier LEROY

Assesseurs: Monsieur le Professeur Jean-Pierre JOUET

Madame le Docteur Valérie SOENEN

Directeur de Thèse: Madame le Professeur Marie-Christine COPIN

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS.....	1
INTRODUCTION	2
A. La zone marginale : définition, localisation anatomique et morphologie.....	2
B. Le lymphome de la zone marginale ganglionnaire	3
1. Définition	3
2. Historique	5
3. Epidémiologie.....	5
4. Clinique	6
5. Aspects morphologiques	6
a. Architecture.....	6
b. Cytologie.....	7
6. Immunophénotype.....	8
7. Anomalies moléculaires	8
C. Le lymphome de la zone marginale ganglionnaire : un diagnostic d'exclusion.....	9
1. Morphologie	9
a. Les lymphomes à petites cellules B à différenciation marginale	9
b. Les lymphomes de morphologie lymphoplasmocytaire	11
2. Immunophénotype.....	12
a. Expression de Bcl6 : lymphome folliculaire.....	12
b. Expression de CD5 et de cycline D1 : lymphome du manteau	13
c. Expression de CD23 : lymphome lymphocytaire.....	13
3. FISH	14
a. Principes généraux.....	14
b. Types de sondes	14
c. FISH et lymphomes à petites cellules B.....	16

4. MYD88	18
a. Généralités	18
b. Lymphome lymphoplasmocytaire / Maladie de Waldenström	19
5. Pronostic – Thérapeutique	19
a. Pronostic.....	19
b. Thérapeutique.....	20
BUT DE L'ETUDE	21
MATERIEL ET METHODES	22
A. Sélection des cas	22
B. Etude histopathologique.....	24
C. Etude immunohistochimique	25
1. Technique	25
2. Interprétation des immunomarquages.....	28
a. Anticorps anti-Bcl6.....	30
b. Anticorps anti-CD21 et anti-CD23.....	30
c. Anticorps anti-Ki67	30
d. Anticorps anti-MUM1	30
D. Etude par FISH	31
1. Technique	31
a. Préparation des tissus inclus en paraffine	31
b. Préparation des appositions	32
c. Préparation des sondes	33
d. Co-dénaturation et hybridation.....	34
e. Lavage post-hybridation	34
f. Lecture.....	35
2. Interprétation	35

E. Etude par PCR du gène <i>MYD88</i>	36
1. Extraction d'ADN	36
2. Choix des amorces.....	36
3. Amplification par PCR	36
4. Purification du produit de PCR	37
5. Réaction de séquence.....	38
6. Purification de la réaction de séquence.....	38
7. Séquençage	38
 RESULTATS	 39
A. Caractéristiques histopathologiques	39
1. Architecture	39
2. Cytologie	39
B. Caractéristiques immunohistochimiques	44
1. Anticorps Bcl2 clone E17	46
2. Anticorps anti-Bcl6	46
3. Anticorps anti-CD5	46
4. Anticorps anti-CD21 et anti-CD23	47
5. Anticorps anti-cycline D1 et anti-Sox11	47
6. Indice de prolifération Ki67	48
7. Anticorps anti-MUM1	48
C. Résultats de l'étude par FISH	53
D. Résultats de l'étude de <i>MYD88</i>	56
E. Synthèse diagnostique des 24 cas sur l'ensemble des données morphologiques, immunophénotypiques et moléculaires	58
F. Critères d'exclusion de 3 cas au cours de l'étude	60
1. Cas 22	60
2. Cas 23	63
3. Cas 24	66

DISCUSSION	69
A. Comparaison avec les séries précédentes	70
1. Données histopathologiques	70
2. Données immunophénotypiques	72
a. Expression de CD43	72
b. Expression de CD5	72
c. Expression de CD23	74
d. Expression de Bcl6	74
B. Stratégie diagnostique :	
Lymphome de la zone marginale ganglionnaire	
versus lymphome folliculaire de présentation atypique	77
1. Données de la littérature	77
2. A propos de notre série	78
C. Stratégie diagnostique :	
Lymphome de la zone marginale ganglionnaire	
versus maladie de Waldenström/lymphome lymphoplasmocytaire	80
1. Données de la littérature	80
2. A propos de notre série	82
CONCLUSION	83
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	85

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	acide désoxyribonucléique
c.	cellules
EBV	Epstein-Barr Virus
FISH	Hybridation In Situ en Fluorescence
FLIPI	Index Pronostique International des Lymphomes Folliculaires
HES	Hémalun-Eosine-Safran
HHV8	Human Herpesvirus (type 8)
L.	lymphome
LDH	Lactate Deshydrogenate
LL	Lymphome Lymphocytaire
LSI	Locus Specific Identifier
MALT	Mucosa Associated Lymphoid Tissue
MGUS	Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance
MUM1	Multiple Myeloma oncogene 1
MYD88	MYeloid Differentiation
NFkB	Nuclear Factor kappa B
NOS	Not Otherwise Specified
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	Polymerase Chain Reaction
REAL classification	Classification Révisée Européenne et Américaine des Lymphomes
SNC	Système Nerveux Central
TLR	Récepteur Toll-like
WHO	World Health Organisation

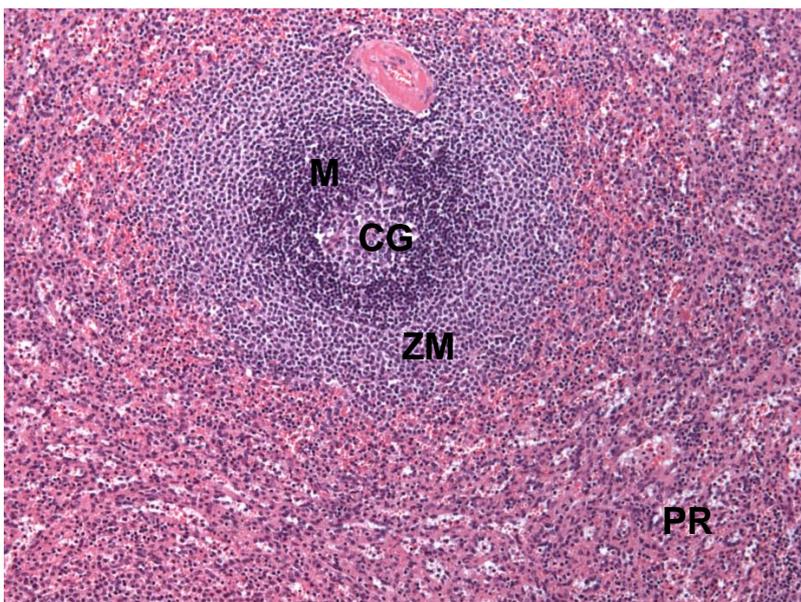
INTRODUCTION

A. LA ZONE MARGINALE : DEFINITION, LOCALISATION ANATOMIQUE ET MORPHOLOGIE

La zone marginale est un compartiment anatomique distinct, composé de cellules B, bien développée dans les organes lymphoïdes soumis à un abondant afflux antigénique, tels que la rate (Figure 1), les plaques de Peyer de l'intestin grêle et les amygdales. Elle s'individualise de manière moins évidente au sein des ganglions, hormis les ganglions mésentériques (1).

La zone marginale fait partie du follicule lymphoïde. Elle entoure la couronne de lymphocytes du manteau et se compose d'éléments lymphocytaires de taille moyenne, au noyau présentant un ou deux nucléoles, au cytoplasme pâle plus ou moins abondant. Il s'y associe quelques petits lymphocytes, des macrophages, des polynucléaires et des plasmocytes (2).

Figure 1 : Rate



CG : Centre Germinatif

M : Manteau

ZM : Zone Marginale

PR : Pulpe Rouge

B. LE LYMPHOME DE LA ZONE MARGINALE GANGLIONNAIRE

1. Définition

Le lymphome de la zone marginale ganglionnaire appartient à la famille des lymphomes à petites cellules B (Tableau 1) et se situe dans le sous-groupe des lymphomes de la zone marginale comprenant également le lymphome de la zone marginale splénique et le lymphome de la zone marginale extra ganglionnaire ou lymphome du M.A.L.T. (1)(3). Au sein des lymphomes de la zone marginale, 10% sont de type ganglionnaire, 20% de type splénique et 70% de type M.A.L.T.(4).

Le lymphome de la zone marginale ganglionnaire se définit comme étant un lymphome à petites cellules B de localisation primitivement ganglionnaire, se développant au niveau de la zone marginale du follicule lymphoïde en l'absence de signes cliniques de localisation extra ganglionnaire (hormis la moelle osseuse) ou splénique (5).

Tableau 1 : Classification OMS 2008 des lymphomes B (3)

Prolifération de Cellules B « précurseurs »

Lymphome /leucémie lymphoblastique B

Proliférations B matures (périphériques)

Leucémie lymphoïde chronique (LLC) B /Lymphome lymphocytaire

Leucémie prolymphocytaire B

Lymphome splénique de la zone marginale

Leucémie à tricholeucocytes

Lymphome lymphoplasmocytaire

Maladies des chaînes lourdes

Tumeurs plasmocytaires

Lymphome de la zone marginale extraganglionnaire du MALT (lymphome du MALT)

Lymphome de la zone marginale ganglionnaire

Lymphome folliculaire

Lymphome primitif cutané centro-folliculaire

Lymphome à cellules du manteau

Lymphome diffus à grandes cellules B, NOS

Lymphome B à grandes cellules riche en c. T/histiocytes

Lymphome B à grandes cellules du SNC

Lymphome B à grandes cellules primitif cutané, de type jambe

Lymphome B à grandes cellules EBV+ du sujet âgé

Lymphome B à grandes cellules associé à une inflammation chronique

Granulomatose lymphomatoïde

Lymphome B à grandes cellules du médiastin (thymique)

Lymphome B à grandes cellules intravasculaire

Lymphome B à grandes cellules ALK+

Lymphome plasmablastique

Lymphome B à grandes cellules associé à une maladie de Castleman multicentrique HHV8+

Lymphome primitif des séreuses

Lymphome de Burkitt / leucémie de Burkitt

Lymphome B, inclassable, avec aspects intermédiaires entre L. B à grandes c. et Burkitt

Lymphome B, inclassable, avec aspects intermédiaires entre L. B à grandes c. et Hodgkin

2. Historique

Le lymphome de la zone marginale ganglionnaire a été décrit pour la première fois en 1986 par Sheibani et al., sous le terme de lymphome à cellules B monocytoïdes (6). Cette pathologie existait antérieurement mais n'était pas clairement individualisée (7). Le terme de lymphome à cellules B monocytoïdes a été utilisé, en raison de la similarité des cellules néoplasiques avec celles observées dans les lymphadénopathies consécutives à une toxoplasmose. Cousar et al. lui ont préféré le terme de lymphome parafolliculaire, en relation avec la distribution des cellules néoplasiques autour de follicules hyperplasiques, comme décrit dans leur série (8); tandis qu'en 1988, Piris et al. mettaient en évidence la ressemblance entre les cellules du lymphome à cellules B monocytoïdes et celles provenant de la zone marginale (9).

La classification Révisée Européenne et Américaine des Lymphomes (R.E.A.L. classification) reconnaît cette entité de manière provisoire, sous le terme de lymphome de la zone marginale ganglionnaire (10), tandis que la classification des néoplasies lymphoïdes de l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO 2001 et 2008) la reconnaît, de manière définitive(3)(11).

3. Epidémiologie

Le lymphome de la zone marginale ganglionnaire est une entité rare représentant 1.5 à 1.8% des néoplasies lymphoïdes (12). Il s'agit d'une pathologie de l'adulte dont l'âge moyen de survenue est 60 ans, en proportion semblable chez l'homme et la femme (13). Il est également décrit chez l'enfant (14).

4. Clinique

La majorité des patients sont asymptomatiques et le diagnostic est effectué généralement à un stade tardif (stade III et IV de la classification de Ann Arbor). Les symptômes B sont rapportés dans moins de 15% des cas.

A l'examen clinique, il existe une lymphadénopathie périphérique généralisée ou isolée, dont la localisation varie selon les auteurs (13)(15). La localisation cervicale apparaît être la plus fréquente (5).

Par définition, il n'y a pas de localisation splénique, hépatique ou au niveau des tissus lymphoïdes annexés aux muqueuses. On peut observer un envahissement médullaire dans environ 1/3 des cas (16).

5. Aspects morphologiques

a. Architecture

Différents types d'architectures sont décrits.

L'architecture diffuse est la plus fréquente, souvent associée à des zones vaguement nodulaires, pour un contingent minoritaire. Elle correspond à des plages de cellules tumorales, effaçant partiellement ou totalement l'architecture classique du ganglion.

L'architecture nodulaire est caractérisée par la présence de nodules bien définis, riches en cellules tumorales, de taille variable, séparés par un espace inter folliculaire pouvant être dépourvu de cellules tumorales.

L'organisation inter folliculaire est également rapportée. Les cellules tumorales se situent en périphérie de follicules réactionnels et s'étendent dans l'espace inter folliculaire. Elles peuvent coloniser ces follicules.

L'architecture périfolliculaire correspond à une distribution en couronne des cellules tumorales autour des follicules secondaires (12)(17)(18).

L'organisation de type splénique est caractérisée par une architecture nodulaire présentant un aspect en cocarde au centre sombre et à couronne périphérique claire (19).

b. Cytologie

Il existe un polymorphisme cellulaire.

Les cellules tumorales sont composées, en nombre variable, de cellules de la zone marginale monocytoïdes (cellules de taille petite à moyenne, au cytoplasme pâle dont le noyau est central, régulier et la chromatine dense) et centrocytiques (cellules de petite taille au cytoplasme peu abondant, dont le noyau est irrégulier, clivé et la chromatine dense).

La présence d'une différenciation plasmocytaire est fréquente. Les lymphoplasmocytes sont des cellules de petite taille, au noyau en général excentré, semblable à celui d'un lymphocyte, au cytoplasme basophile plus abondant qu'un lymphocyte mature. Les plasmocytes sont également de petite taille, au cytoplasme basophile, au noyau ovalaire, excentré, à chromatine mottée. Il existe une clarté juxta nucléaire correspondant à l'appareil de Golgi.

L'association à des grandes cellules est également décrite (cellules de grande taille, au cytoplasme pâle, au noyau volumineux dont la chromatine est hétérogène, possédant plusieurs nucléoles) (12)(20)(21).

6. Immunophénotype

Les lymphomes de la zone marginale ganglionnaire expriment les marqueurs B, le CD43 dans 50% des cas. Classiquement, le CD5, CD23, CD10, Bcl6, la cycline D1 et Sox 11 ne sont pas exprimés, alors que Bcl2 est positif dans la majorité des cas (12)(22).

7. Anomalies moléculaires

Les trisomies 3, 7 et 18 sont les plus rapportées (12).

Les trisomies 3 et 18 sont également décrites dans les lymphomes de la zone marginale extra ganglionnaire et splénique (23), tandis que la t(11;18)(q21 ;q21), observée dans le lymphome de la zone marginale extra ganglionnaire, n'est pas une anomalie moléculaire rapportée dans le lymphome de la zone marginale ganglionnaire (24). Il n'y a pas d'anomalie moléculaire spécifique du lymphome de la zone marginale ganglionnaire.

C. LE LYMPHOME DE LA ZONE MARGINALE GANGLIONNAIRE : UN DIAGNOSTIC D'EXCLUSION

Comme décrit précédemment, il n'existe pas encore de critère positif en faveur du diagnostic de lymphome de la zone marginale ganglionnaire, mais plutôt un ensemble d'éléments négatifs, permettant d'éliminer les autres lymphomes à petites cellules B, principaux diagnostics différentiels.

1. Morphologie

La plupart des lymphomes à petites cellules B ont une morphologie caractéristique, observée dans la majorité des cas. Certaines variantes peuvent présenter une différenciation marginale ou lymphoplasmocytaire, pouvant amener à discuter plusieurs diagnostics.

a. Les lymphomes à petites cellules B à différenciation marginale

- Le lymphome folliculaire

Le lymphome folliculaire est classiquement d'architecture folliculaire et se compose de centrocytes et centroblastes, en proportion variable (25). Occasionnellement, certains d'entre eux présentent des caractéristiques morphologiques d'un lymphome de la zone marginale, associées à celles d'un lymphome folliculaire. Ce type de lymphome était dénommé « lymphome composite » (26).

Actuellement, il est admis qu'environ 9% des lymphomes folliculaires possèdent un contingent de type « zone marginale » (27).

Goodlad et al. (27) ont décrit 3 cas de lymphome folliculaire à différenciation marginale. Chaque cas était constitué des 2 composantes : une de type folliculaire et l'autre de type marginale. Il existait des follicules néoplasiques, composés de centrocytes et centroblastes entourés de cellules monocytoïdes.

Yegappan et al. (26) ont rapporté 3 cas. La morphologie était identique aux cas décrits par Goodlad et al..

Jourdan et al. (28) ont décrit un cas. Il était d'architecture diffuse, associé à de rares follicules néoplasiques composés de centrocytes. Les cellules monocytoïdes étaient massivement localisées au sein des plages de cellules tumorales.

Yamada et al. (29) ont rapporté 3 cas. Deux cas étaient d'architecture diffuse, composés de cellules centrocytiques et/ou monocytoïdes. Le troisième cas était d'architecture folliculaire. Le contingent monocytoïde était observé dans l'espace interfolliculaire.

- Le lymphome du manteau

Le lymphome du manteau est classiquement d'une architecture nodulaire, diffuse ou plus rarement développée exclusivement au niveau de la zone du manteau (30). Il se compose de cellules monomorphes, de taille petite à moyenne, au cytoplasme pâle, peu abondant, au noyau irrégulier ou clivé de type centrocytique (31). Quelques auteurs ont décrit de rares cas de lymphome du manteau dans une variante marginale (32)(33).

Golardi et al. (32) ont rapporté un cas d'architecture diffuse, composé de cellules monocytoïdes.

Mansoor et al. (33) ont rapporté 3 cas, dont 2 de localisation ganglionnaire. Le premier était d'architecture nodulaire, avec des centres germinatifs résiduels, composé de cellules monocytoïdes. Le deuxième cas était d'architecture diffuse, composé de cellules monocytoïdes et de quelques lymphoplasmocytes.

b. Les lymphomes de morphologie lymphoplasmocytaire

- Le lymphome lymphoplasmocytaire

Le lymphome lymphoplasmocytaire se présente, habituellement, comme une prolifération monomorphe, diffuse, de petits lymphocytes, associés à un nombre variable de lymphoplasmocytes et plasmocytes. Des corps de Dutcher sont en général retrouvés en quantité variable. Une augmentation du nombre de mastocytes, une réaction épithélioïde, ainsi que des dépôts d'hémosidérine, peuvent être observés (30). Il est de localisation principalement médullaire, mais peut envahir les ganglions et la rate. Dans le ganglion, les sinus sont préservés, le plus souvent dilatés. Des follicules lymphoïdes, en partie colonisés, peuvent persister (34)(35).

Devant la difficulté diagnostique de ce type de lymphome, certains auteurs proposent un diagnostic uniquement descriptif : lymphome à petites cellules B à différenciation plasmocytaire (35). Les localisations ganglionnaires de maladie de Waldenström entrent dans cette catégorie. La maladie de Waldenström est définie comme étant un lymphome lymphoplasmocytaire de localisation médullaire associée à une gammopathie monoclonale à IgM (34)(36).

- Le lymphome folliculaire

Il peut exister une différenciation plasmocytaire dans le lymphome folliculaire (25). La composante lymphoplasmocytaire et/ou plasmocytaire est localisée au sein des follicules lymphoïdes néoplasiques ou dans l'espace inter folliculaire (37).

- Le lymphome du manteau

Les lymphoplasmocytes et plasmocytes sont habituellement absents dans ce type de lymphome.

Young et al. (38) ont rapporté 2 cas de lymphome du manteau à différenciation plasmocytaire. L'architecture du cas 1 était de type nodulaire, composé de petits lymphocytes atypiques, associés à une population plasmocytaire localisée au centre des nodules ou dans les centres germinatifs réactionnels.

Le cas 2 était d'architecture nodulaire, caractérisée par une expansion de la zone du manteau. Des nids de plasmocytes étaient observés au sein des centres germinatifs réactionnels.

2. Immunophénotype

Les lymphomes à petites cellules B (hormis les lymphomes de la zone marginale) possèdent des profils phénotypiques spécifiques, observés dans la majorité des cas.

Des variétés phénotypiques sont décrites dans le lymphome de la zone marginale ganglionnaire. Les cellules tumorales peuvent exprimer Bcl6, CD5 ou encore CD23, rendant le diagnostic particulièrement difficile (18)(39).

a. Expression de Bcl6 : lymphome folliculaire

Dans les tissus normaux, cette protéine est exprimée par les cellules lymphoïdes des centres germinatifs des follicules secondaires ainsi que par quelques lymphocytes T CD4+ de l'espace inter folliculaire (40).

Les cellules lymphomateuses du lymphome folliculaire expriment classiquement les marqueurs B, Bcl2, Bcl6 et CD10. Il n'y a pas d'expression de CD5 et CD43. L'expression de CD10 peut être absente dans certains cas, mais en général, l'expression de Bcl6 est conservée. Cette particularité concerne principalement les lymphomes de grade 3B (25).

L'expression de MUM1 est classiquement négative, mais quelques cas sont positifs, en particulier les grades 3B CD10- (41).

b. Expression de CD5 et de cycline D1 : lymphome du manteau

L'antigène CD5 est présent à la surface des cellules T dans les tissus normaux. Les cellules lymphomateuses du lymphome du manteau expriment dans la majorité des cas les marqueurs B, CD5, CD43, cycline D1, Bcl2 et n'expriment pas Bcl6 et CD10. Le marquage avec l'anticorps anti-CD23 est généralement négatif mais peut être faiblement positif.

Des phénotypes aberrants ont été décrits, le plus souvent en association avec une variante blastoïde ou pléomorphe tels que l'absence d'expression de CD5 avec une expression de CD10 et Bcl6 (31). Le lymphome du manteau à différenciation marginale CD5- peut poser des difficultés diagnostiques (32). La cycline D1 est exprimée dans la majorité des cas, incluant les cas CD5 négatifs. SOX11 est exprimé dans les lymphomes du manteau cycline D1 négatifs (42).

c. Expression de CD23 : lymphome lymphocytaire

Dans les tissus normaux, l'antigène CD23 est présent à la surface des cellules folliculaires dendritiques des centres germinatifs, ainsi qu'à la surface des lymphocytes de la couronne du manteau, avec un marquage cependant moins intense que celui des cellules du réseau folliculaire dendritique (43). Le phénotype classique des cellules lymphomateuses, dans le lymphome lymphocytaire, est la positivité des marqueurs B, CD5, CD23, CD43 ainsi que l'absence d'expression de CD10.

Cependant, quelques cas présentent un phénotype atypique, avec l'absence d'expression du CD5 ou du CD23 (44).

3. FISH

De nombreuses anomalies moléculaires ont été décrites dans les lymphomes. Elles ont un intérêt diagnostique et sont prises en compte dans la classification OMS de ces tumeurs.

a. Principes généraux

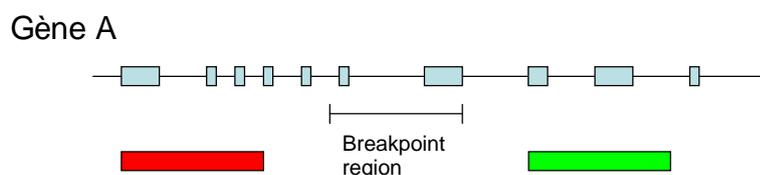
La technique par FISH permet de mettre en évidence différentes anomalies chromosomiques. Il s'agit d'une analyse, sur noyaux non mitotiques, avec des sondes spécifiques de régions chromosomiques, utilisant les propriétés d'hybridation de l'ADN. Ces sondes spécifiques de la région à analyser sont marquées d'un fluorochrome qui entraîne la révélation du complexe sonde-cible (45).

b. Types de sondes

Il existe différents types de sondes. Pour ce travail, nous avons utilisé des sondes spécifiques d'un locus : LSI pour « Locus Specific Identifier ».

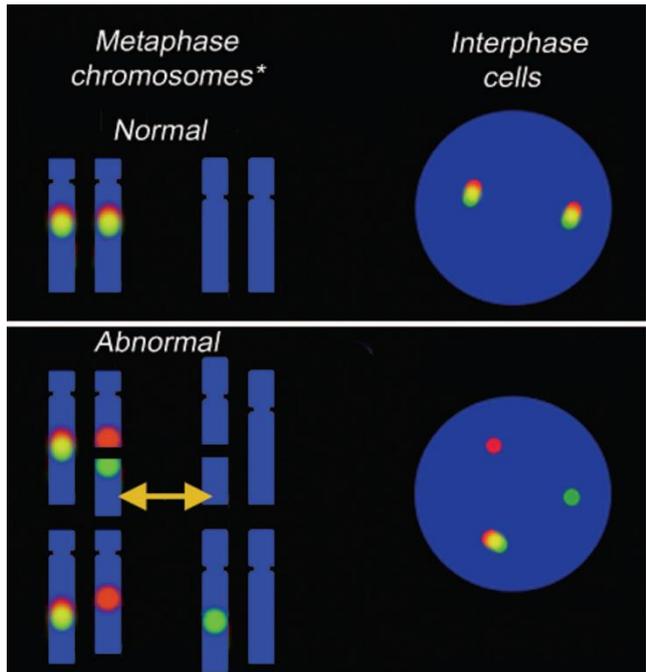
Les sondes « Break-Apart » correspondent à deux sondes marquées de couleurs différentes (rouge et verte par exemple), s'hybridant de part et d'autre des points de cassure du gène d'intérêt (A). L'interprétation est plus aisée mais ce type de sonde ne donne pas de renseignement sur le gène partenaire (Figures 2 et 3).

Figure 2 : Sonde « Break-Apart »



D'après Copie-Bergman C, Communication Orale, Carrefour Pathologie 2010.

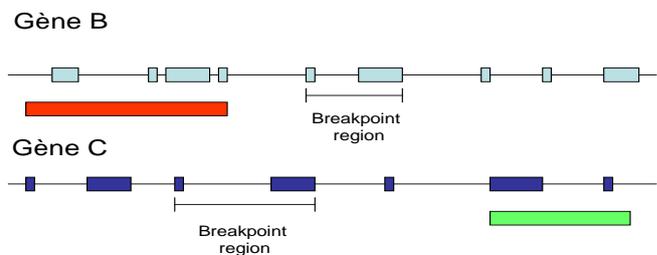
Figure 3 : Sonde « Break-Apart »



Ventura et al., Journal of Molecular Diagnostics 2006

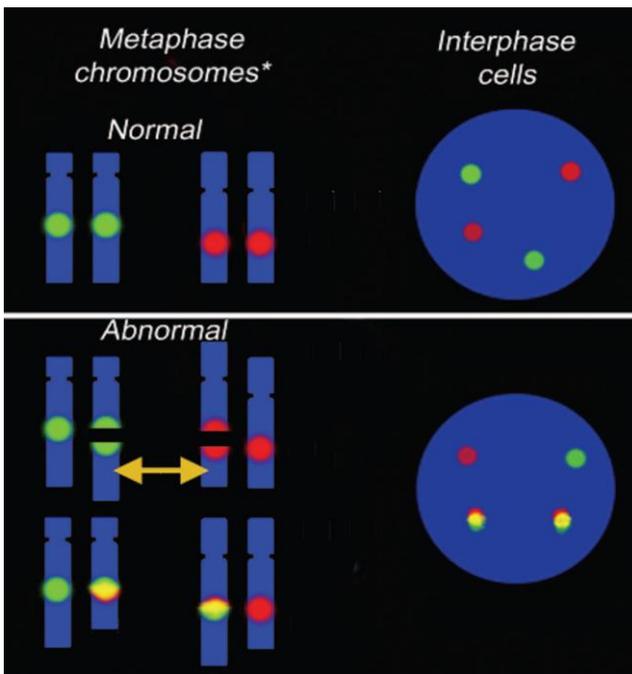
Les sondes « Dual-Fusion » correspondent à deux sondes marquées de couleurs différentes (rouge et verte par exemple), s'hybridant à leur locus respectif situés sur 2 chromosomes différents (B, C). L'interprétation est plus difficile mais permet de connaître le gène partenaire (46) (Figures 4 et 5).

Figure 4 : Sonde « Dual-Fusion »



D'après Copie-Bergman C, Communication Orale, Carrefour Pathologie 2010.

Figure 5 : Sonde « Dual-Fusion »



Ventura et al., Journal of Molecular Diagnostics 2006

c. FISH et lymphomes à petites cellules B

Les principaux types d'anomalies chromosomiques décrites dans les lymphomes à petites cellules B sont résumés ci-dessous. L'absence de ces anomalies moléculaires est un argument supplémentaire en faveur du diagnostic de lymphome de la zone marginale ganglionnaire.

- Lymphome folliculaire

La $t(14;18)(q32;q21)$ ainsi que le réarrangement de *BCL6* sont les principales anomalies décrites dans le lymphome folliculaire (25).

L'incidence de la $t(14;18)(q32;q21)$ -*IGH/BCL2* est de l'ordre de 70 à 95% dans le lymphome folliculaire (47). La translocation juxtapose le gène des chaînes lourdes d'immunoglobulines

(*IGH*) situé sur le chromosome 14, à celui de l'oncogène *BCL2* situé sur le chromosome 18, entraînant une surexpression de la protéine antiapoptotique Bcl2. *Einerson et al.* ont démontré la supériorité de la FISH sur la PCR dans la détection de ce réarrangement (48). Le réarrangement de *BCL6* est décrit dans 8 à 15% des lymphomes folliculaires. Il entraîne une expression de Bcl6 contribuant à la lymphomagenèse (49). Il peut s'agir, soit d'une translocation en 3q27 avec différents partenaires, soit d'une amplification de ce gène (41). Cette anomalie chromosomique est le plus souvent observée dans les lymphomes folliculaires de grade 3B, selon la classification de l'OMS (25)(50).

- Lymphome du manteau

La t(11;14)(q13;q32) est l'anomalie cytogénétique la plus couramment observée dans le lymphome du manteau classique (31). La translocation juxtapose le gène des chaînes lourdes d'immunoglobulines (*IGH*) situé sur le chromosome 14 à celui de *BCL1* situé sur le chromosome 11 (51). Elle entraîne une expression aberrante de la cycline D1 (52).

La progression du cycle cellulaire de la phase G1 à la mitose est contrôlée par l'action coordonnée des cyclines (incluant la cycline D1) et de protéines kinases dépendantes de cyclines. L'augmentation du taux de cycline D1 pousse les cellules à franchir en permanence le point de restriction (53).

- Lymphome de la zone marginale extra ganglionnaire ou lymphome du M.A.L.T

Les éléments cliniques sont les critères les plus importants à prendre en compte afin de distinguer un lymphome de la zone marginale primitivement ganglionnaire d'un envahissement ganglionnaire par un lymphome du M.A.L.T. Différentes anomalies cytogénétiques sont décrites dans le lymphome du M.A.L.T., telles que la t(11;18)(q21;q21), t(1;14)(p22;q32), t(14;18)(q32;q21), t(3;14)(p14.1;q32), ainsi que les trisomies 3 et 18 (54).

La fréquence de survenue de ces anomalies est variable selon le site primitif (55). La t(11;18)(q21;q21) semble être la plus fréquente, survenant dans 18% des cas, principalement dans les localisations gastro-intestinales et pulmonaires. Cette anomalie juxtapose le gène *API2*, inhibiteur de l'apoptose (24), situé sur le chromosome 11, au gène *MALT1*, situé sur le chromosome 18 (56).

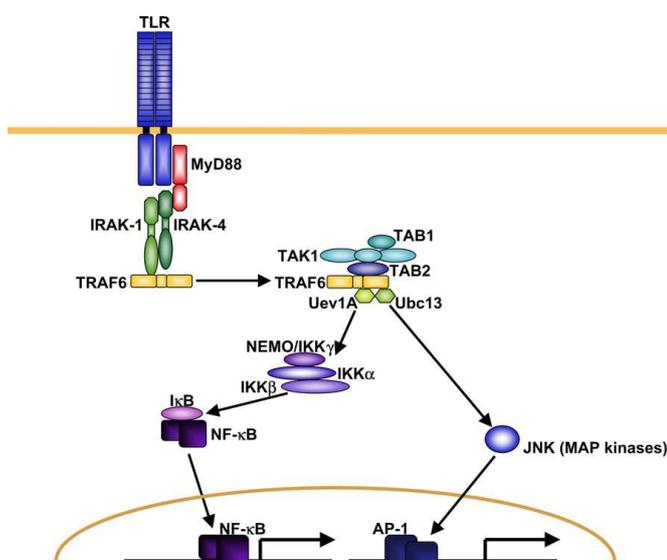
4. MYD88

a. Généralités

MYD88 est une protéine cytoplasmique adaptatrice, jouant un rôle dans la réponse immunitaire innée, par l'intermédiaire des récepteurs Toll-like (TLR).

Le TLR reconnaît un composant spécifique d'un pathogène (lipopolysaccharides par exemple) (Figure 6). MYD88 interagit avec la portion intra cytoplasmique du TLR conduisant à l'activation du facteur de transcription NFκB régulant la production de cytokines inflammatoires et de molécules anti-apoptotiques (57).

Figure 6



Takeda et al., Seminars in Immunology 2004

L'inactivation du gène chez l'homme favorise les infections bactériennes récidivantes (58) tandis que sa surexpression est impliquée dans certaines pathologies auto-immunes (59). La mutation L265P de *MYD88* a été décrite par Ngo et al. dans les lymphomes à grandes cellules B de type activé. Il s'agit d'une mutation activatrice ayant un rôle dans la survie cellulaire. La Thymine, située en position 794 de l'exon 5 de *MYD88*, est remplacée par une Cytosine, entraînant une mutation gain de fonction, par remplacement de la Leucine en Proline, en position 265. Il en résulte l'assemblage d'un complexe protéique comprenant IRAK1 et IRAK4, conduisant à une activité IRAK4 kinase et à une activation continue de la voie NFκB (60).

b. Lymphome lymphoplasmocytaire / Maladie de Waldenström

La mutation L265P de *MYD88* est récurrente chez les patients atteints d'une maladie de Waldenström (61). Elle est moins fréquemment décrite dans les lymphomes de la zone marginale, particulièrement les lymphomes de la zone marginale ganglionnaire (62)(63)(64). Le diagnostic différentiel d'un lymphome de la zone marginale ganglionnaire, riche en lymphoplasmocytes et plasmocytes peut se poser avec un lymphome lymphoplasmocytaire ou une maladie de Waldenström (34); ce qui semble justifier l'utilisation de ce marqueur dans la stratégie diagnostique.

5. Pronostic – Thérapeutique

a. Pronostic

Le pronostic apparaît moins favorable que dans les autres lymphomes de la zone marginale (65)(66). Dans la série de Arcaini et al. (13), les facteurs pronostiques défavorables

diminuant la survie globale étaient, l'âge supérieur à 60 ans, un taux de LDH supérieur à la normale et un grade élevé de l'Index Pronostique International des Lymphomes Folliculaires (FLIPI : 5 facteurs à évaluer pour 3 grades (67)). Toujours dans cette série, la survie sans progression est diminuée en cas de symptômes B, de la nécessité d'un recours à la chimiothérapie et d'absence de réponse au traitement (13).

La médiane de survie sans progression est évaluée à 2,5 ans et la survie sans progression à 5 ans est évaluée à 29%. La survie globale à 5 ans est de l'ordre de 60%. L'évolution en lymphome à grandes cellules B est possible, mais l'incidence est peu décrite (12).

b. Thérapeutique

Il existe peu de séries dans la littérature sur le traitement des lymphomes de la zone marginale ganglionnaire. La surveillance seule semble être la conduite à tenir pour les patients asymptomatiques présentant une faible masse tumorale. Le traitement par anticorps anti-CD20 (Rituximab) est indiqué chez les patients réticents à l'absence de thérapeutique ainsi que chez les patients âgés symptomatiques ne pouvant supporter une chimiothérapie. Un traitement par Rituximab associé à une chimiothérapie est indiqué chez les patients symptomatiques. La chimiothérapie la plus appropriée fait toujours l'objet de débats et dépend de la présentation clinique (68). Des protocoles de chimiothérapie associant cyclophosphamide, vincristine, prednisone (CVP) ou cyclophosphamide, vincristine, doxorubicine, prednisone (CHOP) sont proposés (16).

BUT DE L'ETUDE

Le lymphome de la zone marginale primitivement ganglionnaire est un diagnostic d'exclusion. Le but de notre étude était de mettre en place une stratégie d'examens complémentaires à réaliser face à une suspicion de lymphome de la zone marginale ganglionnaire afin d'éliminer les principaux diagnostics différentiels représentés par les autres lymphomes à petites cellules B de présentation atypique.

MATERIEL ET METHODES

A. SELECTION DES CAS

Les patients inclus dans notre étude ont bénéficié d'une biopsie ou d'une biopsie-exérèse chirurgicale d'une adénopathie dont le diagnostic histologique a été effectué dans le service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques du CHRU de Lille entre janvier 2005 et décembre 2011.

Nous avons sélectionné l'ensemble des lymphomes de la zone marginale, puis inclus uniquement les lymphomes de la zone marginale primitivement ganglionnaire. Les patients présentant une splénomégalie, l'envahissement d'un ganglion péri splénique ou une localisation extra ganglionnaire (autre que la moelle osseuse) ont été exclus.

L'identification de ces patients a été effectuée avec le logiciel DIAMIC® en utilisant la codification ADICAP (code organe SG sélectionnant le ganglion lymphatique, codes lésions J7M0 et J7M2 correspondant respectivement à *Lymphome B de la zone marginale extra ganglionnaire du MALT* et *Lymphome de la zone marginale ganglionnaire (+/- cellules monocytoïdes)*). Le diagnostic a été posé selon les critères définis par l'OMS 2008(12).

Sur les 62 cas recensés, 24 cas correspondant à des lymphomes de la zone marginale ganglionnaire ont été inclus. Sur les 38 cas exclus, les causes d'exclusion ont été :

- absence de matériel pour 25 cas (prélèvement adressé pour avis diagnostic ; bloc non conservé dans le service)

- erreur de codification du type histologique dans DIAMIC® pour 4 cas (lymphome de la zone marginale splénique)

- localisation d'un lymphome de la zone marginale au sein d'un ganglion péri splénique sans autre précision pour 5 cas.

- localisation d'un lymphome de la zone marginale extra ganglionnaire pour 4 cas (parotide : 2 cas, thymus : 1 cas, paupière : 1 cas).

Les résultats du caryotype réalisé au moment du diagnostic initial ont été intégrés dans la caractérisation des cas lorsqu'ils étaient disponibles.

B. ETUDE HISTOPATHOLOGIQUE

Deux pathologistes ont revu l'ensemble des lames avec pour objectif de préciser :

- L'architecture (évaluation effectuée sur les colorations HES et Gordon Sweet) :

- Diffuse
- Nodulaire
- Nodulaire et diffuse
- Folliculaire
- Splénique

- Les variétés cytologiques :

- Lymphoplasmocytaire
- Monocytoïde
- Centrocytique

La présence ou l'absence de plasmocytes matures, de corps de Dutcher, de nids de cellules épithélioïdes et d'un contingent à grandes cellules étaient précisées.

C. ETUDE IMMUNOHISTOCHIMIQUE

L'étude immunohistochimique réalisée lors du diagnostic initial a été complétée afin de disposer du même panel d'anticorps pour l'ensemble des cas.

1. Technique

Des coupes tissulaires de 4 µm étaient réalisées à partir des blocs de tissus inclus en paraffine. Elles étaient étalées sur lames silanées à l'aide d'eau albuminée à 2% et séchées à l'étuve à 56°C pendant 24 heures. Les étapes de déparaffinage, de prétraitement, de blocage de l'activité peroxydase endogène, d'incubation, d'amplification et de révélation étaient effectuées à l'aide d'un automate VENTANA BENCHMARK XT :

- déparaffinage : réalisée grâce à l'action combinée de la chaleur et d'une solution légèrement détergente (EZ Prep, Ventana).

- pré-traitement : réalisée à la chaleur et à l'aide du tampon Tris à pH légèrement basique (CC1, Ventana). La durée de pré-traitement varie en fonction des anticorps utilisés.

- blocage de l'activité peroxydase endogène : lames au contact de l'eau oxygénée pendant 8 minutes.

- incubation : les lames sont incubées avec les anticorps primaires. Les anticorps sont ensuite détectés par des anticorps secondaires.

- amplification : réalisée grâce au complexe ultraVIEW Universal DAB Detection Kit technology.

- révélation : à l'aide du chromogène diaminobenzidine tétrahydrochloride (DAB+H₂O₂) produisant un précipité brun (DaBO₂).

Entre chaque étape, des rinçages étaient effectués avec le tampon de la machine (APK Wash Ventana).

Une contre coloration à l'hématoxyline associée au Bluing Reagent était réalisée. Puis, elles étaient déshydratées, passées dans le xylène et montées.

Les données relatives aux anticorps utilisés sont résumées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Anticorps primaires : provenance, clonalité, dilution, prétraitement et incubation

Anticorps	Laboratoire	Clonalité	Dilution	Prétraitement	Incubation
Anti-Bcl2 clone E17	Epitomics	E17	1/100	CC1,60'	32'. Protéase 634
Anti-Bcl6	Ventana	PG-B6p	Prédilué	CC1, 60'	32'
Anti-CD3	Novocastra	LN10	1/100	CC1, 30'	32'
Anti-CD5	Novocastra	4C7	1/100	CC1, 60'	32'
Anti-CD10	Novocastra	56C6	1/10	CC1, 30'	32'
Anti-CD20	Biosystems	L26	1/100	CC1, 30'	20'
Anti-CD21	Ventana	2G9	Prédilué	CC1, 30'	32'
Anti-CD23	Novocastra	1B12	1/20	CC1, 30'	20'
Anti-CD43	Novocastra	MT1	1/40	CC1, 30'	32'
Anti-CD79 α	Dako	JCB117	1/40	CC1, 30'	32'
Anti-cycline D1	Ventana	SP4	Prédilué	CC1,30'	32'
Anti-Ki67	Dako	MIB-1	1/50	CC1, 60'	32'
Anti-MUM1	Dako	MUM1P	1/100	CC1, 60'	32'
Anti-Sox 11	Sigma		1/50	CC1, 60'	32'. Protéase 255

2. Interprétation des immunomarquages (Tableau 3)

L'analyse immunohistochimique a été réalisée par deux pathologistes. Les anticorps nécessaires pour effectuer ce travail sont réalisés en routine au sein du laboratoire. Il n'a pas été nécessaire de réaliser de témoin externe, la plupart d'entre eux possédant un témoin interne.

Tableau 3 : Interprétation de l'immunomarquage

Anticorps	Type d'évaluation	Type de marquage	Témoins internes	Intérêts
Anti-Bcl2 clone E17	Qualitative	Cytoplasmique	Lymphocytes T réactionnels	Marquage des cellules lymphomateuses dans le LF
Anti-Bcl6	Qualitative et semi-quantitative	Nucléaire	Cellules CG résiduels. Rares lymphocytes T en para corticale	Marquage des cellules du CG, des cellules lymphomateuses dans le LF
Anti-CD3	Qualitative	Cytoplasmique	Lymphocytes T réactionnels	Marquage des lymphocytes T. Comparaison avec l'anticorps anti-CD5
Anti-CD5	Qualitative	Cytoplasmique	Lymphocytes T réactionnels	Marquage des lymphocytes T, des cellules lymphomateuses dans le LM, le LL
Anti-CD10	Qualitative	Cytoplasmique et membranaire	Cellules CG résiduels	Marquage des cellules du CG, des cellules lymphomateuses dans le LF
Anti-CD20	Qualitative	Cytoplasmique et membranaire	Lymphocytes B non tumoraux	Marquage des cellules B
Anti-CD21	Qualitative, évaluation du RFD	Membranaire	Cellules du RFD	Evaluation du RFD
Anti-CD23	Qualitative, évaluation du RFD	Membranaire	Cellules du RFD	Evaluation du RFD. Marquage des cellules lymphomateuses dans le LL
Anti-CD43	Qualitative	Cytoplasmique et membranaire	Lymphocytes T réactionnels	Marquage des cellules de la lignée myéloïde, des lymphocytes T
Anti-CD79α	Qualitative	Cytoplasmique	Lymphocytes B non tumoraux	Marquage des cellules B
Anti-cyclineD1	Qualitative	Nucléaire	Cellules endothéliales	Marquage des cellules lymphomateuses dans le LM
Anti-Ki67	Semi-quantitative	Nucléaire		Evaluation de l'indice de prolifération
Anti-MUM1	Qualitative et semi-quantitative	Nucléaire	Cellules post-CG	Marquage des cellules lymphomateuses dans une variété particulière de LF
Anti-Sox11	Qualitative	Nucléaire	Cellules endothéliales	Marquage des cellules lymphomateuses dans le LM

CG : Centre Germinatif LF : Lymphome Folliculaire LM : Lymphome du Manteau LL : Lymphome Lymphocytaire RFD : Réseau Folliculaire Dendritique

a. Anticorps anti-Bcl6

Nous avons distingué 2 catégories en fonction du pourcentage de cellules tumorales marquées. Un marquage inférieur à de 30% des cellules tumorales était considéré comme négatif tandis qu'un marquage supérieur ou égal à 30% des cellules tumorales était considéré comme positif (41).

b. Anticorps anti-CD21 et anti-CD23

Quatre types d'organisation du réseau folliculaire dendritique ont été distingués : organoïde, hyperplasique, colonisé ou détruit par les cellules tumorales.

c. Anticorps anti-Ki67

Trois catégories d'expression immunohistochimique de Ki67 ont été distinguées : marquage nucléaire inférieur ou égal à 10%, marquage nucléaire entre 10 et 30%, marquage nucléaire supérieur à 30%.

d. Anticorps anti-MUM1

L'étude de l'expression de MUM1 a été réalisée uniquement pour les 2 cas dont plus de 30% des cellules tumorales exprimées Bcl6.

D. ETUDE PAR FISH

1. Technique

L'objectif de l'étude par FISH était d'éliminer les principaux diagnostics différentiels du lymphome de la zone marginale ganglionnaire. Il a donc été recherché un réarrangement des gènes *BCL1*, *BCL2*, *MALT1* pour l'ensemble des cas.

Pour 3 cas, il a également été réalisé une recherche de réarrangement de *BCL6* afin d'éliminer un lymphome folliculaire sans t(14;18). Pour un cas, une recherche de t(11;14) a été effectuée.

Des coupes tissulaires de 4 µm ont été réalisées à partir des blocs de tissus inclus en paraffine (3 ou 4 lames étaient réalisées par cas).

Le tampon de lavage (WASH BUFFER dilué au 1/20 de l'Histology FISH accessory kit (DAKO®)) et la solution de prétraitement (pretreatment solution diluée au 1/20 de l'Histology FISH accessory kit (DAKO®)) étaient préparés au début de la technique.

a. Préparation des tissus inclus en paraffine

- Déparaffinage

Les coupes étaient déparaffinées dans du xylène (3x10 minutes), réhydratées progressivement (éthanol absolu, 2x3 minutes ; éthanol à 95%, 3 minutes ; éthanol à 70%, 3 minutes) puis rincées dans le tampon de lavage (5 minutes).

- Prétraitement

Elles étaient ensuite immergées dans la solution de prétraitement chauffée au bain-marie à une température de 95 à 99°C pendant 10 minutes puis laissées dans cette même solution à température ambiante pendant 15 minutes. Elles étaient à nouveau rincées dans la solution de lavage (2x3 minutes).

- Traitement à la pepsine

Il consistait en une digestion enzymatique par la pepsine prête à l'emploi contenue dans le kit. 100µl de pepsine froide était déposé sur chaque lame préalablement disposée dans l'Hybrite (SHANDON®) pendant 7 minutes à 37°C. Les coupes étaient à nouveau rincées dans le tampon de lavage (2x3 minutes).

- Déshydratation

Les lames étaient immergées dans des bains successifs d'éthanol (éthanol à 70%, 2 minutes ; éthanol à 95%, 2 minutes puis éthanol à 100%, 2 minutes).

b. Préparation des appositions

Pour 2 cas, l'étude par FISH était également réalisée à partir d'appositions conservées à -20°C.

Les lames étaient décongelées 10 minutes à 4°C puis 10 minutes à température ambiante.

- Fixation

Les lames étaient immergées dans un mélange méthanol/acide acétique (3/1) à 4°C puis séchées pendant 15 minutes.

- Traitement à la pepsine

Elles étaient ensuite réhydratées dans un bain PBS1X (préparation effectuée au laboratoire d'Hématologie du CHRU de Lille ; composée de Disodium hydrogénophosphate dodécahydraté, de Sodium dihydrogénophosphate dihydraté, de Chlorure de sodium et d'eau stérile) pendant 5 minutes à température ambiante puis immergées 10 minutes dans une solution composée de 100µl de pepsine à 10% et 100 ml d'HCL 0.01N à 37°C. Elles étaient rincées dans un bain de PBS1X pendant 5 minutes à température ambiante.

- Post fixation

Les lames étaient ensuite immergées dans la solution de post fixation (préparation effectuée au laboratoire d'Hématologie du CHRU de Lille ; composée de Formaldéhyde à 37%, de PBS1X et de MgCl₂) 10 minutes à température ambiante puis rincées dans un bain de PBS1X à température ambiante.

- Déshydratation

Les lames étaient ensuite déshydratées par bains successifs d'éthanol comme décrit précédemment.

c. Préparation des sondes

Les étapes suivantes s'effectuaient en semi obscurité.

L'hybridation a été réalisée à l'aide des kits :

- LSI CCND1 (11q13) Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe (VYSIS),
- LSI BCL2 Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe (VYSIS),
- LSI MALT1 (18q21) Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe (VYSIS).

Pour 3 cas, une hybridation a été réalisée avec le kit LSI BCL6 Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe (VYSIS).

Pour 1 cas, la préparation a été hybridée avec le kit LSI IGH/CCND1 Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe (VYSIS).

L'étape de préparation de la sonde consistait à déposer dans un tube eppendorf 1µl de sonde (VYSIS), 2µl d'eau stérile et 8µl de tampon d'hybridation (VYSIS).

La préparation était homogénéisée par aspirations/refoulements, déposée au centre du prélèvement puis recouverte d'une lamelle.

d. Co-dénaturation et hybridation

Les lames étaient ensuite placées dans la colonne de dénaturation du Slidebooster d'ADVALYTIX® pour une durée de 5 minutes à 85°C puis déposées dans les chambres d'hybridation à 37°C (14-20 heures). Préalablement, 15µl d'Advason (BECKMAN COULTER®) avait été déposé sur les puces d'agitation et 500µl d'AdvaHum (BECKMAN COULTER®) dans chaque réservoir d'humidification.

e. Lavage post-hybridation

Le lendemain était réalisé le lavage post-hybridation. Les lamelles étaient retirées des lames qui étaient ensuite immergées dans une solution de lavage SCC 0.4X/NP40 (SIGMA®, 100 ml pour 6 lames) à 72-74°C pendant 1 minute renouvelée une fois après agitation. Elles étaient ensuite plongées dans une solution de lavage SCC2X/NP40 (SIGMA®, 100 ml pour 6 lames) à température ambiante pendant 1 minute après agitation. Puis, les coupes étaient déshydratées par bains successifs d'éthanol (éthanol 70%, 5 minutes ; éthanol 85%, 5 minutes puis éthanol 100%, 5 minutes). Elles étaient séchées à température ambiante

pendant 15 minutes puis 10 à 15µl de DAPI (ABOTT®, dilution 1/3) était déposé sur la zone préalablement hybridée. La préparation était recouverte d'une lamelle scellée au vernis.

f. Lecture

La lecture des lames s'effectuait en semi obscurité au microscope à épifluorescence OLYMPUS BX61 relié au logiciel BIOVIEW®. L'observation au microscope était d'abord effectuée au faible grossissement (×100 et ×400) pour repérer les zones les plus adéquates puis au fort grossissement (×1000).

2. Interprétation

L'interprétation a été effectuée par un biologiste et un pathologiste selon les recommandations établies par le fournisseur.

En ce qui concerne les sondes Break Apart, l'interprétation était effectuée selon les critères suivants :

- Présence d'un réarrangement : un spot rouge, un spot vert séparés et un signal de fusion rouge/vert.
- Absence de réarrangement : 2 signaux de fusion rouge/vert.

En ce qui concerne la sonde Dual Fusion, l'interprétation était effectuée selon les critères suivants :

- Présence d'une t(11;14) : un spot rouge, un spot vert séparés et deux signaux de fusion rouge/vert.
- Absence d'une t(11;14) : 2 spots rouges, 2 spots verts séparés.

E. ETUDE PAR PCR DU GENE *MYD88*

La recherche de la mutation L265P, située dans l'exon 5 du gène *MYD88*, a été effectuée sur les 24 échantillons.

1. Extraction d'ADN

L'ADN génomique a été extrait à partir des tissus inclus en paraffine (3 copeaux de 15µm) avec le kit *QIAamp DNA FFPE Tissue kit* (QIAGEN®), selon le protocole recommandé par le fournisseur. La concentration en ADNg a ensuite été mesurée par spectrophotométrie (ND-100 Spectrophotometer, NANODROP®).

2. Choix des amorces

Les amorces ont été choisies dans la région d'intérêt définie préalablement à partir de la séquence du brin d'ADN sens et antisens (Forward 5'-GTTGAAGACTGGGCTTGTCC-3' ; Reverse 5'-AGGAGGCAGGGCAGAAGTA-3')(63).

3. Amplification par PCR

L'ADNg a été amplifié par PCR dans un volume final de 25µl comprenant :

- 12,3µl d'H₂O
- 2,5µl de tampon 10X (contenant 20 mM de MgCl₂),
- 0,5µl de MgCl₂ à 25mM,
- 2,5µl de dNTP,
- 5µl de GC Rich,

- 0,5µl d'amorces sens et antisens à 10pmol/µl,
- 0,2µl d'ADN polymérase TaqFast® (Roche) à 5U/µl
- 1µl d'ADN.

L'amplification a été réalisée dans les conditions suivantes :

- un cycle de dénaturation à 95°C pendant 4 minutes,
- suivi de 40 cycles comportant chacun une étape de dénaturation à 95°C pendant 30 secondes, une étape d'hybridation à 61°C pendant 30 secondes et une étape d'extension à 72°C pendant 45 secondes.
- une phase d'extension finale à 72°C pendant 7 minutes.

5µl de produit d'amplification étaient caractérisés par électrophorèse en gel d'agarose à 4% contenant du SYBR Safe (LIFE TECHNOLOGIE®).

4. Purification du produit de PCR

Le produit d'amplification était purifié une première fois à l'aide d'une plaque *NUCLEOFAST* (MACHEREY-NAGEL®). Il était ensuite récupéré par ajout de 50µl de *BUFFER AE* (MACHEREY-NAGEL®).

5. Réaction de séquence

Le produit d'amplification était ensuite dénaturé puis hybridé avec une amorce spécifique de la séquence à analyser (amorces décrites précédemment) selon le protocole suivant :

- le produit d'amplification était mélangé à un mix contenant :

- 3µl de tampon 5X,
- 1µl d'amorce sens ou anti sens,
- 2µl de *Big Dye terminator3.1* (APPLIED BIOSYSTEMS ®),
- 10µl d'H₂O.

- l'étape suivante consistait en une dénaturation à 98°C pendant 1 minute suivie de 30 cycles comprenant chacun une étape de dénaturation de 10 secondes à 98°C, une étape d'hybridation de 10 secondes à 50°C et une étape d'extension de 4 minutes à 60°C.

6. Purification de la réaction de séquence

Le produit d'amplification était de nouveau purifié afin d'éliminer l'excès de bases fluorescentes. Cette étape était effectuée à l'aide du *Biogel P10*.

7. Séquençage

La plaque était passée dans le séquenceur 48 capillaires 3730 Genetic Analyser (APPLIED BIOSYSTEMS ®) puis analysée à l'aide du logiciel SEQSCAPE®.

RESULTATS

Après études immunohistochimique et FISH complémentaires, 3 cas ont été exclus de notre série.

Les caractéristiques des 3 cas exclus et les critères d'exclusion sont détaillés page 60.

A. CARACTERISTIQUES HISTOPATHOLOGIQUES

1. Architecture

Les 4 types d'architecture observés dans notre étude étaient diffus, nodulaire, nodulaire et diffus, et de type splénique (Planche 1- HES : figures 1 à 3).

L'architecture diffuse était observée dans 9 cas (37.5%), l'architecture nodulaire dans 1 cas (4.5%) avec persistance de quelques centres germinatifs englobés, l'architecture nodulaire et diffuse dans 10 cas (41.5%) et de type splénique dans 4 cas (16.5%).

2. Cytologie

Nous avons observé 3 sous types cytologiques : le type lymphoplasmocytaire, le type monocytoïde et le type centrocytique (Planche 2).

Dans 8 cas (33%), il existait un seul contingent cellulaire. Quatre cas (16.5%) étaient de type lymphoplasmocytaire, 3 cas (12%) étaient de type centrocytique et 1 cas était de type monocytoïde (4.5%).

Dans 16 cas (67%), il existait 2 contingents cellulaires associés.

L'association de cellules lymphoplasmocytaires et monocytoïdes était la plus fréquente et représentait 7 cas sur 16 (28%).

L'association de cellules lymphoplasmocytaires et centrocytiques étaient observée dans 2 cas (9%), et de cellules monocytoïdes et centrocytiques dans 1 cas (4.5%).

Des plasmocytes matures étaient présents dans 3 cas de morphologie lymphoplasmocytaire (12%).

La présence de nids de cellules épithélioïdes était observée dans 1 cas (4.5%), de morphologie monocytoïde.

L'association à des plages de grandes cellules était notée dans 2 cas (9%).

Des corps de Dutcher étaient observés dans 4 cas sur 24 (16.5%).

Le tableau 4 résume le type architectural et les types cytologiques observés.

Planche 1 : Types architecturaux

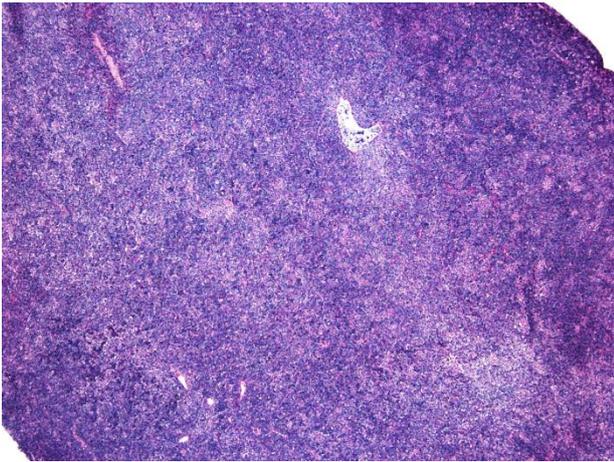


Figure 1 : architecture diffuse (HESx25)

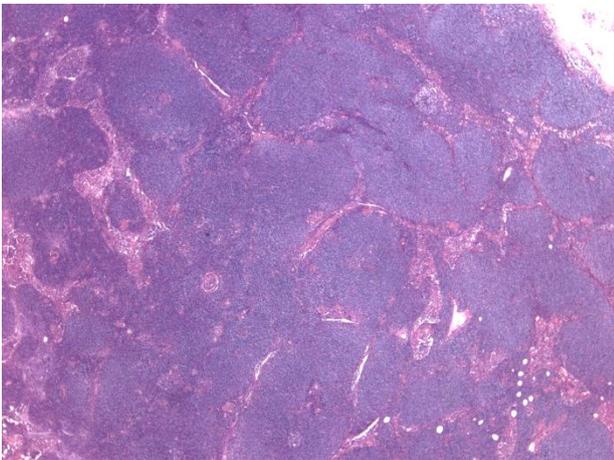


Figure 2 : architecture nodulaire (HESx25)

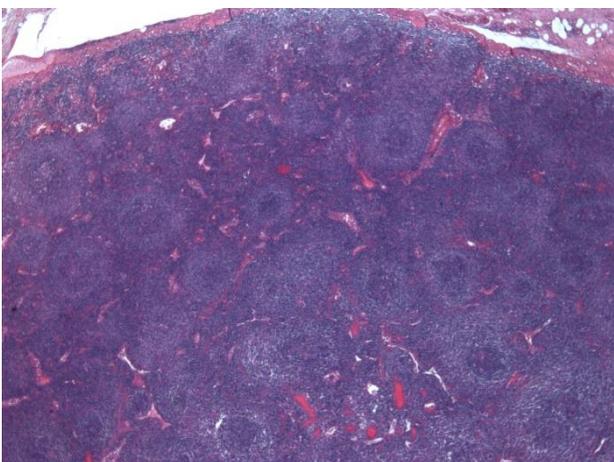


Figure 3 : architecture splénique (HESx25)

Planche 2 : Types cytologiques

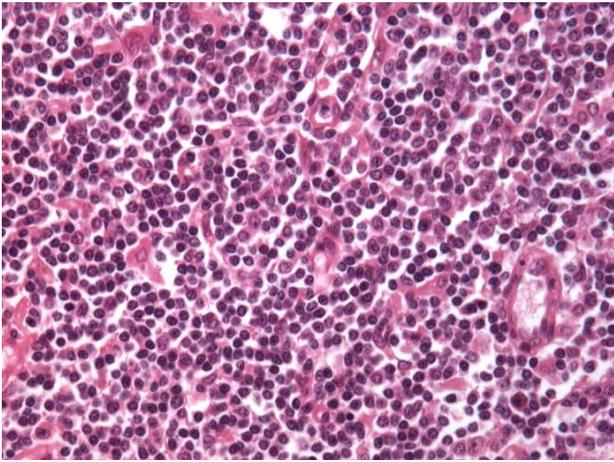


Fig. 1 : type lymphoplasmocytaire (HESx400)

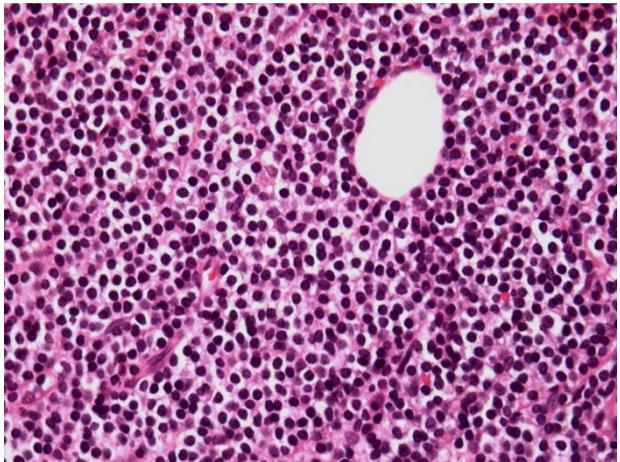


Fig. 2 : type monocytoïde (HESx400)

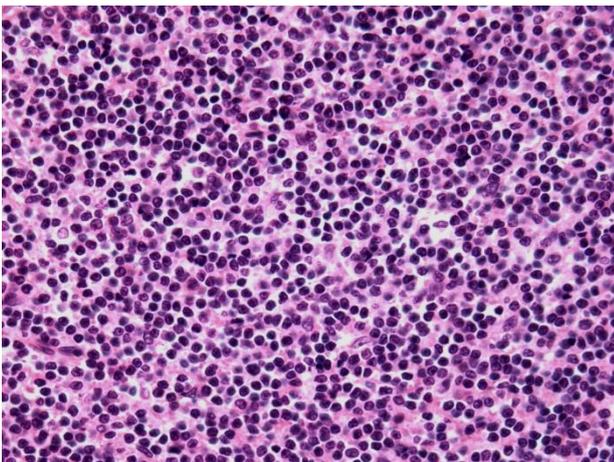


Fig. 3 : type centrocytique (HESx400)

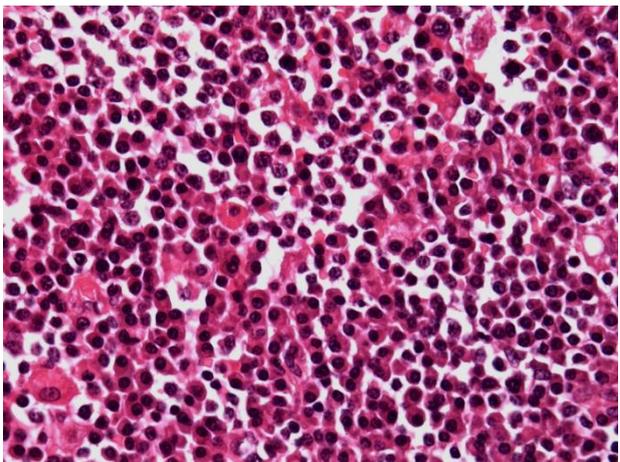


Fig. 4 : plasmocytes (HESx400)

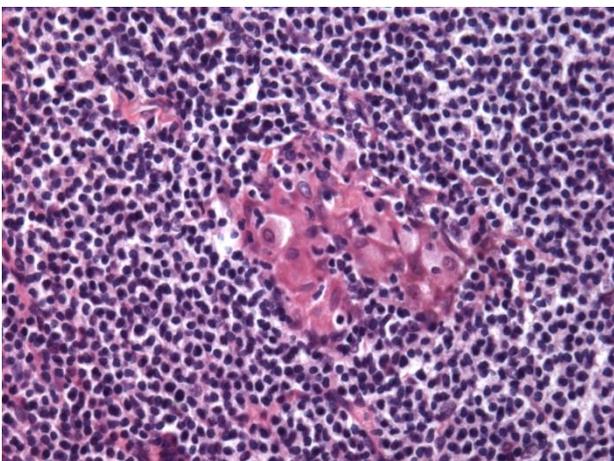


Fig. 5 : nid de cellules épithélioïdes (HESx400)

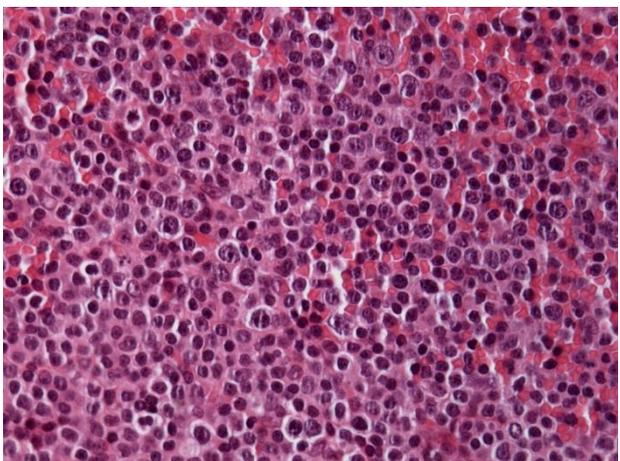


Fig. 6 : grandes cellules (HESx400)

Tableau 4 : Architectures et types cytologiques associés

Cytologie	LP et Monocytoïde	LP	LP et Plasmocytes	LP et CC	CC	CC et Monocytoïde	Monocytoïde	Monocytoïde et nids de cellules épithélioïdes	Grandes cellules
Architecture	n=7	n=4	n=3	n=2	n=3	n=1	n=1	n=1	n=2
Nodulaire et diffuse n=10	3	2	1	0	1	1	1	0	1
Diffus n=9	4	0	2	1	2	0	0	0	0
Splénique n=4	0	2	0	1	0	0	0	0	1
Nodulaire n=1	0	0	0	0	0	0	0	1	0

LP : lymphoplasmocytaire CC : centrocytique

B. CARACTERISTIQUES IMMUNOHISTOCHIMIQUES (Tableau 5)

Dans 10 cas sur 23, le phénotype était classique CD5-, CD10-, CD23-, Bcl6-, cycline D1-, CD43+/- (Planches 3 et 4).

Dans 5 cas, les cellules lymphomateuses exprimaient le CD5, dans 5 cas le CD23, dans 1 cas le CD5 et le CD23 et dans 3 cas le Bcl6 (Planche 5).

Après l'étude immunohistochimique complémentaire, un cas a été exclu et reclassé en lymphome à cellules du manteau sur la base des caractéristiques morphologiques et de l'expression de la cycline D1.

Tableau 5 : Immunohistochimie

Anticorps	Nombre de cas positifs / nombre total de cas
CD20 ou CD79 α	23/23
CD43	9/23
Bcl2 clone E17	23/23
CD3	0/23
CD10	0/23
Bcl6	3/23
<10%	1/23
>10%	2/23
CD5	6/23
CD21	0/23
RFD colonisé	10/23
RFD détruit	12/23
RFD hyperplasique	1/23
CD23	6/23*
RFD colonisé	11/23
RFD détruit	8/23
RFD hyperplasique	4/23
cycline D1	0/23
Sox 11	0/23
Ki67	
<10%	13/23
10 à 30%	5/23
>30%	5/23

RFD : Réseau Folliculaire Dendritique.

* le marquage ne concerne la totalité des cellules tumorales que dans 1 cas.

1. Anticorps anti-Bcl2 clone E17

L'ensemble des cellules tumorales présentait un marquage cytoplasmique avec l'anticorps anti-Bcl2-E17. Un seul cas, d'architecture diffuse, composé de lymphoplasmocytes, ne présentait qu'un immunomarquage partiel des cellules tumorales.

2. Anticorps anti-Bcl6

Trois cas (13%) [7, 23 et 24] présentaient un immunomarquage des cellules tumorales avec l'anticorps anti-Bcl6 (marquage nucléaire). Un examen comparatif avec les anticorps anti-CD21 et anti-CD23 permettait d'éliminer un marquage de cellules non tumorales provenant de centres germinatifs résiduels dispersés.

Le cas 7 possédait moins de 30% de cellules tumorales immunoréactives vis-à-vis de l'anticorps anti-Bcl6.

Les cas 23 et 24 présentaient un marquage nucléaire de plus de 30% des cellules tumorales avec l'anticorps anti-Bcl6.

Ces 3 cas ont bénéficié d'une étude du gène *BCL6* par FISH.

3. Anticorps anti-CD5

Quatre des cas étudiés (17%) [6, 12, 14 et 18] présentaient un immunomarquage des cellules tumorales avec l'anticorps anti-CD5 (marquage cytoplasmique).

Le cas 20 présentait un immunomarquage des cellules tumorales avec les anticorps anti-CD5 et anti-CD23.

Le cas 23 présentait un immunomarquage des cellules tumorales avec les anticorps anti-CD5 et anti-Bcl6.

L'intensité du marquage des cellules tumorales était plus faible que celui des lymphocytes T réactionnels.

4. Anticorps anti-CD21 et anti-CD23

Cinq des cas de la série (22%) présentaient un immunomarquage des cellules tumorales avec l'anticorps anti-CD23 (marquage membranaire). Le marquage concernait l'ensemble des cellules tumorales uniquement dans un cas.

Le cas 20 présentait également un immunomarquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD5.

L'intensité du marquage des cellules tumorales était plus faible que celui des cellules du réseau folliculaire dendritique.

L'immunomarquage avec l'anticorps anti-CD21 et anti-CD23 permettait également d'évaluer l'organisation du réseau folliculaire dendritique.

Dans 11 cas (48%), le réseau folliculaire dendritique était colonisé par les cellules tumorales sans être totalement détruit par celles-ci. Dans 8 cas (35%), il était totalement détruit par les cellules tumorales et dans 4 cas (17%), il était hyperplasique.

5. Anticorps anti-cycline D1 et anti-Sox11

Sur les 24 cas inclus dans la série avant étude immunohistochimique complémentaire et FISH, 23 d'entre eux ne présentaient pas d'immunoréactivité vis-à-vis des anticorps anti-cycline D1 et anti-Sox11.

Le cas 22 présentait un marquage nucléaire de la totalité des cellules tumorales avec les anticorps anti-cycline D1 et anti-Sox11 en faveur du diagnostic de lymphome du manteau.

6. Indice de prolifération Ki67

56% des cas étudiés (13 cas) présentaient moins de 10% de cellules tumorales immunomarquées avec l'anticorps anti-Ki67 (marquage nucléaire).

22% des cas étudiés (5 cas) présentaient entre 10 et 30% de cellules tumorales immunomarquées avec l'anticorps anti-Ki67 (marquage nucléaire).

22% des cas étudiés (5 cas) présentaient plus de 30% de cellules tumorales immunomarquées avec l'anticorps anti-Ki67 (marquage nucléaire).

Les lymphomes composés d'un contingent à grandes cellules présentaient un immunomarquage de 10 à 30% des cellules tumorales.

7. Anticorps anti-MUM1

Nous avons réalisé un immunomarquage avec l'anticorps anti-MUM1 pour les cas 23 et 24, l'hypothèse diagnostique étant un lymphome folliculaire dans une variété particulière CD10-Bcl6+ MUM1+.

Le cas 23 présentait moins de 30% des cellules tumorales immunomarquées avec l'anticorps anti-MUM1 tandis que pour le cas 24, environ 30% des cellules tumorales étaient immunomarquées (marquage nucléaire).

Le tableau 6 présente les types architecturaux, cytologiques en fonction de l'immunophénotype des 24 cas étudiés.

Planche 3

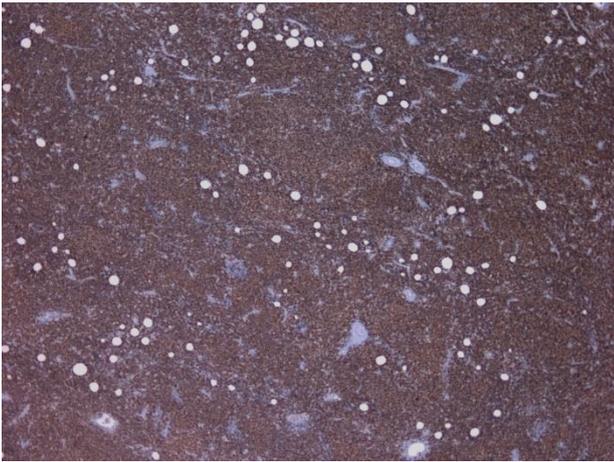


Figure 1 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD20 (x25)

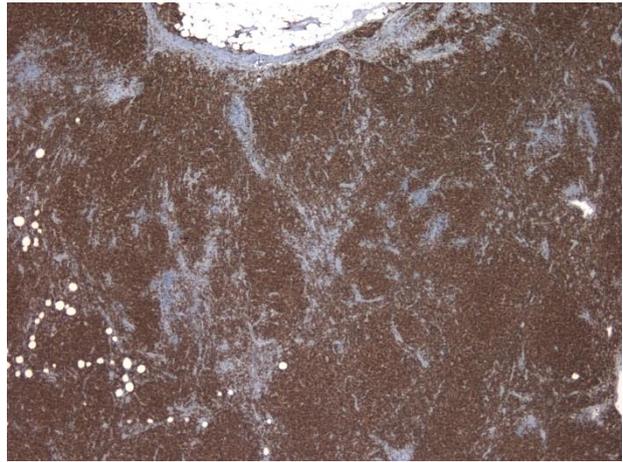


Figure 2 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD79α (x25)



Figure 3 : absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD3 (x25)

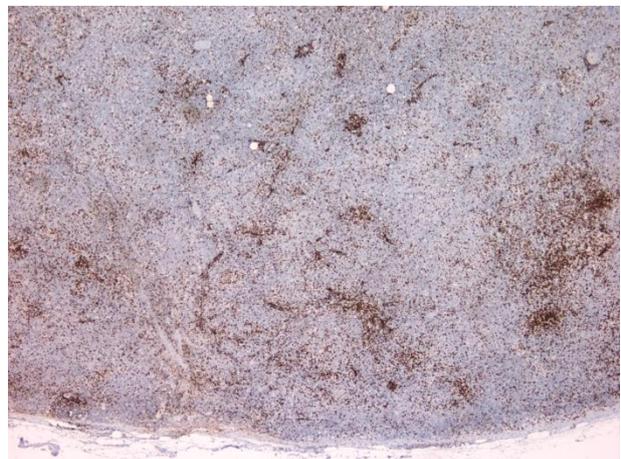


Figure 4 : absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD5 (x25)

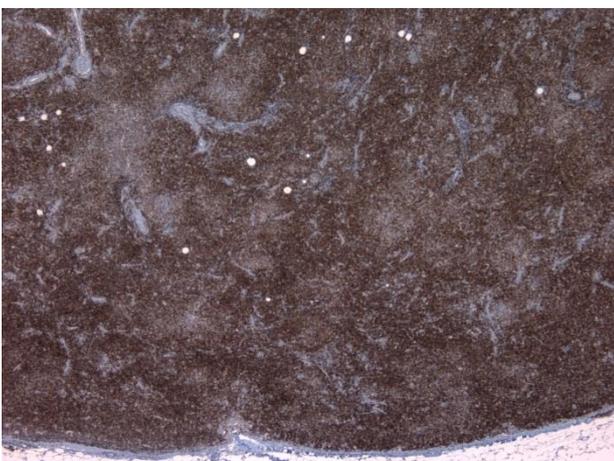


Figure 5 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-Bcl2 clone E17 (x25)

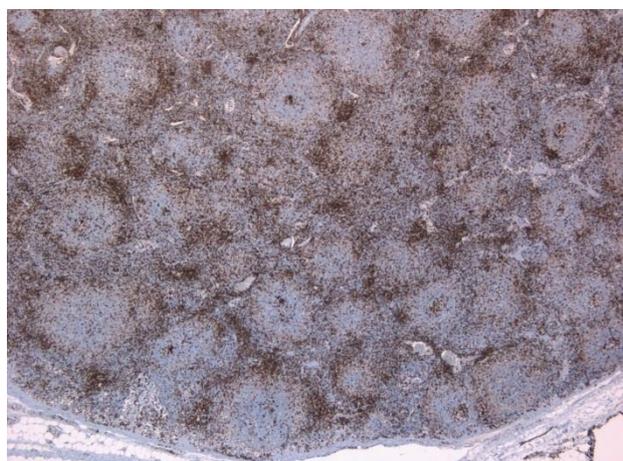


Figure 6 : absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti CD43 (x25)

Planche 4

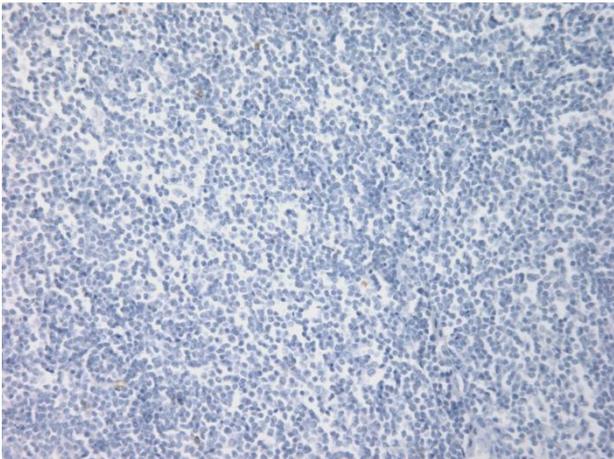


Figure 1 : absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD10 (x200)

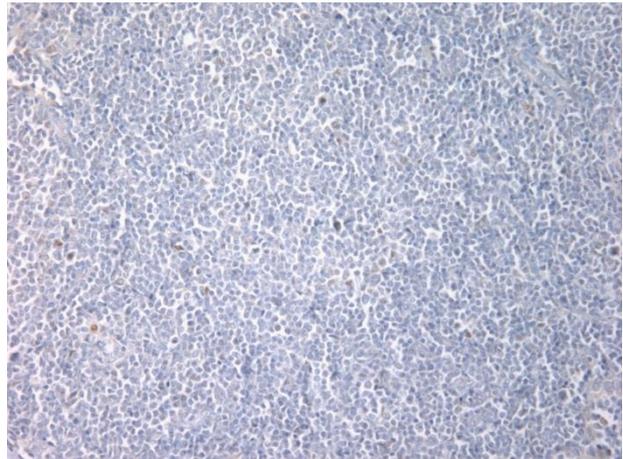


Figure 2 : absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-Bcl6 (x200)

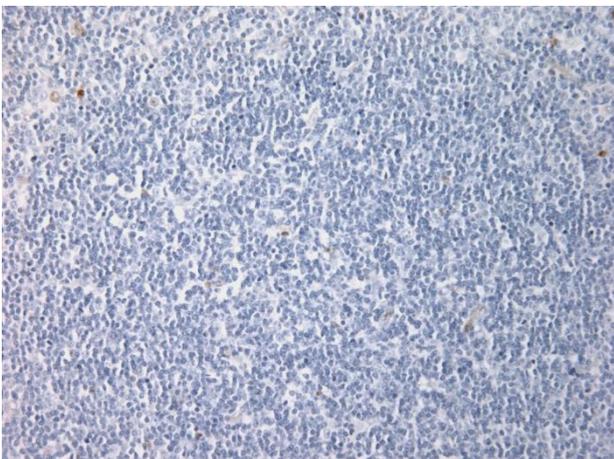


Figure 3 : absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-cyclinD1 (x200)

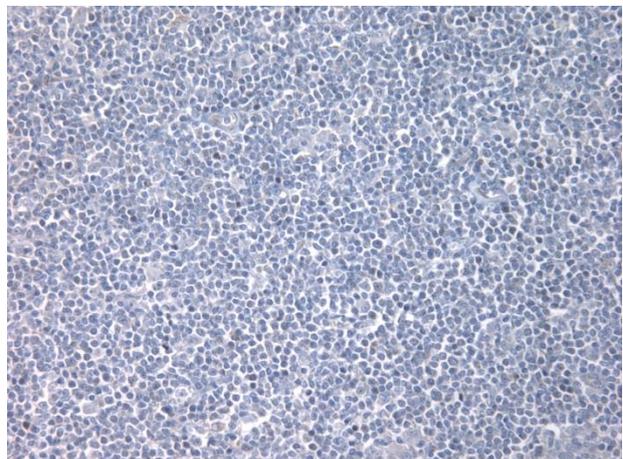


Figure 4 : absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-Sox11 (x200)

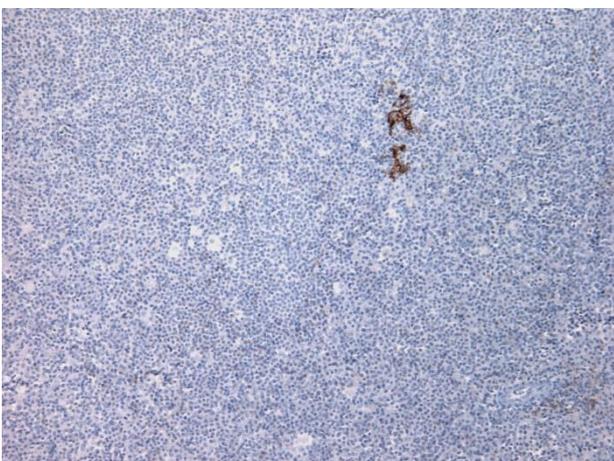


Figure 5 : absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD23. Réseau folliculaire dendritique en partie détruit(x100)

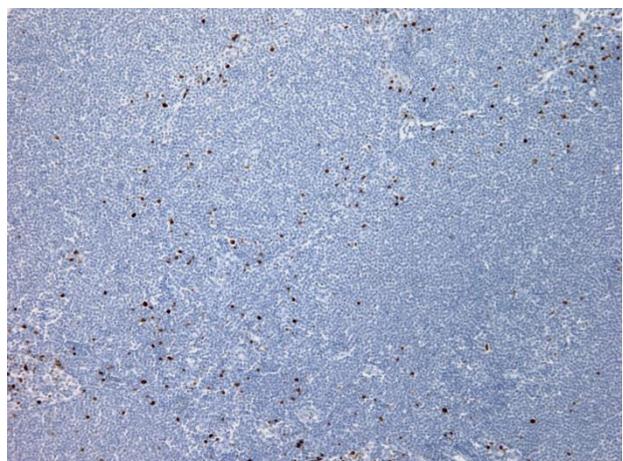


Figure 6 : indice de prolifération évalué à 10% (anticorps anti-Ki67, x100)

Planche 5

Cas CD5+

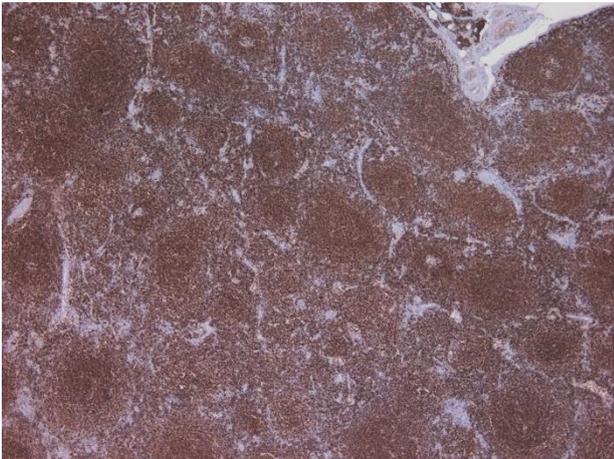


Figure 1 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD20 (x25)

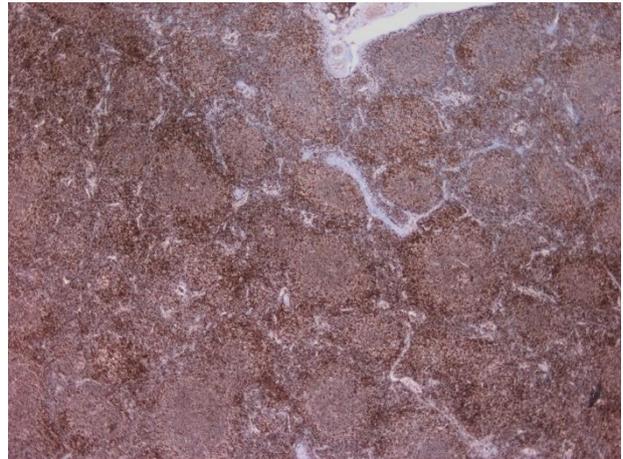


Figure 2 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD5 (x25)

Cas CD23+

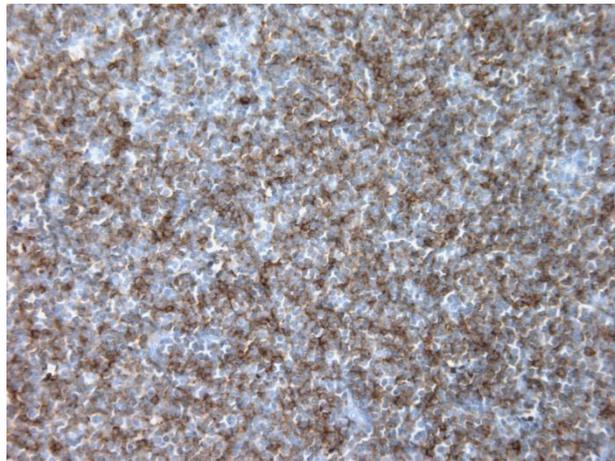


Figure 3 : marquage d'une partie des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD23+ (x200)

Cas Bcl6+

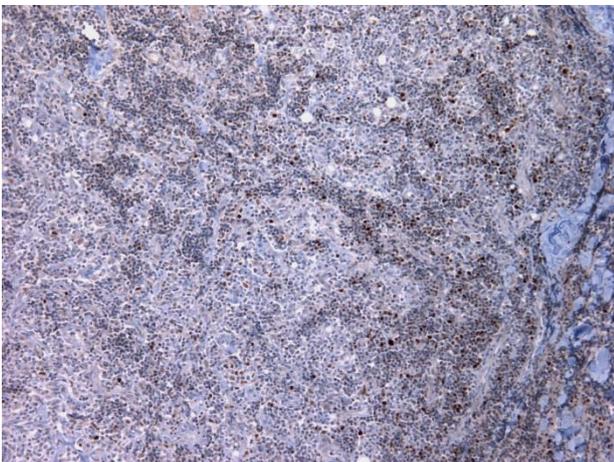


Figure 4 : marquage de moins de 10% des cellules tumorales par l'anticorps anti-Bcl6 (x100)

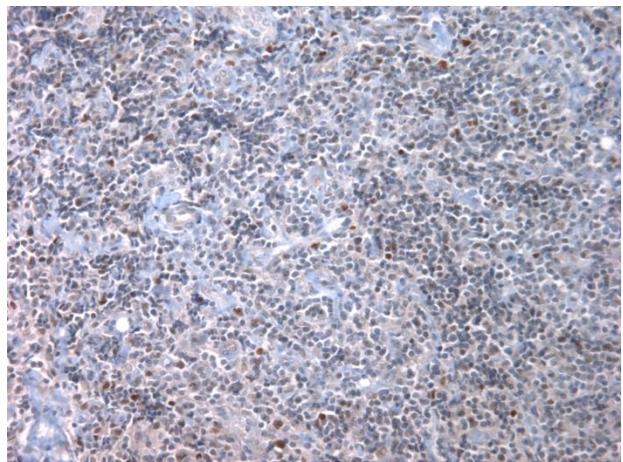


Figure 5 : marquage par l'anticorps anti-Bcl6(x200)

Tableau 6 : Architectures, cytologies et immunophénotypes

	Architecture	Lymphoplasmocytes	Plasmocytes	Monocytoïdes	CD20	CD5	CD10	Bcl6	cycline D1	CD23	CD43	Ki67 %
1	Diffuse	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	<10
2	Diffuse	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	<10
3	Splénique	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	<10
4	Nodulaire et diffuse	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	<10
5	Diffuse	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	10 à 30
6	Nodulaire et diffuse	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	<10
7	Diffuse	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	>30
8	Nodulaire	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	<10
9	Splénique	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	<10
10	Nodulaire et diffuse	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	<10
11	Diffuse	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	>30
12	Diffus	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	<10
13	Nodulaire et diffuse	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	<10
14	Nodulaire et diffuse	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	>30
15	Nodulaire et diffuse	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	<10
16	Diffuse	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	<10
17	Diffuse	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	>30
18	Splénique	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	10 à 30
19	Nodulaire et diffuse	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	>30
20	Nodulaire et diffuse	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	10 à 30
21	Nodulaire et diffuse	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	10 à 30
22*	Diffuse	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	<10
23	Splénique	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	10 à 30
24	Nodulaire et diffuse	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	<10

* : cas exclu après étude immunohistochimique complémentaire : lymphome à petites cellules B du manteau CD5-

C. RESULTATS DE L'ETUDE PAR FISH (Planche 6)

Dans 22 cas sur 23, il n'y avait pas de réarrangement des gènes *BCL1* et *MALT1*.

Dans 21 cas sur 23, il n'y avait pas de réarrangement du gène *BCL2*.

Deux cas n'étaient pas interprétables pour l'étude du réarrangement de *BCL2* [4, 10] et un cas pour l'étude du réarrangement de *BCL1* et *MALT1* [4] en raison d'une densité cellulaire et d'un bruit de fond trop important.

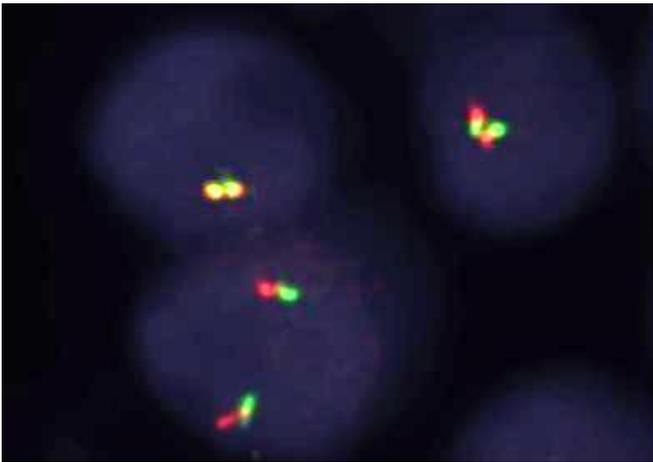
Une augmentation du nombre de copies des gènes *BCL2* et *MALT1* a pu être mise en évidence dans 4 cas (17%).

Il s'agissait du cas 9 dont le caryotype était 48XX+3+18 ; du cas 11 dont le caryotype était 47XX+18 ; du cas 12 dont nous ne bénéficions pas du caryotype et du cas 24 dont le caryotype était complexe avec une trisomie 3, 7 et 18.

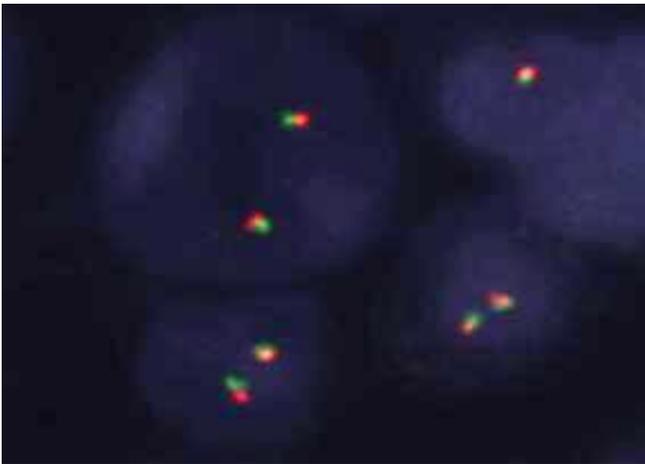
L'augmentation du nombre de copies a été confirmée sur appositions pour les cas 11 et 12.

Les cellules étant généralement isolées, l'interprétation du nombre de copies des gènes était plus aisée que sur coupe déparaffinée. Les profils d'hybridation étaient 3 signaux de fusion rouge/vert.

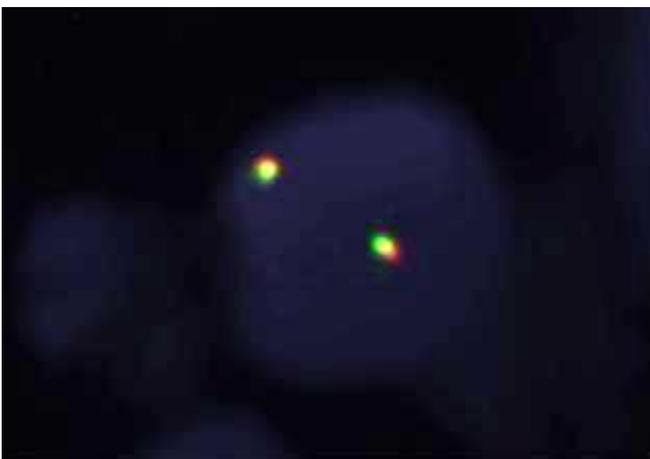
Planche 6



**Figure 1 : absence de réarrangement de *BCL1*
2 signaux de fusion rouge/vert
(coupe paraffine ×1000)**



**Figure 2 : absence de réarrangement de *BCL2*
2 signaux de fusion rouge/vert
(coupe paraffine ×1000)**



**Figure 3 : absence de réarrangement de *MALT1*
2 signaux de fusion rouge/vert
(coupe paraffine ×1000)**

Cas particuliers

a. Cas exclu de lymphome à cellules du manteau (cas 22)

Une étude par FISH à la recherche d'un réarrangement de *BCL1* puis d'une t(11;14) a été effectuée. Il existait un réarrangement de *BCL1* dans la majorité des cellules lymphomateuses. Le réarrangement de *BCL1* était secondaire à une t(11;14) mise en évidence par la sonde LSI IGH/CCND1 Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe (VYSIS).

b. Cas exprimant Bcl6 en immunohistochimie

Il n'a pas été observé de réarrangement de *BCL6* parmi les cas 7, 23 et 24 qui posaient la difficulté du diagnostic différentiel avec un lymphome folliculaire.

Les cas 23 et 24 présentaient une augmentation du nombre de copies de *BCL6*. Les profils d'hybridation étaient 2 signaux de fusion rouge/vert en l'absence d'augmentation du nombre de copies et plus de 2 signaux de fusion rouge/vert dans les cellules tumorales.

L'étude par FISH de *BCL6* nous a donc permis d'exclure à nouveau 2 cas [23 et 24] pour lesquels le diagnostic de lymphome folliculaire dans une variété particulière a été posé. Ces 2 cas ne présentaient pas de réarrangement des gènes *BCL2*, *BCL1* et *MALT1*, de même que le cas 7.

D. RESULTATS DE L'ETUDE DE *MYD88* (Figures 7 et 8)

La recherche de mutation L265P, située dans l'exon 5 du gène *MYD88*, a été effectuée sur les 24 cas.

La séquence n'était pas interprétable dans 4 cas [1, 3, 4 et 12].

Sur les 20 cas restants, uniquement le cas 13 était porteur de la mutation L265P. Le ganglion d'architecture nodulaire et diffuse était composé de cellules monocytoïdes monomorphes. L'étude immunohistochimique et par FISH était concordante avec un lymphome des zones marginales ganglionnaire sans particularité.

Figure 7 : Exon 5, c.794T>C ; p.L265P

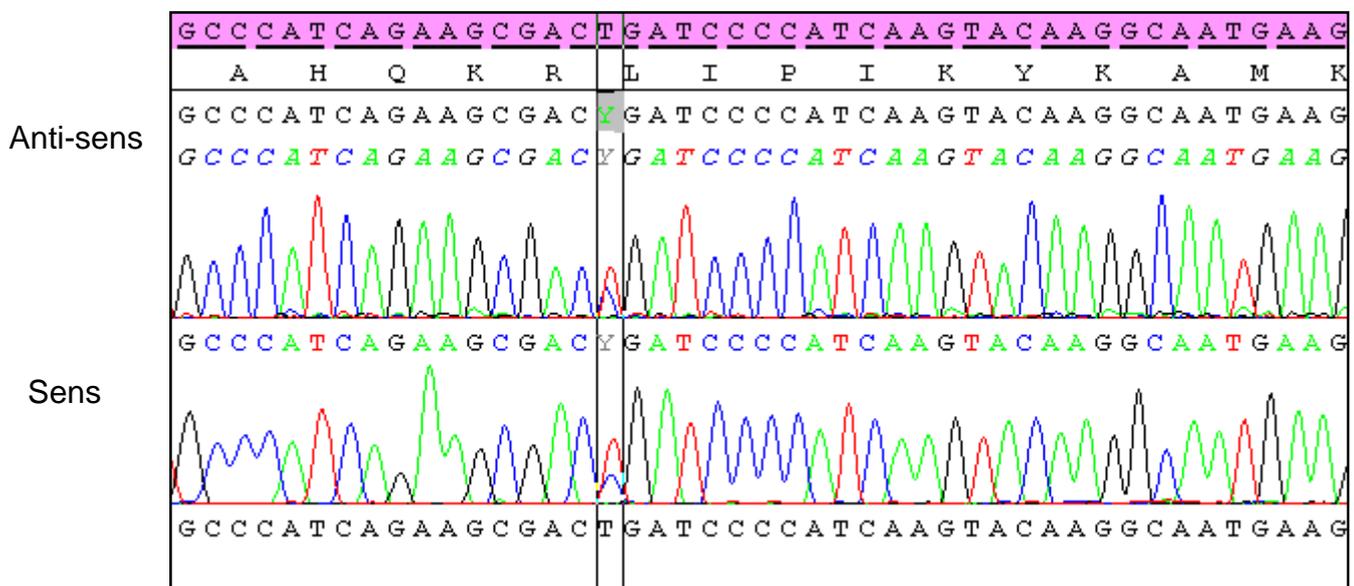
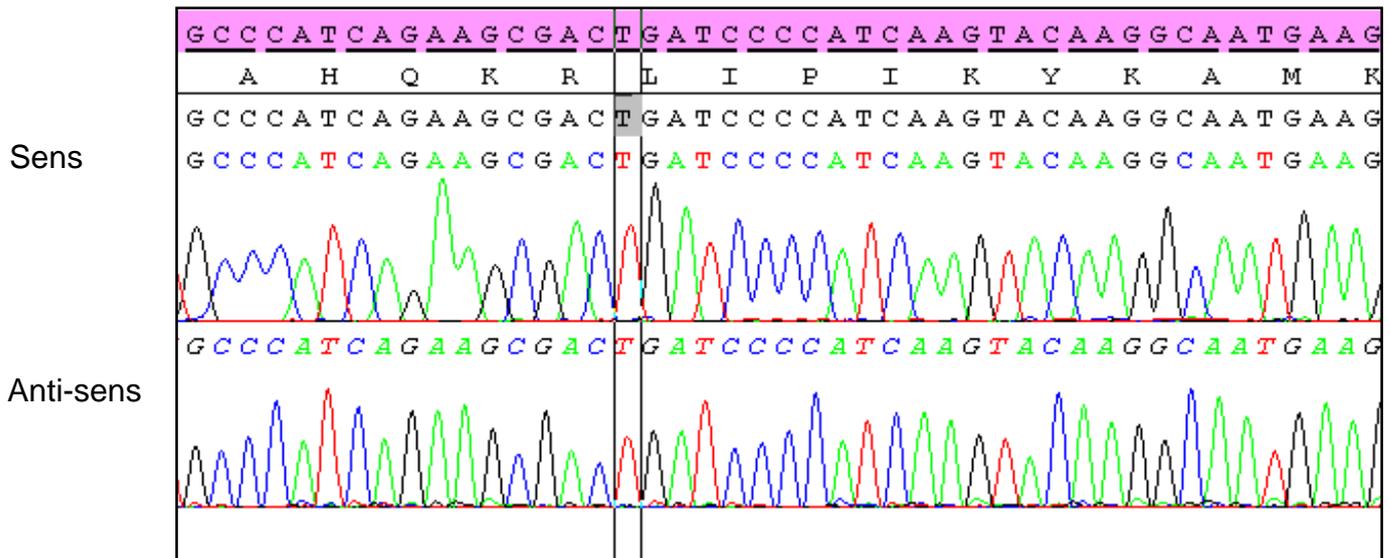


Figure 8 : Absence de mutation L265P dans l'exon 5



E. SYNTHÈSE DIAGNOSTIQUE DES 24 CAS SUR L'ENSEMBLE DES DONNÉES MORPHOLOGIQUES, IMMUNOPHÉNOTYPIQUES ET MOLECULAIRES

Dix cas présentaient un phénotype classique de lymphome de la zone marginale ganglionnaire [2, 5, 8 à 11, 13, 15, 16, 21]. Il n'y avait pas de réarrangement de *BCL1*, *BCL2* et *MALT1* pour 9 d'entre eux. Le réarrangement de *BCL2* n'était pas interprétable dans 1 cas [10]. Un cas présentait une mutation de *MYD88* [13].

Quatre cas présentaient un immunomarquage avec l'anticorps anti-CD5 [6, 12, 14, 18]. Il y avait une augmentation du nombre de copies de *BCL2* et *MALT1* pour le cas 12, la séquence de *MYD88* était par contre ininterprétable. Il n'y avait pas de réarrangement de *BCL2*, *BCL1* et *MALT1*, ni de mutation dans l'exon 5 de *MYD88* pour les 3 autres cas.

Cinq cas présentaient un immunomarquage avec l'anticorps anti-CD23 [1, 3, 4, 17, 19]. Les cas 1, 3, 17 et 19 ne présentaient pas de réarrangement de *BCL1*, *BCL2* et *MALT1*. Le réarrangement de *BCL1*, *BCL2* et *MALT1* n'était pas interprétable pour le cas 4. La séquence de *MYD88* n'était interprétable que dans les cas 17 et 19; il n'y avait pas de mutation.

Le cas 20 présentait un immunomarquage par les anticorps anti-CD5 et anti-CD23. Il n'y avait pas de réarrangement de *BCL1*, *BCL2* et *MALT1*. Il n'y avait pas de mutation dans l'exon 5 de *MYD88*.

Le cas 7 présentait un immunomarquage avec l'anticorps anti-Bcl6 (moins de 10% des cellules tumorales). Il n'y avait pas de réarrangement de *BCL1*, *BCL2* et *MALT1*. Il n'y avait ni réarrangement ni augmentation du nombre de copies de *BCL6*. Il n'y avait pas de mutation dans l'exon 5 de *MYD88*.

Les cas 1 à 21 correspondaient à des lymphomes de la zone marginale ganglionnaire.

Le cas 22 a été exclu suite à l'étude immunohistochimique. Il s'agissait d'un lymphome du manteau.

Les cas 23 et 24 ont été exclus suite à l'étude immunohistochimique et FISH. Ils s'agissaient de lymphome folliculaire dans une variété particulière.

F. CRITERES D'EXCLUSION DE 3 CAS AU COURS DE L'ETUDE

1. Cas 22 (Planches 7 et 8)

Il s'agissait d'un cas d'architecture diffuse à la coloration HES et folliculaire à la coloration par le Gordon Sweet, composé de cellules centrocytiques. Il n'y avait ni corps de Dutcher, ni plasmocytes, ni nids de cellules épithélioïdes, ni plages de grandes cellules.

Les cellules tumorales présentaient un immunomarquage avec l'anticorps anti-CD20, anti-CD79 α , anti-Bcl2E17, anti-cycline D1, anti-Sox11. Elles n'étaient pas immunoréactives vis-à-vis des anticorps anti-CD3, anti-CD5, anti-CD10, anti-Bcl6, anti-CD43, anti-CD21 et anti-CD23. L'anticorps anti-CD21 mettait en évidence un réseau folliculaire dendritique dispersé tandis que l'anticorps anti-CD23 montrait un réseau totalement détruit. L'indice de prolifération Ki67 était évalué à 10%.

L'étude par FISH révélait un réarrangement de *BCL1*. Ce réarrangement était secondaire à une t(11;14). Il n'y avait pas de réarrangement de *MALT1*, le réarrangement de *BCL2* n'était pas interprétable.

La séquence de *MYD88* n'était pas interprétable.

Devant l'ensemble de ces arguments, le diagnostic de lymphome du manteau CD5- a été posé.

Planche 7

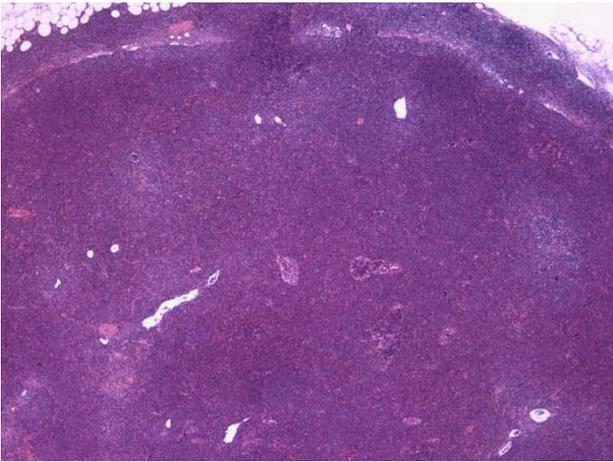


Figure 1 : architecture diffuse (HESx25)

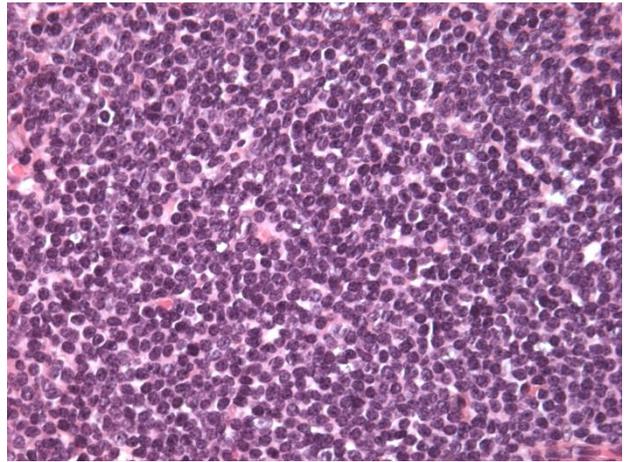


Figure 2 : population monomorphe (HESx400)

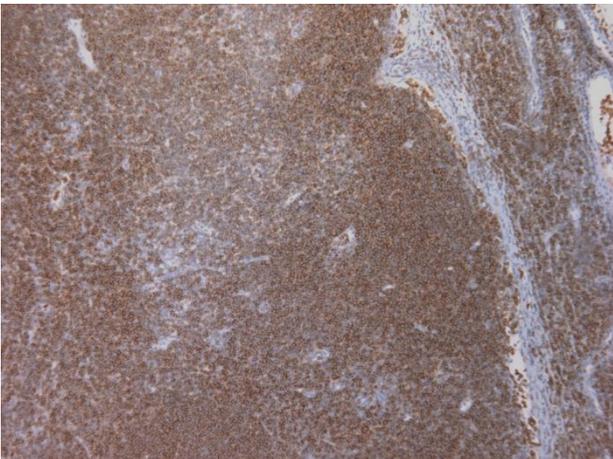


Figure 3 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD20 (x100)

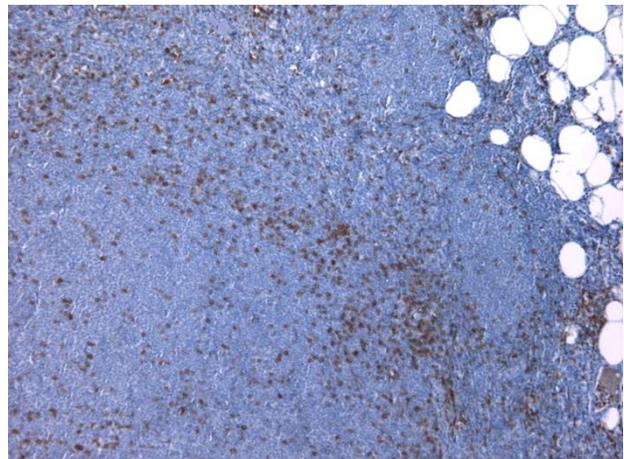


Figure 4 : absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD5 (x100)

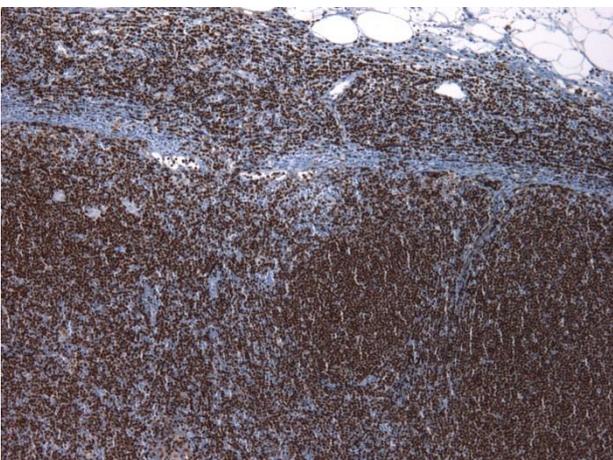


Figure 5 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-cycline D1 (x100)

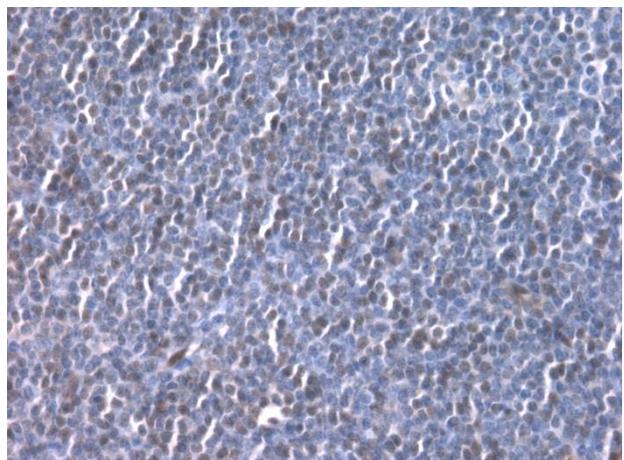


Figure 6 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-Sox11 (x400)

Planche 8

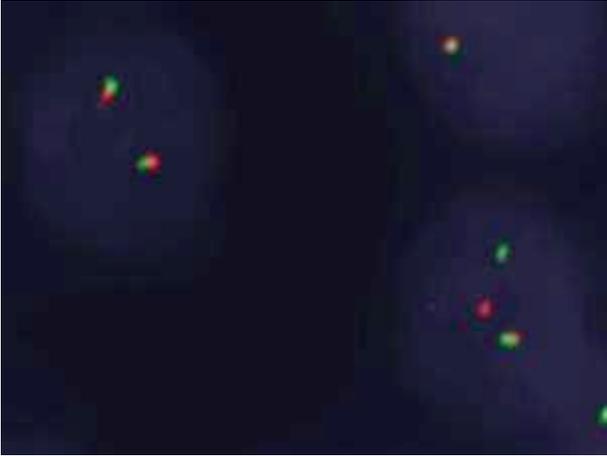


Figure 1 : réarrangement de *BCL1* : 1 spot rouge, 1 spot vert, 1 signal de fusion rouge/vert (coupe paraffine $\times 1000$)

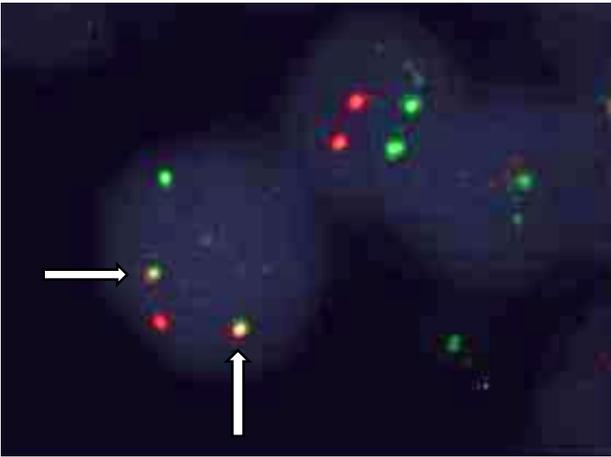


Figure 2 : t(11;14) : 1 spot rouge, 1 spot vert et 2 signaux de fusion rouge/vert (flèches) (coupe paraffine $\times 1000$)

2. Cas 23 (Planches 9 et 10)

Il s'agissait d'un cas d'architecture splénique à la coloration HES et diffuse à la coloration par le Gordon Sweet, composé de cellules monocytoides et centrocytiques. On observait de nombreuses cellules de grande taille parfois regroupées au centre des nodules ou formant une couronne autour de ceux-ci. Il n'y avait ni corps de Dutcher, ni plasmocytes, ni nids de cellules épithélioïdes.

Les cellules tumorales présentaient un immunomarquage avec l'anticorps anti-CD20, anti-CD79 α , anti-Bcl2E17, anti-CD5, anti-Bcl6. L'intensité de marquage des cellules tumorales avec l'anticorps anti-CD5 était plus faible que pour les lymphocytes T réactionnels mais concernait la totalité de celles-ci. L'intensité de marquage des cellules tumorales avec l'anticorps anti-Bcl6 était faible et concernait plus de 30% des cellules tumorales.

Elles n'étaient pas immunoréactives vis-à-vis des anticorps anti-CD3, anti-CD10, anti-MUM1, anti-cycline D1, anti-Sox11, anti-CD43, anti-CD21, anti-CD23. Les anticorps anti-CD21 et anti-CD23 montraient un réseau folliculaire dendritique hyperplasique. L'indice de prolifération Ki67 était évalué entre 10% à 30%.

L'étude par FISH ne mettait pas en évidence de réarrangement de *BCL2*, *BCL6*, *BCL1* et *MALT1*. Par contre, on observait une augmentation du nombre de copies de *BCL6* (3 copies).

Il n'y avait pas de mutation dans l'exon 5 de *MYD88*.

Devant l'ensemble de ces arguments, le diagnostic de lymphome folliculaire de grade 3A, 3B de manière focale, dans une variété particulière a été posé.

Planche 9

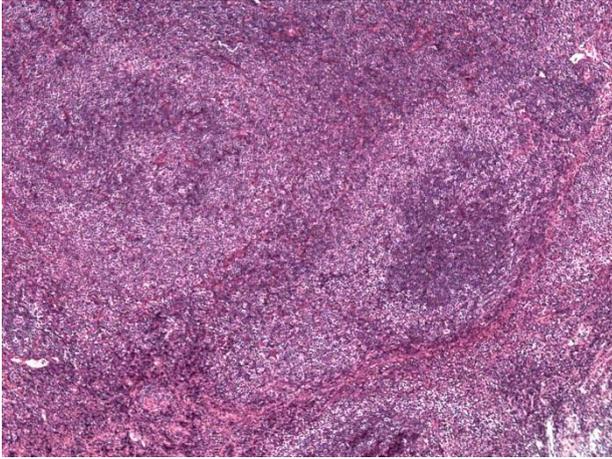


Figure 1 : architecture splénique (HES×50)

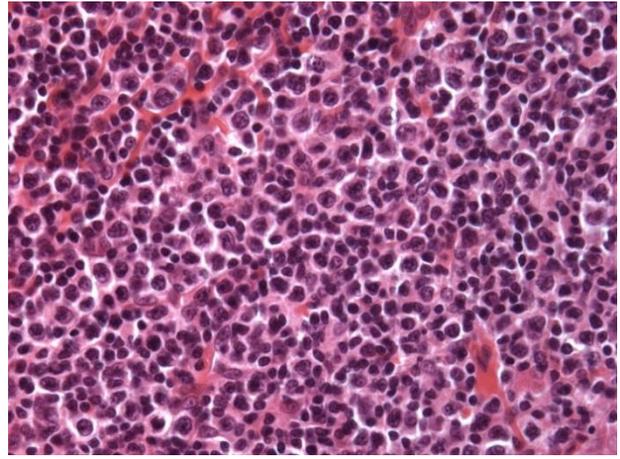


Figure 2 : centrocytes et grandes cellules (HES×400)

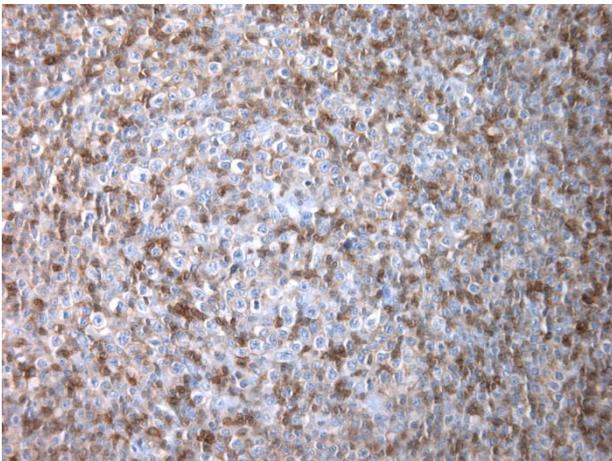


Figure 3 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD5 (×200)

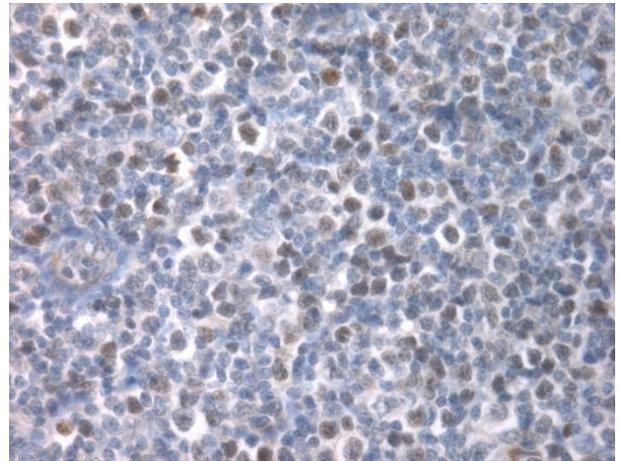


Figure 4 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-Bcl6 (×400)

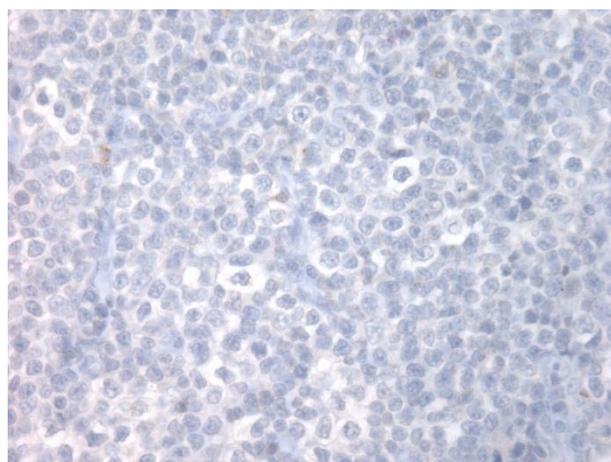


Figure 5 : absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD10 (×400)

Planche 10



Figure 1 : absence de réarrangement de *BCL6*, augmentation du nombre de copie du gène (☆) (coupe paraffine, x1000)

3. Cas 24 (Planches 11 et 12)

Il s'agissait d'un cas d'architecture nodulaire et diffuse à l'HES et folliculaire au Gordon Sweet, composé de lymphoplasmocytes et de cellules monocytoïdes. Il n'y avait ni corps de Dutcher, ni nids de cellules épithélioïdes, ni plages de grandes cellules.

Les cellules tumorales présentaient un immunomarquage avec les anticorps anti-CD20, anti-CD79 α , anti-Bcl2E17, anti-Bcl6 et anti-MUM1. Le marquage des cellules tumorales avec l'anticorps anti-Bcl6 et anti-MUM1 concernait plus de 30% de celles-ci.

Elles n'étaient pas immunoréactives vis-à-vis des anticorps anti-CD3, anti-CD5, anti-CD10, anti-cyclineD1, anti-Sox11, anti-CD43, anti-CD21, anti-CD23. Le réseau folliculaire dendritique était totalement détruit. L'indice de prolifération Ki67 était évalué à 10%.

L'étude par FISH ne mettait pas en évidence de réarrangement de *BCL2*, *BCL6*, *BCL1* et *MALT1*. Par contre, on observait une augmentation du nombre de copies de *BCL6*, *BCL2* et *MALT1* (3 copies).

Un caryotype avait été réalisé lors du diagnostic : 48XY,+3,?del(5)(q23q34), -6,+7, der(6 ;12)(p10 ;q10),-?17,+18,+mar.

Il n'y avait pas de mutation dans l'exon 5 de *MYD88*.

Devant l'ensemble de ces arguments, le diagnostic de lymphome folliculaire grade 2 dans une variété particulière a été posé.

Planche 11

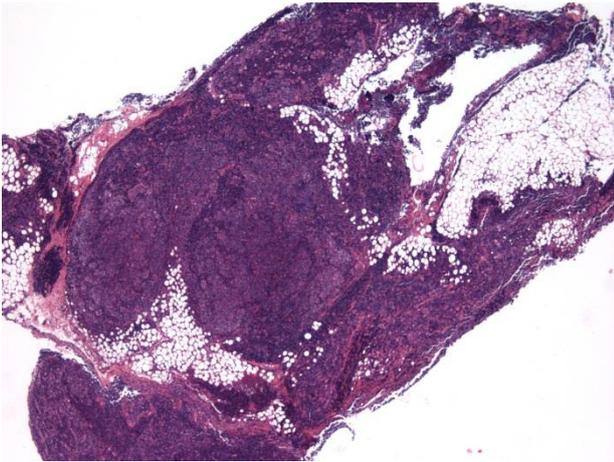


Figure 1 : architecture nodulaire et diffuse (HES x25)

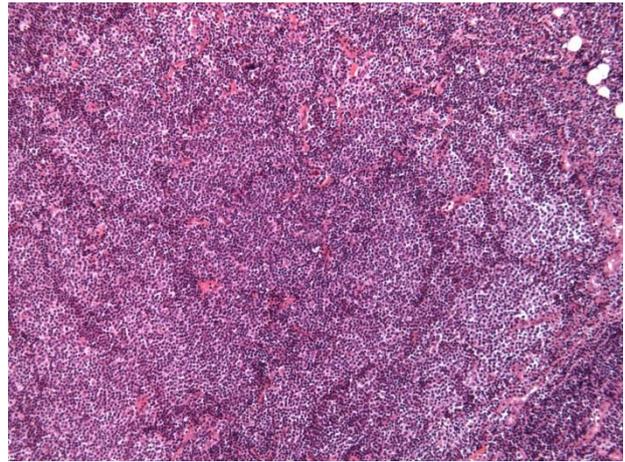


Figure 2 : architecture nodulaire (HES x100)

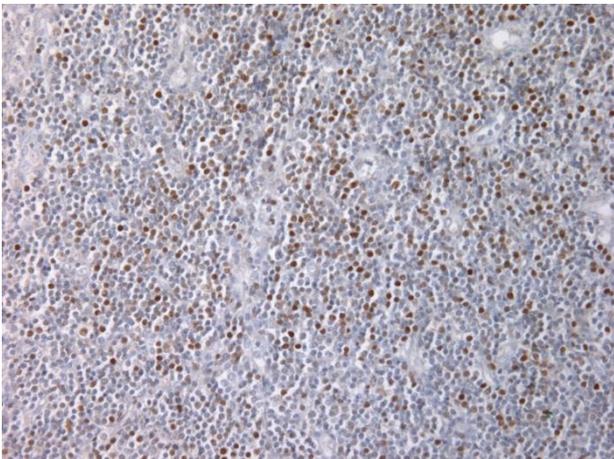


Figure 3 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-Bcl6 (x200)

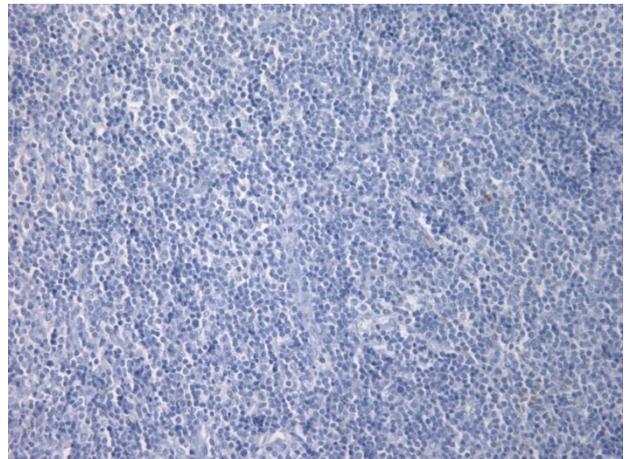


Figure 4 : absence de marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-CD10 (x200)

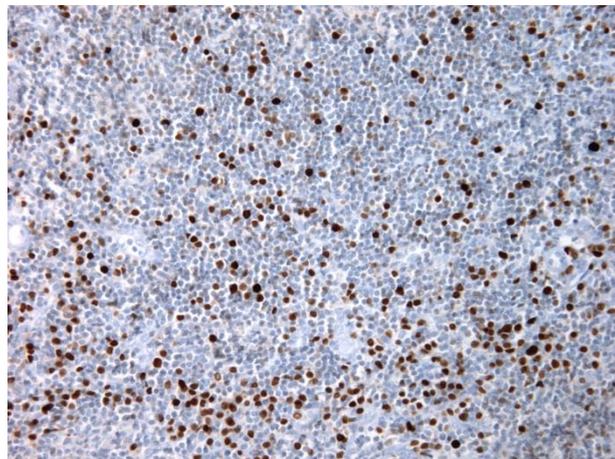


Figure 5 : marquage des cellules tumorales par l'anticorps anti-MUM1 (x200)

Planche 12

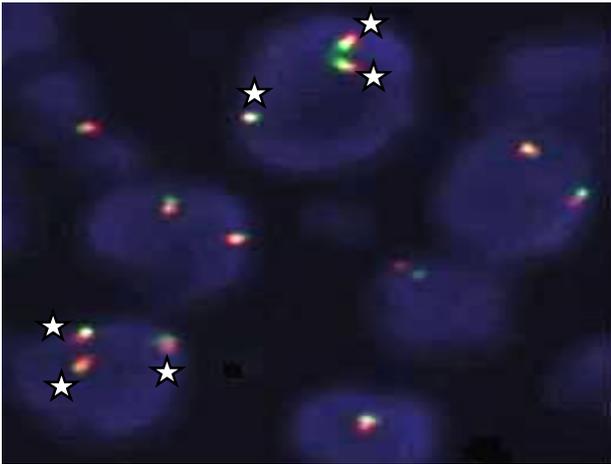


Figure 1 : augmentation du nombre de copies de *BCL2* (coupe paraffine x1000) (☆)

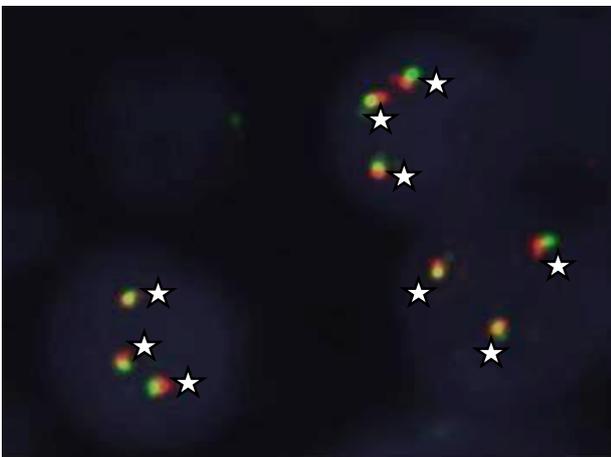


Figure 2 : augmentation du nombre de copies de *MALT1* (coupe paraffine x1000) (☆)



Figure 3 : augmentation du nombre de copies de *BCL6* (coupe paraffine x1000) (☆)

DISCUSSION

L'intégration des données cliniques, morphologiques, immunophénotypiques et génétiques est indispensable au diagnostic en pathologie lymphomateuse. A ce jour, il n'existe pas de marqueurs immunohistochimiques ou moléculaires spécifiques du lymphome de la zone marginale ganglionnaire. Cette pathologie étant peu fréquente, les séries sont rares dans la littérature.

Dans notre étude portant sur 21 cas, nous avons décrit 4 types d'architecture et les caractéristiques cytologiques, immunophénotypiques et moléculaires.

L'envahissement ganglionnaire par un lymphome du M.A.L.T ou un lymphome de la zone marginale splénique étant possible, nous avons exclu d'emblée les adénopathies péri spléniques, les adénopathies avec splénomégalie ou atteinte extraganglionnaire connue.

A. COMPARAISON AVEC LES SERIES PRECEDENTES

1. Données histopathologiques

En accord avec les études les plus récentes (Tableau 7), l'architecture diffuse ainsi que l'architecture nodulaire et diffuse sont les plus fréquemment observées. L'architecture de type splénique est peu ou pas rencontrée, comme dans notre série. A la différence des autres études, nous n'avons pas observé d'architecture inter/périfolliculaire qui est pourtant celle la plus décrite dans l'étude de Camacho et al. (17)(18)(39).

Sur le plan cytologique, le polymorphisme est présent dans l'ensemble des séries. Contrairement à la description initiale de cette pathologie (6), les cellules de type monocytoïde ne sont pas toujours représentées alors que la différenciation plasmocytoïde et plasmocytaire est fréquemment observée (17)(18)(39).

La série d'Arcaini et al. (13) portait essentiellement sur les données cliniques et pronostiques des lymphomes de la zone marginale primitivement ganglionnaire. Les caractéristiques histopathologiques rapportées concernaient uniquement la cytologie. Les cellules tumorales étaient de type monocytoïde et centrocytique pour l'ensemble des cas.

La série de Nathwani et al. (69) comparait les données cliniques des lymphomes de la zone marginale ganglionnaire et du M.A.L.T. Il y avait peu de renseignements sur les caractéristiques histopathologiques. La totalité des cas était de type cytologique monocytoïde.

Tableau 7 : Caractéristiques histopathologiques des 21 cas de lymphomes de la zone marginale ganglionnaire de notre série et comparaison des données avec les séries précédentes

	Série actuelle	Nathwani et al., 1999	Arcaini et al., 2007	Traverse-Glehen et al., 2006	Salama et al., 2009	Camacho et al., 2003
Nombre de cas étudiés	21	20	47	21	51	27
Architecture :						
Diffuse	8/21	NR	NR	5/21	20/51	5/27
Nodulaire	1/21	NR	NR	0/21	5/51	0/27
Diffuse et nodulaire	9/21	NR	NR	7/21	18/51	0/27
Type splénique	3/21	NR	NR	2/21	0/51	0/27
Inter/périfolliculaire	0/21	NR	NR	7/21	8/51	22/27
Cytologie :						
Polymorphisme	14/21	NR	NR	+	38/51	NR
Monocytoïde	7/21	20/20	+	7/21	36/51	8/28
Centrocytique	4/21	NR	+	+	NR	+
Lymphoplasmocytaire	15/21	NR	NR	13/21	NR	NR
Plasmocytes	3/21	NR	NR	5/21	24/51	6/27
Corps de Dutcher	4/21	NR	NR	0/21	NR	NR
Nids de CE	1/21	NR	NR	0/21	NR	NR
Grandes cellules	2/21	NR	NR	5/21	3/51	+

CE : Cellules Epithélioïdes NR : Non Renseigné + : Caractéristiques mentionnées non chiffrées

2. Données immunophénotypiques (Tableau 8)

a- Expression de CD43

L'expression du CD43 par les cellules lymphoïdes B est un critère de malignité (70). Elle varie entre 20 et 40% dans le lymphome de la zone marginale ganglionnaire et extraganglionnaire selon Lai et al. (71). Les données de notre série sont semblables, de même que celles de Salama et al. et Camacho et al..

Parmi les lymphomes à petites cellules B, les cellules tumorales du lymphome du manteau et du lymphome lymphocytaire expriment ce marqueur dans 90% des cas (71).

L'expression du CD43 n'est donc pas indispensable au diagnostic ; elle représente tout de même un intérêt dans l'identification de l'infiltrat néoplasique (17).

b- Expression de CD5

Seule la série de Camacho et al. rapportait des cas de lymphome de la zone marginale ganglionnaire CD5+, en proportion inférieure à notre série (16% versus 23%).

Parmi les 4 cas CD5+, un présentait également un marquage de quelques cellules dispersées avec l'anticorps anti-cycline D1. Ce marquage avait été jugé moins intense que celui des cellules tumorales d'un lymphome du manteau. La recherche d'une t(11;14) n'avait pas été effectuée. Le marquage réalisé avec les anticorps anti-cycline D1 et anti-CD23 était négatif pour les 3 autres cas.

Ballesteros et al. ont rapporté 4 cas de lymphome de la zone marginale CD5+ dont un était primitivement ganglionnaire. L'architecture était de type périfolliculaire avec un envahissement de l'espace inter folliculaire. La cytologie était de type monocytoïde. Il n'y

avait pas de marquage avec les anticorps anti-cycline D1, anti-CD23 et anti-CD10. La recherche d'un réarrangement de *BCL1* et *BCL2* était négative (72).

Jevremovic et al. ont rapporté 7 cas de lymphome de la zone marginale ganglionnaire CD5+. Les caractéristiques morphologiques n'étaient pas renseignées. Il n'y avait pas d'expression de la cycline D1 en immunohistochimie. La recherche d'une t(11;14) était négative (73).

Les cellules tumorales des cas 12 et 14 de notre série exprimaient le CD5. Les ganglions étaient d'architecture diffuse et nodulaire et diffuse respectivement, constitués d'un unique contingent de cellules tumorales de type centrocytique. L'absence d'expression de la cycline D1, de Sox11 ainsi que l'absence de réarrangement de *BCL1* permettaient d'éliminer le diagnostic de lymphome du manteau.

Les cellules tumorales du cas 6 exprimaient le CD5. Il s'agissait de cellules de type monocytoïde et lymphoplasmocytaire. Le reste de l'étude immunohistochimique (absence d'expression de la cycline D1, de Sox11), de même que l'étude moléculaire (absence de réarrangement de *BCL1*) allaient à l'encontre du diagnostic de lymphome du manteau.

Le cas 18 était d'architecture splénique, constitué de lymphoplasmocytes CD5+. Ce type d'architecture n'est pas décrit dans le lymphome du manteau (31). Le reste de l'étude immunohistochimique (absence d'expression de la cycline D1, de Sox11) et l'étude moléculaire (absence de réarrangement de *BCL1*) permettaient d'éliminer le diagnostic de lymphome du manteau.

Pour l'ensemble de ces cas, l'absence de nids de prolifération et l'absence d'expression du CD23 allaient à l'encontre du diagnostic de lymphome lymphocytaire (44).

c- Expression de CD23

L'expression de CD23 est observée dans la série de Camacho et al. ainsi que dans celle de Salama et al. en proportion moins importante que dans notre série.

Camacho et al. ont rapporté 2 cas de lymphome de la zone marginale ganglionnaire CD23+. Les caractéristiques morphologiques de ces 2 cas n'étaient pas précisées. Cependant, aucun des cas de cette série ne présentait de nids de proliférations, comme cela est décrit dans le lymphome lymphocytaire (44). Il n'y avait pas d'expression du CD5, de la cycline D1, du CD10 et de Bcl6.

Salama et al. ont également rapporté 1 cas. Les caractéristiques morphologiques et immunophénotypiques de ce cas n'étaient pas renseignées. Cependant, dans cette série, aucun cas ne présentait ni centre de prolifération, ni marquage avec l'anticorps anti-CD5.

Dans notre série, aucun des cas CD23+ [1, 3, 4, 17, 19, 20] ne comportait de nids de prolifération.

Seules les cellules tumorales du cas 20 exprimaient également le CD5. L'absence de nids de prolifération et de polylimphocytes et paraimmunoblastes dispersés allait à l'encontre du diagnostic de lymphome lymphocytaire (44)(74). Il nous paraît cependant difficile de classer formellement ce cas.

d- Expression de Bcl6

Traverse-Glehen et al. ont observé une expression partielle de Bcl6 dans des cellules tumorales de grande taille CD10- pour plusieurs cas. Le diagnostic différentiel avec un lymphome folliculaire posait un réel problème dans un cas pour lequel la recherche d'un réarrangement de *BCL2* était négative.

Les cellules tumorales du cas 7 de notre série exprimaient Bcl6 pour environ 10% d'entre elles. Il s'agissait également de cellules de taille moyenne à grande, dispersées. L'absence de marquage de ces cellules avec l'anticorps anti-CD10 et la faible quantité de cellules marquées avec l'anticorps anti-Bcl6 était un argument contre le diagnostic de lymphome folliculaire de même que l'absence de réarrangement de *BCL2*. L'absence d'expression de MUM1 et l'absence de réarrangement ou d'amplification de *BCL6* allaient à l'encontre du diagnostic de lymphome folliculaire dans une variante particulière et permettait de confirmer le diagnostic de lymphome de la zone marginale ganglionnaire.

Karube et al. ont fixé à 30% le seuil de positivité des cellules tumorales pour le marquage avec les anticorps anti-Bcl6 et anti-MUM1 dans le cadre du diagnostic de lymphome folliculaire dans une variété particulière CD10- MUM1+ (41). Nous nous sommes basées sur ces données dans notre étude.

Tableau 8: Caractéristiques immunophénotypiques des 21 cas de lymphomes de la zone marginale ganglionnaire de notre série et comparaison des données des études précédentes

	Série actuelle	Nathwani et al., 1999	Arcaini et al., 2007	Traverse-Glehen et al., 2006	Salama et al., 2009	Camacho et al., 2003
Nombre de cas étudiés	21	20	47	21	51	27
CD20	21/21	NR	47/47	21/21	51/51	27/27
CD43	9/21	NR	NR	1/20	10/42	11/24
CD5	5/21	NR	0/47	0/21	0/51	4/24
CD23	6/21	NR	NR	0/21	1/20	2/24
CD10	0/21	NR	0/47	0/21	0/51	0/24
Bcl6	1/21	NR	0/47	9/21	0/51	0/24
Cycline D1	0/21	NR	NR	0/2	0/51	2/24

NR : Non Renseigné

B. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE :

LYMPHOME DE LA ZONE MARGINALE GANGLIONNAIRE VERSUS LYMPHOME FOLLICULAIRE DE PRESENTATION ATYPIQUE

1. Données de la littérature

Salama et al. ont exclu en cours d'étude deux cas de lymphome folliculaire dont le diagnostic initial proposé était celui de lymphome de la zone marginale ganglionnaire. Ces 2 cas étaient d'architecture diffuse, caractérisés par l'absence de marquage des cellules tumorales avec l'anticorps anti-CD10. L'utilisation de marqueurs des cellules du centre germinatif au cours de l'étude, à savoir Bcl6, HGAL et LMO2 avait permis de redresser le diagnostic. La recherche d'un réarrangement de *BCL2* ou *BCL6* n'avait pas été effectuée.

Devant la possibilité d'une expression aberrante des marqueurs du centre germinatif par les cellules tumorales d'un lymphome de la zone marginale ganglionnaire (75) et leur absence d'expression dans certains sous-types de lymphome folliculaire, les auteurs préconisent l'utilisation de plusieurs marqueurs associés au centre germinatif (17).

Jardin et al. ont répertorié un sous-type de lymphome folliculaire ayant des caractéristiques cliniques, morphologiques, immunophénotypiques et moléculaires particulières. L'ensemble des cas présentait une architecture folliculaire marquée (follicules tumoraux plus larges que dans un lymphome folliculaire classique) avec parfois un contingent monocytoïde. Dans la majorité des cas, les cellules tumorales étaient CD10-, Bcl6+. Il n'y avait pas de réarrangement de *BCL2* mais un réarrangement de *BCL6* (amplification ou translocation). Ces particularités concernaient principalement des lymphomes de grade 1 et 2 mais également de rares cas de grade 3 (76).

Karube et al. ont individualisé un sous-type de lymphome folliculaire principalement de grade 3 présentant une perte d'expression du CD10, une positivité des cellules tumorales pour MUM1 (classiquement négatif dans le lymphome folliculaire), une absence de réarrangement de *BCL2* et un réarrangement de *BCL6* (translocation ou amplification) (25)(41)(77).

La trisomie 3, décrite comme étant une anomalie génétique non spécifique des lymphomes de la zone marginale ganglionnaire et extraganglionnaire, est également observée dans le lymphome folliculaire CD10-, MUM1+, sans t(14;18) (12)(54)(78). L'expression de Bcl6 dans le lymphome de la zone marginale n'est pas associée à un réarrangement ou une amplification du gène *BCL6* (49).

2. A propos de notre série

Deux cas difficiles à interpréter ont été exclus au cours de notre étude dans ce contexte [cas 23 et 24].

Dans ces 2 cas, la recherche d'une expression de bcl6 en immunohistochimie n'avait pas été effectuée au moment du diagnostic initial devant l'absence d'expression du CD10. Les résultats de l'étude immunohistochimique complémentaire, notamment la positivité partielle des cellules tumorales avec l'anticorps anti-Bcl6 nous ont conduit à envisager à nouveau le diagnostic de lymphome folliculaire. La comparaison avec le marquage des cellules du réseau folliculaire dendritique nous permettait d'éliminer des cellules de centres germinatifs résiduels colonisés ou encore hyperplasiques. L'absence de réarrangement de *BCL2* n'apportait pas d'argument supplémentaire en faveur du diagnostic de lymphome folliculaire et dans cette hypothèse, orientait le diagnostic vers un lymphome folliculaire sans t(14;18). Enfin, la constatation d'une amplification du gène *BCL6* nous permettait de poser le

diagnostic final de lymphome folliculaire CD10 négatif, Bcl6 positif, sans t(14;18), avec amplification de *BCL6*.

Le cas 23 correspondait au sous-type de lymphome folliculaire CD10-, avec amplification de *BCL6* décrit par Jardin et al. (76), et le cas 24 au sous-type de lymphome folliculaire CD10-, MUM1+, avec amplification de *BCL6* répertorié par Karube et al., Tagawa et al. (41)(78), ces deux variétés rares étant caractérisées par l'absence de réarrangement de *BCL2*.

C. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE :

LYMPHOME DE LA ZONE MARGINALE GANGLIONNAIRE VERSUS MALADIE DE WALDENSTROM / LYMPHOME LYMPHOPLASMOCYTAIRE

1. Données de la littérature

La maladie de Waldenström est par définition de localisation médullaire mais peut envahir des sites extramédullaires. Les ganglions en font partie (79). Du fait de la présentation clinique, morphologique et immunohistochimique de cette pathologie, le diagnostic différentiel avec un lymphome de la zone marginale ganglionnaire peut s'avérer difficile.

Plusieurs séries ont démontré la prévalence de la mutation L265P de *MYD88* chez les patients atteints d'une maladie de Waldenström. Une partie des auteurs a également analysé cette mutation dans d'autres lymphomes à petites cellules B dont des lymphomes de la zone marginale.

Treon et al. ont recherché la mutation L265P de *MYD88* par PCR et séquençage selon la méthode de Sanger chez 54 patients atteints d'une maladie de Waldenström, chez 3 patients atteints d'un lymphome lymphoplasmocytaire IgM non-sécrétant et chez 46 patients atteints de lymphome de la zone marginale (21 lymphomes de la zone marginale splénique, 20 lymphomes de la zone marginale extraganglionnaire et 5 lymphomes de la zone marginale ganglionnaire).

La mutation L265P de *MYD88* était observée chez 49 patients atteints de la maladie de Waldenström, chez 100% des patients atteints de lymphome lymphoplasmocytaire IgM non-sécrétant et chez 1 patient dans chaque sous type de lymphome de la zone marginale.

Le patient atteint d'un lymphome de la zone marginale ganglionnaire présentait un envahissement médullaire, un pic IgM monoclonal et des caractéristiques cliniques et anatomopathologiques communes avec celles d'une maladie de Waldenström (61).

Varettoni et al. ont étudié cette mutation par PCR allèle-spécifique chez 58 patients atteints de maladie de Waldenström, chez 77 patients atteints d'IgM-MGUS, chez 84 patients atteints de lymphome de la zone marginale splénique et 52 patients atteints de lymphome lymphocytaire. La mutation L265P de *MYD88* a été détectée chez la totalité des patients atteints de la maladie de Waldenström (58/58), chez 47% des patients atteints d'IgM-MGUS, chez 6% des patients atteints d'un lymphome de la zone marginale splénique et chez 4% des patients atteints d'un lymphome lymphocytaire. Dans le groupe des patients IgM-MGUS, les patients porteurs de la mutation évoluaient vers une maladie de Waldenström plus fréquemment (80).

Gachard et al. ont recherché cette mutation par PCR puis séquençage selon la méthode de Sanger chez 27 patients atteints d'une maladie de Waldenström et chez 92 patients atteints d'un lymphome de la zone marginale dont 11 primitivement ganglionnaire. La mutation L265P de *MYD88* a été mise en évidence chez 67% des patients atteints d'une maladie de Waldenström, chez 29% des patients atteints d'un lymphome de la zone marginale splénique, chez 25% des patients atteints d'un lymphome de la zone marginale extraganglionnaire. Aucun des patients atteints d'un lymphome de la zone marginale ganglionnaire n'était porteur de cette mutation (64).

Pour Treon et al., la présence de la mutation L265P de *MYD88* est un outil pour différencier la maladie de Waldenström et les lymphomes lymphoplasmocytaires IgM non-sécrétant des lymphomes de la zone marginale présentant des caractéristiques cliniques, morphologiques et immunophénotypiques semblables.

2. A propos de notre série

La mutation L265P de *MYD88* était observée pour le cas 13 de notre série.

Il s'agissait d'un homme de 65 ans présentant une altération de l'état général et une polyadénopathie (localisations axillaires et inguinales). Il n'y avait pas de pancytopénie, pas de dysglobulinémie monoclonale au diagnostic. L'examen anatomopathologique de la biopsie ostéoméduillaire ne révélait pas d'envahissement médullaire.

Le ganglion était d'architecture nodulaire et diffuse, composé de cellules monocytoïdes monomorphes. L'étude immunohistochimique était concordante avec un lymphome de la zone marginale ganglionnaire.

D'un point de vue clinique et morphologique, le patient ne présentait aucun argument pour une localisation ganglionnaire de maladie de Waldenström (81).

Ce patient appartient donc très probablement à la catégorie des rares cas de lymphome de la zone marginale ganglionnaire présentant la mutation L265P de *MYD88* (61).

Aucun autre cas de notre série pour lesquels la technique était interprétable ne présentait cette mutation.

CONCLUSION

Nous rapportons une série de 21 cas de lymphome de la zone marginale ganglionnaire en précisant leurs caractéristiques morphologiques, immunohistochimiques et moléculaires.

Nos données confirment l'importante variabilité anatomopathologique de cette pathologie et l'absence de critères diagnostiques spécifiques. Ces éléments imposent donc l'élimination, dans le raisonnement diagnostique, des autres lymphomes à petites cellules B dans une variété morphologique ou immunophénotypique atypique.

Dans la stratégie diagnostique, l'intégration des données cliniques est indispensable.

Les critères morphologiques permettent de formuler les premières hypothèses mais ne sont pas suffisants pour poser un diagnostic définitif. Ils orientent l'étude immunohistochimique qui se doit d'être la plus large possible dans l'hypothèse d'un lymphome de la zone marginale ganglionnaire.

L'expression de MUM1 et des marqueurs du centre germinatif CD10 et Bcl6 permet de ne pas méconnaître le diagnostic de lymphome folliculaire dans une forme inhabituelle. Dans ces formes inhabituelles de lymphome folliculaire, l'absence de t(14;18) ne doit pas faire éliminer ce diagnostic. L'étude du réarrangement ou d'une amplification de *BCL6* par F.I.S.H. est, dans ces cas, un complément diagnostique intéressant.

L'absence d'expression de CD5 et/ou de la cycline D1 ne permet pas d'éliminer formellement le diagnostic de lymphome du manteau quand la morphologie est en faveur de cette hypothèse. Dans ces cas, l'étude de l'expression de Sox11 est nécessaire pour éliminer un lymphome du manteau cycline D1 négatif.

L'étude de *MYD88* est un nouvel outil diagnostique dans les formes lymphoplasmocytaires ou lorsqu'il existe des arguments cliniques en faveur d'une maladie de Waldenström.

Le diagnostic de lymphome de la zone marginale ganglionnaire est un diagnostic d'élimination nécessitant le recours à une étude immunohistochimique complète et l'intégration de données moléculaires, en attendant l'émergence de marqueurs spécifiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. De Wolf-Peeters C, Delabie J. Anatomy and histophysiology of lymphoid tissue. *Semin. Oncol* 1993;20(6):555-569.
2. Arcaini L, Paulli M, Boveri E, Magrini U, Lazzarino M. Marginal zone-related neoplasms of splenic and nodal origin. *Haematologica* 2003;88(1):80-93.
3. Swerdlow L, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri S, Stein H, Thiele S, Vardiman JW. (Eds) World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. (IARC Press,4th éd, Lyon, 2008).
4. Heilgeist A, McClanahan F, Ho AD, Witzens-Harig M. Prognostic value of the Follicular Lymphoma International Prognostic Index score in marginal zone lymphoma: An analysis of clinical presentation and outcome in 144 patients. *Cancer* 2013;119(1):99-106.
5. Mollejo M, Camacho FI, Algara P, Ruiz-Ballesteros E, García JF, Piris MA. Nodal and splenic marginal zone B cell lymphomas. *Hematol Oncol* 2005;23(3-4):108-118.
6. Sheibani K, Sohn CC, Burke JS, Winberg CD, Wu AM, Rappaport H. Monocytoid B-cell lymphoma. A novel B-cell neoplasm. *Am. J. Pathol* 1986;124(2):310-318.
7. Mc Ginn D, Cousar J, List A, Glick A, Collins R. report of an unusual interfollicular lymphoma arising from sinusoidal B lymphocytes. *Laboratory Investigation*. 1985.
8. Cousar J, Mc Ginn D, List A, Collins R. Report of an unusual lymphoma arising from parafollicular B-lymphocytes (PBLs) or so-called « monocytoid » lymphocytes. *Am J Clin Pathol*. 1987;87:121-128.
9. Piris MA, Rivas C, Morente M, Cruz MA, Rubio C, Oliva H. Monocytoid B-cell lymphoma, a tumour related to the marginal zone. *Histopathology* 1988;12(4):383-392.
10. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, Delsol G, De Wolf-Peeters C, Falini B, Gatter KC, Grogan TM, Isaacson PG, Knocules DM, Mason DY, Müller-Hermelink HK, Pileri AS, Piris MA, Ralfikiae E, Warnke RA. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994;84(5):1361-1392.
11. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. (Eds) World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. (IARC Press,3th éd, Lyon, 2001).
12. Campo E, Pileri S, Jaffe ES, Müller-Hermelink H, Nathwani B. Nodal marginal zone lymphoma. In Swerdlow LH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri AP, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds) : World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. (IARC Press,4th éd, Lyon, 2008).p.218-219.

13. Arcaini L, Paulli M, Burcheri S, Rossi A, Spina M, Passamonti F, Lucioni M, Motta T, Canzonieri V, Montanari M, Bonoldi E, Gallamini M, Uziel L, Crugnola M, Ramponi A, Montanari F, Pascutto C, Morra E, Lazzarino. Primary nodal marginal zone B-cell lymphoma: clinical features and prognostic assessment of a rare disease. *Br. J. Haematol* 2007;136(2):301-304.
14. Taddesse-Heath L, Pittaluga S, Sorbara L, Bussey M, Raffeld M, Jaffe ES. Marginal zone B-cell lymphoma in children and young adults. *Am. J. Surg. Pathol* 2003;27(4):522-531.
15. Berger F, Felman P, Thieblemont C, Pradier T, Baseggio L, Bryon PA, Salles G, Callet-Bauchu E, Coiffier B. Non-MALT marginal zone B-cell lymphomas: a description of clinical presentation and outcome in 124 patients. *Blood* 2000;95(6):1950-1956.
16. Kahl B, Yang D. Marginal zone lymphomas: management of nodal, splenic, and MALT NHL. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2008;359-364.
17. Salama ME, Lossos IS, Warnke RA, Natkunam Y. Immunoarchitectural patterns in nodal marginal zone B-cell lymphoma: a study of 51 cases. *Am. J. Clin. Pathol* 2009;132(1):39-49.
18. Camacho FI, Algara P, Mollejo M, García JF, Montalbán C, Martínez N, Sanchez-Beato M, Piris MA. Nodal marginal zone lymphoma: a heterogeneous tumor: a comprehensive analysis of a series of 27 cases. *Am. J. Surg. Pathol* 2003;27(6):762-771.
19. Campo E, Miquel R, Krenacs L, Sorbara L, Raffeld M, Jaffe ES. Primary nodal marginal zone lymphomas of splenic and MALT type. *Am. J. Surg. Pathol* 1999;23(1):59-68.
20. Thieblemont C, Leblond V. *Lymphomes de la zone marginale*. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). 2008;16-31.
21. Maes B, De Wolf-Peeters C. Marginal zone cell lymphoma--an update on recent advances. *Histopathology* 2002;40(2):117-126.
22. Mozos A, Royo C, Hartmann E, De Jong D, Baró C, Valera A, Fu K, Weisenburger DD, Delabie J, Chuang SS, Jaffe ES, Ruiz-Marcellan C, Dave S, Rimsza L, Brazier R, Gascoyne RD, Solé F, Lopez-Guillermo A, Colomer D, Staudt LM, Rosenwald A, Ott G, Jares P, Campo E. SOX11 expression is highly specific for mantle cell lymphoma and identifies the cyclin D1-negative subtype. *Haematologica* 2009;94(11):1555-1562.
23. Braggio E, Dogan A, Keats JJ, Chng WJ, Huang G, Matthews JM, Law ME, Bosler DS, Barrett M, Lossos IS, Witzig TE, Fonseca R. Genomic analysis of marginal zone and lymphoplasmacytic lymphomas identified common and disease-specific abnormalities. *Mod. Pathol* 2012;25(5):651-660.
24. Dierlamm J, Wlodarska I, Michaux L, Stefanova M, Hinz K, Van Den Berghe H, Hagemeijer A, Hossfeld DK. Genetic abnormalities in marginal zone B-cell lymphoma. *Hematol Oncol* 2000;18(1):1-13.

25. Harris NL, Swerdlow L, Jaffe ES, Ott G, Nathwani BN, De Jong D, Yoshino T, Spagnolo D. Follicular lymphoma. In : Swerdlow LH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri AP, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds). World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. (IARC Press,4th éd, Lyon, 2008).p.220-226.
26. Yegappan S, Schnitzer B, Hsi ED. Follicular lymphoma with marginal zone differentiation: microdissection demonstrates the t(14;18) in both the follicular and marginal zone components. *Mod. Pathol* 2001;14(3):191-196.
27. Goodlad JR, Batstone PJ, Hamilton D, Hollowood K. Follicular lymphoma with marginal zone differentiation: cytogenetic findings in support of a high-risk variant of follicular lymphoma. *Histopathology* 2003;42(3):292-298.
28. Jourdan F, Molina TJ, Le Tourneau A, Machet MC, De Muret A, Renjard L, Fetissov F. Florid marginal zone differentiation in follicular lymphoma mimicking marginal zone lymphoma of MALT type in the lung. *Histopathology* 2006;49(4):426-429.
29. Yamada K, Maeshima AM, Taniguchi H, Kawabata Y, Nomoto J, Maruyama D, Kim SW, Watanabe T, Kobayashi Y, Tobinai K, Tsuda H. Follicular lymphoma with marked monocytoid or plasmacytoid differentiation and tiny or indistinct follicles: a case study of four patients. *Leuk. Lymphoma* 2011;52(5):804-813.
30. Berger F, Felman P, Bryon PA. [Morphological aspects of low-grade B-cell lymphoma]. *Ann Pathol* 1998;18(4):261-275.
31. Swerdlow L, Campo E, Seto M, Müller-Hermelink H. Mantle cell lymphoma. In : Swerdlow LH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri AP, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds). World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. (IARC Press,4th éd, Lyon, 2008).p.229-232.
32. Golardi N, Velasco MR, Elghetany MT. Marginal zone variant of mantle cell lymphoma: CD5-negative cyclin D1-positive variant posing a diagnostic dilemma. *Pathol. Int* 2009;59(5):317-321.
33. Mansoor A, Akbari M, Auer I, Lai R. Cyclin D1 and t(11;14)-positive B-cell neoplasms resembling marginal zone B-cell lymphoma: a morphological variant of mantle cell lymphoma. *Hum. Pathol* 2007;38(5):797-802.
34. Swerdlow S, Berger F, Pileri S, Harris NL, Jaffe ES, Stein H. Lymphoplasmacytic lymphoma. In : Swerdlow LH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri AP, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds). World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. (IARC Press,4th éd, Lyon, 2008).p.194-195.
35. Lin P, Molina TJ, Cook JR, Swerdlow SH. Lymphoplasmacytic lymphoma and other non-marginal zone lymphomas with plasmacytic differentiation. *Am. J. Clin. Pathol* 2011;136(2):195-210.

36. Shaheen SP, Talwalkar SS, Lin P, Medeiros LJ. Waldenström macroglobulinemia: a review of the entity and its differential diagnosis. *Adv Anat Pathol* 2012;19(1):11-27.
37. Gradowski JF, Jaffe ES, Warnke RA, Pittaluga S, Surti U, Gole LA, Swerdlow SH. Follicular lymphomas with plasmacytic differentiation include two subtypes. *Mod. Pathol* 2010;23(1):71-79.
38. Young KH, Chan WC, Fu K, Iqbal J, Sanger WG, Ratashak A, Greiner TC, Weisenburger DD. Mantle cell lymphoma with plasma cell differentiation. *Am. J. Surg. Pathol* 2006;30(8):954-961.
39. Traverse-Glehen A, Felman P, Callet-Bauchu E, Gazzo S, Baseggio L, Bryon PA, Thieblemont C, Coiffier B, Salles G, Berger F. A clinicopathological study of nodal marginal zone B-cell lymphoma. A report on 21 cases. *Histopathology* 2006;48(2):162-173.
40. Dogan A, Bagdi E, Munson P, Isaacson PG. CD10 and BCL-6 expression in paraffin sections of normal lymphoid tissue and B-cell lymphomas. *Am. J. Surg. Pathol* 2000;24(6):846-852.
41. Karube K, Guo Y, Suzumiya J, Sugita Y, Nomura Y, Yamamoto K, Shimizu K, Yoshida S, Komatani H, Takeshita M, Kikuchi M, Nakamura N, Takasu O, Arakawa F, Tagawa H, Seto M, Ohshima K. CD10-MUM1+ follicular lymphoma lacks BCL2 gene translocation and shows characteristic biologic and clinical features. *Blood* 2007;109(7):3076-3079.
42. Xu W, Li J-Y. SOX11 expression in mantle cell lymphoma. *Leuk. Lymphoma* 2010;51(11):1962-1967.
43. Maeda K, Matsuda M, Suzuki H, Saitoh H-A. Immunohistochemical recognition of human follicular dendritic cells (FDCs) in routinely processed paraffin sections. *J. Histochem. Cytochem* 2002;50(11):1475-1486.
44. Muller-Hermelink H., Montserrat, Catovsky D, Campo E, Harris NL, Stein H. Chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma. In : Swerdlow LH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri AP, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds). *World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. (IARC Press, 4th éd, Lyon, 2008).p.180-182.
45. Kearney L. The impact of the new fish technologies on the cytogenetics of haematological malignancies. *Br. J. Haematol* 1999;104(4):648-658.
46. Ventura RA, Martin-Subero JI, Jones M, McParland J, Gesk S, Mason DY, Siebert R. FISH analysis for the detection of lymphoma-associated chromosomal abnormalities in routine paraffin-embedded tissue. *J Mol Diagn* 2006;8(2):141-151.
47. Montoto S, López-Guillermo A, Colomer D, Esteve J, Bosch F, Ferrer A, Villamor N, Moreno C, Campo E, Montserrat E. Incidence and clinical significance of bcl-2/IgH rearrangements in follicular lymphoma. *Leuk. Lymphoma* 2003;44(1):71-76.

48. Einerson RR, Kurtin PJ, Dayharsh GA, Kimlinger TK, Remstein ED. FISH is superior to PCR in detecting t(14;18)(q32;q21)-IgH/bcl-2 in follicular lymphoma using paraffin-embedded tissue samples. *Am. J. Clin. Pathol* 2005;124(3):421-429.
49. Jardin F, Buchonnet G, Parmentier F, Contentin N, Leprêtre S, Lenain P, Picquetot JM, Laberge S, Bertrand P, Stamatoullas A, d'Anjou J, Bastard C. Follicle center lymphoma is associated with significantly elevated levels of BCL-6 expression among lymphoma subtypes, independent of chromosome 3q27 rearrangements. *Leukemia* 2002;16(11):2318-2325.
50. Ott G, Katzenberger T, Lohr A, Kindelberger S, Rüdiger T, Wilhelm M, Kalla J, Rosenwald A, Müller JG, Ott M, Müller-Hermelink HK. Cytomorphologic, immunohistochemical, and cytogenetic profiles of follicular lymphoma: 2 types of follicular lymphoma grade 3. *Blood* 2002;99(10):3806-3812.
51. Li JY, Gaillard F, Moreau A, Harousseau JL, Laboisie C, Milpied N, Bataille R, Avet-Loiseau H. Detection of translocation t(11;14)(q13;q32) in mantle cell lymphoma by fluorescence in situ hybridization. *Am. J. Pathol* 1999;154(5):1449-1452.
52. Vose JM. Mantle cell lymphoma: 2012 update on diagnosis, risk-stratification, and clinical management. *Am. J. Hematol* 2012;87(6):604-609.
53. Delsol G. [Molecular abnormalities in lymphomas]. *Bull Cancer* 2010;97(11):1347-1364.
54. Isaacson PG, Chott A, Nakamura S, Muller-Hermelink HK, Harris NL, Swerdlow S. Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma). In : Swerdlow LH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri AP, Stein H, Thiele J, Vardiman JW(Eds). *World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.* (IARC Press,4th éd, Lyon, 2008).p.214-217.
55. Streubel B, Simonitsch-Klupp I, Müllauer L, Lamprecht A, Huber D, Siebert R, Stolte M, Trautinger F, Lukas J, Püspök A, Formanek M, Assanasen T, Müller-Hermelink HK, Cerroni L, Radere M, Chott A. Variable frequencies of MALT lymphoma-associated genetic aberrations in MALT lymphomas of different sites. *Leukemia* 2004;18(10):1722-1726.
56. Remstein ED, Dogan A, Einerson RR, Paternoster SF, Fink SR, Law M, Dewald GW, Kurtin PJ. The incidence and anatomic site specificity of chromosomal translocations in primary extranodal marginal zone B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma) in North America. *Am. J. Surg. Pathol* 2006;30(12):1546-1553.
57. Takeda K, Akira S. TLR signaling pathways. *Semin. Immunol* 2004;16(1):3-9.
58. Von Bernuth H, Picard C, Jin Z, Pankla R, Xiao H, Ku C-L, Chrabieh M, Mustapha EB, Ghandil P, Camcioglu Y, Vasconcelos J, Sirvent N, Guedes M, Vitor AB, Herrero-Mata MJ, Arostegui JI, Rodrigo C, Alsina L, Ruiz-Ortiz E, Juan M, Fortuny C, Yagüe J, Anton J, Pascal M, Chang HH, Janniere L, Rose Y, Garty BZ, Chapel H, Issekutz A, Marodi L, Rodriguez-Gallego C, Banchereau J, Abel L, Li X, Chaussabel D, Puel A, Casanova JL. Pyogenic bacterial infections in humans with MyD88 deficiency. *Science* 2008;321(5889):691-696.

59. Jeelall YS, Horikawa K. Oncogenic MYD88 mutation drives Toll pathway to lymphoma. *Immunol. Cell Biol* 2011;89(6):659-660.
60. Ngo VN, Young RM, Schmitz R, Jhavar S, Xiao W, Lim K-H, Kohlhammer H, Xu W, Yang Y, Zhao H, Shaffer AL, Romesser P, Wright G, Powell J, Rosenwald A, Müller-HermelinkHK, Ott G, Gascoyne RD, Connors JM, Rimsza LM, Campo E, Jaffe S, Delabie J, Smeland EB, Fisher RI, Braziel RM, Tubbs RR, Cook JR, Weisenburger DD, Chan WC, Staudt LM. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature* 2011;470(7332):115-119.
61. Treon SP, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, Sheehy P, Manning RJ, Patterson CJ, Tripsas C, Arcaini L, Pinkus GS, Rodig SJ, Sohani AR, Harris NL, Laramie JM, Skifter DA, Lincoln SE, Hunter ZR. MYD88 L265P somatic mutation in Waldenström's macroglobulinemia. *N. Engl. J. Med* 2012;367(9):826-833.
62. Li Z-M, Rinaldi A, Cavalli A, Mensah AA, Ponzoni M, Gascoyne RD, Bhagat G, Zucca E, Bertoni F. MYD88 somatic mutations in MALT lymphomas. *Br. J. Haematol* 2012;158(5):662-664.
63. Yan Q, Huang Y, Watkins AJ, Kocialkowski S, Zeng N, Hamoudi RA, Isaacson PG, de Leval L, Wortherspoon A, Du MQ. BCR and TLR signaling pathways are recurrently targeted by genetic changes in splenic marginal zone lymphomas. *Haematologica* 2012;97(4):595-598.
64. Gachard N, Parrens M, Soubeyran I, Petit B, Marfak A, Rizzo D, Devsa M, Delage-Corre M, Coste V, Laforêt MP, de Mascarel A, Merlio JP, Bouabdalla K, Milpied N, Soubeyran P, Schmitt A, Bordessoule D, Cogné M, Feuillard J. IGHV gene features and MYD88 L265P mutation separate the three marginal zone lymphoma entities and Waldenström macroglobulinemia/lymphoplasmacytic lymphomas. *Leukemia* 2013;27(1):183-9
65. Olszewski AJ, Castillo JJ. Survival of patients with marginal zone lymphoma: Analysis of the Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer* 2013;119(3):629-38.
66. Kuper-Hommel MJJ, Van de Schans SAM, Vreugdenhil G, Van Krieken JHJM, Coebergh JWW. Trends in incidence, therapy and outcome of localized nodal and extranodal marginal zone lymphomas: declining incidence and inferior outcome for gastrointestinal sites. *Leuk. Lymphoma*. 2013 [Epub ahead of print]
67. Solal-Céligny P, Roy P, Colombat P, White J, Armitage JO, Arranz-Saez R, Au YW, Bellei M, Brice P, Caballero D, Coiffier B, Conde-Garcia E, Doyen C, Frederico M, Fisher RI, Garcia-Conde JF, Guglielmi C, Hagenbeek A, Haïoun C, Leblanc M, Lister AT, Lopez-Guillermo A, McLaughlin P, Milpied N, Morel P, Mounier N, Procter SJ, Rehatiner A, Smith P, Soubeyran P, Tilly H, Vitolo U, Zinzani PC, Zucca E, Montserrat E. Follicular lymphoma international prognostic index. *Blood* 2004;104(5):1258-1265.
68. Deinbeck K, Geinitz H, Haller B, Fakhrian K. Radiotherapy in marginal zone lymphoma. *Radiat Oncol*. 2013;8:2.

69. Nathwani BN, Anderson JR, Armitage JO, Cavalli F, Diebold J, Drachenberg MR, Harris NL, MacLennan KA, Müller-Hermelink HK, Ullrich FA, Weisenburger DD. Marginal zone B-cell lymphoma: A clinical comparison of nodal and mucosa-associated lymphoid tissue types. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J. Clin. Oncol* 1999;17(8):2486-2492.
70. Gelb AB, Rouse RV, Dorfman RF, Warnke RA. Detection of immunophenotypic abnormalities in paraffin-embedded B-lineage non-Hodgkin's lymphomas. *Am. J. Clin. Pathol* 1994;102(6):825-834.
71. Lai R, Weiss LM, Chang KL, Arber DA. Frequency of CD43 expression in non-Hodgkin lymphoma. A survey of 742 cases and further characterization of rare CD43+ follicular lymphomas. *Am. J. Clin. Pathol* 1999;111(4):488-494.
72. Ballesteros E, Osborne BM, Matsushima AY. CD5+ low-grade marginal zone B-cell lymphomas with localized presentation. *Am. J. Surg. Pathol* 1998;22(2):201-207.
73. Jevremovic D, Dronca RS, Morice WG, McPhail ED, Kurtin PJ, Zent CS, Hanson CA. CD5+ B-cell lymphoproliferative disorders: Beyond chronic lymphocytic leukemia and mantle cell lymphoma. *Leuk. Res* 2010;34(9):1235-1238.
74. Gupta D, Lim MS, Medeiros LJ, Elenitoba-Johnson KS. Small lymphocytic lymphoma with perifollicular, marginal zone, or interfollicular distribution. *Mod. Pathol* 2000;13(11):1161-1166.
75. Wang E, West D, Kulbacki E. An unusual nodal marginal zone lymphoma with bright CD10 expression: a potential diagnostic pitfall. *Am. J. Hematol* 2010;85(7):546-548.
76. Jardin F, Gaulard P, Buchonnet G, Contentin N, Leprêtre S, Lenain P, Stamatoullas A, Picquenot JM, Duval C, Parmentier F, Tilly H, Bastard C. Follicular lymphoma without t(14;18) and with BCL-6 rearrangement: a lymphoma subtype with distinct pathological, molecular and clinical characteristics. *Leukemia* 2002;16(11):2309-2317.
77. Karube K, Ying G, Tagawa H, Niino D, Aoki R, Kimura Y, Hashikawa K, Suefuji N, Sugita Y, Nomura Y, Shimizu K, Yoshida S, Seto M, Ohshima K. BCL6 gene amplification/3q27 gain is associated with unique clinicopathological characteristics among follicular lymphoma without BCL2 gene translocation. *Mod. Pathol* 2008;21(8):973-978.
78. Tagawa H, Karube K, Guo Y, Takeshita M, Kikuchi M, Morishima Y, Nakamura S, Ohshima K, Seto M. Trisomy 3 is a specific genomic aberration of t(14;18) negative follicular lymphoma. *Leukemia* 2007;21(12):2549-2551.
79. Lin P, Bueso-Ramos C, Wilson CS, Mansoor A, Medeiros LJ. Waldenstrom macroglobulinemia involving extramedullary sites: morphologic and immunophenotypic findings in 44 patients. *Am. J. Surg. Pathol* 2003;27(8):1104-1113.

80. Varettoni M, Arcaini L, Zibellini S, Boveri E, Rattotti S, Riboni R, Corso A, Orlandi E, Bonfichi M, Gotti M, Pascutto C, Mangiacavalli S, Croci G, Fiaccadori V, Morello L, Guerrera ML, Paulli M, Cazzola M. Prevalence and clinical significance of the MYD88 (L265P) somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia and related lymphoid neoplasms. *Blood* 2013[Epub ahead of print]

81. Vitolo U, Ferreri AJM, Montoto S. Lymphoplasmacytic lymphoma-Waldenstrom's macroglobulinemia. *Crit. Rev. Oncol. Hematol* 2008;67(2):172-185.

AUTEUR : DELPLANQUE-LEMAIRE Anne-Sophie

Date de Soutenance : 5 avril 2013

Titre de la Thèse : Le lymphome de la zone marginale ganglionnaire, un diagnostic d'exclusion.
A propos de 24 cas.

Thèse - Médecine - Lille 2013

Cadre de classement : DES d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

Mots-clés : lymphome de la zone marginale ganglionnaire, lymphomes à petites cellules B de bas grade, immunohistochimie, hybridation fluorescente in situ, biologie moléculaire, *MYD88*

Résumé :

Le lymphome de la zone marginale ganglionnaire est une pathologie rare, de présentation hétérogène, pour laquelle il n'existe pas encore de marqueurs immunohistochimiques ou moléculaires spécifiques. Le diagnostic différentiel avec d'autres lymphomes à petites cellules B peut s'avérer parfois extrêmement difficile. La mise en place d'une stratégie dans la réalisation des examens complémentaires est donc indispensable.

Nous avons caractérisé sur le plan morphologique, immunohistochimique et moléculaire 24 cas de lymphome de la zone marginale ganglionnaire. L'étude immunohistochimique a été réalisée avec les anticorps suivants : CD20, CD79 α , CD3, CD5, CD21, CD23, CD43, CD10, Bcl6, Bcl2, cyclineD1, Sox11 et Ki67. Une recherche de réarrangement de *BCL1*, *BCL2*, *MALT1* pour l'ensemble des cas, et de *BCL6* pour 3 cas, a été effectuée. L'exon 5 de *MYD88* a été étudié pour la totalité des cas.

Quatre types d'architecture ont été observés : diffuse (37.5%), nodulaire (4.5%), nodulaire et diffuse (41.5%) et splénique (16.5%). Le polymorphisme cellulaire était prédominant (67%). La différenciation lymphoplasmocytaire était la plus fréquente (67%), tandis que le contingent monocytoïde pur était peu rencontré (4.5%). Une composante minoritaire était cependant souvent retrouvée (33%). L'immunophénotype « classique » était observé dans 41.5% des cas. Les cellules tumorales de 5 cas étaient positives avec l'anticorps anti-CD5. Cinq autres cas présentaient un marquage avec l'anticorps anti-CD23 et un cas avec les anticorps anti-CD5 et anti-CD23. Les cellules tumorales de 3 cas étaient partiellement positives avec l'anticorps anti-Bcl6.

Trois cas ont été exclus au cours de l'étude. Les cellules tumorales de l'un d'entre eux étaient positives avec les anticorps anti-cycline D1 et anti-Sox11. L'étude FISH avait mis en évidence une t(11;14). Les deux autres cas présentaient un marquage partiel des cellules tumorales par l'anticorps anti-Bcl6, ainsi qu'une amplification du gène *BCL6* en FISH.

La mutation L265P de *MYD88* a été retrouvée dans un cas dont la morphologie, le phénotype et l'étude moléculaire étaient en faveur d'un lymphome de la zone marginale ganglionnaire.

Devant l'importante variabilité de présentation morphologique et immunophénotypique des lymphomes de la zone marginale ganglionnaire, nous mettons en avant l'intérêt d'une étude immunohistochimique globale face à un lymphome à petites cellules B, notamment le bénéfice de l'usage de différents marqueurs du centre germinatif et de la cycline D1. La FISH ainsi que la recherche de la mutation L265P de *MYD88* présentent également un intérêt dans ce diagnostic.

Composition du jury

Président :

Monsieur le Professeur Xavier LEROY

Asseseurs :

Monsieur le Professeur Jean-Pierre JOUET

Madame le Docteur Valérie SOENEN

Directeur de Thèse :

Madame le Professeur Marie-Christine COPIN

